

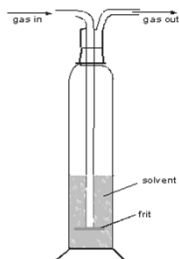
Separiranje organskih analitov

Ekstrakcije

- Primerna izbira topil omogoča ekstrakcije poljubnih analitov
- Vrste vzorcev: plini (hlapne komponente), tekočine, trdne snovi
- Pomanjkljivosti: težave pri avtomatizaciji, časovno zahtevni procesi, uporba organskih topil (toksičnost, cena..)

Ekstrakcije iz plinske faze

- Plinsko fazo uvajamo v topilo. Topni analiti se v tekoči fazi zadržijo



Ekstrakcije tekočih vzorcev tekoče-tekoče (liquid-liquid –LLE)

- Potrebni pogoji: različne polarosti izbranih topil-
npr. voda: nepolarno organsko topilo
- Porazdelitev analita med dve fazi; porazdelitveno
ravnotežje zavisi od lastnosti topil, in od temperature
(Analogija s sistemi kelatne ekstrakcije !)

$$K_d = \frac{[S_{org}^s]}{[S_w]}$$

$$D = \frac{C_{org}}{C_w} \approx \frac{\text{sol (org. solv)}}{\text{sol (water)}}$$

Izbira topila

- Kriteriji pri izbiri topil:
 - princip „podobno topimo v podobnem“
 - Topilo se ne sme mešati z vzorcem (npr. vodne raztopine!!!)
 - Lasnosti:
 - delno topno v vzorcu
 - polarnost (dielektrična konstanta)
 - gostota
 - vrelišče
 - sposobnost tvorbe vodikovih vezi
 - selektivnost za analit
 - ekstrakcijska učinkovitost
 - toksičnost, vnetljivost, vplivi na okolje

Lastnosti nekaterih topil

Solvent	Dielectric constant	UV cut-off at 1 AU (nm)	T _{bp} (°C)	Viscosity (cP)	Water solubility (% v/v)
Acetic acid	6.30	230	118	1.26	100
Acetone	20.70	330	56	0.32	100
Acetonitrile	37.50	190	82	0.37	100
Benzene	2.27	280	80	0.65	0.18
Chloroform	4.81	245	61	0.57	0.82
Cyclohexane	2.02	200	81	1.00	0.01
Dichloromethane	8.93	235	41	0.44	1.6
Dimethylformamide	36.70	268	155	0.92	100
Dimethylsulfoxide	4.70	268	189	2.00	100
Dioxane	2.25	215	101	1.54	100
Ethanol	25.80	210	78	1.20	100
Ethylacetate	6.02	260	77	0.45	8.7
Diethylether	4.33	230	35	0.32	6.89
n-Heptane	1.92	200	98	0.38	0.0003
n-Hexane	1.88	200	69	0.33	0.001
Methanol	32.70	205	65	0.60	100
n-Propanol	20.33	210	97	2.27	100
Tetrahydrofuran	7.58	215	65	0.55	100
Toluene	2.38	265	111	0.59	0.05
Water	81.10	200	100	1.00	100

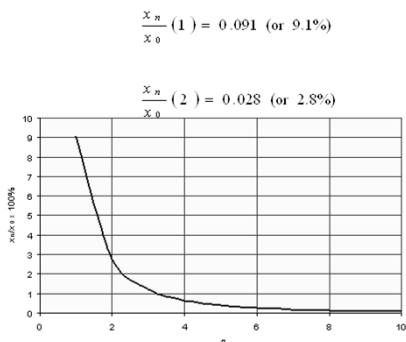
Večstopenjska ekstrakcija

$$X_n = \left(\frac{V_w}{K_d \cdot V_{org} + V_w} \right)^n \cdot X_0$$

$V_w, V_{org} \dots$ Volumna vodne, organske faze
 $n \dots$ Število stopenj
 $X_0 \dots$ Začetna koncentracija analita v vodni fazi
 $X_n \dots$ Koncentracija analita po n stopenjih

Večstopenjska ekstrakcija

Primer:

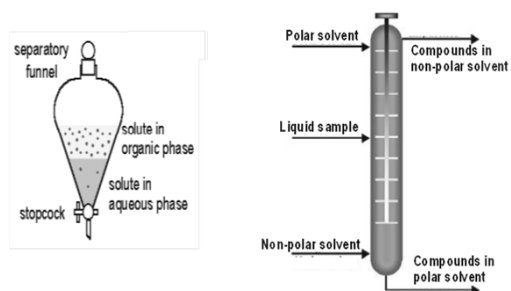
 $K_d=100$ $V_w=100$ mL $V_{org1}=10$ mL, $n_1=1$ $V_{org2}=5$ mL, $n_2=2$ Optimalno število stopenj n : 5-6

Parametri, ki vplivajo na LLE

- Ionska moč: večja ionska moč- manjša topnost manj polarnih organskih komponent v vodni fazi („salting-out“ efekt), npr. z dodatkom nevtralnih soli; NaCl
- pH vodne faze ima vpliv pri analitih s kislinsko-bazičnimi lastnostmi
- Npr. organske kisline:

$$D = \frac{K_a [\text{H}_3\text{O}^+_{(\text{aq})}]}{K_a + [\text{H}_3\text{O}^+_{(\text{aq})}]}$$

LLE ekstrakcija



Pričakovani rezultati: LLE

- Veliki izkoristki (70-100%)
- Veliki predkoncentracijski faktorji (odvisni od volumskega razmerja med obema fazama)
- Možnost odparevanja topil in zmanjšanja volumna organske faze
- Predkoncentracijski faktorji so lahko večji od 100!

LLE problemi

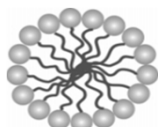
- Nastanek emulzij
- Koekstrakcija motečih komponent - Potrebno je „čiščenje“ ekstraktov; npr. povratna ekstrakcija analitov ali motečih komponent, uporaba različnih sorpcijskih nosilcev itd.
- Izguba analitov v faz odparevanja topil (hlapnost)

Novejši pristopi LLE

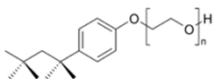
- Alternativna topila: ionske tekočine (IL), ekstrakcija z nastankom micel (micelle-mediated – MME)
- Miniaturizacija: mikro ekstrakcija na kapljici (SDME)
- Kombinacija LLE z različnimi membranami: mikroekstrakcija, membranska ekstrakcija (ME)
- Avtomatizacija

MME

- Površinsko aktivne snovi (surfaktanti) tvorijo pri določeni (kritični) koncentraciji surfaktantov micela
- Hidrofobni analit prodre v micela
- Pri določeni temperaturi micela agregirajo in se fazno ločijo („cloud point“ ekstrakcije)
- Prednosti: dobri izkoristki, veliki predkoncentracijski faktorji, okolju prijazni reagenti
- Slabosti: navadno je pred meritvijo potrebna redčitev, nekateri detekcijski sistemi niso primerni (n.pr. UV)



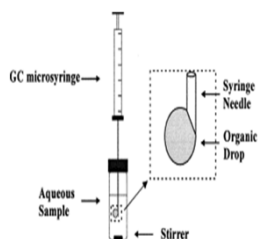
Neionski surfaktant Triton X-100



Triton X-100	
Other name(s) [hide]	
polyethylene glycol p-(1,1,3,3-tetraethylbutyl) phenyl ether, octyl phenoxypolyethanol, polyoxyethylene octyl phenyl ether, 4-octylphenol polyethoxyolane, Monsanto, TX-100, 1-octylphenoxypolyoxyethanol, Octwynol-9	
Identifiers	
CAS number	9002-93-1*
Properties	
Molecular formula	$C_{24}H_{42}O_9$ (n = 9-10)
Appearance	viscous colourless liquid
Density	1.07 g/cm ³
Melting point	6 °C
Boiling point	> 200 °C
Solubility in water	Soluble
Vapour pressure	< 1 mmHg (133 Pa) at 20 °C
Hazards	
MSDS	MSDS
Flash point	233 °C
* Y X-100 (vertik) (albatiz VNF7)	
Except where noted otherwise, data are given for materials in their standard state (at 25 °C, 100 kPa)	
Information references	

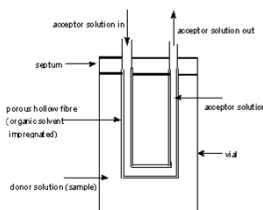
Mikroekstrakcija na kapljici- Single drop mikroextraction (SDME)

- Prednosti: enostavnost, cena, primerna za različne vzorce, hitrost, majhna poraba topil
- Slabosti: Omejen masni prenos- izkoristek!, eksperimentalna zahtevnost, primerna za GC)



Mikroekstrakcija v tekoči fazi (LP ME)

- Dvofazni (trofazni) sistem
- Votla vlakna s hidrofobnimi lastnostmi (polipropilen)
- Prednosti: cena, hitrost, majhna poraba topil, dobra ponovljivost, čistost ekstraktov
- Slabosti: čas ekstrakcije je dolg, slabi izkoristki za hidofilne substance (2-fazni sistem), možne interakcije s polimernim materialom



Ekstrakcije iz trdnih vzorcev

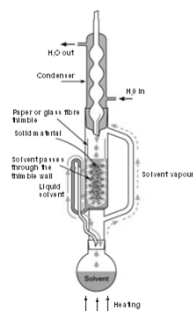
- Ekstrakcija po Soxletu (konvencionalna ali avtomatizirana) (SOX)
- Ultrazvočna ekstrakcija (USE)
- Ekstrakcija z mikrovalovi (MAE, MASE)
- Ekstrakcija pri povišanem tlaku (PLE) ali pospešena ekstrakcija (ASE)
- Superkritična ekstrakcija (SFE)

Soxletova ekstrakcija

Pogosto uporabljena ekstrakcijska tehnika predvsem za analitiko živil. Odlikuje jo enostavnost in navadno velika učinkovitost, saj ni potrebno filtriranje ekstraktov, ekstrakcija poteka pri višjih temperaturah, vzorec je vedno v stiku s svežim topilom. Njene slabosti so redvsem v veliki porabi organskih topil in dolgotrajnost postopka, termično labilne komponente pa lahko razpadejo. Pred meritvijo moramo ekstrakte skoncentrirati, potrebno je tudi dodatno čiščenje

Soxlet

- Prednosti: standardizirana metoda, omogoča uporabe večjih mas –do 30 g), neodvisna od osnove, ni potrebna filtracija, cenovno ugodna
- Slabosti: Dolgi ekstrakcijski časi (24-48 ur!), uporaba topil, potrebno „čiščenje“ ekstraktov. Neprimerna je za termolabilne analite, izbira topil je omejena



Ultrazvočna ekstrakcija (USE)

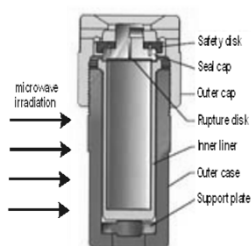
- Princip: Interakcija ultrazvočnih valov z raztopino vzorca povzroča intenzivno mešanje in interakcijo med topilom in analiti
- Prednosti: hitrost (0,5-1 h), uporabimo lahko večje mase vzorca (do 30 g), ekstrakcija je neodvisna od analizne osnove (pomembna velikost delcev!), primerna za termolabilne analite, ugodna cena
- Pomanjkljivosti: Poraba topil, potrebno čiščenje ekstraktov, po ekstrakciji je navadno potrebno filtriranje in odparevanje topila
- Oprema:
Ultrazvočne kopeli
Ultrazvočne sonde

Ekstrakcija z mikrovalovi

Mikrovalovi: $3 \cdot 10^8 - 10^{11}$ Hz

Hitro sekrevanje povzroča razkroj osnove in možnost učinkovite ekstrakcije sproščenih spojin

Možni izvedbi pri normalnem in povišanem tlaku (visoke temperature!)

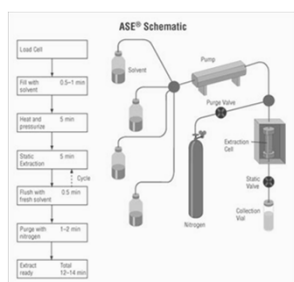


Ekstrakcija z mikrovalovi

- Prednosti:
Kratek čas (20-30 min)
Majhna poraba topil
Visoke temperature
Hkrati lahko ekstrahiramo več vzorcev
- Pomanjkljivosti:
Topilo mora absorbirati mikrovalove
Potrebno je čiščenje ekstraktov večjega števila vzorcev
Cena opreme!

Pospešena ekstrakcija pri povišanem tlaku (PLE)

- Ekstrakcija poteka pri temperaturi nad vreliščem topila pri visokem tlaku (>100 bar)
- Ekstrakte zbiramo sproti
- Lahko jo kombiniramo z drugimi postopki



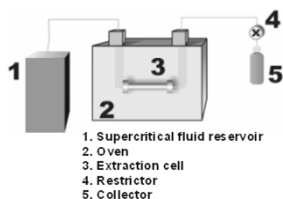
PLE

- Prednosti:
 - hitrost (15 min)
 - majhna poraba topil
 - višje temperature in tlaki
 - možnost avtomatiziranja
 - sekvenčna ekstrakcija večjega števila vzorcev
 - ni potrebno filtriranje
 - možnost kombinacije z drugimi metodami - dinamična PLE
- Pomanjkljivosti:
 - cena opreme
 - ekstrakcijska učinkovitost je odvisna od osnove
 - Potrebno dodatno koncentriranje ekstraktov

Supekrična ekstrakcija

- Superkritični CO₂ (p= 150-450 bar, T= 40-150 °C)
- Lastnosti: med plini in tekočinami; viskoznost, površinska napetost, gostota
- Lahko prodira v trdne vzorce
- Možna uporaba modifikatorjev polarnosti: aceton, metanol, heksan (do 20%)
- Ostale „superkritične“ tekočine H₂O, NH₃, N₂O, CHF₃, ...)

Superkritična ekstrakcija



Superkritična ekstrakcija (CO₂)

- Prednosti: hitrost (>60 min)
izognemo se uporabi toksičnih topil
selektivnost (uravnavanje P in T! in dodajanje modifikatorjev)
majhna poraba topil
ni potrebna filtracija
možnost avtomatiziranja
- Pomanjkljivosti:
omejena množina vzorca (< 10 g)
ekstreakcija odvisna od analize osnove
manj učinkovita za polarne analite
eksperimentalna zahtevnost
cena

Ekstrakcija na trdno fazo

- Uporabljamo jo za tekoče vzorce in /ali čiščenje tekočih ekstraktov, ki jih dobimo z drugimi tehnikami. Postopek temelji na uporabi raznih sorbentov, s katerimi napolnimo kolono.
- Prednosti: majhna poraba topil, kratek čas, dobra ponovljivost
- Težave nastopajo zaradi zamašitve kolone

Mikroekstrakcija na trdno fazo (SPME)

Enostavna in hitra metoda, ki lahko izključuje uporabo organskih topil ter dodatnih postopkov čiščenja. Adsorpcijsko vlakno pomočimo v preiskovano raztopino ali pa ga izpostavimo plinski fazi nad vzorcem

Postopki „čiščenja“

npr. odstranjevanje maščob iz ekstraktov

- Gelska kromatografija GPC, velikostna izključitvena kromatografija SCE Ločevanje molekul na osnovi njihove velikosti s pomočjo gela s poramdefiniranih velikosti. Manjše molekule vstopajo v pore in se zadržujejo nakoloni (ločitev M_f 500 Da)
- Adsorpcijski procesi: sorbenti: Al_2O_3 , SiO_2 , Florisil, PGC frakcioniranje nnepolarnih analitov
- Dializa (ločitev delcev večjih od 500 Da)
- Razkroj motečih komponent (reakcije s kislinami ali bazami)
- Saponifikacija
- Povezovanje različnih tehnik

„Čiščenje vzorca“: Primer

