

Speciacija

Sodoben koncept v analizni kemiji (izraz izvira iz biologije - zvrsti- species)

Specifične oblike kemijskih elementov imajo različno vlogo /pomen

Dobro znana je različna toksičnost organskih in anorganskih oblik –
kositer živo srebro

Razvoj speciacije v analizni kemiji je vezan na razvoj metod za analitiko sledov (60. leta prejšnjega stoletja)

Pomen speciacije

- Kemijske oblike določajo toksičnost
- Kemijske oblike določajo mobilnost elementov v okolju

Frakcionalizacija

Klasifikacija analita ali skupine analitov v nekem vzorcu glede na določene fizikalne (velikost, topnost) ali kemijske (reaktivnost, vezava) lastnosti.

Speciacija: definicije

IUPAC

Kemijske zvrsti (chemical species):

Specifične oblike elementa glede na izotopsko sestavo, oksidacijsko število in molekularno strukturo

Speciacijska analiza: analizne strategije, ki omogočajo identifikacijo ali kvantitativno merjenje različnih kemijskih zvrsti v vzorcu.

Speciacija posameznega elementa:

Porazdelitev različnih oblik posameznega elementa v sistemu

Pogosta vprašanja v zvezi s speciacijo:

- Katere zvrsti želimo meriti?
- Kako bomo jemali vzorce, da ne bomo vplivali na spremembo njihove sestave?
- Ali lahko določimo majhne deleže izoliranih posameznih analitov, ki so v izredno majhnih koncentracijah (ultra sledovi!)?
- Kako ob pomanjkanju standardnih spojin za posamezne zvrsti umerimo metode?
- Kako validiramo metode za speciacijo?

Redox states : Se(V)/Se(VI) As(III)/As(V) Cr(III)/Cr(VI) Fe(II)/Fe(III)		Natural high molecular complexes : metallothioneins, phytochelatins, transport proteins, polysaccharides		Organic acids complexes : tartrate citrate nicotianamine	
Metallodrug metabolites : cisplatin, aurofin and their protein complexes, Tc- imaging agents					
Natural methylated species : HgMe ₂ , HgMe ⁺ GeMe ₂		Alkylmetals of anthropogenic origin : PbEt ₄ , PbMe ₄ , PbEt ₄ ⁺ , PbMe ₄ ⁺ SnBu ₃ ⁺ , SnBu ₂ ²⁺ , SnBu ₃ ⁺ SnPh ₃ ⁺ , SnPh ₂ ²⁺ , SnPh ₃ ⁺		Natural organometaloid species : organoselenicals, arsenosugars, seleno amino acids selenoproteins	

Kovine v okolju:

Majhen delež v ionski obliki, pretežno so v obliki kompleksov (anorganski ali organski ligandi)

Primer: Hg

Koncentracija v vodi nekaj ng/L, od tega je metil Hg 1%, ki pa se akumulira v živih organizmih do vrednosti mg/kg, V teh primerih predstavlja metil Hg 90-100% celotne koncentracije Hg.

Kovine v huminskih substancah (velike molekularne strukture)

Toksikološko zanimivi elementi

- Platina
- Živo srebro
- Arzen
- Svinec
- Selen
- Kositer

Redox states :

Se(IV)/Se(VI)

As(III)/As(V)

Cr(III)/Cr(VI)

Fe(II)/Fe(III)

Natural methylated species :

HgMe_2 , HgMe^+
 GeMe_2

Alkylmetals of anthropogenic origin :

PbEt_4 , PbMe_4 , PbEt_{4-n}^{n+} , PbMe_{4-n}^{n+}
 SnBu_3^+ , SnBu_2^{2+} , SnBu_3^+
 SnPh_3^+ , SnPh_2^{2+} , SnPh^{3+}

Natural high molecular complexes :

metallothioneins,
phytochelatins,
transport proteins,
polysaccharides

Organic acids complexes :

tartrate

citrate

nicotianamine

Natural organometalloid species :

organoarsenicals, arsenosugars,

seleno amino acids

selenoproteins

Metallo drug metabolites :

cisplatin, aurafin and their
protein complexes, Tc-
imaging agents

Osnovni problemi v speciacijski analizi

Koncentracij posameznih zvrsti pogosto ni mogoče povezati s celotno koncentracijo analita v vzorcu.

Pogosto posamezne kemijske oblike tudi niso dovolj stabilne, da bi jih kot take tudi določili.

Med postopkom ločevanja se lahko spremenijo oblike (npr. sprememba pH).

V mnogih primerih ločevanja niso možna.

Faktorji, ki vplivajo na strategijo pri izvedbi speciacijske analitike

- Načrtovanje metod glede na cilje
- Sestava vzorcev
- Masni in biološki cikli spojin v okolju
- Stabilnost posameznih zvrsti (UV svetloba, temperatura, vlažnost...), njihove interakcije in transformacije v okolju ali živih organizmih
- Naravna prisotnost, antropogeni vnosi

Zahteve za analizne metode:

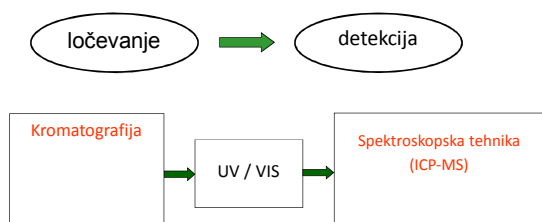
- Metode morajo biti specifične in selektivne
- Zagotovljena mora biti pravilnost pri določevanju v ekstremno nizkih koncentracijskih območjih

Speciacija - analizne tehnike

- Elektroanalizne tehnike: voltametrične tehnike, potenciometrija (iono selektivne elektrode)
- Spektroskopske tehnike v povezavi s separacijskimi pristopi

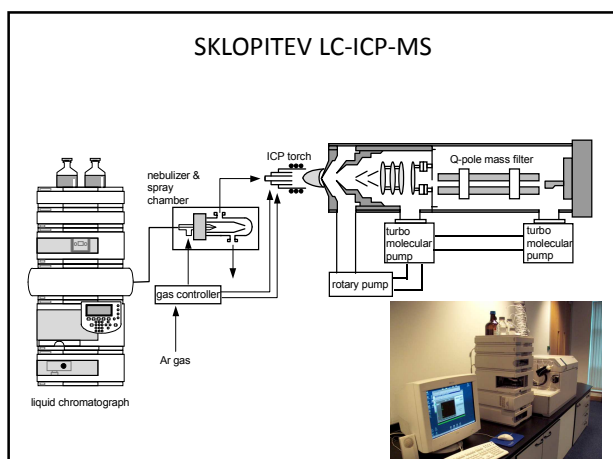
AAS (ETAAS)
ICP-OES
ICP-MS

Povezane tehnike (Hyphenated techniques)



Povezava HPLC- ICPMS

- Relativno enostavna. Potrebna je fizična sklopitev izhoda iz kromatografske kolone z razpršilcem spektrometra.
- Specifične zahteve: čim krajša povezava (širitve vrhov!) in uskladitev pretokov.
- Specifični razpršilniki (koncentrični, mikrokoncentrični, DIN, „micro-mist“, visokotlačni, termospray, „oscilating capillary“) in posebne razpršilne komore.



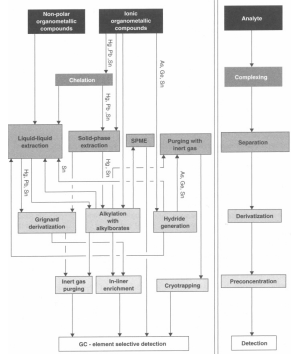
Prednosti ICP-MS pri povezavi z LC glede na druge spektroskopske tehnike

- Ločljivost LC
- Ugodne meje zaznave ICP-MS
- Linearnost
- Možnost izotopske analize
- Odlična natančnost

Povezava

- Glavni problem povezave:
- Visoke koncentracije različnih soli vplivajo na občutljivost
- Izločanje soli na posnemovanlih konusih, prisotnost organskih topil (izločanje ogljika)

Specijacija- priprava vzorcev



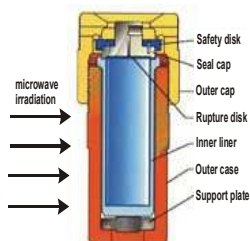
Ultrazvočna ekstrakcija (USE)

- 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 sekvevanje povzroča razkroj osnove in možnost učinkovite ekstrakcije sproščenih spojin

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

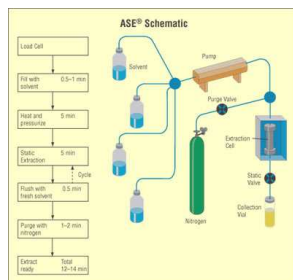


Ekstrakcija z mikrovalovi

- 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)

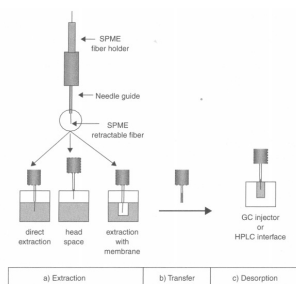
- Ekstrakcija poteka pri temperaturi nad vreliščem topila pri visokem tlaku (>100 bar)
- Ekstrakte zbiramo sproti
- Lahko jo kombiniramo z drugimi postopki



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

Ekstrakcija na trdno fazo

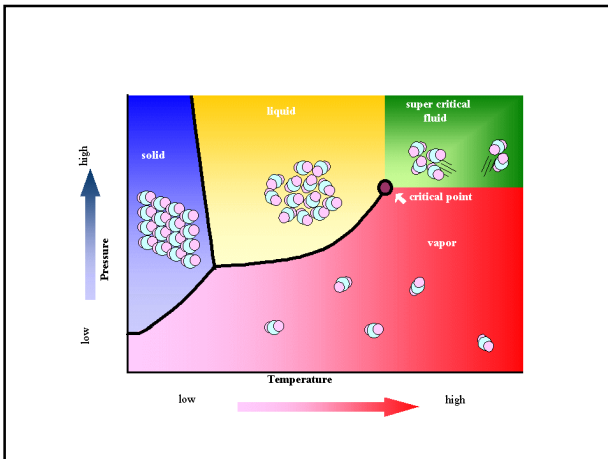


Mikroekstrakcija na trdno fazo (SPME)

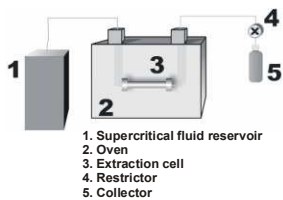
Enostavna in hitra metoda, ki lahko izključuje uporabo organskih topil ter dodatnih postopkov čiščenja. Adsorpcijsko vlakno pomočimo v preiskovano raztopino ali pa ga izpostavimo plinski fazi nad vzorcem

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

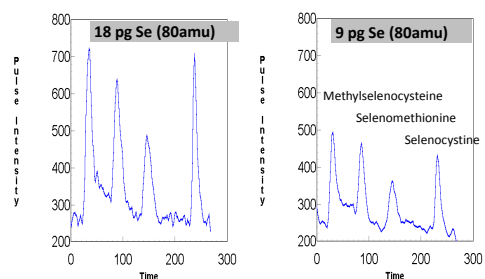


Superkritična ekstrakcija (CO₂)

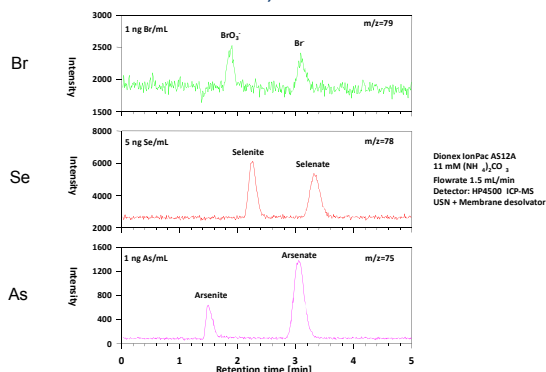
- Prednosti: hitrost (>60 min)
izognemo se uporabi toksičnih topil
selektivnost (uravnavanje P in T! in dodajanje modifikatorjev)
majhna poraba topil
ni potrebna filtracija
možnost avtomatiziranja
- Pomanjkljivosti:
omejena množina vzorca (< 10 g)
ekstreakcija odvisna od analize osnove
manj učinkovita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

Specijacija Se zvrsti

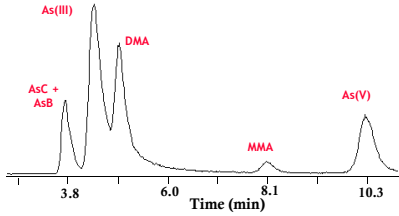
- Meja zaznave
- ~3pg = 15 ng/L pri 200 µg injiciranju



IC-ICP-MS: ločitev P, Se in As zvrsti



ICP-MS speciacijska analiza: Ločitev As zvrsti
(sklopitev LC -ICP-MS)



ICP-MS speciacijska analiza: Ločitev metil in
elementarnega živega srebra

