

Priprava vzorca

Priprava vzorcev

Cilji:

Poenostaviti matrico (biološki material → organsko topilo)

Skoncentrirati analite (določanje sledov)

Delno odločiti moteče spojine

Spremeniti hlapnost → priprava derivatov

Uvedba kromoforjev → lažja detekcija in ločevanje

Priprava vzorcev

lastnosti analitov

hlapnost (destilacija, analiza plinske faze)

polarnost (ekstrakcija, SPME)

lastnosti vzorcev

agregatno stanje (plinasti, tekoči, trdni
vzorci)

sestava (polarne, nepolarne matrike)

Priprava vzorcev

	ANALIT	
vzorec	hlapen ($T_v < 150^\circ\text{C}$)	manj hlapen ($T_v > 150^\circ\text{C}$)
plinast	Adsorpcija (GC)	
	membrane	
	Kondenzacija (GC)	
tekoč	“Headspace” (GC)	ekstrakcija tekoče-tekoče (GC, HPLC)
	membrane	SPE (GC, HPLC)
	“Headspace”SPME (GC)	LC
trden	“Headspace”(GC)	Soxhlet (GC, HPLC)
	“Headspace”SPME (GC)	ASE, SPD, MASE
	Destilacija z vodno paro	SFE

Vzorčevanje plinastih komponent

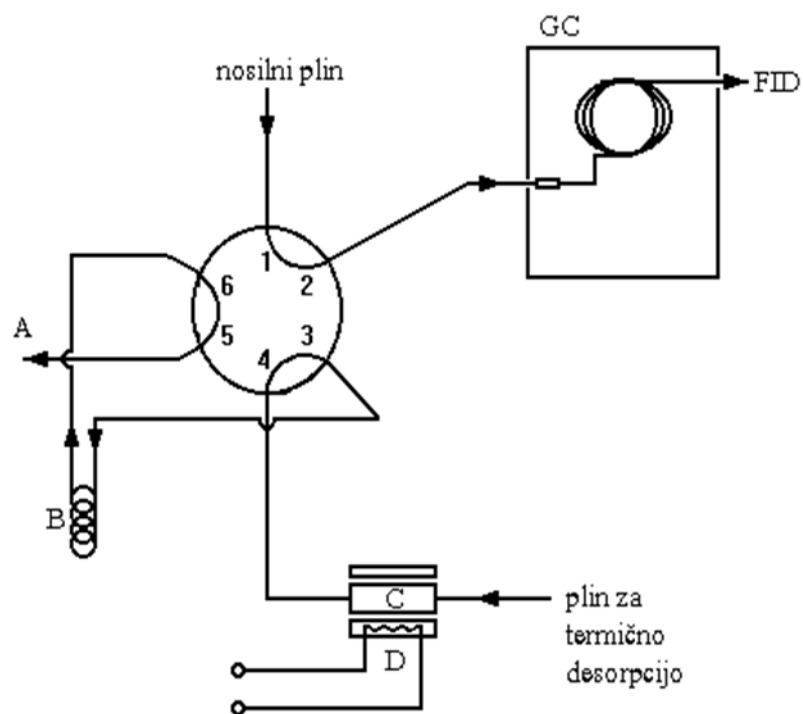
- Koncentriranje analitov, ki so ponavadi v plinu v nizkih konc.
- Adsorpcijske pasti-kolone
Molekularna sita, grafitiziran ogljik, ali org. polimeri
Lahko poteče tudi kemijska reakcija (fenilhidrazin uporabimo za vezavo aldehydov v zraku-hidrazoni)

Desorpcija analitov: termično; vedno tudi kriofokusiranje s topili

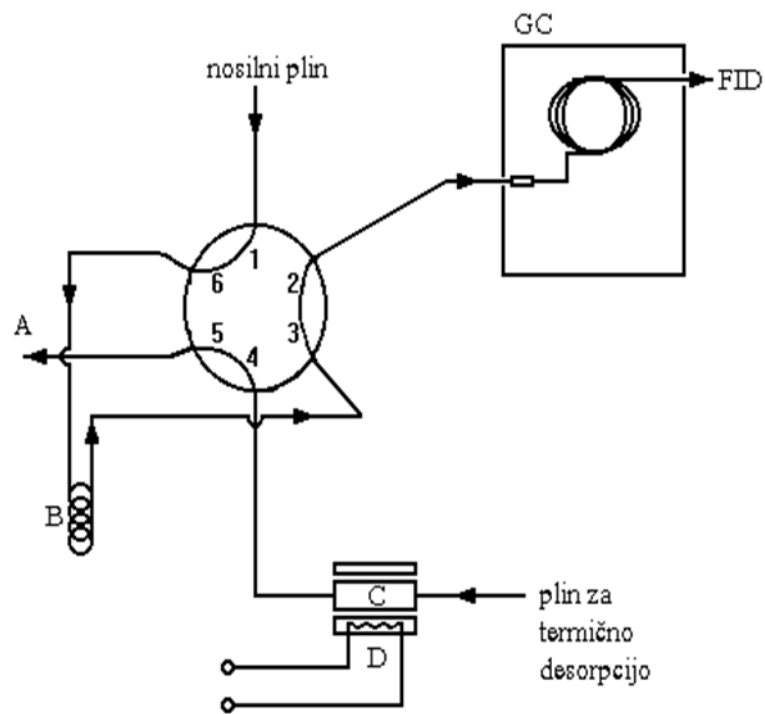
- Hladne pasti (led, suhi led, tek. dušik)

Sistem za merjenje VOC v zraku

Termična desorpcija



Injiciranje



“Headspace” ekstrakcija -HS

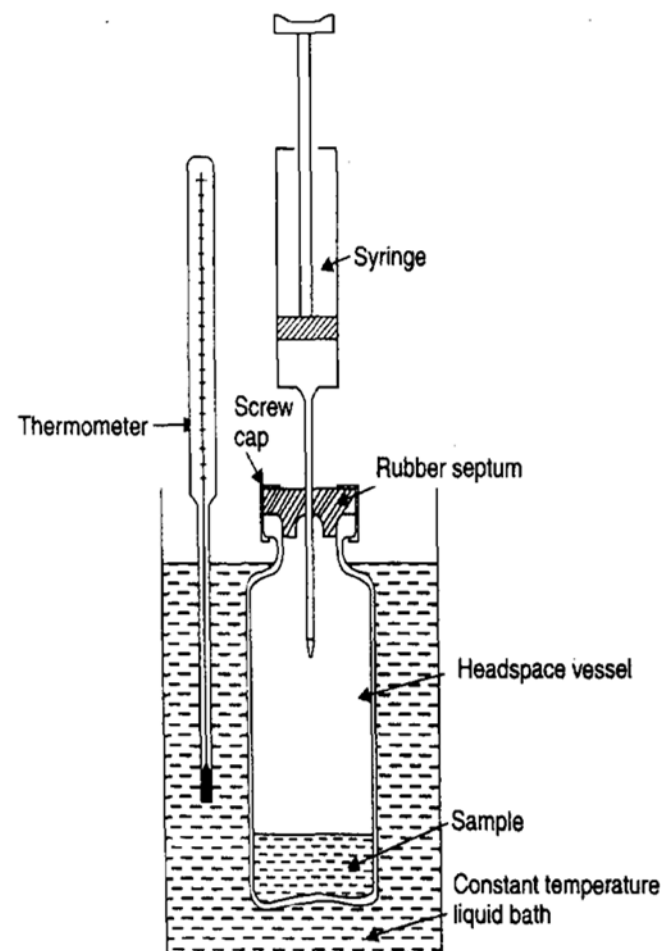
Porazdelitev snovi iz tekoče/trdne v plinsko fazo in analiza alikvotnega dela plinske faze (1mL)

Učinkovitost določata porazdelitveni koeficient K in fazno razmerje β

$$A \sim c_g = \frac{c_0}{K + \beta}$$

$$\beta = V_p/V_t$$

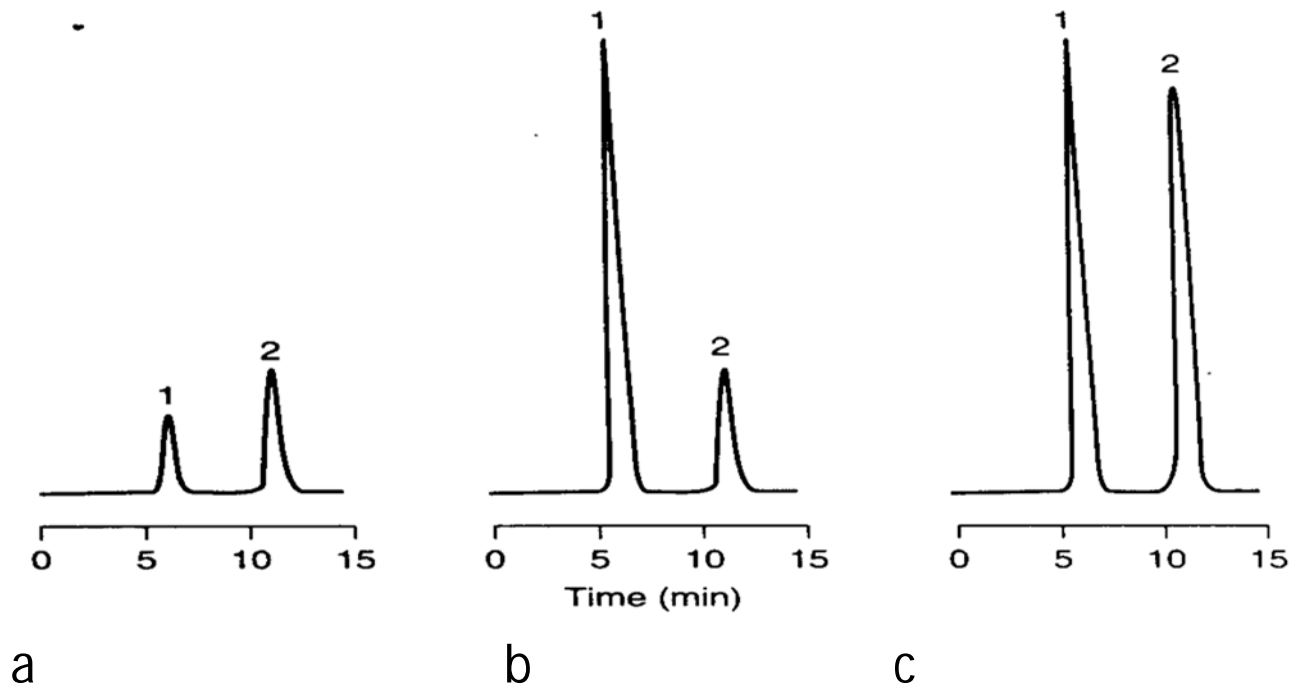
A - ploščina vrha



Analiza alikvotnega dela plinske faze

Vpliv temperature na c_g

Kvantitativna analiza



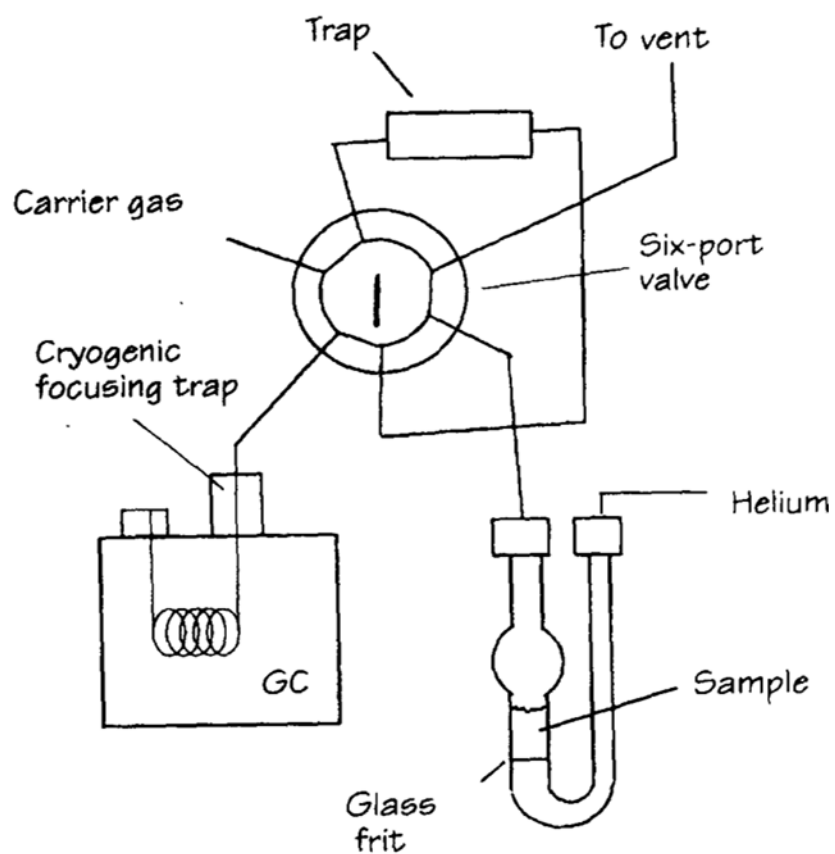
Vpliv na A ; vzorec 0,002% cikloheksana in 0,1% 1,4dioksana v vodi v 22mL posodici

a) $V_v = 1\text{mL}; \beta = 21$

b) $V_v = 5\text{mL}; \beta = 3,5$

c) enako kot b in 2g NaCl

Dinamični HS - "Purge and trap"



LOD NIŽJA

**Pomembna
optimizacija**

L-L ekstrakcije - količina topila

- Makro ekstrakcije - koncentriranje nečistot
Koncentriranje s plinom pri sobni temperaturi
Koncentriranje v Kuderna-Danish aparatu
- Nekaj mL topila
- izbira topila
- Soxhlet ekstrakcija

Ekstrakcija na trdno fazo, SPE

Ekstrakcijske kolone

Različnih dimenzij-kapacitete

Steklene-polipropilen

Polnilo enako kot v HPLC kolonah

Možno kombiniranje ekstrakcijskih kolon

Delci polnila do $40\mu\text{m}$

KONCENTRIRANJE (spojine v vodi)

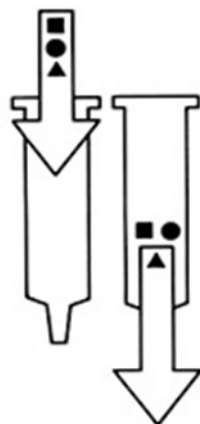
ODSTRANJEVANJE MATRICE

(biološki material-urin, serum, rastlinski ekstrakti)

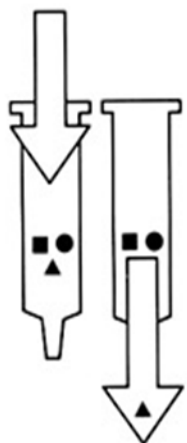




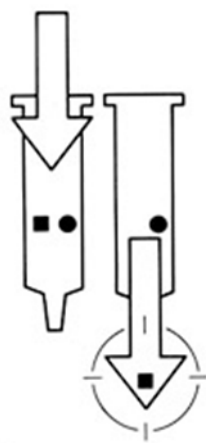
Kondicioniranje
ekstrakcijske kolone



nanašanje vzorca



Eluiranje neželenih komponent



eluiranje analita

ročna
izvedba,
avtomatska
izvedba

Problem:

**Ekstrakcija zelo
nepolarnih spojin
 $\log K_{ow} > 5$**

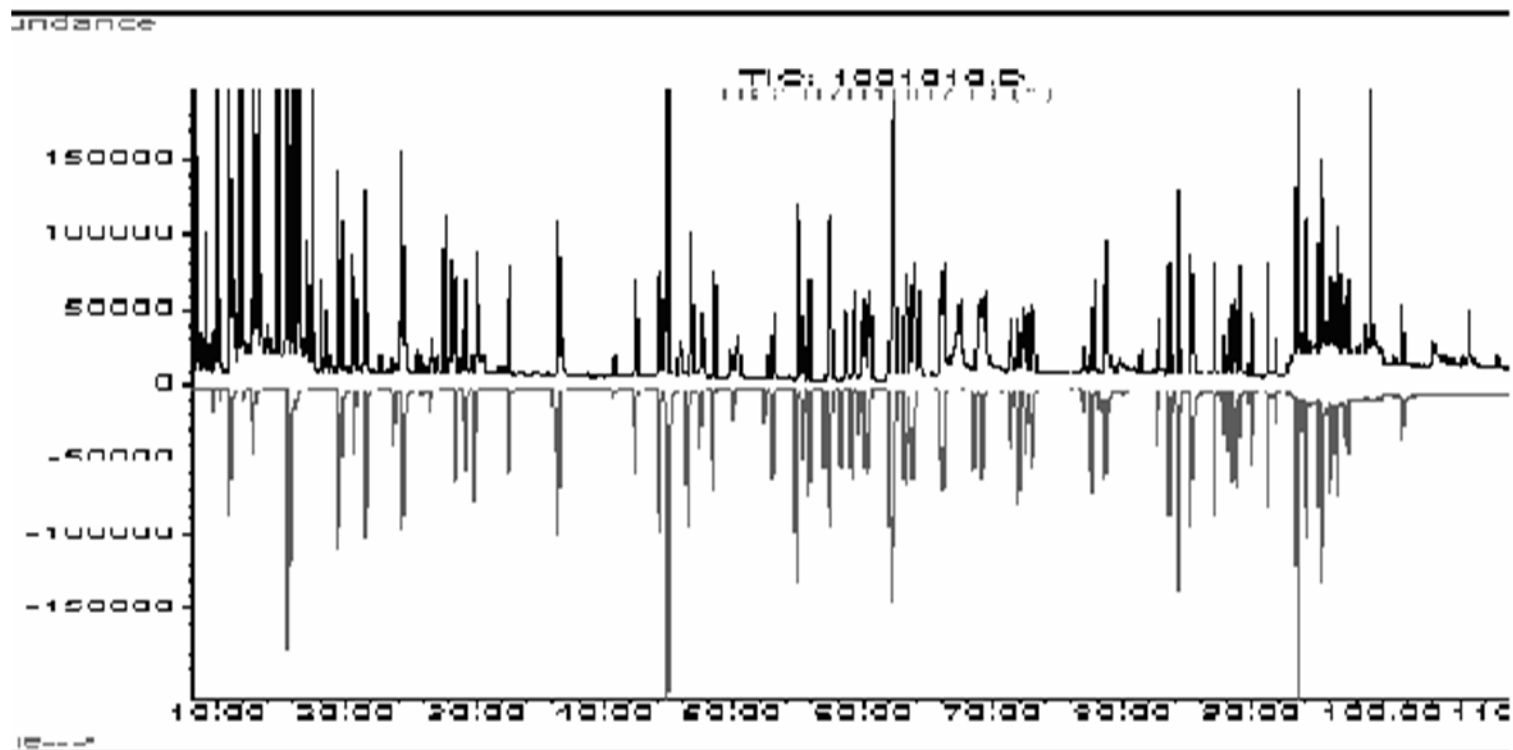
**Z dodatkom
org. topila zmanjšamo
adsorpcijo
(DDT, PAH)**

Izbira ekstrakcijske kolone-diskov

- **Analit (POLARNOST), količina - kapaciteta ekstrakcijske kolone - preverimo z modelnimi raztopinami**
- **VZOREC**
- **Ekstrakcijske kolone za enkratno uporabo?**
- **Izkoristek ekstrakcije odloča o izbiri kolone!**

- **DISKI**
- **Ekstrakcijski material vgrajen v teflon**
- **Potrebna dodatna oprema**
- **Delo z večjimi pretoki-hitrejši nanos vzorca**
- **Kondicioniranje in elucija enaka kot pri ekstrakcijskih kolonah**

SPE- kompliciranih ekstraktov



SIM kromatograma ekstrakta mandarin (0,20 mg/kg) po koncentriranju na LiChrolut EN koloni z dodatkom šibkih anionskih izmenjalcev (DEA) (zgoraj) in ustrezne standardne raztopine v acetonu (spodaj)

Avtomatizirana SPE (in-line)

- Vzorec nanašamo na ekstrakcijsko kolono
optimizacija pretoka, zadrževanja preiskovanih spojin
- Elucija ekstrahiranih spojin z mobilno fazo
- Ekstrakcijska kolona ne sme povečati V_m !

Primerjava LOD (off-line - in -line)

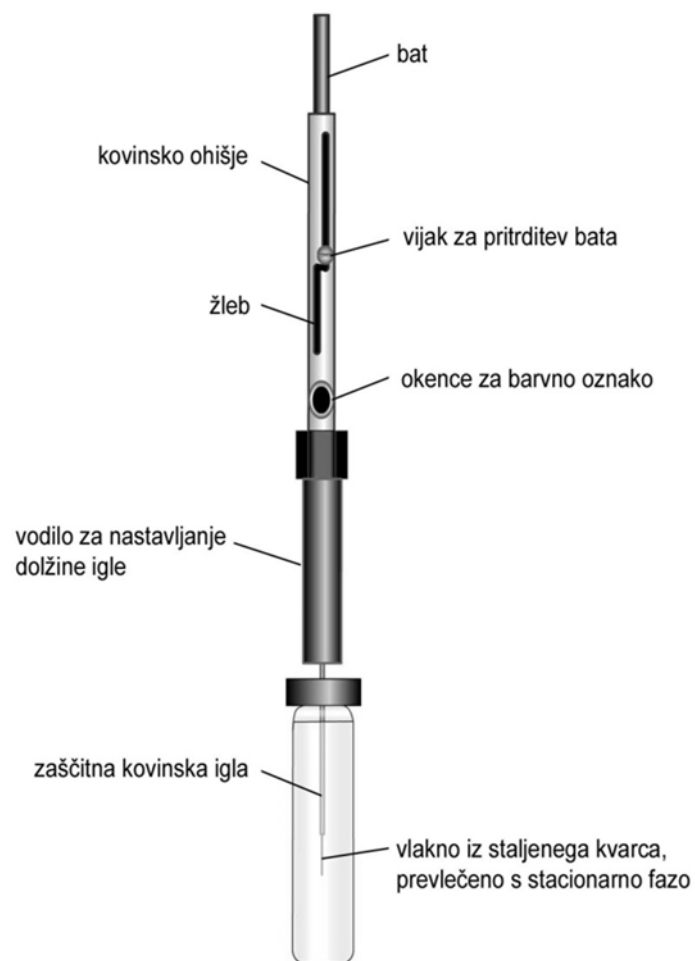
Določanje analita v vodi ($1\mu\text{g/L}$)

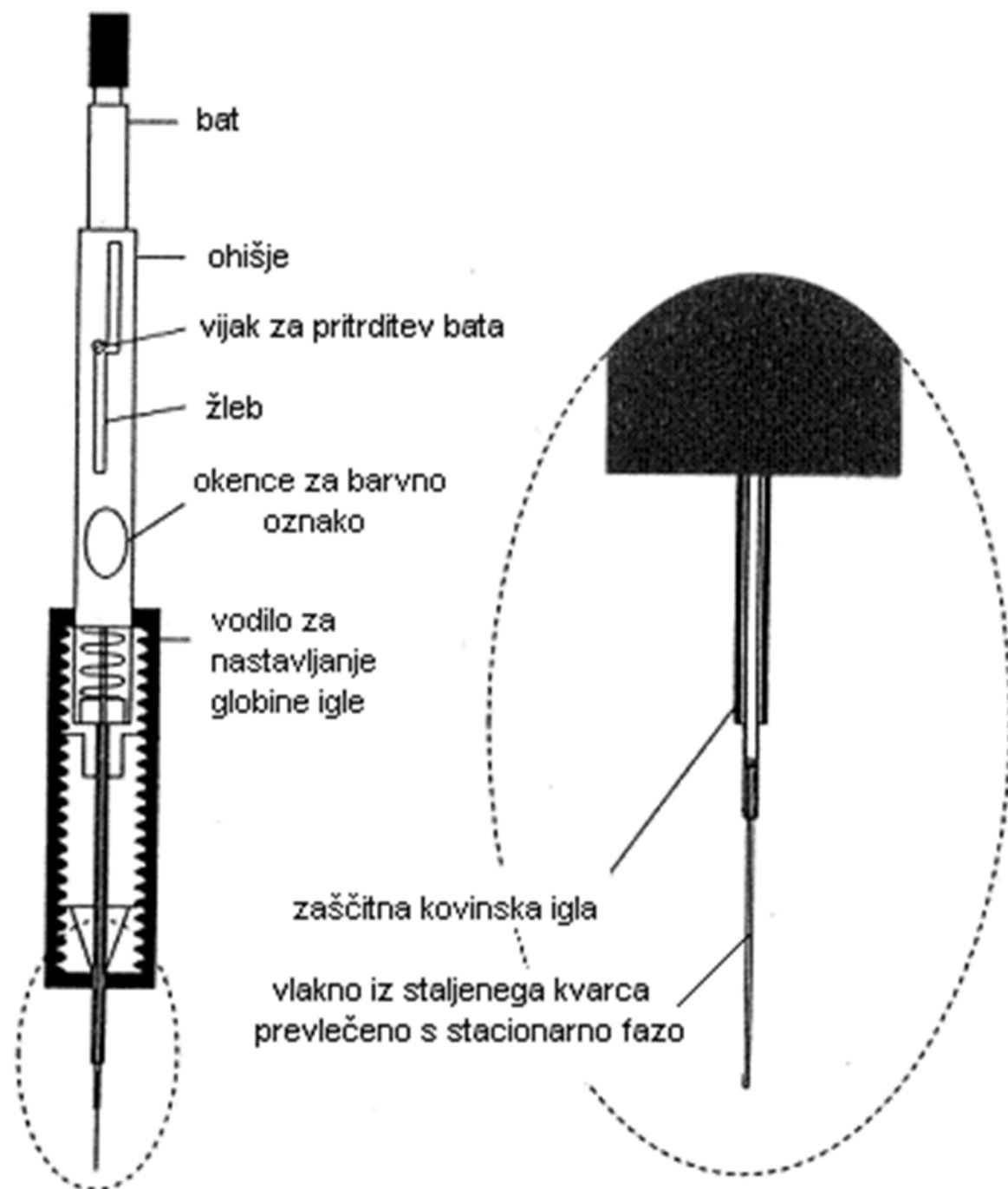
1L ekstrahiramo $\rightarrow 1\ \mu\text{g/mL}$ (ob 100% ekstrakciji)
vbrizgamo $50\ \mu\text{L}$ $\rightarrow 50\text{ng}$ na koloni

50ml ekstrahiramo $\rightarrow 50\text{ng}$ na SPE $\rightarrow 50\text{ng}$ na koloni

Zahtevna optimizacija!

Mikroekstrakcija na trdno fazo-SPME





SPME - VLAKNA

PDMS- različnih debelin za nepolarne manj hlapne spojine

PDMS/DVB amini, nitro spojine, polarnejše spojine

Carboxen/PDMS zelo hlapne spojine

DVB/Carboxen arome

Za učinkovitejšo ekstrakcijo in kromatografsko analizo lahko uporabimo derivatizacijo

Reagent za derivatizacijo je lahko na vlaknu!

Priprava vzorcev

	ANALIT	
vzorec	hlapen ($T_v < 150^\circ\text{C}$)	manj hlapen ($T_v > 150^\circ\text{C}$)
plinast	Adsorpcija (GC)	
	membrane	
	Kondenzacija (GC)	
tekoč	“Headspace” (GC)	ekstrakcija tekoče-tekoče (GC, HPLC)
	membrane	SPE (GC, HPLC), SPME (GC)
	“Headspace”SPME (GC)	LC
trden	“Headspace”(GC)	Soxhlet (GC, HPLC)
	“Headspace”SPME (GC)	ASE, SPD, MASE
	Destilacija z vodno paro	SFE

Določanje hlapnih analitov v trdnih vzorcih

- Enako kot v tekočinah ("head space" analiza, "purge and trap")
- SPME iz plina nad trdnim vzorcem;
- trdni vzorec raztopimo in določamo hlapne spojine nad raztopino

Priprava vzorcev

Poenostaviti matrico (biološki material → organsko topilo)

Kakšno topilo je najprimernejše? GC-HPLC (sušenje ekstrakta in zamenjava topila)

Skoncentrirati analite (določanje sledov)

Izkoristki za vsak analit (so lahko različni)

Analiza slepih vzorcev in vzorcev z znano vsebnostjo analitov

Delno odločiti moteče spojine

Interference na kromatogramih - izkoristki nad 100%

Spremeniti hlapnost → priprava derivatov

Dodatne kemijske reakcije ponavadi znižajo izkoristke!

Uvedba kromoforjev → lažja detekcija

Kvantitativno določanje analitov v kompleksnih vzorcih

- Uporaba internih standardov, ki jih dodamo direktno v vzorcu
- Interni standard mora imeti podobne lastnosti kot analit!
- Najboljši interni standardi-**izotopsko označene organske spojine** (obvezna uporaba MS detektorjev)