

EKSTRAKCYJA DO FAZY STAŁEJ (SPE)

Instrukcja do ćwiczeń opracowana w Katedrze Chemii Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego.

Celem procesu analitycznego jest uzyskanie informacji o interesującym nas przedmiocie analizy bądź substancji. Ze względu na rodzaj substancji oraz informacje jakie chcemy o niej uzyskać, konieczne staje się stosowanie różnych technik analitycznych. W większości przypadków trzeba pobrać część przedmiotu analizy i przetransportować do laboratorium. Zazwyczaj pobrana próbka wymaga jeszcze odpowiedniego przygotowania, przed wprowadzeniem do przyrządu pomiarowego. Do najważniejszych etapów procesu analitycznego zalicza się: pobieranie próbki, jej zabezpieczenie, przygotowywanie próbki do analizy i analizę końcową.

Pobieranie próbki

Próbkę pobiera się z obiektu, który chcemy poddać analizie. Obiekt poddawany analizie może być w stanie gazowym, stałym lub ciekłym. Może to być materiał biologiczny lub substancja nieorganiczna. Dla konkretnego obiektu stosuje się więc odpowiedni sprzęt oraz sposób pobierania próbki. Jednakże przy każdym pobieraniu próbki należy pamiętać, aby była ona reprezentatywna. Próbkę pobiera się z obiektu analizy w taki sposób, aby odzwierciedlała skład chemiczny całego obiektu. W niektórych przypadkach, szczególnie gdy obiekt jest duży i ma zróżnicowany skład chemiczny, konieczne staje się kilkakrotne pobranie próbki z różnych rejonów badanego obiektu.

Zabezpieczanie próbki

Ten etap procesu analitycznego jest prawie zawsze konieczny, ze względu na czas niezbędny na przetransportowanie próbki do laboratorium i przygotowanie się do analizy. W tym czasie próbka musi zostać zabezpieczona w taki sposób, aby nie straciła swoich fizycznych i chemicznych właściwości. Bez tego etapu nigdy nie mielibyśmy pewności czy próbka nadal reprezentuje badany obiekt. Dla różnych próbek stosuje się odmienne metody zabezpieczania, co związane jest z ich właściwościami. Stosuje się więc odpowiednie opakowania, utrzymuje właściwą temperaturę i dodaje substancje zabezpieczające. Należy również przestrzegać ściśle określonego czasu przechowywania próbki. Nawet odpowiednio

zabezpieczona próbka musi zostać poddana analizie w określonym czasie. Czas przechowywania jest różny i oczywiście zależy od właściwości konkretnej próbki. Może to być kilkanaście godzin lub kilka miesięcy, jednakże po tym czasie próbka traci swe właściwości i przestaje reprezentować obiekt analizy.

Przygotowywanie próbki do analizy

W większości przypadków próbka przed wprowadzeniem do przyrządu pomiarowego musi zostać odpowiednio przygotowana, ponieważ niewłaściwe stężenie analitu uniemożliwia jego wykrycie i oznaczenie. Także skład chemiczny czy stan fizyczny próbki może uniemożliwiać analizę. Odpowiednie przygotowanie próbki zazwyczaj pozwala uprościć procedurę analityczną i otrzymać lepsze wyniki analizy. Jest to często najważniejszy a zarazem najtrudniejszy etap procesu analitycznego.

Dużą wadą tego etapu jest jego czasochłonność. Poświęcony czas różni się w zależności od złożoności etapu i od samej próbki. Przyjmuje się, że aż dwie trzecie czasu w chromatograficznym procesie analitycznym pochłania przygotowanie próbki do analizy.

Na tym etapie analizy popełnia się także największą ilość błędów. Przyjmuje się, że przygotowywanie próbki wnosi około 30 % całkowitego błędu z jakim wykonywana jest analiza. Niewłaściwe wykonanie czynności związanych z tym etapem sprawia, że otrzymane wyniki analizy są bezwartościowe. Błędów nie da się całkowicie wyeliminować, ale trzeba dążyć do ich zmniejszenia. W tym celu trzeba zawsze dobierać odpowiednią technikę do danej analizy, co przyczynia się do zwiększenia precyzji. Warto również zmniejszyć ilość procesów wchodzących w skład przygotowywania próbki. Im jest ich więcej tym więcej może powstać błędów. Należy unikać powtarzania tej samej czynności. Dla przykładu jednoetapowe rozcieńczanie jest obarczone mniejszą ilością błędów niż kilkietapowe, co związane jest z błędami odczytu poziomu roztworu w piecu lub kolbie.

Przygotowywanie próbki składa się zazwyczaj z kilku etapów. Ich ilość i rodzaj uzależnione są od rodzaju próbki, składu matrycy, a także od wymaganego do analizy stężenia próbki. Przykładowymi procesami mogącymi się w nim pojawić są: homogenizacja, ekstrakcja, zateżanie, oczyszczanie czy derywatyzacja.

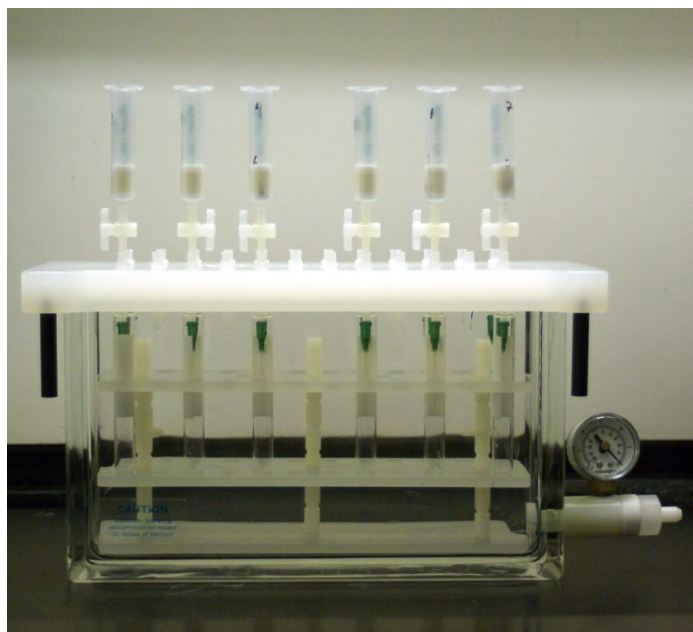
Ekstrakcja

Ekstrakcję można zdefiniować jako rozdzielanie składników roztworu. Dzięki niej możliwe jest wydzielenie składnika, który nas interesuje. Jest kilka rodzajów ekstrakcji. Jednym z nich jest **ekstrakcja ciecz-ciecz**. Często stosuje się ją podczas przygotowywania próbek wodnych. W tym rodzaju ekstrakcji następuje podział analitu będącego cieczą lub ciałem stałym pomiędzy wodę i rozpuszczalnik organiczny. Trzeba dobrać taki rozpuszczalnik, który selektywnie zaabsorbuje analit z roztworu wodnego a nie zaabsorbuje pozostałych składników. Stosuje się tylko bardzo czyste rozpuszczalniki organiczne, które są słabo rozpuszczalne w wodzie i mają dużą lotność. Dzięki małej rozpuszczalności w wodzie zwiększa się efektywność ekstrakcji. Z kolei jego czystość jest istotna z tego względu, że przy następującym po ekstrakcji zateżaniu zwiększa się stężenie zanieczyszczeń, a więc im więcej zanieczyszczeń będzie miał rozpuszczalnik tym większe będzie ich stężenie po procesie zateżania. Ekstrahuje się zazwyczaj nietlotne mikroskładniki. Gdy chcemy wydzielić kilka substancji, wówczas możemy to zrobić grupowo lub selektywnie przy pomocy kilkuetapowej ekstrakcji. Dawniej do ekstrakcji stosowano rozdzielacze. Współczesna aparatura pozwala jednocześnie zateżać ekstrakt.

Zaletą jest możliwość zmniejszenia liczby czynności podczas przygotowywania próbki, co zmniejsza liczbę powstających błędów. Ekstrakcja ciecz-ciecz jest dość prosta w realizacji, nie zabiera dużo czasu i może być zautomatyzowana. Wadą jest konieczność stosowania drogich i bardzo czystych rozpuszczalników. Po takiej ekstrakcji trzeba zateżać roztwór, czyli należy odparować rozpuszczalnik. Niestety w trakcie odparowywania może dojść do utraty części analitu co jest zjawiskiem niepożądanym.

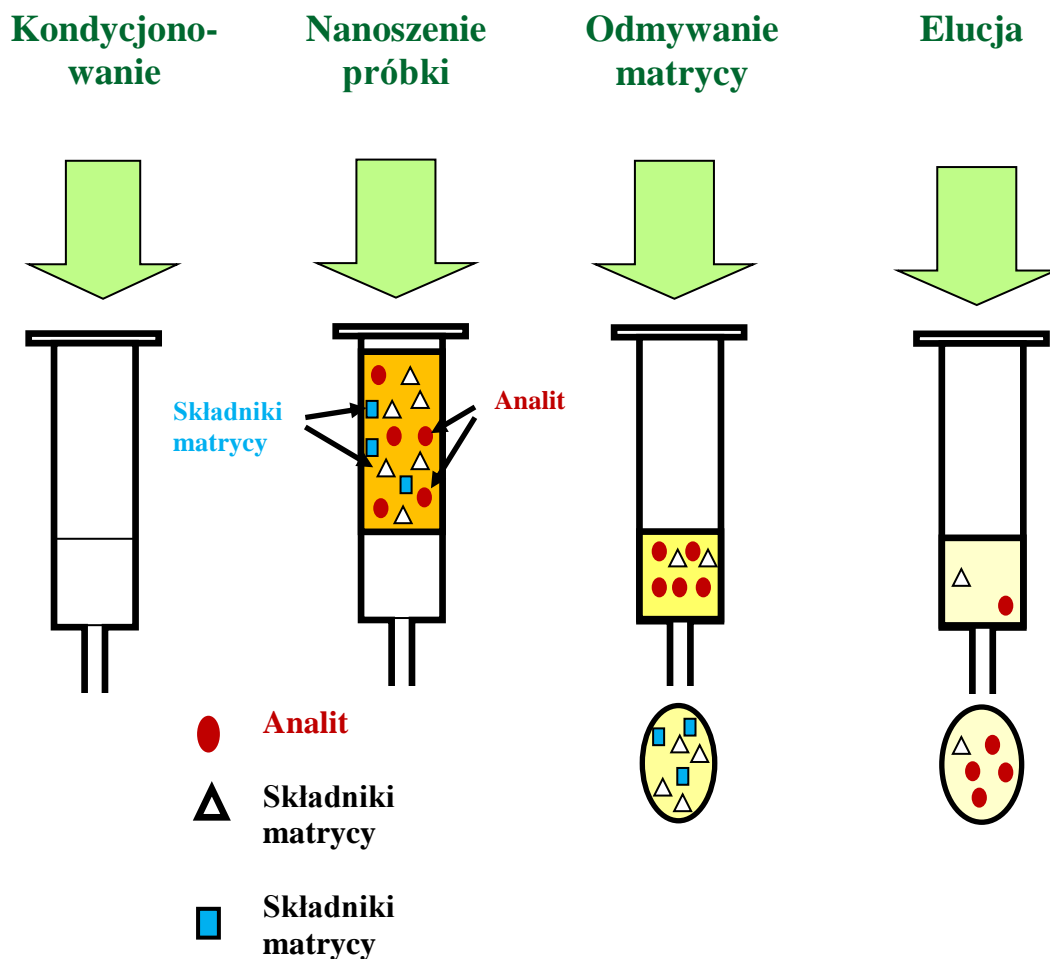
Ekstrakcja ciecz-ciało stałe to kolejny jej rodzaj. Inna nazwa to ekstrakcja do fazy stałej (ang. Solid Phase Extraction – SPE).

Poniżej przedstawiono typowy aparat stosowany podczas ekstrakcji do fazy stałej.



Stosowana jest często w przygotowywaniu próbek poddawanych w następnej kolejności analizie chromatograficznej. Umożliwia oddzielenie analitu od matrycy a następnie jego zatężenie. Ten rodzaj ekstrakcji polega na przepuszczeniu roztworu analizowanej próbki przez kolumnkę ekstrakcyjną, w której znajduje się złożo adsorbentu. W wyniku tego anality zostają zaadsorbowane na cząsteczkach złoża. Kolejną czynnością jest przemycie kolumnki, aby pozbyć się zanieczyszczeń lub przynajmniej ich części. Następnie wymywa się zaadsorbowane anality przy pomocy niewielkiej ilości odpowiednio dobranego rozpuszczalnika. Bardzo ważne jest dobranie odpowiedniego wypełnienia kolumnki oraz rozpuszczalnika do elucji. Jest bardzo dużo adsorbentów stosowanych do tego rodzaju ekstrakcji. Popularne są adsorbenty na bazie krzemionki np. C₁₈ (oktadecyl na żelu krzemionkowym), Florisil oraz żel krzemionkowy. Stosuje się także różnego rodzaju polimery i odpowiednio przygotowane węgle aktywne, sadze i zeolity.

Typowy schemat postępowania podczas ekstrakcji do fazy stałej



Do wymywania analitów ze złoża wykorzystuje się rozpuszczalniki organiczne, rzadziej substancje w stanie nadkrytycznym. Zamiast wymywać anality można je zdesorbować termicznie. Tak zdesorbowane anality mogą zostać wprowadzone wraz z gazem nośnym bezpośrednio do chromatografu gazowego. Wadą desorpcji termicznej jest ograniczenie jej stosowania do substancji trwałych termicznie i niezbyt silnie związanych ze złożem adsorbentu. Ponadto zmniejsza się wybór wypełnienia kolumny, ponieważ adsorbent też musi być odporny na działanie wysokiej temperatury.

Ekstrakcja do fazy stałej jest dość tania i łatwa do wykonania przy użyciu prostej aparatury. Przy odpowiednim doborze rozpuszczalnika i rodzaju złoża umożliwia wyodrębnienie bardzo wielu substancji m.in. pestycydów, węglowodorów policyklicznych i węglowodorów wielopierścieniowych. Niewątpliwą zaletą tej techniki jest oczyszczenie próbki z zanieczyszczeń przy jednoczesnym jej zateżeniu. Umożliwia to zmniejszenie czynności

wykonywanych podczas przygotowywania próbki. Dodatkowo, używając większej ilości kolumnienek z różnymi adsorbentami, można wstępnie rozdzielić anality na grupy związków. Ten rodzaj ekstrakcji umożliwia wyodrębnianie substancji z matrycy wodnej podobnie jak ekstrakcja w układzie ciecz-ciecz, ale pozwala na uzyskanie lepszych wyników przy wydzielaniu i zateżaniu analizowanych substancji. Ekstrakcję ciecz-ciało stałe można również stosować do pobierania próbek. Substancje zaadsorbowane na kolumnie łątwo się transportuje i mogą być przechowywane w ten sposób długo bez wpływu na wynik analizy.

Wadą SPE jest to, że ekstrakcja przy użyciu kolumnienek wymaga niekiedy sporo czasu, co związane jest z ograniczoną prędkością przepływu cieczy przez złożę. W celu minimalizacji ograniczeń ten rodzaj ekstrakcji został także zautomatyzowany, co znacznie polepszyło precyzję i szybkość wykonywania poszczególnych operacji.

Celem ćwiczenia jest określenie wpływu objętości eluentu, jego składu oraz ilości nanoszonego materiału na wydajność ekstrakcji α -naftolu z zastosowaniem SPE w odwróconym układzie faz.

Odczynniki i aparatura

Roztwór α -naftolu o stężeniu 0,0001 mmol/l

Izopropanol

Metanol

Woda dejonizowana

Spektrofotometr UV-Vis

System do ekstrakcji do fazy stałej

Kolumnienki ekstrakcyjne Strata C18-U, 200 mg/3ml (phenomenex)

Pipety

Zlewki

Kuweta kwarcowa

Probówki polipropylenowe

Wymagane środki ostrożności

- ✓ W trakcie wykonywania ćwiczenia student powinien nosić odzież ochronną.
- ✓ Roztworów nie należy wdychać i pipetować ustami.
- ✓ Identyfikacja zagrożeń (Klasyfikacja zgodnie z dyrektywami UE 67/548/EWG lub 1999/45/WE):
 - Metanol - F Produkt wysoce łatwopalny R11, T Produkt toksyczny R23/24/25, R39/23/24/25
 - Izopropanol - F Produkt wysoce łatwopalny R11, Xi Produkt drażniący R36 R67
 - Naftol - Działa bardzo toksycznie na organizmy wodne. Działa szkodliwie przez drogi oddechowe i po połknięciu.
- ✓ Pierwsza pomoc:
 - w razie kontaktu ze skórą: spłukać dużą ilością wody.
 - w razie kontaktu z oczami: przepłukać dużą ilością wody, przy szeroko otwartej powiece.
 - jeżeli osoba poszkodowana oddycha, przenieść na świeże powietrze. Jeżeli osoba poszkodowana nie oddycha, zastosować sztuczne oddychanie. Zasięgnąć porady medycznej.
 - w przypadku wystąpienia podrażnień skontaktować się z lekarzem.
 - w razie spożycia: przepłukać usta wodą.

Dokładne instrukcje postępowania są zawarte w dołączonych kartach charakterystyk substancji.

Wykonanie ćwiczenia

Przygotować po 5 ml roztworów izopropanolu w wodzie o stężeniu 10, 20, 30, 40, 50 i 60 % (v/v). W analogiczny sposób przygotować roztwory metanolu o stężeniu 50, 60, 70, 75, 85 i 90 % (v/v).

W celu skondycjonowania złoża przez 6 kolumniek ekstrakcyjnych przepuścić po 2 ml metanolu, nie dopuszczając do przesuszenia fazy stacjonarnej.

- a) Po zakręceniu kraników na kolumniki nanosić kolejno po 1 ml roztworu α -naftolu o stężeniu 0,0001 mmol/l. Odkręcając kraniki przepuścić przez złożo kolumniek próbki naftolu. Przygotowane wcześniej roztwory eluentu (mieszaniny izopropanol : woda) nanieść w ilości 1 ml na kolumniki, przy zakręconych

kranikach. Po podstawieniu pod kolumnienki probówek polipropylenowych i odkręceniu kraników przepuścić roztwory przez złożę.

W następnej kolejności należy zmierzyć absorbcję uzyskanych roztworów przy długości fali 295 nm. Zmierzyć także absorbcję roztworu α -naftolu o stężeniu 0,0001 mol/l. Przyjmując absorbcję roztworu α -naftolu o stężeniu 0,0001 mol/l jako 100 % obliczyć wydajności ekstrakcji dla poszczególnych kolumnienek.

- b) W analogiczny sposób wykonać ekstrakcję i pomiary absorbcji stosując jako eluent mieszaniny metanol : woda, a następnie obliczyć wydajność ekstrakcji dla poszczególnych kolumnienek.

Opracowanie wyników

Na podstawie obliczonych wydajności ekstrakcji wykonać wykresy zależności absorbcji od stężenia izopropanolu i metanolu w eluencie. Wyciągnąć wnioski z przeprowadzonego eksperymentu.