

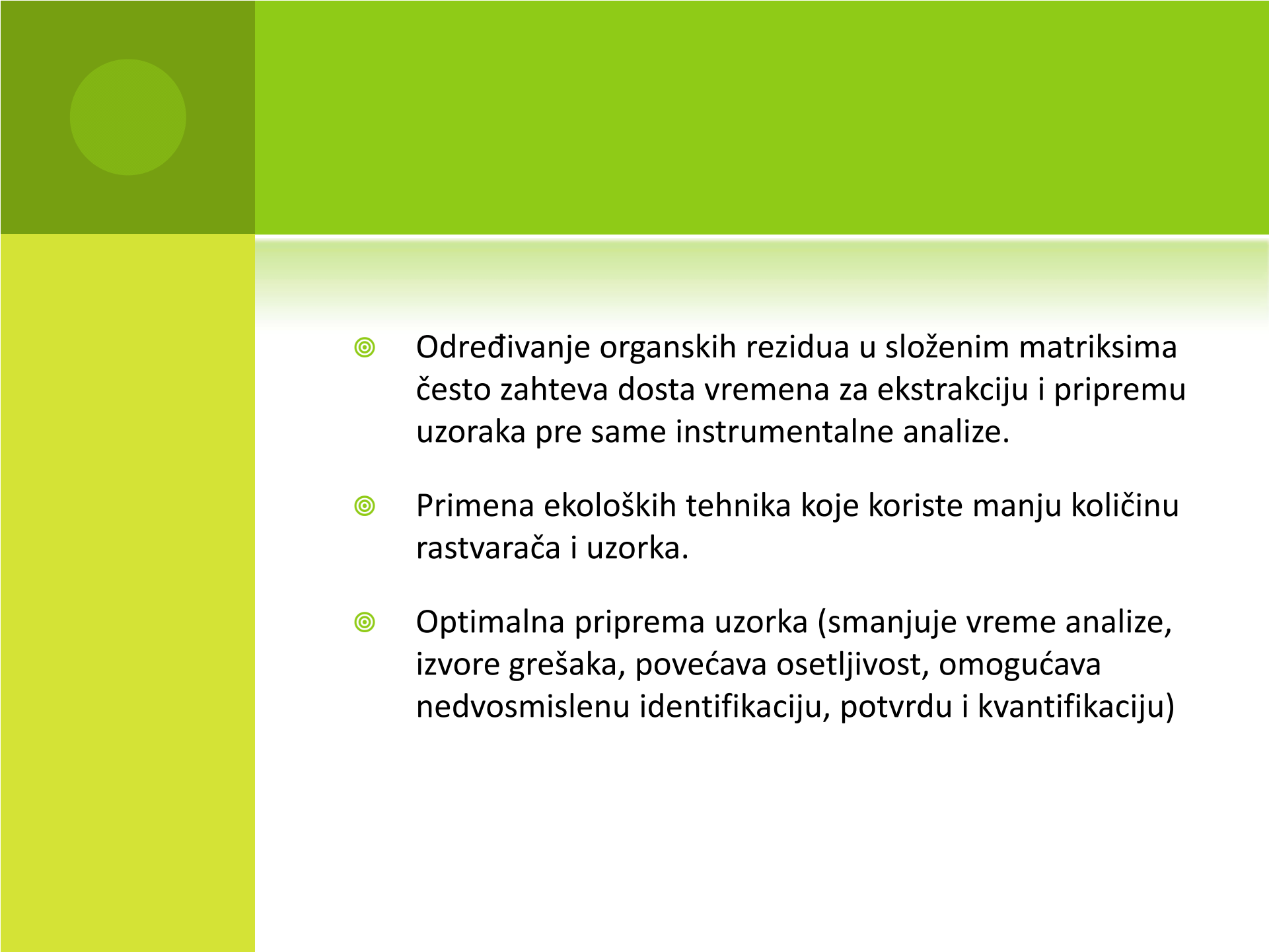


UNIVERZITET U NOVOM SADU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
DEPARTMAN ZA HEMIJU, BIOHEMIJU
I ZAŠTITU ŽIVOTNE SREDINE



NOVI TRENDОВI U PRIPREMI UZORAKA ZA ANALIZU ORGANSKIH POLUTANATA

Anita Leovac
Water Workshop 2011

- 
- ⊙ Određivanje organskih rezidua u složenim matriksima često zahteva dosta vremena za ekstrakciju i pripremu uzoraka pre same instrumentalne analize.
 - ⊙ Primena ekoloških tehnika koje koriste manju količinu rastvarača i uzorka.
 - ⊙ Optimalna priprema uzorka (smanjuje vreme analize, izvore grešaka, povećava osetljivost, omogućava nedvosmislenu identifikaciju, potvrdu i kvantifikaciju)

INSTRUMENTALNA ANALIZA UZORAKA

HROMATOGRAFIJA

GC

LC

HPLC, UPLC

KVANTIFIKACIJA -DETEKTORI-

ECD

MS

FID, NPD, TOF

Tehnike pripreme uzoraka (ekstrakcija i prečišćavanje)

Tečno-tečno
ekstrakcija

Mikroekstrakcija na
čvrstoj fazi

Ekskluziona
hromatografija

Mnogo pristupa – više ciljeva:
Efikasna ekstrakcija željenih
komponentata,
I izolacija rezidua iz matriksa
da bi se smanjio njegov uticaj
usled ko-ekstrakcije jedinjenja
kao što su masti, pigmenti,
šećeri, karboksilne kiseline.

Mikrotalasna
ekstrakcija

Čvrsto –tečno
ekstrakcija

Superkrična fluid-
ekstrakcija

QuEChERS

TEČNO-TEČNO EKSTRAKCIJA

- Tečno –tečno ekstrakcija se koristi za razdvajanje organskih jedinjenja iz vodenih smeša primenom rastvarača koji su nemešljivi sa vodom.

FAZE:

- 1. Mešanje sa organskim rastvaracem
- 2. Odvajanje organske faze
- 3. Koncentrisanje (uparavanje) ekstrakta
- 4. Rekonstituisanje suvog ostatka
- Detekcija / merenje

Rastvarači : petrol-etar, etilacetat, metilenhlorid, toluen itd.

Jedinjenja: PCB, pesticidi, herbicidi...



PREDNOSTI I NEDOSTACI

Prednosti:

- ⊙ Lako manipulisanje aparaturom
- ⊙ Kontinualan proces

Nedostaci:

- ⊙ Dugotrajna i komplikovana procedura
- ⊙ Veće zapremine organskih rastvarača
- ⊙ Stvaranje emulzija
- ⊙ Ekstrakti vlažni - tragovi vodene faze
- ⊙ Potrebno dodatno koncentrisanje

ČVRSTO-TEČNO EKSTRAKCIJA

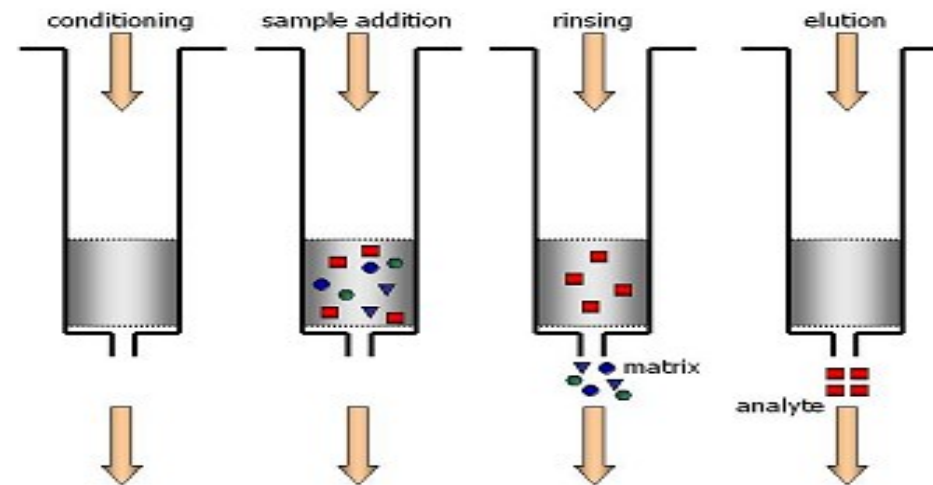
⊙ Princip čvrsto-tečne ekstrakcije je sličan kao i kod tečno-tečne i uključuje podelu rastvora između dve faze.

⊙ Međutim, umesto dve nemešljive tečne faze kao kod tečno-tečne, čvrsto-tečna ekstrakcija podrazumeva podelu između tečne (uzorak matriksa ili rastvora sa analitima) i čvrste (sorbent) faze.

⊙ Postupak i mehanizmi ekstrakcije:

- ⊙ 1. kondicioniranje kolone
- ⊙ 2. unošenje uzorka
- ⊙ 3. ispiranje sorbenta
- ⊙ 4. eluiranje

⊙ Jedinjenja: pesticidi, PAH, PCB



SORBENTI

⊙ Najčešće korišćene grupe sorbenata:

⊙ 1. hemijski modifikovan silika gel

Površina silika gela je heterogena sa raznim silnanolnim grupama, obično je modifikovana i sadrži različite funkcionalne grupe; nepolarne (C18), polarne (NH₂) i jonske (C8)

⊙ 2. polimerni sorbenti

Kopolimeri stirena ili divinilbenzena, XAD-smole...

⊙ 3. grafitni ili porozni ugljenik

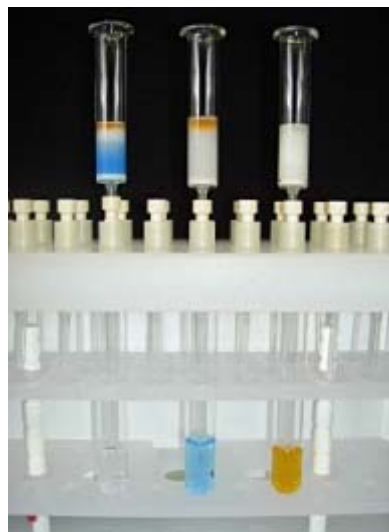
STACIONARNE FAZE

- ❖ Ekstrakcioni diskovi

- ❖ Kertridzi

- ❖ Razlika: kod diskova veća površina na koju se propušta uzorak.

- ❖ Mogu biti punjeni istim adsorbensima.



Prednosti i nedostaci

Prednosti:

- ⊙ Brža priprema uzorka
- ⊙ Veći prinosi
- ⊙ Veća tačnost
- ⊙ Nema stvaranja emulzije
- ⊙ Pogodnija za termolabilne uzorke
- ⊙ Bezbednija za analitičara
- ⊙ Moguća automatizacija

Nedostaci:

- ⊙ Nepotpuno uklanjanje interferenci
- ⊙ Veća cena (aparatura: manifold, pumpa)

QuEChERS

⊙ **Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe**

- ⊙ QuEChERS je s enica za veoma koristan analitički pristup koji znatno pojednostavljuje u, žitaricama.
- ⊙ Procedura koja podrazumeva nekoliko jednostavnih analitičkih koraka koji se lako i brzo obavljaju i malo su osetljivi na greške.
- ⊙ QuEChERS obezbeđuju visok prinos za veliki broj pesticida koji pripadaju različitim hemijskim grupama. Krajnji ekstrakt se može direktno analizirati GC ili LC hromatografijom.

Procedura

10g uzorka + 10 ml
acetonitrila + IS

Intezivno mućkati
1 min

Dodati NaCl, MgSO₄ i
soli za razdvajanje faza i
podešavanje pH

Intezivno promućkati 1
min
Centrifugirati 5
min/3000 rpm

Sirovi ekstrakt

Uzeti alikvot iz gornjeg
organskog sloja + dSPE +
MgSO₄ + PSA sorbent +
uklanjanje vode i ko-
ekstrakata

Intezivno promućkati 1 min
Centrifugirati 5 min/3000
rpm

Krajnji ekstrakt

GC ili LC

SPE vs. QuEChERS

- ⊙ Sa upotrebom QuEChERS jedan analitičar može pripremiti 8 uzoraka za 45 min. koristeći potrošni materijal u vrednosti 1-3 €. Laboratorijska efikasnost je poboljšana, ne samo u pogledu smanjenja rada i potrošnje materijala već i u pogledu analize velikog broja uzoraka, manje količine otpada i potrebe za radnim prostorom.
- ⊙ Pored korišćenja manje rastvarača i materijala u odnosu na konvencionalne SPE metode, QuEChERS omogućuju pogodno, robustno i pojednostavljeno prečišćavanje ekstrakta i poboljšavaju sam protok uzorka.



MIKROEKSTRAKCIJA NA ČVRSTOJ FAZI (SPME)

- Ekstrakcija organskih komponenata iz gasne, vodene, čvrste faze .
- Tehnika je brza i jednostavna – in-situ merenja
- Posebna prednost – nije potrebno korišćenje organskih rastvarača.
- Princip SPME merenja – ekvilibracija analita između organske polimerne faze koja je nanešena na silikatno vlakno i matriksa uzorka.
- Kombinuje se sa gasnom hromatografijom, a najčešće se analiziraju vodeni uzorci.
- Analiza volatilnih komponenti, različitih vrsta pesticida organometalnih jedinjenja, masnih kiselina, i dr.
- Čvrste uzorke moguće analizirati bez obzira na snažan efekat matriksa, a SPME se može povezati i sa tečnom hromatografijom, najčešće kod analize nekih polarnih pesticida.

SUPERKRITIČNA EKSTRAKCIJA

- ⊙ Veliki broj komponenata se može izdvajati iz polaznih tečnih ili čvrstih smeša ekstrakcijom pomoću rastvarača, čije se vrednosti pritiska i temperature održavaju iznad kritičnih. Takvi procesi poznati su kao superkritična ekstrakcija.
- ⊙ Fluidi u superkritičnom stanju imaju znatno veću rastvorljivost i stepen selektivnosti od klasičnih tečnih rastvarača koji se koriste u ekstrakciji.
- ⊙ **Prednosti:**
 - ⊙ kontrola moći rastvaranja nadkritičnog fluida promenom pritiska i temperature;
 - ⊙ lako uklanjanje nadkritičnog fluida iz ekstrakta, snižavanjem pritiska;
 - ⊙ netoksičnost nadkritičnog fluida;
 - ⊙ ekstrahovanje komponenata visokih temperatura ključanja na relativno niskim temperaturama;
 - ⊙ znatno bolje rastvaranje faza, koje nije moguće postići klasičnom ekstrakcijom;
 - ⊙ ekstrahovanje termolabilnih komponenata sa minimalnim deformacijama, zbog rada na niskim temperaturama.
- ⊙ **Nedostaci:**
 - ⊙ rad na relativno visokim pritiscima;
 - ⊙ složena regeneracija korišćenih rastvarača, odnosno znatni energetske troškovi;
 - ⊙ veliku investicioni troškovi za procesnu opremu.

EKSKLUZIONA HROMATOGRAFIJA

- ⊙ **Ekskluziona hromatografija** je metoda separacije kod koje se razdvajanje vrši na osnovu veličine čestica. Stacionarna faza sadrži pore u koje ulaze manje molekule i zadržavaju se, dok veće molekule prolaze.
- ⊙ Ekskluziona hromatografija naziva se još i gel filtracija ili hromatografija na molekularnim sitima. Nezamjenjiva je metoda kada je u pitanju razdvajanje prirodnih makromolekula i drugih polimera
- ⊙ Metoda se bazira na ulasku molekula analita u pore stacionarne faze i različitom vremenu zadržavanja. Metoda se naziva gel filtracija kada je stacionarna faza hidrofilna, a mobilna faza je vodena.
- ⊙ Kada je stacionarna faza hidrofobna, a mobilna faza nevodeni rastvarač naziva se gel-permeacijska hromatografija.
- ⊙ Kod gel-permeacijske hromatografije stacionarna faza je najčešće kopolimer stiren-divinilbenzen. Kod gel filtracije stacionarne faze su gelovi (polivinil alkoholi i vinil-poliacetati).
- ⊙ Pogodna za razdvajanje proteina.

MIKROTALASNA EKSTRAKCIJA

- ⊙ Ekstrakcija pomoću mikrotalasa koristi mikrotalasnu energiju za zagrevanje rastvarača koji je u kontaktu sa čvrstim uzorcima radi prevođenja željenih jedinjenja u rastvor. Ekstrakcije se vrše u otvorenim ili zatvorenim sudovima u kojima rastvarač i uzorak dolaze u kontakt i onda uniformno izlažu mikrotalasnom zračenju. Zbog zapaljivosti rastvarača mora se voditi računa o bezbednosti a posebno o zagrevanju pod pritiskom.
- ⊙ Ekstrakcija pomoću mikrotalasa se koristi kod ekstrakcije prirodnih proizvoda, lekova, aditiva iz polimernog materijala, ugljovodoničnih zagađivača i pesticida.

KAD NEMA PRIPREME UZORKA...

- ⊙ Primer: određene volatilne organske komponente (VOC): etilen, bromoform, hloroform, ksilen...
- ⊙ Uzorak se injektuje direktno na kolonu tj. u gasni hromatograf.
- ⊙ Najčešće korišćena dva injektora su:
 1. purge and trap i
 2. head space.

Purge and trap - barbotiranje gasa sa VOC do adsorbensa - termalna desorpcija - gasni hromatograf

- ⊙ Veća osetljivost
- ⊙ Bolji kvantitativni rezultati
- ⊙ Veliki broj razrađenih standardnih metoda
- ⊙ Kombinacija head space tehnike, adsorpcije na čvrstom materijalu i termalne desorpcije

Head space - uzorak iz gasne faze iznad tečnosti, ide direktno u hromatograf

- ⊙ Jednostavni za upotrebu
- ⊙ Voda ne ometa analizu u velikoj meri
- ⊙ Nisu potrebni trapovi sa adsorbentima
- ⊙ Uzorke je moguće zagrejati radi povećanja isparljivosti
- ⊙ Ne može se desiti gubitak volatilnih komponenti

LITERATURA:

1. DALMACIJA B., (2001), *KONTROLA KVALITETA VODA, PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET, NOVI SAD*
2. *BIZIUK M., ZWIR-FERENC A., (2006), Solid Phase Extraction Technique – Trends, Opportunities and Applications, Polish J. of Environ. Stud. Vol. 15, No. 5.*
3. <http://quechers.cvuastuttgart.de/index.php?nav1o=1&nav2o=0&nav3o=0>

The background features a large yellow rectangle in the top-left corner, a dark green rectangle in the bottom-left corner, and a light green horizontal bar at the very bottom. The rest of the background is white.

HVALA NA PAŽNJI