

Vilniaus universitetas

Vida Vičkačkaitė

**Ekstrakciniai mėginio paruošimo dujų chromatografiniai analizės
metodai**

Vilnius, 2008

Apsvarstė ir rekomendavo spausdinti Chemijos fakulteto taryba (2008-05-30; protokolo Nr. 58)

Recenzavo: habil. dr., prof. Audrius Padarauskas

habil. dr., prof. Stasys Tautkus

Leidinyje glaustai supažindinama su ekstrakcijos teoriniais pagrindais bei pagrindiniais ekstrakciniais mėginio paruošimo dujų chromatografinėi analizei metodais.

Knygelė skiriama chemijos specialybės studentams, besimokantiems dujų chromatografinę analizę.

Turinys

Įvadas.....	4
1. Ekstrakcijos principai.....	4
2. Ekstrakcija skysčiais.....	8
Skysčių-skysčių ekstrakcija.....	8
Skystafazė mikroekstrakcija.....	11
Soksleto ekstrakcija.....	16
Ekstrakcija panaudojant mikrobangas.....	16
Pagreitinta ekstrakcija tirpikliais.....	17
Ekstrakcija skysčiais iš dujinių matricų.....	19
3. Ekstrakcija superkritiniais skysčiais.....	19
4. Ekstrakcija kietais sorbentais.....	24
Kietafazė ekstrakcija.....	26
Kietafazė mikroekstrakcija.....	35
Literatūra.....	45

Įvadas

Vienas iš plačiausiai naudojamų organinių junginių analizės metodų yra dujų chromatografija. Tai greitas, patogus, įgalinantis vienalaikį daugelio analičių nustatymą metodas. Deja, analizuojamų medžiagų koncentracijos dažnai yra per mažos, o mėginiai (biologiniai, aplinkos, maisto produktai) per daug sudėtingi, kad juos būtų galima analizuoti prieš tai analičių nesukoncentravus arba neizoliavus nuo trukdančios matricos. Greitai tobulėjant analičių nustatymo metodams ir aparatūrai, mėginio paruošimas dažnai tampa ilgiausia ir sudėtingiausia analizės stadija, užimančia iki dviejų trečdalių bendros analizės trukmės ir didžiąja dalimi nulemiančia analizės paklaidas. Todėl labai svarbu parinkti tinkamą mėginio paruošimo būdą, įgalinantį kuo greičiau, lengviau bei pigiau atlikti analizę.

Ruošiant mėginius analizei ypač populiarūs įvairūs ekstrakcijos metodai. Klasikiniai skystiems mėginiams ekstrahuoti naudojami ekstrakcijos metodai yra skysčių – skysčių ekstrakcija ir kietafazė ekstrakcija, kietiems – mechaninė ekstrakcija tirpikliais, Soksleto ekstrakcija, ekstrakcija ultragarsu. Tai paprasti, nereikalaujantys sudėtingos aparatūros, tačiau daug laiko užimantys metodai (pvz., Soksleto ekstrakcija gali trukti net 48 valandas). Be to, ekstrahuojant šiais metodais sunaudojami dideli brangių ir toksiškų tirpiklių tūriai. Siekiant išvengti šių trūkumų pasiūlyti miniatiūrizuoti skysčių – skysčių ekstrakcijos ir kietafazės ekstrakcijos variantai – skystafazė mikroekstrakcija bei kietafazė mikroekstrakcija.

Pastaruoju metu yra sukurta keletas naujų, labai perspektyvių ekstrakcijos metodų – ekstrakcija superkritiniais skysčiais, pagreitinta ekstrakcija tirpikliais, ekstrakcija mikrobangų pagalba. Jie žymiai greitesni už klasikinius metodus (trunka tik keletą – keliolika minučių), naudoja daug mažesnius tirpiklių kiekius (paprastai keliolika mililitrų). Antra vertus, jiems reikalinga sudėtinga ir brangi aparatūra.

Šioje mokymo priemonėje ir aptarsime bendruosius ekstrakcijos principus bei įvairius ekstrakcijos metodus, tinkančius mėginio paruošimui dujų chromatografinėi analizei.

1. Ekstrakcijos principai

Ekstrakciją lemia analičių, matricos bei ekstrahento savybės. Analinių transportui tarp dviejų nesimaišančių fazių ypač svarbus garų slėgis, tirpumas, molekulinė masė, hidrofobiškumas ir galima analičių disociacija [1].

Ekstrakcijos metu tirpalas, kuriame yra analizė X, kontaktuoja su kita su juo nesimaišančia faze B. Fazė B gali būti kieta, skysta, dujinė ar superkritinis skystis. Kontakto

metu analitė pasiskirsto tarp nesimaišančių fazių. Analizei imama fazėje B esanti analitė. Analitės pasiskirstymas tarp fazių gali būti aprašomas grįžtamąja pasiskirstymo pusiausvyra:



Fazių pusiausvyra aprašoma Nernsto pasiskirstymo dėsnium:

$$K_D = \frac{[X]_B}{[X]_A} \quad (2)$$

Čia K_D - pusiausvyros konstanta, $[X]$ - analitės X koncentracija A ir B fazėse.

Ekstrakcijos sąlygos turi būti parenkamos taip, kad K_D būtų kuo didesnė, t.y. kad pusiausvyra (1) būtų kuo labiau pasistūmėjusi į dešinę ir kuo daugiau analitės iš fazės A pereitų į fazę B.

Garavimas

Medžiagos garavimas iš skysčio yra tos medžiagos pasiskirstymas tarp skystos fazės ir virš jos esančios dujinės fazės. Kuo lakesnė medžiaga, tuo ji labiau linkusi iš skysčio pereiti į dujinę fazę.

Kadangi ekstrakcija priklauso nuo analitės lakumo, reikalingas ši analitės elgesį aprašantis parametras. Medžiagų polinkis garuoti gali būti įvertintas medžiagos pasiskirstymo tarp dujinės (G) ir skystos (S) fazės santykiu H' , vadinamu bedimensine Henrio konstanta:

$$H' = K_D = \frac{[X]_G}{[X]_S} \quad (3)$$

Kuo didesnė Henrio konstanta, tuo labiau analitė linkusi iš tirpiklio pereiti į dujinę fazę. Praskiestoms neutralioms analitėms Henrio konstanta gali būti išreiškiama analitės garų slėgio ir tirpumo santykiu:

$$H = \frac{P_g}{S} \quad (4)$$

Čia P_g – analitės garų slėgis, atm, S – analitės tirpumas, mol/m³. Taigi H dimensija atm×m³/mol.

Skystos ar kietos medžiagos garų slėgis P_g yra tos medžiagos garų slėgis virš grynos (skystos ar kietos) medžiagos pusiausvyros sąlygomis. P_g priklauso nuo temperatūros ir didėja didėjant temperatūrai. Skirtingų medžiagų garų slėgiai smarkiai skiriasi. Jie priklauso nuo tarp molekulinės sąveikos tarp medžiagos molekulių. Kuo ji stipresnė, tuo mažesnis garų slėgis. Nereikia painioti Henrio konstantos ir garų slėgio. Garų slėgis aprašo grynos medžiagos garavimą, o Henrio konstanta – tirpale esančios medžiagos garavimą.

Kitas į Henrio konstantos išraišką įeinantis dydis yra tirpumas. Tai didžiausias medžiagos kiekis, galintis ištirpti kitoje medžiagoje. Tirpumas taip pat priklauso nuo temperatūros.

Bedimensinę Henrio konstantą H' galima išreikšti:

$$H' = \frac{P_g M}{0,062ST} \quad (5)$$

Čia P_g – garų slėgis, mmHg, M – molinė masė, S – tirpumas vandenyje, mg/L, T – temperatūra Kelvinais, 0,062 – universalioji dujų konstanta.

Kaip matyti iš Henrio konstantos išraiškos, medžiagos polinkis garuoti priklauso nuo tos medžiagos garų slėgio ir tirpumo. Ney [2] siūlo taip klasifikuoti garų slėgį ir tirpumą:

Žemas garų slėgis: mažesnis nei 1×10^{-6} mmHg

Vidutinis garų slėgis: 1×10^{-6} - 1×10^{-2} mmHg

Didelis garų slėgis: didesnis nei 1×10^{-2} mmHg

Žemas tirpumas: mažesnis nei 10 mg/L

Vidutinis tirpumas: 10 – 1000 mg/L

Didelis tirpumas: didesnis nei 1000 mg/L

Mažai lakūs junginiai yra tie, kurių mažas garų slėgis ir didelis tirpumas, o lakūs junginiai tie, kurių didelis garų slėgis ir mažas tirpumas. Tarpiniai variantai (mažas garų slėgis ir mažas tirpumas, vidutinis garų slėgis ir vidutinis tirpumas, didelis garų slėgis ir didelis tirpumas) duoda panašų medžiagų garavimą.

Iš Henrio konstantos galima nuspręsti, kuri ekstrakcijos technika tinka analitės ekstrakcijai. Jei analitės Henrio konstanta mažesnė, negu tirpiklio Henrio konstanta, analitė tirpiklyje yra nelaki ir garinant tirpiklį analitės koncentracija tirpiklyje didės. Jei analitės Henrio konstanta yra didesnė, nei tirpiklio Henrio konstanta, ta analitė garuos greičiau, negu tirpiklis.

Pagal Henrio konstantas medžiagos gali būti klasifikuojamos:

Nelakios: $H < 3 \times 10^{-7}$ atm \times m³/mol (arba $H < 3 \times 10^{-4}$ atm \times L/mol)

Pusiau lakios: $3 \times 10^{-7} < H < 1 \times 10^{-5}$ atm \times m³/mol (arba $3 \times 10^{-4} < H < 1 \times 10^{-2}$ atm \times L/mol)

Lakios: $1 \times 10^{-5} < H < 1 \times 10^{-3}$ atm \times m³/mol (arba $1 \times 10^{-2} < H < 1$ atm \times L/mol)

Labai lakios: $H > 1 \times 10^{-3}$ atm \times m³/mol (arba $H > 1$ atm \times L/mol)

Hidrofobiškumas

Hidrofobinis efektas pasireiškia, kai analitė netirpsta vandenyje. Hidrofobinė jungtis yra tokia, kuri susidaro, kai asocijuoja nepolinės grupės vandeniniame tirpiklyje, dėl to sumažėja analitės sąveika su ją supančiomis vandens molekulėmis ir išlaisvėja su analitėmis surištas vanduo. Be to, vandenyje pasireiškia stipri sąveika tarp vandens molekulių. Kai vandenyje atsiranda pašalinių nepolinių molekulių, kai kurios vandenilinės jungtys tarp vandens molekulių suardomos.

Vandens sąveika su hidrofobinėmis molekulėmis silpnesnė, negu vandens molekulių tarpusavio sąveika. Reikalingas parametras hidrofobiškumui įvertinti. Šis parametras svarbus norint aprašyti analitės pasiskirstymą tarp vandens ir hidrofobinio ekstrahento. Standartiniu hidrofobiniu ekstrahentu laikomas *n*-oktanolis. Analitei pasiskirstant tarp vandens (W) ir *n*-oktanolio (O), pusiausvyros konstanta gali būti užrašyta:

$$K_{OW} = K_D = \frac{[X]_O}{[X]_W} \quad (7)$$

Pasiskirstymo koeficientas *n*-oktanolis/vanduo (K_{OW}) yra bedimensinis dydis, naudojamas aprašyti hidrofobiškumą. Analitės kiekis, pereinantis iš vandens į kitą su vandeniu nesimaišantį tirpiklį skirsis nuo kiekio, pereinančio į *n*-oktanolį, bet K_{OW} dažniausiai yra tiesiog proporcingas analičių pasiskirstymui tarp vandens ir bet kurios kitos hidrofobinės fazės. Kuo didesnis K_{OW} , tuo labiau analizė linkusi iš vandens pereiti į hidrofobinę fazę. Lyginant dviejų analičių K_{OW} galima pasakyti, kad hidrofobiškesnė ta analizė, kurios K_{OW} didesnis.

Paprastai K_{OW} didėja, didėjant analitės molekulinėi masei. Kadangi K_{OW} gali skirtis šimtus kartų, patogu išreikšti K_{OW} logaritmine forma, t.y. $\log K_{OW}$ arba $\log P$.

Jei analitės hidrofobiškumas mažas, ji bus linkusi likti vandeninėje fazėje, jei analizė labai hidrofobiška, ji pereis į hidrofobinį tirpiklį. Taigi kuo hidrofobiškesnė medžiaga, tuo lengviau ją išekstrahuoti iš vandens naudojant su vandeniu nesimaišantį hidrofobinį tirpiklį.

Medžiagos pagal jų K_{OW} klasifikuojamos [2]:

Mažai hidrofobinės: $K_{OW} < 500$ ($\log K_{OW} < 2,7$)

Vidutiniškai hidrofobinės: $500 \leq K_{OW} \leq 1000$ ($2,7 \leq \log K_{OW} \leq 3,0$)

Labai hidrofobinės: $K_{OW} > 1000$ ($\log K_{OW} > 3,0$)

Rūgščių – bazių pusiausvyros

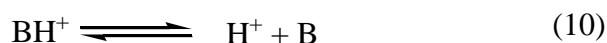
Rūgštinės – bazinės analitės charakteristikos ir vandeninės fazės pH apsprendžia analitės jonizuotos ir nejonizuotos formos kiekį. Sakykime, turime silpną rūgštį HA. Ji disocijuoja:



Rūgšties disociacijos pusiausvyros konstantą galima užrašyti:

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} \quad (9)$$

Analogiškai, bazei B konjuguotos rūgšties BH^+ disociacija aprašoma:



Disociacijos konstanta:

$$K_a = \frac{[H^+][B]}{[BH^+]} \quad (11)$$

Vietoje K_a dažnai naudojama $pK_a = -\log K_a$.

(9) galima išreikšti:

$$\log K_a = \log[H^+] + \log[A^-] - \log[HA]$$

$$-\log[H^+] = -\log K_a + \log[A^-] - \log[HA]$$

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} \quad (12)$$

Galima paskaičiuoti, koks bus santykinis A^- kiekis, kai $pH = pK_a + 1$:

$$pK_a + 1 - pK_a = \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

$$1 = \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Antilogaritmavus:

$$10 = \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Kadangi rūgštis gali būti jonizuota ir nejonizuota, $[HA] + [A^-] = 1$, $[HA] = 1 - [A^-]$

$$10 = \frac{[A^-]}{1 - [A^-]}$$

Apskaičiavus gauname, kad $[A^-] = 0,909$.

Analogiškai galima apskaičiuoti $[A^-]$, kai $pH = pK_a + 2$. Gauname, kad $[A^-] = 0,990$.

Taigi kai $pH = pK_a$, 50% rūgšties yra jonizuotoje formoje, o 50% nejonizuotoje. Jei junginys yra rūgštis, 99% junginio yra jonizuotoje formoje, kai $pH = pK_a + 2$ ir nejonizuotoje formoje, kai $pH = pK_a - 2$. Jei junginys yra bazė, 99% junginio yra protonizuotoje formoje, kai $pH = pK_a - 2$ ir deprotonizuotoje formoje, kai $pH = pK_a + 2$.

Ekstrahuojant linkusius jonizuotis junginius, geriausia parinkti tokį pH, kad junginys būtų arba kiek galint pilniau jonizuotas, arba kiek galint pilniau nejonizuotas. Blogesni rezultatai bus gaunami, jei tokie junginiai bus ekstrahuojami, kai $pH: pK_a - 2 < pH < pK_a + 2$

2. Ekstrakcija skysčiais

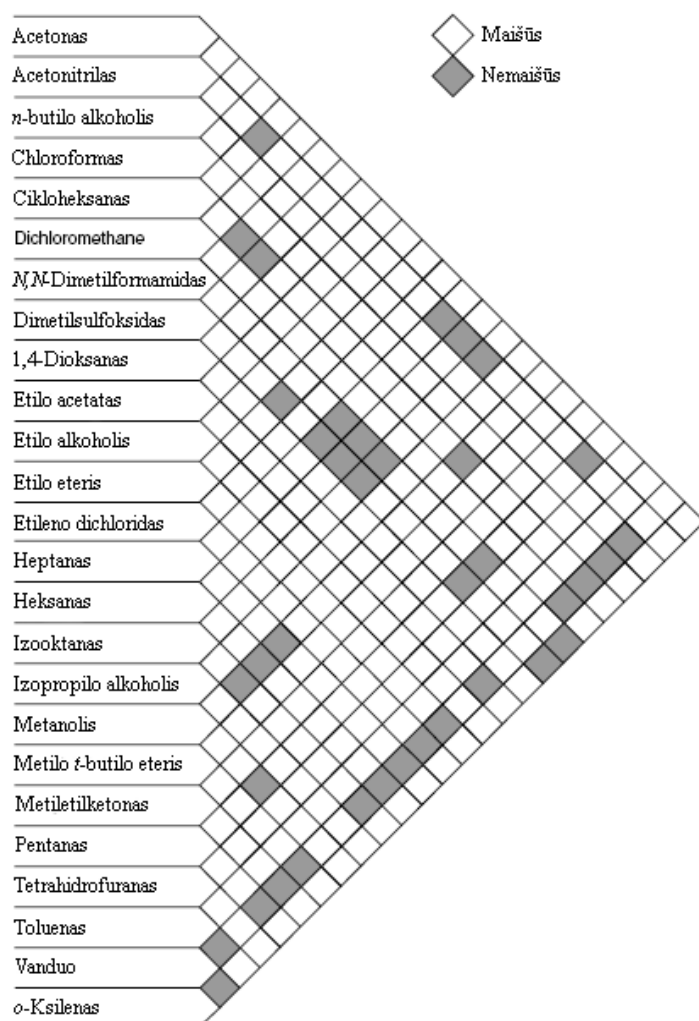
Skysčių – skysčių ekstrakcija

Skysčių–skysčių ekstrakcijos atveju abi fazės, tarp kurių pasiskirsto analitė, yra tarpusavyje nesimaišantys skysčiai. Paprastai viena fazė yra vanduo, kita – organinis tirpiklis.

Ekstrakciją galima atlikti, jei analizė gerai tirpsta organiniame tirpiklyje.

Parenkant ekstrahentą, reikia atsižvelgti į medžiagų maišumą, tankį bei tirpumą.

Tirpikliai yra maišūs, jei juos sumaišius bet kokiomis proporcijomis nesusidaro dviejų atskirų fazių. 1 pav. pateikta tirpiklių maišumo diagrama [1].



1 pav. Tirpiklių maišumo diagrama.

Parenkant tirpiklį dar reikia atsižvelgti į jo tankį. Tankesnis už vandenį tirpiklis sudarys apatinį sluoksnį, mažiau tankus - viršutinį sluoksnį.

Nors nemaišūs tirpikliai sudaro dvi skirtingas fazes, jie gali būti dalinai tirpūs vienas kitame. Gaunamas vieno tirpiklio tirpalas prisotintas kitu. Todėl parenkant ekstrahentą reikia atsižvelgti į tirpiklių tirpumus vienas kitame. 1 ir 2 lentelėse pateikti įvairių tirpiklių tirpumai vandenyje bei vandens tirpumas įvairiuose tirpikliuose.

Ekstrakcijos išgava

Kaip buvo parodyta aukščiau:

$$K_D = \frac{[X]_O}{[X]_W}$$

Analitės pasiskirsto tarp vandens ir organinės fazės pagal Nernsto pasiskirstymo dėsnį. K_D – pasiskirstymo koeficientas. Analitės pasiskirsto priklausomai nuo tirpumo kiekviename tirpiklyje.

Išekstrahuota medžiagos X dalis aprašoma lygtimi:

$$E = [X]_o V_o / ([X]_o V_o + [X]_w V_w) = K_D V / (1 + K_D V)$$

Kur V yra fazių santykis V_o/V_w , V_o org. fazės tūris, V_w – vandeninės fazės tūris.

Dalis, išekstrahuota vėlesnėmis ekstrakcijomis yra:

$$E = 1 - [1 / (1 + K_D V)]^n$$

Pvz., kai $K_D V$ yra 10, po antros ekstrakcijos išekstrahuojama 99% analitės, kai $K_D V=1$, po antros ekstrakcijos išekstrahuojama tik 75 % analitės, o 99 %, analitės išekstrahuojama tik ekstrahavus 7 kartus.

1 lentelė. Tirpiklių tirpumas vandenyje

Tirpiklis	Tirpumas (%)
Izooktanas	0,0002 (25°C)
Heptanas	0,0003 (25°C)
1,2,4-Trichlorobenzenas	0,0025 (20°C)
Cikloheksanas	0,006 (25°C)
Cikloheptanas	0,01 (20°C)
Heksanas	0,014 (20°C)
<i>o</i> -Dichlorobenzenas	0,016 (25°C)
1,1,2-Trichlorotrifluoroetanas	0,017 (25°C)
<i>o</i> -Ksilenas	0,018 (25°C)
Pentanas	0,04 (20°C)
Chlorobenzenas	0,05 (20°C)
Toluenas	0,052 (25°C)
<i>n</i> -Butilo chloridas	0,11 (20°C)
Metilizoamilketonas	0,54 (20°C)
<i>n</i> -Butilo acetatas	0,68 (20°C)
Etileno dichloridas	0,81 (20°C)
Chloroformas	0,815 (20°C)
Dichlorometanas	1,60 (20°C)
Metilizobutilketonas	1,7 (20°C)
Metil <i>t</i> -butileteris	4,8 (20°C)
Trietilaminas	5,5 (20°C)
Metil <i>n</i> -propilketonas	5,95 (20°C)
Etilo eteris	6,89 (20°C)
<i>n</i> -Butilo alkoholis	7,81 (20°C)
Izobutilo alkoholis	8,5 (20°C)
Etilo acetatas	8,7 (20°C)
Propileno karbonatas	17,5 (25°C)
Metiletilketonas	24,0 (20°C)

2 lentelė. Vandens tirpumas tirpikliuose

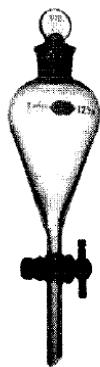
Tirpiklis	Tirpumas (%)
Izooktanas	0,006 (20°C)
Pentanas	0,009 (20°C)
Cikloheksanas	0,01 (20°C)
Ciklopentanas	0,01 (20°C)
Heptanas	0,01 (25°C)
Heksanas	0,01 (20°C)
1,1,2-Trichlorotrifluoroetanas	0,011 (25°C)
1,2,4-Trichlorobenzenas	0,020 (20°C)
Toluenas	0,033 (25°C)
Chlorobenzenas	0,04 (20°C)
Chloroformas	0,056 (20°C)
<i>n</i> -Butilo chloridas	0,08 (20°C)
Etileno dichloridas	0,15 (20°C)
Dichlorometanas	0,24 (20°C)
<i>o</i> -Dichlorobenzenas	0,31 (25°C)
<i>n</i> -Butilo acetatas	1,2 (20°C)
Etilo eteris	1,26 (20°C)
Metil izoamilketonas	1,3 (20°C)
Metil <i>t</i> -butilo eteris	1,5 (20°C)
Metil izobutil ketonas	1,9 (25°C)
Etilo acetatas	3,3 (20°C)
Metilo <i>n</i> -propilo ketonas	3,3 (20°C)
Trietilaminas	4,6 (20°C)
Propileno karbonatas	8,3 (25°C)
Metil etil ketonas	10,0 (20°C)
Izobutilo alkoholis	16,4 (20°C)
<i>n</i> -Butilo alkoholis	20,07 (20°C)

Atlikimo technika

Skysčių–skysčių ekstrakcija gali būti atliekama purtant vandeningą ir organinę fazę dalijamajame piltuve (2 pav). Purtoja mechaniškai arba rankomis. Po ekstrakcijos tirpalai paliekami išsisluoksniuoti. Kuris iš sluoksnių yra viršutinis, o kuris apatinis priklauso nuo nesimaišančių fazių tankio.

Išekstrahuotą analitę paprastai reikia papildomai sukonzentruoti. Tai galima pasiekti sumažinus tirpiklio tūrį. Lakuose tirpikliuose ištirpusių pusiau lakių junginių sukonzentravimui naudojamas Kuderna-Danish koncentratorius (3 pav.). Jis susideda iš kolbos, sukonzentruoto ekstrakto surinktuvo ir kondensacinės kolonėlės, per kurią išeina tirpiklio garai. Aparatas dedamas virš verdančio vandens vonios ir kaitinamas vandens garais.

Tirpiklį galima nugarinti ir rotaciniu garinimo aparatu.



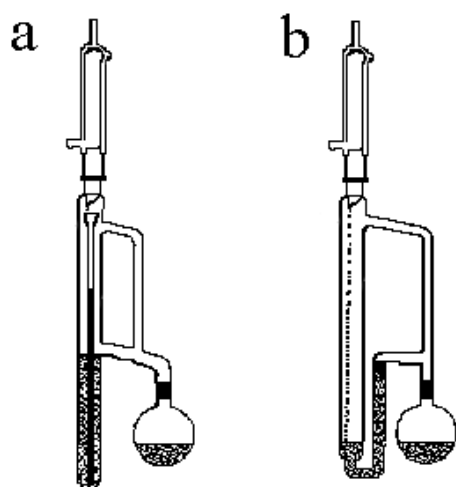
2 pav. Dalijamasis piltuvas.



3 pav. Kuderna-Daniš koncentratorius.

Ekstrahuojant sudėtingus mėginius (kraują, šlapimą, nutekamuosius vandenius), gali susidaryti putos ar emulsija. Ši problema pašalinama ekstraktą šaldant, centrifuguojant ar pridedant druskų. Taip pat galima naudoti nepertraukiamą skysčių- skysčių ekstrakciją.

Nepertraukiama skysčių-skysčių ekstrakcija ypač tinkama tada, kai analičių pasiskirstymo koeficientas mažas. Ekstrakcija automatizuota, be to ekstrakcijos metu nesusidaro emulsija. Ekstraktoriuje organinis tirpiklis be paliovos cirkuliuoja per vandeningą fazę dėl nuolatinio tirpiklio garavimo ir kondensavimo. Yra nepertraukiamos skysčių-skysčių ekstrakcijos prietaisai lengvesniems už vandenį ir sunkesniems už vandenį tirpikliams (4 pav).



4 pav. Prietaisai nepertraukiamai skysčių-skysčių ekstrakcijai: a – tirpiklis lengvesnis už vandenį, b – tirpiklis sunkesnis už vandenį.

Skystafazė mikroekstrakcija

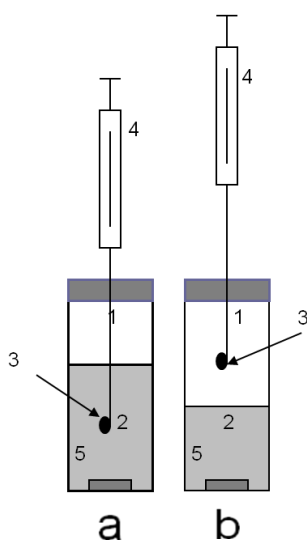
Skystafazė mikroekstrakcija yra miniatiūrizuotas skysčių ekstrakcijos variantas. Kaip ir skysčių-skysčių ekstrakcijos atveju ekstrahuojanti fazė yra su vandeniu nesimaišantis organinis tirpiklis, patalpintas į vandeninį tirpalą. Ekstrahuojant šiuo metodu ekstrakcija nėra pilna, kadangi ekstrahuojančios fazės tūris yra labai mažas (keli μL), išekstrahuojama tik dalis analitės.

Išskiriamos dvi tokios miniatiūrizuotos skysčių ekstrakcijos rūšys: ekstrakcija tirpiklio lašu ir mikroekstrakcija kapiliare [3].

Ekstrakcija tirpiklio lašu

Ekstrakcija tirpiklio lašu – naujas metodas, pasiūlytas 1996 metais [4]. Pirmuosiuose bandymuose organinio tirpiklio lašas ($8 \mu\text{L}$) buvo patalpintas tefloninio strypelio, patalpinto į vandeninį tirpalą, įdubime. Po ekstrakcijos strypelis išimamas, organinio lašo dalis paimama

mikrošvirkštu ir leidžiama į dujų chromatografą. Dabar naudojamame mikroekstrakcijos tirpiklio lašu variante lašas išspaudžiamas tiesiai iš mikrošvirkšto, naudojamo mėginio įleidimui į chromatografą, atliekama ekstrakcija, po to lašas įtraukiamas atgal į švirkštą ir įleidžiamas į chromatografą. Ekstrakciją galima atlikti tiek tiesiogiai iš tirpalo, tiek iš viršerdvės (5 pav.)



5 pav. Ekstrakcijos tirpiklio lašu schema: a – iš tirpalo, b – iš viršerdvės. 1 – viršerdvė, 2 – tirpalas, 3 – tirpiklio lašas, 4 – mikrošvirkštas, 5 – magnetinio maišiklio strypelis.

Ekstrakciją tirpiklio lašu įtakojančios parametrai

Ekstrahuojantis tirpiklis. Ekstrahuojantis tirpiklis turi atitikti du pagrindinius reikalavimus – tirpiklis turi gerai ekstrahuoti analites ir tirpiklio smailė chromatogramoje turi gerai atsiskirti nuo analičių smailių [5]. Be to, tiesioginės ekstrakcijos atveju tirpiklis turi būti netirpus vandenyje (vandeninių tiriamųjų tirpalų atveju), o ekstrakcijos iš viršerdvės atveju turi būti kuo mažiau lakus. Paprastai tirpiklis parenkamas taikant principą “panašus tirpina panašų”. Išbandoma keletas tirpiklių ir tinkamiausias pasirenkamas atsižvelgiant į ekstrakcijos išgavą, atrankumą, lašo stabilumą, lašo tirpimą, tirpiklio toksiškumą.

Druskos pridėjimas. Dedant į vandeninį tirpalą druskos, padidėja tirpalo joninė jėga. Tai dažniausiai padidina ekstrakcijos išgavą, nes pasireiškia išsūdyimo efektas. Aplink

disocijavusios druskos jonus susidaro hidratinė sfera. Ši susidariusi sfera sumažina vandeninės fazės, kurioje tirpsta analitės koncentraciją, dėl to analitės lengviau pereina į ekstrahentą. Šis efektas ypač ryškus polinėms analitėms. Tačiau buvo nustatyta, kad kai kuriais atvejais (pvz. ekstrahuojant chlorbenzenus izooktanu [6]) druskos pridėjimas sumažina ekstrakcijos išgavą. Tai galima paaiškinti tuo, kad druskos pridėjimas ne tik sukelia išsūdrymo efektą, bet ir pakeičia ekstrahuojančio tirpiklio paviršiaus plėvelės savybes ir dėl to sumažėja difuzijos iš vandeninio tirpalo į organinį lašą greitis. Abu šie efektai konkuruoja tarpusavyje, bet pastarasis chlorobenzenų atveju nugalė, todėl ekstrakcijos išgava pridėjus druskos sumažėja.

Tirpalo pH. Analitėms, pasižyminčioms rūgštinėmis ar bazinėmis savybėmis, ekstrakcijos išgava priklauso nuo pH. Parinkus tokį pH, kuriame analitė yra neutralioje formoje, ekstrakcijos išgava padidėja.

Mėginio maišymas. Maišymas padidina ekstrakcijos išgavą ir sumažina pusiausvyros tarp vandeninės ir organinės fazių nusistovėjimo trukmę. Tačiau atliekant tiesioginę ekstrakciją lašu iš tirpalo, yra viršutinė maišymo greičio riba. Maišant greičiau, lašas atsikabina nuo mikrošvirkšto adatos galo.

Ekstrakcijos trukmė. Ekstrakcijos tirpiklio lašu metu neišekstrahuojama visa vandeniniame tirpale esanti analitė, bet nusustovi analitės pusiausvyra tarp vandeninio tirpalo ir organinio lašo. Didžiausias jautris gaunamas būtent tada, kai pasiekama pusiausvyra. Tačiau kartais tai ilgai trunka, be to per ilgai ekstrahuojant lengva pamesti lašą, jis gali smarkiai aptirpti. Nebūtina pasiekti pusiausvyros, bet kai pusiausvyra nepasiekama, labai svarbu palaikyti griežtai vienodas ekstrakcijos sąlygas.

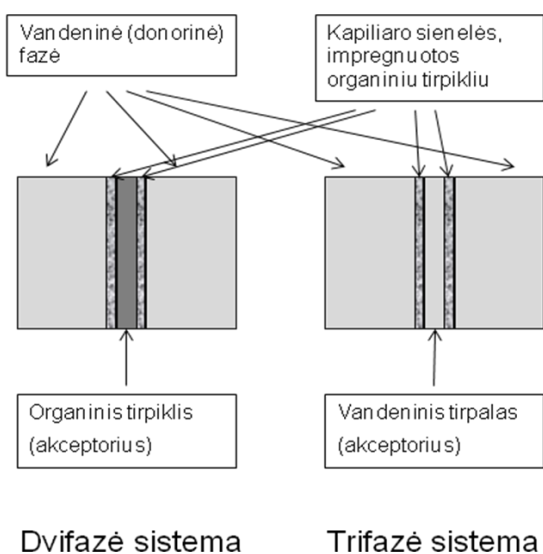
Ekstrahento tūris. Kuo didesnis lašas, tuo didesnę absoliutų analitės kiekį jis išekstrahuoja. Antra vertus, su dideliais lašais sunkiau dirbti, jie lengviau nukrenta nuo mikrošvirkšto adatos galo. Be to, įleidus į dujų chromatografą didelį kiekį tirpiklio, gaunama plati tirpiklio smailė, perkraunama chromatografinė kolonėlė. Dėl šių priežasčių dažniausiai naudojamas 1-2 μL lašas.

Ekstrakcija tirpiklio lašu labai paprastas, pigus metodas. Sunaudojama vos keletas mikrolitrų ekstrahento, visas gautas ekstraktas suleidžiamas į dujų chromatografą. Ekstrakcija atliekama mikrošvirkštu, naudojamu kiekvienoje dujų chromatografijos laboratorijoje. Tinkamai pasirinkus ekstrahentą, pasiekiamas didelis ekstrakcijos atrankumas bei analitės smarkiai sukonzentruojamos. Tačiau kol kas metodo nemėginta automatizuoti, dirbant su mikrolašu reikia didelio kruopštumo.

Mikroekstrakcija kapiliare

Ekstrakcija kapiliare pasiūlyta 1999 metais [7]. Ekstrakcija atliekama į kapiliarą su porėtomis sienelėmis. Ekstraktas mikrošvirkštu paimamas iš kapiliaro ir leidžiamas į dujų

chromatografą. Išskiriami du mikroekstrakcijos kapiliare būdai – kai naudojamos dvi fazės ir kai naudojamos trys fazės (6 pav.).



6 pav. Mikroekstrakcijos kapiliare būdai.

Dvifazėse sistemose analizė iš vandeninio tirpalo (donoro) per su vandeniu nesimaišantį kapiliaro porose imobilizuotą tirpiklį ekstrahuojama į tą patį organinį tirpiklį (akceptorių), esantį kapiliaro viduje. Šiuo atveju norint pasiekti didelę ekstrakcijos išgavą būtinas didelis analizės pasiskirstymo

tarp organinio tirpiklio ir vandens koeficientas. Gaunamas analizės ekstraktas organiniame tirpiklyje.

Trifazėje sistemoje analizė iš vandeninės fazės (donoro) per kapiliaro porose esantį organinį tirpiklį difunduoja į kitą vandeninį tirpalą (akceptorių), esantį kapiliaro viduje. Šiuo atveju organinė fazė tarnauja barjeru tarp vandeninių donoro ir akceptoriaus ir neleidžia donorui ir akceptoriumi susimaišyti. Trifazėje sistemoje ekstrakcija priklauso nuo pasiskirstymo koeficientų organinis tirpiklis/donoras ($K_{org/d}$) ir akceptorius/organinis tirpiklis ($K_{a/org}$). Bendras pasiskirstymo koeficientas $K_{a/d} = K_{org/d} \times K_{a/org}$. Labai svarbu tinkamai parinkti donorą ir akceptorius. Dideli $K_{a/d}$ ($\gg 1$) pasiekiami, kai analizės akceptoriaus fazėje reaguoja (protonizacija, kompleksų susidarymas) ir pasidaro labai mažai giminingos organiniam tirpikliui.

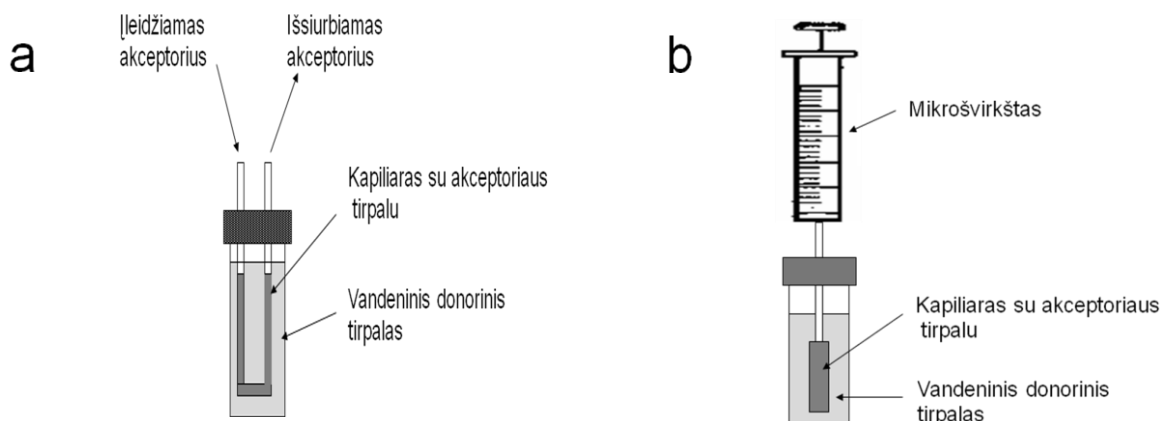
Kapiliarai.

Kapiliarai turi būti hidrofobiniai, suderinami su organiniais tirpikliais. Beveik visada naudojami polipropileno kapiliarai. Vidinis jų skersmuo apie 600 μm . Kapiliaro sienelių storis apie 200 μm , sienelės užtikrina gerą mechaninį akceptorinės fazės stabilumą. Vidutinis kapiliaro sienelių porų dydis 0,2 μm , maksimalus apie 0,64 μm . Poros užtikrina gerą mikrofiltraciją, leidžia prasiskverbti į akceptoriaus fazę tik mažoms molekulėms.

Kapiliarų konfigūracijos

7 pav. parodytos kapiliarų konfigūracijos gali būti taikomos tiek dvifazėms, tiek trifazėms sistemoms. Konfigūracijoje (a) naudojamos 2 medicininio švirkšto adatos, sujungtos su kapiliaro galais. Kapiliaro ilgis 4-8 cm. Tiek prieš dvifazę, tiek prieš trifazę ekstrakciją

kapiliaras kelioms sekundėms pamerkiamas į organinę fazę, tam kad organinis tirpiklis užpildytų kapiliaro poras. Po to kapiliaras įmerkiamas į donoro fazę. Akceptorius įleidžiamas į kapiliarą švirkštu. Baigus ekstrakciją, ekstraktas ištraukiamas švirkštu.



7 pav. Mikroekstrakcijos kapiliaru sistemų konfigūracijos.

Konfigūracijoje (b) su švirkštu sujungtas tik vienas kapiliaro galas. Kitas paliekamas donoro fazėj. Akceptorinės fazės įleidimui ir išsiurbimui naudojamas mikrošvirkštas. Laisvas kapiliaro galas dažniausiai užlydomas.

Paprastai išbandoma keletas įvairaus poliškumo su vandeniu nesimaišančių organinių tirpiklių arba jų mišinių. Tiek dvifazėse, tiek trifazėse sistemose naudojami tirpikliai turi būti lengvai įmobilizuojami į polipropileno kapiliaro sienelės. Galutinai tirpiklis parenkamas atsižvelgiant į tirpiklio tirpumą vandenyje (pageidautinas kuo mažesnis), lakumą (pageidautinas kuo mažesnis). Dvifazėse sistemose organinis tirpiklis turi labai gerai tirpinti analites, tikti dujų chromatografijai. Trifazėje sistemoje sienelės impregnuojantis tirpiklis turi būti toks, kad jo $K_{org/d}$ ir $K_{a/org}$ būtų dideli.

Maišymas greitina ekstrakciją. Galimi dideli maišymo greičiai, nes organinis tirpiklis įmobilizuotas. Maišymui galima naudoti magnetinius maišiklius, vibraciją. Kai maišoma magnetiniu maišikliu, svarbu, kad nesusidarytų oro burbulai, kurie kimba prie kapiliaro sienelių ir todėl lengviau nugaruoja sienelėse impregnuotas organinis tirpiklis.

Druskų kiekis tirpale ekstrakcijai turi tokią pat įtaką kaip ekstrakcijos tirpiklio lašu atveju. Donoro ir akceptoriaus pH svarbus ypač trifazėj sistemoj. Pvz., analizuojant rūgštines analites, donoro tirpas turėtų būti rūgštinis, tada analitės būtų dejonizuotos ir lengvai pereitų į organinę fazę. Akceptoriaus tirpalas turėtų būti bazinis, todėl analitės iš kapiliaro sienelėse esančios organinės fazės lengvai pereitų į akceptorių.

Nustatymo jautris didėja, mažinant akceptoriaus/donoro tūrių santykį. Bet akceptoriaus tūris turi būti tinkamas tai technikai, kuria vėliau bus analizuojama. Į dujų chromatografą

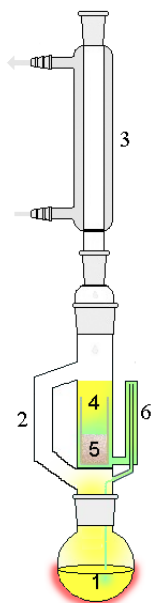
paprastai neleidžiama daugiau nei 1 – 2 μL tirpalo, todėl nėra prasmės naudoti daug didesnių akceptorius tūrių.

Mikroekstrakcija kapiliare – paprastas ir pigus ekstrakcijos būdas. Kapiliarai naudojami tik vieną kartą, todėl nereikia jų regeneruoti. Šiuo metodu galima atrankiai ekstrahuoti analites iš sudėtingų matricų, kadangi tinkamai parinkus kapiliaro sienelės impregnuojantį tirpiklį.

Sokseleto ekstrakcija

Yra daug ekstrakcijos iš kietų mėginių būdų. Pats paprasčiausias – mechaninis mėginio ir tirpiklio purtymas. Analitė turi būti labai gerai tirpi tirpiklyje. Tirpiklis turi būti lengvai atskiriamas nuo kietos matricos filtruojant ar centrifuguojant. Tai paprasčiausias, bet mažiausiai efektyvus ekstrakcijos iš kietų matricų metodas. Efektyvesnė ekstrakcija tirpikliais panaudojant ultragarsą. Veikiant ultragarsu tirpalas silpnai išsyla, o tai greitina ekstrakciją. Bet mechaninė ekstrakcija ir ekstrakcija ultragarsu duoda mažesnes išgavas, negu ekstrakcija Sokseleto aparatu.

Sokseleto ekstrakcija – plačiausiai naudojamas kietų mėginių ekstrakcijos metodas. Ekstrahuojantis tirpiklis parenkamas taip, kad būtų kuo giminingesnis analitėms, kuo mažiau giminingas matricai, kuo lakesnis, kuo mažiau klampus (tada jį lengviau pašalinti iš mėginio). Sokseleto aparatas pavaizduotas 8 pav. Jame tirpiklis išgarinamas, kondensuojasi šaldytuve ir



teka per mėginį. Tirpiklio grįžimas į kolbą remiasi sifono principu, todėl vyksta ciklais, t.y. tirpalas grįžta į kolbą tik kai ekstrakcinėje kameroje susikaupia tam tikras tirpiklio kiekis. Yra įvairiausių dydžių Sokseleto aparatų. Proceso galima neprižiūrėti, o tai labai aktualu, nes Sokseleto ekstrakcija, kaip taisyklė, gali trukti ilgai, net keliasdešimt valandų. Sokseleto aparatu ekstrahuojami junginiai turi būti patvarūs ekstrahuojančio tirpiklio virimo temperatūroje, nes analitės kaupiasi kolboje su verdančiu tirpikliu.

8 pav. Sokseleto aparatas. 1 – kolba su tirpikliu, 2 – kanalas, kuriuo kyla tirpiklio garai, 3 – šaldytuvas, 4 – įdėklas, 5 – ekstrahuojamasis mėginys, 6 – sifonas.

Ekstrakcija panaudojant mikrobangas

Ekstrakcija panaudojant mikrobangas taikoma kietoms matricoms. Ji remiasi tirpiklio ir matricos kaitimu, vykstančiu sąveikaujant mikrobangoms su medžiaga. Dėl dipolių rotacijos ir dėl joninio laidumo mikrobangų energija virsta šiluma. Naudojamas 300 - 300000 MHz

elektromagnetinių bangų dažnių intervalas. Dažniausiai naudojama dažnis 2450 MHz (toks bangų dažnis ir buitinėse mikrobangų krosnelėse). Mikrobangų energija neveikia nepolinių tirpiklių, todėl ekstrakcijai naudojant nepolinius tirpiklius, reikia pridėti polinių priedų. Mikrobangos kaitina visą mėginį vienu metu, tačiau nešildo paties indo, todėl tirpalas savo virimo temperatūrą pasiekia labai greitai ir, palyginus su mechanine ekstrakcija, labai sumažėja ekstrakcijos trukmė. Ji siekia vos 10-20 min.

Nuo ekstrahento parinkimo priklauso ekstrakcijos atrankumas bei mėginio įkaitimo greitis. Įkaitimo greitis proporcingas tirpiklio dielektrinei konstantai. Kai kurių tirpiklių dielektrinės konstantos pateiktos 3 lentelėje [1].

3 lentelė. Kai kurių tirpiklių dielektrinės konstantos

Tirpiklis	Dielektronė konstanta
Vanduo	80,1
Etanolis	25,3
Acetonas	21,01
Metileno chloridas	8,93
Benzenas	2,2825
Chloroformas	2,2379
Heksanas	1,8865

Vandens dielektrinė konstanta didelė, todėl vanduo lengvai įkaitinamas mikrobangomis. Kadangi ekstrakcija mikrobangomis gali būti atliekama aukštoje temperatūroje ir dideliame slėgyje, ekstrakcijos efektyvumas didesnis negu ekstrakcijos purtant arba negu Soksleto ekstrakcijos.

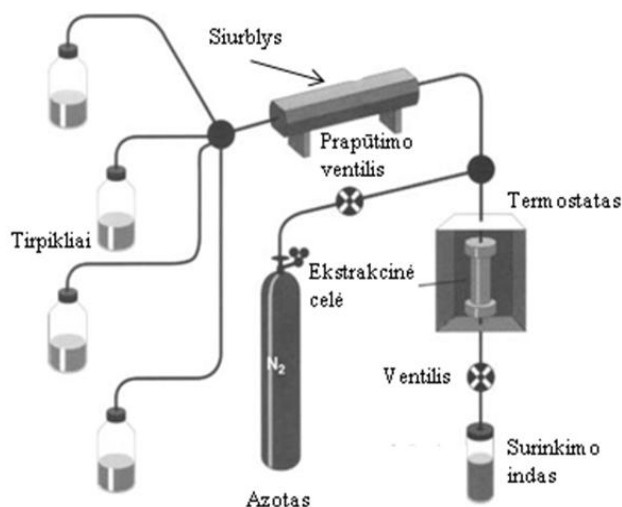
Pagreitinta ekstrakcija tirpikliais

Pagreitinta ekstrakcija tirpikliais - tai ekstrakcija įprastiniais tirpikliais, tik naudojant padidintą temperatūrą (100 – 180°C) ir slėgį (1500 – 2000 psi). Šis ekstrakcijos metodas pasiūlytas 1995 m. Metodas naudojamas ekstrahuojant iš kietų matricų.

Padidintas slėgis ir temperatūra daro poveikį tirpikliui, mėginiui ir jų sąveikai. Padidintame slėgyje padidėja tirpiklio virimo temperatūra, todėl ekstrakciją galima atlikti aukštoje temperatūroje. Aukštas slėgis taip pat palengvina tirpiklio prasiskverbimą į mėginio matricą ir taip palengvina matricos porose sulaikytų analičių ekstrakciją. Aukštose temperatūrose padidėja analičių tirpumas ir greičiau vyksta masės perdavimas. Aukštose temperatūrose taip pat susilpnėja van der Valso jėgos, dipolių sąveikos bei vandeniliniai ryšiai tarp analitės ir matricos. Be to, aukštose temperatūrose sumažėja tirpiklio klampa ir paviršiaus

įtempimas, o tai savo ruožtu palengvina tirpiklio skverbimąsi į matricą. Visos išvardintos priežastys palengvina ekstrakciją ir pagerina ekstrakcijos išgavą.

Pagreitintos ekstrakcijos tirpikliais aparatūros schema pateikta 9 pav.



9 pav. Pagreitintos ekstrakcijos tirpikliais aparatūros schema.

Aparatūrą sudaro tirpiklio (ar kelių tirpiklių) talpykla, siurblys, ekstrakcinė celė, termostatas, surinktuvas ir dujinio azoto balionas. Ekstrakcinė celė gaminama iš nerūdijančio plieno, išlaikančio aukštą temperatūrą ir slėgį. Celė užsukama iš abiejų galų, dėl to lengva įdėti ir išimti

mėginį bei išvalyti celę. Užpildant celę mėginiu, vienas jos galas užsukamas, dedamas filtras, o po to mėginys. Mėginys turi būti išdžiovinamas ore arba sumaišytas su džiovinančia medžiaga (bevandenis Na_2SO_4) ir susmulkintas iki 75-150 μm dalelių dydžio. Užsukamas kitas celės galas. Ekstrakcinė celė dedama į karuselę, kur vienu metu gali tilpti daug celių. Celė užpildoma iš viršaus tirpikliu (ar tirpiklių mišiniu) paduodamu siurblio pagalba ir kaitinama iki 40 – 200°C temperatūros, slėgis 6,9 – 70,7 MPa (1000-3000 psi). Tokios sąlygos palaikomos reikiamą laiką (dažnai apie 5 min), vyksta statinė ekstrakcija. Praėjus numatytam laikui, atidaromas ventilis ir įleidžiama kelių mL tūrio nauja tirpiklio porcija. Ji išstumia jau esantį celėje tirpiklį drauge su analitėmis. Tirpiklio įleidžiama apie 0,6 celės tūrio. Po ekstrakcijos tirpiklis išstumiamas azoto srautu. Jei reikia, tą patį mėginį galima ekstrahuoti keletą kartų.

Pagreitinta ekstrakcija tirpikliais yra pilnai automatizuota. Celė iš karuselės automatiškai pernešama į termostatą. Tirpiklis į celę siurblio pagalba paduodamas iš vieno ar kelių tirpiklio talpyklų. Termostatas kaitinamas, ir temperatūra bei slėgis celėje kyla. Ekstraktai surenkami į 40 ar 60 mL talpos surinktuvus. Kol ekstraktas patenka į surinktuvą, jis pakankamai atšąla, todėl papildomai šaldyti nereikia.

Analičių tirpumas ir masės pernešimas didėja keliant temperatūrą. Kaip taisyklė, kuo didesnė ekstrakcijos temperatūra, tuo didesnė ekstrakcijos išgava ir tuo geriau pasikartoja rezultatai.

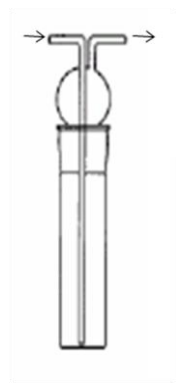
Tam, kad tirpiklis liktų skystas esant temperatūrai, aukštesnei už tirpiklio virimo temperatūrą normaliomis sąlygomis, reikia padidinti slėgį. Paprastai naudojamas 1500 – 200 psi slėgis.

Tirpiklis turi gerai tirpinti analitę ir blogai tirpinti matricą. Pagreitintai ekstrakcijai tirpikliais gali būti taikomi įprastiniuose ekstrakcijos metoduose (pvz. Soksleto ekstrakcijoje) naudojami tirpikliai. Bet yra ir išimčių. Pvz., įprastiniai tirpikliai negali būti naudojami polimerų ekstrakcijai, nes pati matrica gali ištirpti ir užkimšti jungiamuosius vamzdelius. Antra vertus, geras ekstrakcijos išgavas galima gauti panaudojus Soksleto ekstrakcijoje neefektyvius tirpiklius.

Paprastai analizei imama 10 – 30 g mėginio. Panaudoto tirpiklio tūris labiau priklauso nuo celės tūrio, o ne nuo mėginio kiekio ir yra apie 0,5 – 1,4 celės tūrio. Metodas naudoja gana mažai tirpiklių, yra greitas metodas, pilnai automatizuotas, paprastas. Drauge su ekstrakcija atliekama ir mėginio filtracija, todėl papildomai filtruoti nereikia. Metodas lankstus, nes ekstrakcijos metu galima keisti tirpiklį. Pagreitinta ekstrakcija tirpikliais yra universalus metodas, tinka daugelio analizių ekstrakcijai iš įvairių matricų.

Ekstrakcija skysčiais iš dujinių matricų

Aukščiau aprašyti ekstrakcijos metodai tiko ekstrahuojant iš skystų ir kietų matricų. Ekstrakcijai iš dujinių matricų iš aukščiau paminėtų metodų gali būti taikoma ekstrakcija tirpiklio lašu. Be to, dujas ir garus galima ekstrahuoti tirpikliais naudojant prietaisą, parodytą 10 pav.



10 pav. Prietaisas ekstrahuoti iš dujinių matricų tirpikliais.

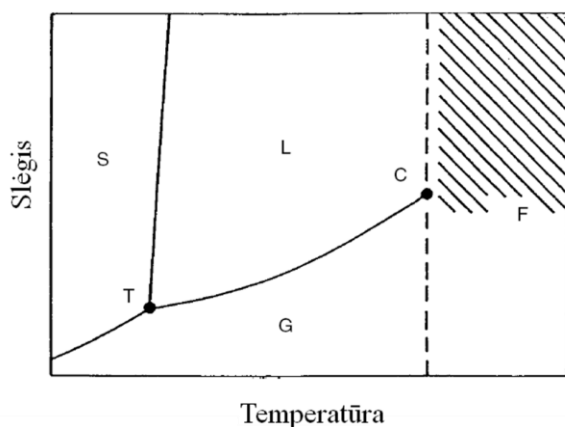
Į ekstrakcinį indą įpilamas reikiamas kiekis tinkamo tirpiklio. Prie trumpesnio vamzdelio prijungiamas siurblys, ir per indą su tirpikliu siurbiamos analizuojamos dujos.

Ekstrakcija tirpikliais tinka reaguoti linkusiems, poliniams junginiams, kuriems adsorbuoti netinka kieti sorbentai. Metodas labai paprastas, bet nelabai patogus lauko sąlygomis, kadangi reikia siurblio. Analitės surinkimo efektyvumas priklauso nuo analitės tirpumo pasirinktame tirpiklyje, analitės difuzijos į tirpiklį greičio, analitės garų slėgio mėginio ėmimo temperatūroje, fazių kontakto ploto (burbulų dydžio) ir fazių kontakto trukmės, tirpiklio garų slėgio ir analitės sugebėjimo reaguoti su ekstrahentu.

3. Ekstrakcija superkritiniais skysčiais

Analizės tikslams superkritiniai skysčiai pirmą kartą buvo panaudoti 1981 m., o po keleto metų ekstrakcija superkritiniais skysčiais (ESS) buvo komercializuota. Šiuo metodu ekstrahuojama iš kietų matricų.

Skystis yra superkritiniame būvyje tada, kai tiek jo temperatūra, tiek slėgis yra virš jų kritinio taško. Jei virš kritinio taško yra tik vienas iš šių parametru, sakoma, kad skystis yra subkritiniame būvyje. 11 pav. pavaizduota grynos medžiagos fazių diagrama, kurioje kreivė T-C yra paviršius tarp dujinio ir skysto būvio. Kiekvienas šios kreivės taškas atitinka temperatūrą ir slėgį, kuris reikalingas, kad dujos toje temperatūroje virstų skysčiu. Taškas C yra kritinis



taškas. Kai temperatūra aukštesnė už kritinę, dujos didinant slėgį nebeskystėja, bet suspaudžiamos į superkritinį skystį. Kritinis taškas yra specifinis kiekvienai konkrečiai medžiagai.

12 pav. Medžiagos fazinė diagrama. S – kieta medžiaga, L – skystis, G – dujos, C – kritinis taškas, F – superkritinis skystis.

4 lentelėje pateiktos kai kurių medžiagų superkritinės sąlygos.

4 lentelė. Kai kurių medžiagų kritiniai parametrai

Medžiaga	Kritinė temperatūra (°C)	Kritinis slėgis (atm)	Kritinis tankis (10 ³ kg/m ³)
CO ₂	31,3	72,9	0,47
N ₂ O	36,5	72,5	0,45
SF ₆	45,5	37,1	0,74
NH ₃	132,5	112,5	0,24
H ₂ O	374	227	0,34
<i>n</i> -C ₄ H ₁₀	152	37,5	0,23
<i>n</i> -C ₅ H ₁₂	197	33,3	0,23
Xe	16,6	58,4	1,10
CCl ₂ F ₂	112	40,7	0,56
CHF ₃	25,9	46,9	0,52

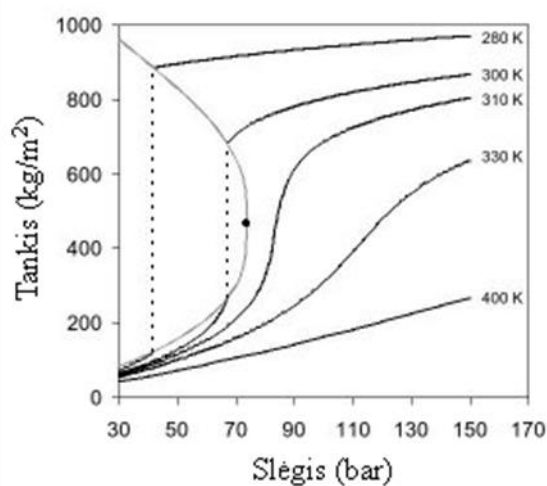
Iš 5 lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad superkritinių skysčių tankiai artimi skysčių tankiams, o klampa artima dujoms. Superkritinių skysčių difuzijos koeficientai tarpiniai tarp dujų ir skysčių. Superkritiniai skysčiai pasižymi unikaliomis fizikocheminėmis savybėmis, kurios labai tinkamos juos naudojant ekstrahuojančiais tirpikliais. Šių skysčių tankis 5-20 kartų mažesnis už paprastų skysčių, todėl superkritiniai skysčiai greičiau ir pilniau prasiskverbia į kietas matricas. Be to, superkritiniuose skysčiuose daug didesni ištirpusių medžiagų difuzijos koeficientai. Dėl šių priežasčių ekstrakcija tampa žymiai greitesnė ir efektyvesnė nei

klasikiniais tirpikliais. Antra vertus, superkritinių skysčių tankiai 100-1000 kartų didesni už dujų tankius, todėl superkritinių skysčių tirpinamoji galia artimesnė skysčiams nei dujoms. Be to, superkritinių skysčių tankis priklauso nuo slėgio ir temperatūros (13 pav.), todėl tirpinamoji galia gali būti lengvai keičiama keičiant ekstrakcijos slėgį ir temperatūrą.

5 lentelė. Apytikslės dujų, superkritinių skysčių ir skysčių savybės

Būvis	Sąlygos ^a	Tankis (10^3 kg/m ³)	Klampa (mPa×s)	Difuzijos koeficientas (10^4 m ² /s)
Dujos	30°C, 1 atm	$0,6 - 2 \times 10^3$	$1 - 3 \times 10^2$	0,1 – 0,4
Superkritinis skystis	Apie T_c , p_c	0,2 – 0,5	$1 - 3 \times 10^{-2}$	$0,7 \times 10^{-3}$
Skystis	Apie T_c , $4p_c$	0,4 – 0,9	$3 - 9 \times 10^{-2}$	$0,2 \times 10^{-3}$
Skystis	30°C, 1 atm	0,6 – 1,6	0,2 - 3	$0,2 - 2 \times 10^{-5}$

T_c – kritinė temperatūra
 p_c – kritinis slėgis



13 pav. CO₂ tankio – slėgio fazių diagrama.

Ekstrakcijai dažniausiai naudojamas CO₂ superkritiniame būvyje. CO₂ chemiškai inertiškas, pigus, netoksiškas, nedegus ir turi lengvai pasiekiamą kritinį tašką (kritinė temperatūra 31,3°C, kritinis slėgis 72,9 bar). Žema kritinė temperatūra leidžia atlikti

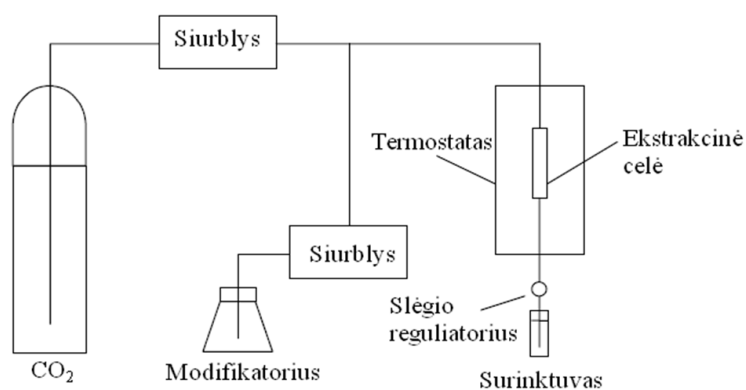
ekstrakciją švelniomis sąlygomis. Be to CO₂ atmosferos slėgyje išgaruoja, todėl netrukdo tolimesnei analizei. Dėl šių priežasčių CO₂ yra įprastinis ekstrakcijos superkritiniais skysčiais tirpiklis. Kadangi anglies dioksidas nepolinis ir neturi pastovaus dipolio momento, jis tinka ekstrahuoti nepolines ir mažai polines medžiagas, bet menkai ekstrahuoja polines medžiagas. Be to, kai analizė stipriai sorbuota matricijoje, CO₂ dažnai yra per silpnas ekstrahentas. Superkritiniai N₂O ir CHClF₂ yra efektyvesni tirpikliai poliniams junginiams ekstrahuoti, bet retai naudojami dėl žalingo poveikio aplinkai. Dažniausiai poliniai junginiai ekstrahuojami pridėjus į CO₂ mažus kiekius (1 – 10 %) modifikatorių, kuriais naudojami poliniai organiniai tirpikliai. 6 lentelėje [1] pateikti įprastiniai ekstrakcijos superkritiniais skysčiais modifikatoriai.

Keičiant slėgį, galima keisti superkritinio skysčio tankį ir tuo būdu pasiekti atrankią ekstrakciją. Pvz. superkritinis CO₂ gali atrankiai ekstrahuoti alkanus ir poliaromatinčius angliavandenilius iš nafta prisotintų dalelių: esant 45 °C temperatūrai ir 75 atm slėgiui per 5 min išekstrahuoja alkanus, o po to prie 300 atm per 90 min išekstrahuoja poliaromatinčius.

6 lentelė. Anglies dioksido modifikatoriai

Modifikatorius	T _c (°C)	P _c (atm)	Molekulinė masė	Dielektrinė konstanta prie 20°C	Poliškumo indeksas
Metanolis	239,4	79,9	32,04	32,70	5,1
Etanolis	243,0	63,0	46,07	24,3	4,3
Propan-1-olis	263,5	51,0	60,10	20,33	4,0
Propan-2-olis	235,1	47,0	60,10	19,3	3,9
Heksan-1-olis	336,8	40,0	102,18	13,3	3,5
2-Metoksietanolis	302	52,2	76,10	36,93	5,5
Tetrahidrofuranas	267,0	51,2	72,11	7,58	4,0
1,4-Dioksanas	314	51,4	88,11	2,25	4,8
Acetonitrilas	275	47,7	41,05	37,3	5,8
Dichlorometanas	237	60,0	84,93	8,93	3,1
Chloroformas	263,2	54,2	119,38	4,81	4,1
Propileno karbonatas	352,0		102,09	69,0	6,1
N,N-Dimetilacetamidas	384		87,12	37,78	6,5
Dimetilsulfoksidas	465,0		78,13	46,68	7,2
Skruzdžių rūgštis	307		46,02	58,5	
Vanduo	374,1	217,6	18,01	80,1	10,2
Anglies disulfidas	279	78,0	76,13	2,64	

Ekstrakcijos superkritiniais skysčiais aparatūros principinė schema pateikta 14 pav.



14 pav. Ekstrakcinės sistemos superkritiniais skysčiais schema.

Siurblys turi užtikrinti pastovų superkritinio skysčio srautą (mažiausiai 2 mL/min) kai slėgis 70 – 250 bar.

Modifikatorius gali būti įvedamas keliais būdais: arba kito siurblio pagalba į maišytuvą, kur susimaišo su CO₂, arba sumaišomas su CO₂ prieš suspaudžiant. Modifikatorius gali būti įdedamas ir tiesiogiai į matricą, bet tuo atveju rezultatai blogesni, nes modifikatorius išnešamas CO₂ srauto. Dedant modifikatoriaus tiesiogiai į CO₂ rezervuarą, jo koncentracija laikui bėgant kinta, be to modifikatorius gali užteršti CO₂ siurbli. Geriausiai modifikatorių paduoti atskiru siurbliu. Tada jo koncentracija gali būti lengvai reguliuojama.

Ekstrakcinė celė gaminama iš nerūdijančio plieno ar kitos medžiagos, galinčios išlaikyti iki 700 bar slėgį. Celės forma nedaro esminės įtakos ekstrakcijos efektyvumui. Pirmenybė

teikiama trumpoms celėms, nes jas lengviau užpildyti. Ekstrakcinė celė talpinama termostate, kuris gali būti kaitinamas iki 200°C. Ekstrakcija atliekama statiniu būdu arba leidžiant superkritinį skystį per mėginį (dinaminis variantas). Statinis būdas leidžia superkritiniam skysčiui geriau prasiskverbti į matricą, o dinaminis padeda išvengti superkritinio skysčio prisisotinimo analite, duoda geresnes ekstrakcijos išgavas, ekstrakcija trumpesnė. Daugeliu atvejų derinami abu šie būdai: trumpą laiką atliekama statinė ekstrakcija, po to dinaminė.

Superkritinio skysčio slėgis reguliuojamas slėgio regulatoriumi. Tai gali būti paprasčiausias kapiliaras arba ventilis. Slėgio regulatoriai būna fiksuoto skersmens ir reguliuojami. Fiksuoto skersmens regulatoriai paprastai pagaminti iš kvarcinio ar metalinio kapiliaro. Jie pigūs, lengvai keičiami, bet gali užsikimšti, kai ekstrahuojamoje matricoje yra daug išekstrahuojamų medžiagų (riebalų, elementinės anglies ir t.t.), arba jame gali užšalti vanduo. Slėgio regulatorius paprastai šildomas tam, kad neužsiblokuotų dėl jame susikondensavusios drėgmės, kuri užšąla išgaruojant CO₂. Reguluojamų slėgio regulatorių skersmuo nustatomas automatiškai. Jų privalumas tas, kad jie neužsikemša. Antra vertus, jie brangesni.

Superkritinis skystis praeina per mėginį ir per slėgio regulatorių ir patenka į surinktuvą atmosferos slėgyje. Slėgio regulatorius palaiko celėje slėgį. Išekstrahuota medžiaga gali būti surinkta į tirpiklį arba į sorbentą (stiklo rutuliukai, silikagelis). Sorbentas, siekiant nepamesti analičių, gali būti šaldomas.

Ekstrahuojant superkritiniais skysčiais, reikia optimizuoti 4 parametrus: slėgį, temperatūrą, galimus modifikatorius ir superkritinio skysčio tekėjimo greitį.

Svarbūs maišymosi (pradinis, slenkstinis) slėgis (tas slėgis prie kurio ekstrahuojamoji medžiaga pereina į superkritinį būvį) ir slėgis, prie kurio ekstrahuojamoji medžiaga pasiekia maksimalų tirpumą. Šių slėgių intervale, teisingai pasirinkus slėgį, galima atranki ekstrakcija. Kuo aukštesnis ekstrakcijos slėgis, tuo mažiau superkritinio skysčio reikia ekstrakcijai. Tačiau sudėtingoms matricoms nerekomenduojama per daug kelti slėgio, nes išekstrahuojama daug komponentų, ekstraktas pasidaro labai sudėtingas.

Esant pastoviam slėgiui, didėjant temperatūrai superkritinio skysčio tankis mažėja (13 pav.), todėl tirpinimas turėtų mažėti. Antra vertus, temperatūra veikia tirpinamos medžiagos lakumą. Todėl temperatūros įtaką sunku numatyti, ji priklauso nuo mėginio prigimties.

Kaip jau buvo minėta, ekstrakcijai dažnai reikalingi modifikatoriai. CO₂ mažai polinis, todėl gerai ekstrahuoja tik nepolines ir silpnai polines medžiagas. Norint ekstrahuoti polines analites, pridedama maži kiekiai polinių organinių tirpiklių. Modifikatorius pasirenkamas priklausomai nuo to, kokią analizę norima išekstrahuoti. Logiška pasirinkti tokį modifikatorių, kuris būdamas skystame būvyje gerai tirpina analizę.

Ekstrakcijos efektyvumas labai priklauso nuo superkritinio skysčio tekėjimo greičio. Kuo lėčiau teka skystis, tuo giliau prasiskverbia į matricą. Tekėjimo greitis gali būti išreiškiamas linijiniu greičiu, kuris priklauso nuo tūrinio greičio ir celės geometrijos. Tūrinį greitį tai pačiai celei galima lengvai keisti slėgio regulatoriaus pagalba. Sumažėjus tūriniam greičiui, sumažėja ir linijinis. Tada dažnai padidėja ekstrakcijos išgava, nes, praleidžiant tą patį superkritinio skysčio tūrį, superkritinis skystis su matrica kontaktuoja ilgiau. Tačiau tai prailgina ekstrakciją. Kuo linijiniai greičiai didesni, tuo greitesnė ekstrakcija, bet mažesnė išgava. Taigi reikia rasti optimalų superkritinio skysčio tekėjimo greitį. Tipinis tūrinis greitis yra 1 mL min^{-1} suspausto superkritinio skysčio (kai ekstrakcinės celės vidinis skersmuo 1 cm), tai atitinka 5000 mL min^{-1} dujų po dekompresijos. Duotam tūriniam greičiui galima naudoti įvairias celes, turinčias tą patį tūrį, bet skirtingą skersmenį. Didesnės išgavos tikėtinos naudojant trumpas storas celes, nes tada mažesni linijiniai greičiai ir superkritinis skystis ilgiau kontaktuoja su mėginiumi.

Po ekstrakcijos analitės surenkamos tolimesnei analizei. Tai paprastai atliekama dekompresuojant superkritinį skystį. Analitę surinkti sudėtingiau, kai analizė yra laki arba kai naudojami dideli superkritinio skysčio tūriniai greičiai. Analitės surenkamos dviem metodais – tirpikliais ar sorbentais. Naudojant tirpiklį, slėgio regulatoriaus galas paprasčiausiai patalpinamas į indą su reikiamu tirpikliu. Analitės ištirpsta tirpiklyje, o CO_2 išlekia į atmosferą. Kai superkritinio skysčio srautas per didelis, tirpiklis gali būti ištaškomas ir dalis analičių pametama. Naudojant kietus sorbentus, analitės yra jų adsorbuojamos. Kaip taisyklė, sorbentai šaldomi. Po to analitės eliuojamos tolimesnei analizei.

Labai patogus būdas yra tiesiogiai sujungti ekstrakciją superkritiniais skysčiais su dujų chromatografija. Kadangi nenaudojami tirpikliai, chromatogramoje nėra tirpiklio smailės. Be to sutrumpėja analizė, sumažėja galimybė pamesti ir užteršti analites. Į chromatografą gali būti įvesta viskas, kas išekstrahuota, o tai ypač svarbu, kai turima mažai mėginio ar kai analičių koncentracijos mėginyje yra mažos.

Ekstrakcija superkritiniais skysčiais greita (10 – 60 min), naudoja mažai arba visai nenaudoja įprastinių tirpiklių. CO_2 netoksiškas, nedegus, nekenksmingas aplinkai. Pridedant modifikatorių, reguliuojant ekstrakcijos sąlygas galima atranki ekstrakcija. Gauta ekstrakto nereikia papildomai filtruoti. Antra vertus, ekstrakcijos superkritiniais skysčiais prietaisai gana brangūs. Be to ekstrakcijos išgava priklauso nuo matricos.

4. Ekstrakcija kietais sorbentais

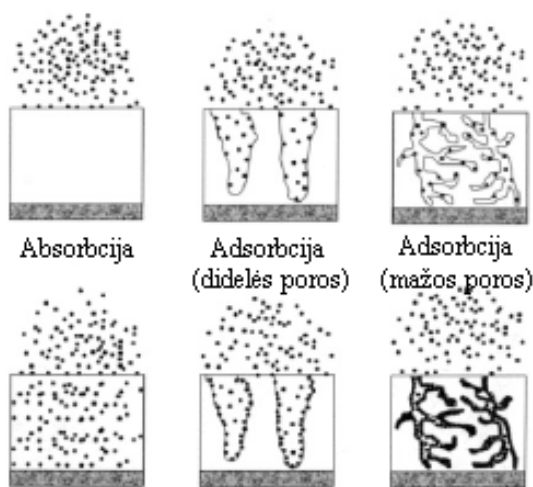
Kai skystis ekstrahuojamas kieta faze, Nernsto pasiskirstymą aprašančioje formulėje A žymi skystą fazę, B – kietą ekstrahentą.

$$K_D = \frac{[X]_B}{[X]_A}$$

Naudojamos šios ekstrakcijos sorbentais technikos: kietafazė ekstrakcija, ir kietafazė mikroekstrakcija. Bet prieš aptariant konkrečias ekstrakcijos sorbentais technikas aptarsime sorbcijos metu vykstančius procesus.

Sorbcija

Skiriama absorbcija – sorbcija į trijų dimensijų matricą, t.y. analizė sorbuojama visu sorbento tūriu ir adsorbcija – sorbcija į dvių dimensijų matricą, t.y. analizė sulaikoma poringo sorbento paviršiuje (15 pav.).



15 pav. Absorbcijos ir adsorbcijos schema.

Absorbcijos metu pasireiškiančios jėgos silpnesnės, negu adsorbcijos metu. Dažnai absorbcija ir adsorbcija pasireiškia tuo pačiu metu, sunku apibrėžti, kuris procesas vyksta. Todėl naudojamas

bendras terminas sorbcija. Sorbentu vadinsime kietą ekstrahuojančiąją fazę.

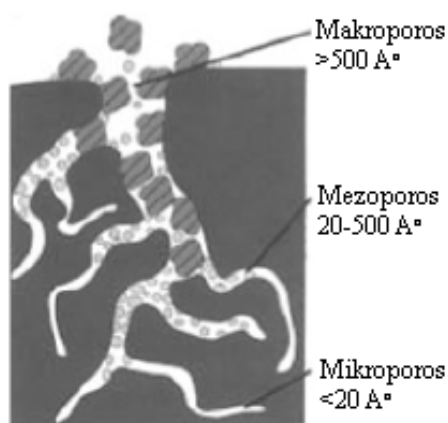
Galima laikyti, kad analizės ekstrakcija kietoje faze vyksta keleta pakopų. Kiekviena iš tų pakopų gali būti sorbcijos greitį limituojančia. Analitė gali sąveikauti su sorbentu mažiausiai keturiais būdais:

1. Absorbcija. Analitė prasiskverbia į visą sorbento tūrį. Šio proceso metu analizė nekonkuruoja dėl sorbcinių vietų, todėl absorbentų sorbcinė talpa analitėms gali būti didelė.
2. Analitės adsorbuojamos sorbento paviršiuje dėl tarp molekulinėse jėgų (van der Valso jėgų arba dipolių sąveikos). Dėl šių sąveikų analizė gali pakeisti sorbento paviršiuje vandens ar kito tirpiklio molekules. Adsorbcijos metu analizė konkuruoja dėl sorbcinių vietų, todėl absorbentų talpa ribota. Adsorbcija vyksta trimis etapais: difuzija per dvių fazių riboje esantį paviršinį sluoksnį, difuzija adsorbento porose, adsorbcijos reakcija (analitė prisitvirtina sorbento paviršiuje).

3. Jei analizė vandeniniame tirpale yra jonizuota, gali vykti elektrostatinė sąveika tarp analizės ir sorbento paviršiuje esančių krūvį turinčių grupių. Tokia sąveika pasižymintys sorbentai vadinami jonitais (anijonitais arba katijonitais).
4. Analitės gali reaguoti su sorbentu, kovalentiškai prisijungti prie kietos fazės. Ši sąveika žalinga, nes gali sumažinti ekstrakcijos išgavą.

Visos šios sąveikos gali pasireikšti kartu.

Daugumos sorbentų paviršius yra ne dalelių išorėje, bet sorbento porų viduje, sudėtingame, tarpusavyje sujungtame mikroporų (skersmuo mažesnis nei 2 nm), mezoporų (2 – 50 nm) ir makroporų (skersmuo didesnis nei 50 nm) tinkle (16 pav.).



16 pav. Sorbento makro-, mezo- ir mikroporos.

Ddžiąją paviršiaus dalį sudaro mikroporos ir mezoporos. Poringi sorbentai skiriasi porų dydžiu, forma ir vingiuotumu. Sorbentai charakterizuojami dalelių skersmeniu, porų skersmeniu, porų tūriu, paviršiaus plotu ir dalelių pasiskirstymu pagal dydį.

Sorbcija priklauso nuo sorbento, skysto mėginio matricos ir analizės prigimties.

Kai kurie sorbentai yra skysčiais padengti nešikliai. Jei skysčiai tik paprasčiausiai padengia nešiklį, bet prie jo nepririšami, jie ir elgiasi kaip skysčiai (nors vizualiai atrodo, kad tai kietas sorbentas), t.y. skysčio molekulės gali laisvai judėti trimis kryptimis. Šiuo atveju vyksta analičių absorbcija. Kai skystis kovalentiškai prijungtas prie nešiklio paviršiaus, jis nebesielgia kaip skystis, nes gali judėti tik dviem kryptimis, skysčio molekulės negali sukstis. Todėl ant tokių fazių sulaikymas vyksta ne tik dėl absorbcijos, bet ir dėl adsorbcijos.

Kietafazė ekstrakcija

Ypač plačiai kietafazė ekstrakcija (KFE) imta vartoti nuo 1977 m., kai „Waters“ ėmė gaminti kasetes su sorbentais [1].

Kietafazė ekstrakcija, palyginus su skysčių-skysčių ekstrakcija turi keletą privalumų: mažesnė ekstrakcijos trukmė, mažesnė kaina, sunaudojama mažiau tirpiklių, ekstrahuojant nesusidaro emulsija. Kietafazės ekstrakcijos pagalba pasiekiamas didesnis sukonzentravimo laipsnis, analitės galima saugoti sorbuotas, ant sorbento analitės galima derivatizuoti. Metodus suteikia daugiau galimybių atrankiai perskirti analitės, mėginį galima frakcionuoti į keletą junginių grupių.

KFE - nepusiausvirasis procesas. Visos analitės sorbuojamos iš tekančio per kietą sorbentą skysčio, po to analitės eliuuojamos iš sorbento tinkamu tirpikliu.

Kietafazės ekstrakcijos sorbentai

Sorbento pasirinkimas yra lemiamas norint efektyviai atlikti KFE. Sorbcija turi vykti greitai, rezultatai turi pasikartoti, sorbuotos analitės turi būti lengvai ir pilnai eliuuojamos, sorbcijos procesas turi būti grįžtamas. Sorbentai turi būti porėti, turėti didelį paviršiaus plotą, būti atsparūs matricai ir eliuojančiam tirpikliui, turi būti geras kontaktas tarp sorbento paviršiaus ir mėginio.

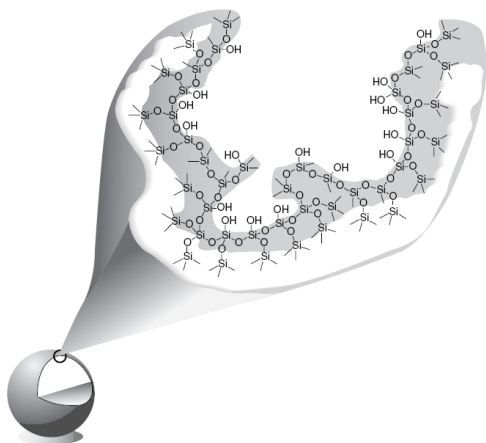
Nėra vieno optimalaus sorbento. Sorbentus galima skirstyti į bendros paskirties, specifinius junginių klasėms ir specifinius atskiriems junginiams. Toliau bus aptariami bendros paskirties poliniai, polimeriniai, modifikuoto silikagelio ir grafituotos anglies sorbentai bei specifiskesniems tikslams naudojami sorbentai (funkcionalizuotos polimerinės dervos, jonų mainų sorbentai, kontroliuojamo priėjimo sorbentai, imunoafininiai sorbentai, molekulių atspaudų polimeriniai sorbentai).

Poliniai sorbentai

Dažniausiai naudojami poliniai KFE sorbentai yra silikagelis $(\text{SiO}_2)_x$, aliuminio oksidas (Al_2O_3) , magnio silikatas (MgSiO_3) arba florizilis) ir modifikuotas silikagelis (silikagelis reaguoja su labai polinėmis funkcinėmis grupėmis ir susidaro aminopropil- $[(\text{SiO}_2)_x-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2]$ -, cianopropil- $[(\text{SiO}_2)_x-(\text{CH}_2)_3\text{CN}]$ - ir diol- $[(\text{SiO}_2)_x-(\text{CH}_2)_3\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2(\text{OH})]$ - modifikuotus silikagelio sorbentus.

Poliniai sorbentai dažnai naudojami matricos (augalai, gyvūnų audiniai) įtakai pašalinti. Sulaikomi hidrofiliniai matricos komponentai, o analitės eliuojamos. Tarp sorbento ir sulaikomos medžiagos atsiranda vandeniliniai ryšiai, pasireiškia dipolių, π - π , indukuotų dipolių sąveika.

Poringas silikagelis yra neorganinis polimeras (17 pav.) naudojamas tiesiogiai kaip sorbentas, o taip pat iš jo gaminamas silikagelis su chemiškai prijungtomis grupėmis.



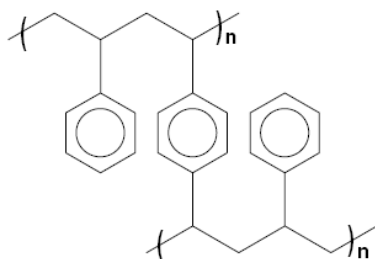
17 pav. Silikagelio dalelė.

Silikagelis sudarytas iš $-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-$ karkaso ir silanolinių grupių $-\text{Si}-\text{OH}$. KFE naudojamos silikagelio dalelės paprastai yra netaisyklingos formos (todėl pigesnės, negu aukšto efektyvumo

skysčių chromatografinėse kolonėse naudojamos sferinės), dalelių skersmuo 40 – 60 μm.

Nepolinės polimerinės dervos

Polimeriniais sorbentais dažnai naudojamos polistireno-divinilbenzeno (PS-DVB) dervos (18 pav.).



18 pav. Stireno-divinilbenzeno kopolimeras.

Jų dalelės mažos, sferinės. Šie sorbentai labai hidrofobiniai, paviršius didesnis, negu modifikuoto silikagelio sorbentų. Stiprios sorbcinės savybės gali būti dėl aromatinės polimerinės struktūros, su aromatinėmis analitėmis gali pasireikšti π - π sąveika. Tačiau kadangi PS-DVB sorbentai labai hidrofobiniai, jie mažiau atrankūs. PS-DVB sorbentai silpnai sulaiko polines analites.

Polimerinius organinius sorbentus galima naudoti, kai tirpalų pH 2 – 12 ar net 0 – 14. Šie sorbentai neturi silanolinių grupių.

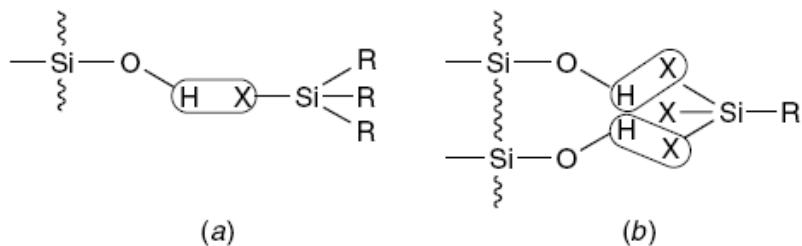
PS-DVB sorbentai gali sulaikyti analites net kai šios jonizuotoje formoje, taigi nereikia reguliuoti tirpalo pH. Pvz., rūgštiniai herbicidai buvo sorbuojami prie pH 7. Tuo tarpu norint tas pačias analites sorbuoti modifikuoto silikagelio sorbentais, pH turėtų būti 2, taigi tirpalą reikėtų papildomai rūgštinti. Be to, iš neutralios terpės galima atrankesnę ekstrakciją. Esant mažam pH, labiau linkusios ekstrahuotis pašalinės matricoje esančios medžiagos, pvz., humusinės rūgštys.

Modifikuoto silikagelio sorbentai

Chemiškai modifikuoto silikagelio sorbentai šiuo metu įprasčiausi sorbentai, naudojami kietafazėje ekstrakcijoje. Šie sorbentai gaminami kovalentiškai prijungiant organinius nepolinius, polinius ar joninius ligandus (19 pav. pažymėtus R) prie silikagelio silanolinių grupių. Šiuo būdu galima gauti labai hidrofobines fazes. Kovalentiškai prijungtas alkilo grupės turintys atvirkščių fazių modifikuoto silikagelio sorbentai su analitėmis sąveikauja pagrindinai dėl van der Valso jėgų.

Šie sorbentai stabilūs, kai pH 1 – 8,5. Kai pH didesnis, silikagelio karkasas ima tirpti, kai mažesnis - suyra Si-C jungtys.

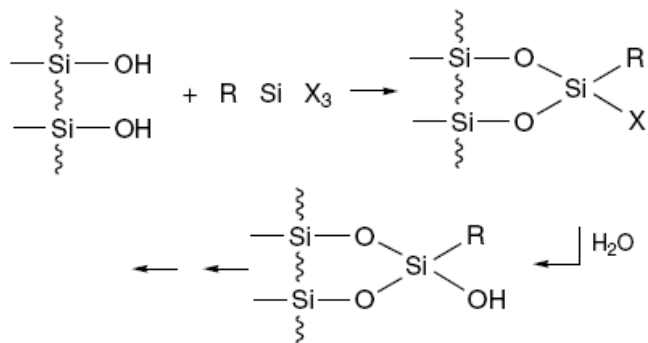
Įprasčiausi pramoniniu būdu gaminami modifikuoto silikagelio sorbentai yra gaminami remiantis cheminėmis reakcijomis tarp silikagelio ir organosilanų. Susidaro chemiškai patvarus kovalentinis ryšys Si-O-Si-C (19 pav.). Priklausomai nuo pakaitų gaunamos nepolinės, polinės ar joninės fazės. Ligandas prie silikagelio gali prisijungti viena ar keliomis grupėmis.



19 pav. Monofunkcinio (a) ir trifunkcinio (b) organosilano reakcija su silikagelio paviršiuje esančiomis silanolinėmis grupėmis.

Organosilanas turi reaktyvią grupę X, kuri chemiškai sąvaikauja su silanoline silikagelio grupe. Paprastai reagentas yra organochloro- arba organoalkoksisilanas kuriame X yra chloro-, metoksi- ar etoksigrupė.

Naudojant trifunkcinius modifikatorius, viena ar dvi Si-X grupės gali likti nesureagavusios. Tos grupės gali hidrolizuotis susidarant naujoms silanolinėms grupėms (20 pav.). Dėl to sumažėja sorbento hidrofobiškumas.



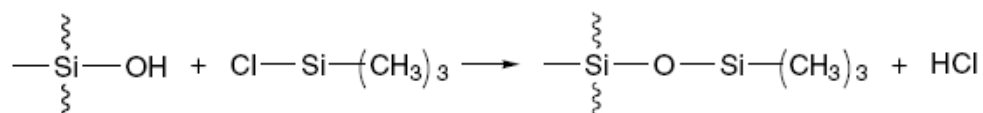
20 pav. Papildomų silanolinių grupių susidarymas, naudojant trifunkcinius modifikatorius.

Dėl šių reakcijų susidaro susiūtas polimerinis tinklas ir/arba daugiasluoksnis adsorbentas. Naudojant monofunkcinius organosilanus, gaunami monomeriniai pririštų sorbentų tipai.

Į daugiasluoksnį polimerinės struktūros adsorbentą analitės migruoja lėčiau, negu į dangą iš monomerinės fazės. Todėl monomerinių fazių efektyvumas geresnis. Tačiau trifunkcinių reagentų pagalba gaunami atsparesni rūgštims sorbentai, nes organosilanas stipriau sujungtas (keliomis jungtimis) su silikagelio paviršiumi.

Silikagelio paviršiuje dėl sferinių trukdžių, reakcijos sąlygų ar aukščiau paminėtos hidrolizės gali likti nesureagavusių silanolinių grupių. Šios silanolinės grupės darys įtaką analičių sorbcijai. Yra žinoma, kad silanolinės grupės prie pH 2 neturi krūvio, o virš pH 2 ima disocijuoti. Neužmaskuotos silanolinės grupės gali turėti tiek teigiamą, tiek neigiamą įtaką (priklausomai nuo analičių). Silanolines grupes galima užmaskuoti pridėdant teigiamą krūvį turinčių bazių (trietilamino, tetrabutilamonio ir kt.).

Norint sumažinti silanolinių grupių skaičių, naudojamos reakcijos su mažomis silano molekulėmis (pvz. trimetilchlorosilanu) (21 pav.).



21 pav. Silanolio grupių užmaskavimas trimetilchlorosilanu.

Modifikuoti silikagelio sorbentai gali turėti įvairius ligandus R. Įprastinės modifikuotos fazės turi hidrofobines grupes oktadecilą, oktilą, etilą arba cikloheksilą. Taip pat gali būti prijungtos aromatinės fenilo grupės. Ligandas gali turėti hidrofilines grupes (cianopropilo, diolio), tada gaunami poliniai sorbentai. Sorbentai, turintys jonines funkcines grupes (karboksirūgštys, sulfoninė rūgštis, aminopropilas arba ketvirtiniai aminai), pasižymi jonų mainų savybėmis.

Modifikuoto silikagelio sorbentų trūkumas yra jų ribotas darbinis pH intervalas bei likusios silanolinės grupės. Nežiūrint to, šie sorbentai vis dar yra plačiausiai naudojami KFE sorbentai.

Grafituotos anglies sorbentai

Grafituotos anglies sorbentai gerai ekstrahuoja iš vandeninių tirpalų labai polinius, vandenyje tirpius organinius junginius. Šie sorbentai sulaiko analites pagal kitokį mechanizmą, negu polinės polimerinės dervos ar hidrofobinis modifikuotas silikagelis. KFE naudojami dviejų tipų grafituotos anglies sorbentai: grafituota anglis ir porėta grafitinė anglis [1].

Grafituota anglis neturi mikroporų, jos paviršius homogeniškas, jame anglies atomai išsidėstę kaip grafite. Jos paviršiuje yra nedaug deguonies kompleksinių junginių. Šių poliniai adsorbciniai centrai stipriai sąveikauja su poliniais junginiais. Todėl grafituota anglis elgiasi tiek kaip nespecifinis sorbentas (dėl van der Valso sąveikos), tiek kaip jonų mainų sorbentas (dėl elektrostatinės sąveikos). Grafituota anglis gali vienu metu ekstrahuoti neutralius, bazinius ir rūgštinius junginius. Kai kuriais atvejais reikia reguliuoti mėginio pH. Desorbcija gali būti apsunkinta, nes grafituotos anglies sorbcija labai stipri.

Poringos grafitinės anglies paviršius homogeniškesnis ir hidrofobiškesnis, negu grafituotos anglies sorbentų. Poringa grafitinė anglis makroporiškesnė, sudaryta iš plokščių dviejų dimensijų grafitine struktūra išsidėsčiusių anglies atomų sluoksnių, turinčių delokalizuosius π elektronus. Dėl šios savybės poringa grafitinė anglis atskiria plokščios ir neplokščios struktūros analites, pvz. polichlorintus bifenilus.

Funkcionalizuotos polimerinės dervos

Tinklinės struktūros nepolines polimerines dervas chemiškai modifikavus polinėmis funkcinėmis grupėmis gaunami KFE sorbentai poliniams junginiams sorbuoti. Į PS-DVB kopolimerus chemiškai įterpiamos hidrofilinės funkcinės grupės (acetilas, benzoilas, o-

karboksibenzoilas, 2-karboksi-3/4-nitrobenzoilas, 2,4,-dikarboksibenzoilas, hidroksimetilas, sulfonatas, trimetilamonis, tetrakis(p-karbiksifenil)porfirinas). Šie hidrofiliškai funkcionalizuoti polimerai pasižymi stipresne sąveika su analitėmis negu klasikiniai modifikuoti silikageliai arba nefunkcionalizuotos nepolinės polimerinės dervos. Šie sorbentai pasižymi ne tik didesniu talpumu polinėms medžiagoms, bet ir geresniu paviršiaus kontaktu su vandenine faze. Anksčiau minėti modifikuoti silikageliai ir polimerinės dervos turi hidrofobinį paviršių, todėl prieš darbą juos reikia paveikti hidrofiliniu tirpikliu siekiant aktyvuoti paviršių.

Jonų mainų sorbentai

Jonų mainų sorbentai gali būti gaminami tiek nepolinių polimerinių dervų, tiek modifikuoto silikagelio pagrindu. Šie sorbentai turi jonizuotas funkcines grupes (ketvirtiniai aminai, sulfoninės rūgštys) arba linkusias jonizuotis funkcines grupes (pirminiai/antriniai aminai, karboksilinės rūgštys). Krūvį turinčios funkcinės sorbento grupės sąveikauja su priešingo krūvio jonais elektrostatiškai arba sudarydami joninę jungtį.

Sorbento funkcinės grupės gali turėti teigiamą arba neigiamą krūvį. Kai sorbentas turi teigiamas funkcines grupes ir sorbuoja iš mėginio neigiamus jonus, procesas vadinamas anijonų mainais. Atvirkščiai, kai funkcinės grupės neigiamos, o sorbuojamos analitės yra teigiami jonai, procesas vadinamas katijonų mainais.

Mėginio pH turi būti parinktas atsižvelgiant į sorbento pK_a ir į analitės pK_a taip, kad sorbentas ir analitė turėtų priešingą krūvį.

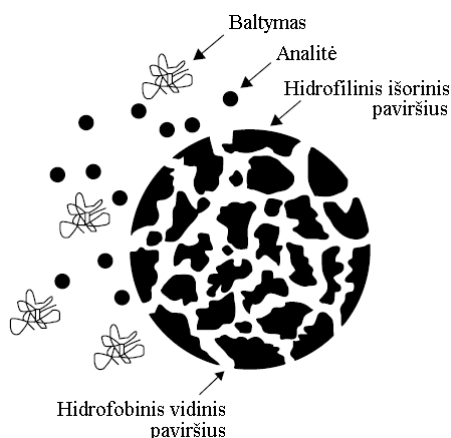
Anijonitai turi silpnai bazines funkcines grupes (pirminiai, antriniai aminai), kurios turi krūvį prie mažų pH arba stipriai bazines ketvirtinio amonio grupes, kurios turi krūvį plačiame pH intervale. Katijonitai turi silpnai rūgštines funkcines grupes (karboksilinės rūgštys), turinčias krūvį prie didelių pH arba stipriai rūgštines aromatinių ar alifatinių sulfoninių rūgščių grupes, turinčias krūvį plačiame pH intervale. Silpnai rūgštines ar bazines grupes turinčių sorbentų sorbcija priklauso nuo pH, o stipriai rūgštines ar bazines grupes turinčių sorbentų sorbcija nepriklauso nuo pH, nes jų funkcinės grupės visada pilnai disocijavusios.

Jonitų joninė sąveika su analitėmis stipresnė, negu hidrofobinės sąveikos, kuriomis pasižymi polinės polimerinės dervos arba modifikuotas silikagelis. Pasiskirstymo koeficientas didėja, didėjant analitės dydžiui ir krūviui. Jonų mainų proceso kinetika lėtesnė negu tada, kai pasireiškia nepolinės ar polinės sąveikos. Analičių sulaikymui turi įtakos mėginio joninė jėga, nes kiti jonai kaip ir anaalitės gali būti sulaikomi dėl jonų mainų mechanizmo, todėl konkuruoja su analitėmis.

Kontroliuojamo priėjimo sorbentai

Kontroliuojamo priėjimo sorbentai gali turėti dideles ar mažas poras. Didelių porų sorbentuose makromolekulės patenka į vidinę porų struktūrą ir ten sulaikomos. Įprastinių KFE sorbentų poros apie 60 Å, o didelių porų kontroliuojamo priėjimo sorbentų 275 – 300 Å.

Atvirkščiai, kontroliuojamo priėjimo sorbentuose su mažomis poromis (riboto priėjimo sorbentai) mažos molekulės dėl sorbcijos sulaikomos sorbento porose, o didelės nepatenka į poras ir todėl nesulaikomos (22 pav.).



22 pav. Riboto priėjimo sorbento dalelės schema. Makromolekulės nepatenka į sorbento poras, todėl nesulaikomos ir eliuuojamos pirmiausiai. Mažos analitių molekulės patenka į poras ir sulaikomos.

Šiuo būdu galima išvalyti mėginį nuo didelės molekulinės masės medžiagų.

Riboto priėjimo sorbentai pasižymi bifunkciniu charakteriu, jų vidinis ir išorinis paviršiai skiriasi. Išorinis paviršius padaromas hidrofiliniu, kad nesulaikytų hidrofobinių biomolekulių. Mažos molekulės prasiskverbia iki vidinio paviršiaus ir ten sulaikomos dėl kurio nors iš anksčiau minėtų mechanizmų.

Imunosorbentai

Imunosorbentų veikimas pagrįstas tuo, kad molekulės atpažįstamos, nes sąveikauja su antikūnais. Kovalentinių reakcijų pagalba antikūnai įmobilizuojami ant kieto nešiklio, pvz., silikagelio. Imunosorbentų pagalba galima efektyviai išvalyti mėginį nuo sudėtingų biologinių ir aplinkos matricių.

Sukurti imunosorbentai sorbuojantys tik vieną konkrečią analizę, analizę ir jos metabolitus arba tos pačios klasės analites.

Molekulinių atspaudų polimeriniai sorbentai

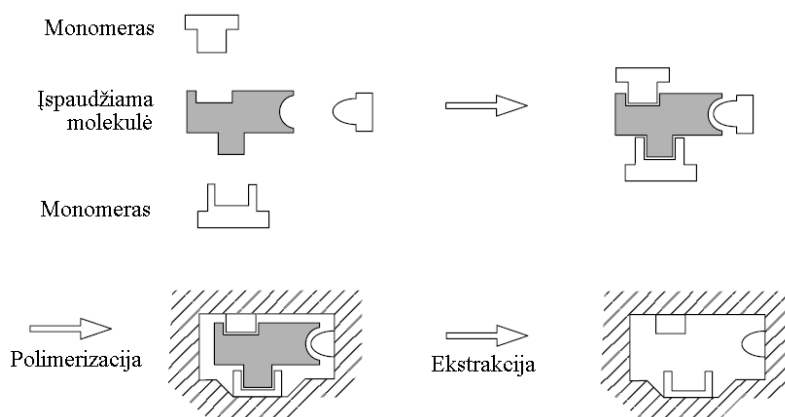
Dar viena atrankių sorbentų rūšis yra molekulinių atspaudų polimerai. Jie gaminami cheminės sintezės būdu, todėl yra pigesni, nei imunosorbentai (pastarieji gaunami iš biologinės kilmės antikūnų) ir duoda geriau pasikartojančius rezultatus.

Molekulinių atspaudų sorbentuose jų gaminimo metu analizė yra naudojama kaip šablonas. Šabloninės molekulės sumaišomos su monomeru ir susiuvančiu reagentu, apie šablonines molekules susiformuoja kietas polimeras (23 pav.).

Po to šablonas pašalinamas, polimere lieka analizės molekulę atitinkančios ertmės, kuriose gali būti atrankiai sulaikomos analizės. Sulaikymas vyksta dėl formos atpažinimo, bet svarbios ir kitos fizikocheminės savybės (vandenilinių ryšių susidarymas, hidrofobinė sąveika, joninė sąveika).

Šie sorbentai patvarūs tiek vandeniniuose, tiek organiniuose tirpaluose ir labai atrankūs pasirinktoms analizėms, dėl to per sorbentą galima praleisti didesnius mėginio kiekius, be to

mėginiai labai gerai išvalomi, tačiau desorbcija, kai sorbentas labai giminingas analitei, yra sunkesnė.



23 pav. Molekulinių atspaudų sorbentų gaminimo schema.

Sorbento parinkimas

Kietafazėje ekstrakcijoje naudojami sorbentai gali būti grupuojami pagal vyraujančią sorbento ir analitės sąveikos mechanizmą (7 lentelė). Atvirkščių fazių modifikuotas silikagelis, turintis alkilo (oktadecilo, oktilo, etilo) grupes, kovalentiškai prijungtas prie silikagelio, arba cikloheksilo ar fenilo grupes ir polimerinės dervos (PS-DVB) su analitėmis sąveikauja daugiausiai dėl van der Valso jėgų. Nejoniniai vandenyje tirpūs junginiai gali būti sulaikomi atvirkščių fazių sorbentais, bet nesulaikomi taip gerai kaip metanolyje ar metanolyje-vandenyje tirpios analitės. Normalių fazių poliniai sorbentai (silikagelis, aliuminio oksidas, florizilis) ir sorbentai su ciano grupėmis sąveikauja dėl dipolių sąveikos tarp analitės polinių funkcinių grupių ir sorbento polinio paviršiaus. Amino ir dioliniai sorbentai su analitėmis sudaro vandenilinius ryšius. Heksane tirpios analitės geriausiai sulaikomos normalių fazių sorbentais (silikageliu, floriziliu) arba poliniais sorbentais su amino ar diolio grupėmis. Stiprūs jonitai sąveikauja pirmiausiai dėl elektrostatinės sąveikos. Grafituotos anglies sorbentai pasižymi tiek nespecifine van der Valso sąveika, tiek elektrostatine sąveika su analitėmis.

7 lentelė. KFE ir analičių sąveikos mechanizmai

Vyraujanti sąveika	Sorbentai	Sąveikos energija (kcal mol ⁻¹)
Van der Valso	Oktadecilas, oktilas, etilas, fenilas, cikloheksilas, stirenas-divinilbenzenas, grafituota anglis	1-10
Polinė/ dipolių	Ciano, silikagelis, aliuminio oksidas, florizilis	1-10
Vandenilinis ryšys	Amiono, diolis	5-10
Elektrostatinė	Katijonitai, anijonitai	50-200

KFE išgava

Išgava priklauso tiek nuo sulaikymo sorbentais efektyvumo, tiek nuo eliuacijos efektyvumo. Pagrindiniai sulaikymą sorbentais lemiantys faktoriai yra mėginio pH, mėginio tūris ir sorbento masė. Apie pH įtaką buvo rašyta anksčiau. Ji svarbi galinčioms jonizuotis analitėms.

Prasiveržimo tūris – tai didžiausias mėginio tūris, iš kurio galima gauti 100 % išgavą. Laikoma, kad tai toks tūris, kai praėjusiam per sorbentą mėginyje analitės yra 1 % pradinio jos kiekio. Prasiveržimo tūris priklauso nuo sorbento tipo ir kiekio, analičių prigimties, mėginio tūrio ir pH. Bendra taisyklė ta, kad prasiveržimo tūris tuo didesnis, kuo stipriau analitė sąveikauja su sorbentu.

Didėjant sorbento masei, didėja galimo praleisti mėginio kiekis.

Analičių desorbcija priklauso nuo eliuojančio tirpiklio jėgos. Santykinė eliuento jėga pavaizduota 24 pav. Santykinė tirpiklio eliuacinė jėga iš polinių normalių fazių sorbentų didėja atvirkštine tvarka, negu eliuojant iš nepolinių atvirkščių fazių sorbentų.

Kaip matyti iš 24 pav., naudojant atvirkščių fazių sorbentus vanduo yra silpnas tirpiklis, o heksanas stiprus. Eliuacinė jėga didėja, mažėjant tirpiklio poliškumui. Tarpinę eliuacinę jėgą galima gauti maišant tirpiklius.

Tirpiklių pasirinkti reikia taip, kad būtų gaunama kuo didesnė analitės išgava ir būtų eliuuojama kuo mažiau priemaišų.



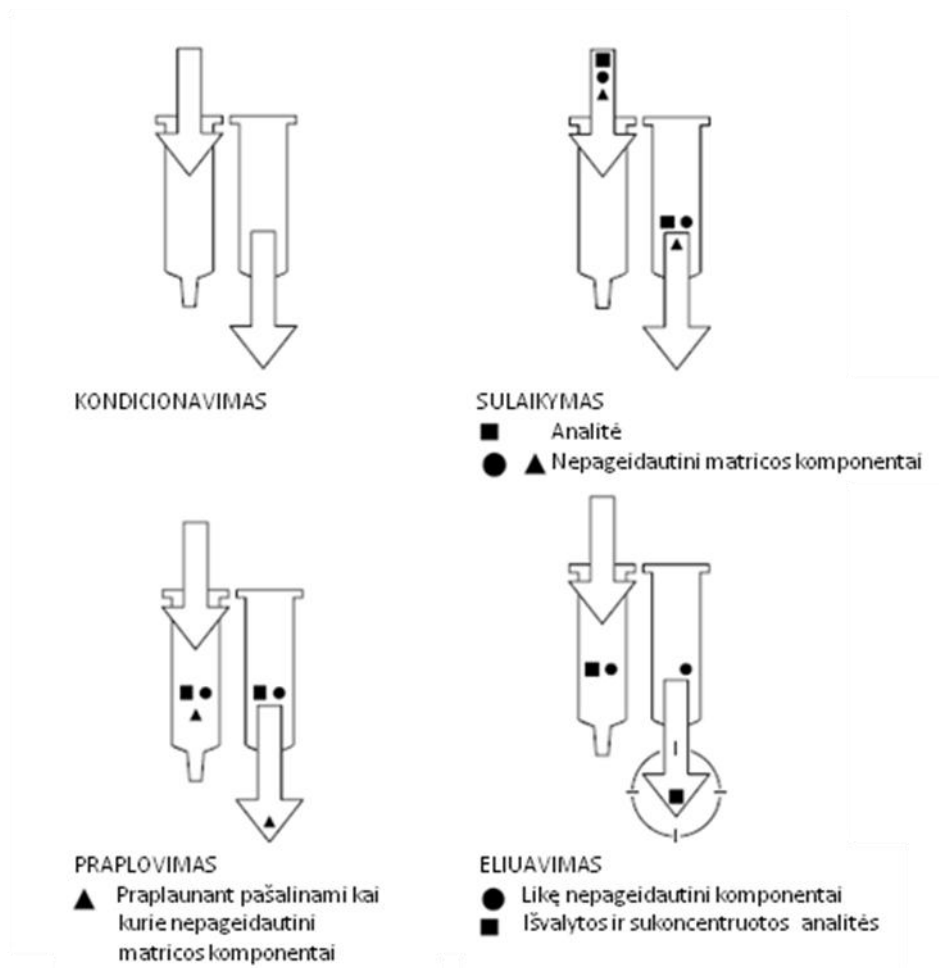
24 pav. Santykinė tirpiklių eliuacinė jėga.

Norint gauti kuo didesnę analičių sukonzentravimą, reikia naudoti stiprų toms analitėms eliuentą, tada analitės galima eliuoti mažu eliuento tūriu. Antra vertus,

naudojant mažesnės jėgos eliuentą galima pasiekti, kad analitės būtų išplaunamos, o stipriai sulaikomos priemaišos liktų kolonėlėje.

Atlikimo technika

Kietafazę ekstrakciją galima suskirstyti į keturias stadijas: kolonėlės kondicionavimas, mėginio įvedimas, kolonėlės praplovimas, mėginio desorbcija (25 pav.).



25 pav. Pagrindinės kietafazės ekstrakcijos stadijos.

Paprastai analitės sulaikomos, o trukdančios medžiagos išplaunamos. Po to analitės išplaunamos eluentu.

KFE sorbentai parduodami keliais variantais: kasetėse, kolonėlės, diskuose. Taip pat galima įsigyti ir gryną sorbentų. Pati kolonėlė gaminama iš polipropileno ar stiklo, sorbentą laiko poringa membrana iš polietileno, nerūdijančio plieno ar teflono. Diskų konstrukcija taip pat gali būti įvairi: sorbentas talpinamas tarp dviejų inertinių poringų membranų; sorbentas įterpiamas į tefloną ar kitą inertinį polimerą, sorbentas įterpiamas į stiklo pluoštą ar popierinį filtrą. Tirpiklis per sorbentą gali būti stumiamas panaudojant slėgį arba traukiamas panaudojant vakuumą.

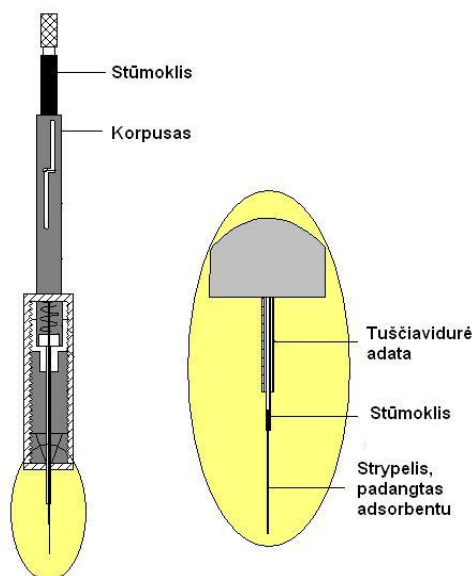
Kietafazė mikroekstrakcija

Kietafazė mikroekstrakcija (KFME) - tai gana naujas ir perspektyvus koncentravimo metodas, nereikalaujantis nei tirpiklių, nei sudėtingos aparatūros. Pasiūlyta 1989 metais [8] ir 1995 metais komercializuota KFME pastarąjį dešimtmetį pradėta plačiai taikyti dujų chromatografinėje analizėje kaip patogus metodas atlikti vienalaikį mėginio paėmimą,

sukoncentravimą, atskyrimą nuo matricos ir mėginio įvedimą į dujų chromatografą. KFME naudojama teisminės ekspertizės, aplinkos, maisto ir medicininių mėginių analizei. Be to, šio metodo pritaikymo sfera vis plečiasi.

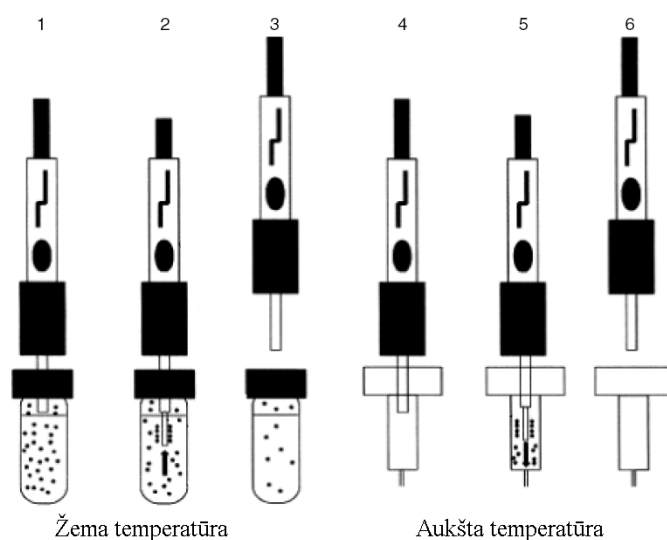
KFME remiasi analičių pasiskirstymu tarp mėginio ir ekstrakcinės sistemos dangos. Po ekstrakcijos mėginys desorbuojamas ir pasirinktu metodu analizuojamas. Ypač patogu kietafazę mikroekstrakciją apjungti su dujų chromatografinė analize, nes šiuo atveju nereikia papildomos įrangos analičių desorbacijai. Ji atliekama termiškai dujų chromatografo garintuve.

Ekstrakcijai yra naudojamas specialus KFME prietaisas (26 pav.). Jį sudaro 1 cm ilgio



kvarcinis strypelis, padengtas polimeriniu sorbentu. Strypelis pritvirtintas prie stūmoklio, įtaisyto nerūdijančio plieno adatoje, kuri tvirtinama prie prietaiso korpuso.

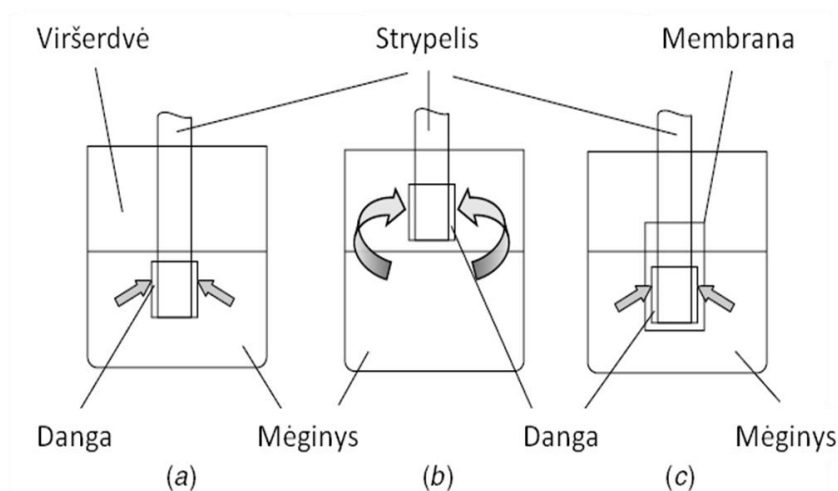
26 pav. KFME sistemos schema.



27 pav. KFME atlikimo technika: 1 – adata praduriamas ekstrakcinio indo dangtelis; 2 – padengtas sorbentu strypelis išstumiamas į mėginį; 3 – strypelis įtraukiamas į adatą, adata ištraukiama iš ekstrakcinio indo; 4 – adata preduriama dujų chromatografo garintuvo tarpinė; 5 – padengtas sorbentu strypelis išstumiamas į garintuvą, vyksta terminė analičių desorbacija; 6 – strypelis įtraukiamas į adatą, adata ištraukiama iš garintuvo.

Norint sukcentruoti reikiamą medžiagą, adata praduriamas indo su mėginiu kamštelis, strypelis išstumiamas iš adatos ir panardinamas į mėginį arba paliekamas viršerdvėje virš jo. Analitės sorbuojasi ant strypelio dangos. Tada strypelis įtraukiamas atgal į adatą, adata įvedama į dujų chromatografo garintuvą. Čia strypelis vėl išstumiamas iš adatos, analitės termiškai desorbuojamos ir analizuojamos (27 pav.).

Yra trys KFME atlikimo būdai - tiesioginė KFME, KFME iš viršerdvės ir KFME su membranine apsauga (28 pav.).



28 pav. Kietafazės mikroekstrakcijos atlikimo būdai. a – tiesioginė KFME; b – KFME iš viršerdvės; c – KFME su membranine apsauga.

Tiesioginė KFME atliekama strypelį panardinus tiesiai į tirpalą. Šis būdas taikomas skystų mėginių analizei. Ekstrakcija iš viršerdvės atliekama strypelį laikant dujinėje fazėje virš mėginio. Taip galima analizuoti skystus ir kietus mėginius. Ekstrakcija su membranine apsauga taikoma labai sudėtingų ar užterštų skystų mėginių analizei, ypač kai dirbama su mažai lakiomis analitėmis. Tinkamai parinkta membrana gali padidinti nustatymo atrankumą.

Tiesioginė KFME labiau tinkama vidutinio lakumo analitėms, tuo tarpu ekstrakcija iš viršerdvės – didesnio lakumo junginiams, kadangi jų pusiausvyros nusistovėjimo trukmė, atliekant ekstrakciją iš viršerdvės, yra žymiai mažesnė. Labai užterštų mėginių analizę, siekiant išvengti KFME strypelio užteršimo, geriausiai atlikti KFME iš viršerdvės arba KFME su membranine apsauga būdu. Strypeliai su membranine apsauga turėtų būti naudojami tik dirbant su labai užterštais mėginiais, jeigu neįmanoma panaudoti kitų dviejų KFME būdų, nes tai gana ilgas būdas, kadangi analitės, prieš pasiekdamos strypelį, iš pradžių turi difunduoti per membraną. Pakėlus ekstrakcijos temperatūrą, netgi vidutinio lakumo junginių ir stipriai su matrica susijusių junginių ekstrakcija gali būti atliekama KFME iš viršerdvės būdu. Kai mėginiai švarūs, galima naudoti ir KFME iš viršerdvės, ir tiesioginę KFME.

Kietafazės mikroekstrakcijos teoriniai pagrindai

KFME yra pusiausvyris procesas. Paprasčiausias KFME būdas yra tiesioginė KFME, kai ekstrakcija atliekama iš tiriamo tirpalo ir analitės pasiskirsto tarp vandeninio tirpalo ir strypelio dangos. Nusistovėjus pusiausvyrai, sorbuotas analitės kiekis dangoje yra proporcingas analitės koncentracijai tirpale ir aprašomas lygtimi [9]:

$$n = \frac{c_o V_f V_s K}{K V_f + V_s} \quad (13)$$

Čia n - sorbuotas analitės molekulių skaičius; c_o - pradinė analitės koncentracija vandeniniame tirpale; V_f ir V_s - strypelio dangos ir vandeninio tirpalo tūriai; K - analitės pasiskirstymo koeficientas danga/vandeninis tirpalas.

Lygties narys KV_f aprašo analitės kiekį, kurį sorbuoja strypelio danga. KV_f efektas yra nežymus dideliems mėginiams ir jo įtaka didėja, mažėjant mėginio tūriui. Vidutiniškai lakių nepolinių junginių atveju K dažnai būna labai didelis, tada pasiekus pusiausvyrą junginio koncentracija tirpale gali labai sumažėti, t.y. didelė mėginio dalis gali būti išekstrahuojama.

Jeigu analitės pasiskirstymo koeficientai nedideli, o mėginio tūris žymiai didesnis už dangos tūrį ($KV_f \ll V_s$), tai ekstrahuojamos analitės kiekis apskaičiuojamas pagal lygtį:

$$n = c_o V_f K \quad (14)$$

Taigi tarp analitės kiekio strypelio dangoje ir jos koncentracijos vandeniniame tirpale egzistuoja tiesinė priklausomybė. Ji lemia ir tiesinį dujų chromatografo detektoriaus atsaką, jei absorbcijos sąlygos mėginyje ir desorbcijos sąlygos dujų chromatografo garintuve yra pastovios.

Kitas kietafazės mikroekstrakcijos būdas - ekstrakcija iš dujinės fazės, esančios virš mėginio. Šiuo atveju analitės pusiausvyra tarp viršerdvės ir strypelio dangos nusistovi žymiai greičiau, kadangi difuzija dujinėje fazėje yra apytiksliai 4 eilėmis didesnė negu vandeninėje. Greita pusiausvyra tarp vandeninės ir dujinės fazių gali būti pasiekta, pastoviai maišant vandeninį tirpalą. Sistema tampa sudėtingesnė, kadangi analizė pasiskirsto tarp trijų fazių: vandeninio tirpalo, viršerdvės ir strypelio dangos. Sorbuotas analitės kiekis viršerdvėje apskaičiuojamas pagal lygtį:

$$n = \frac{c_o V_f V_s V_h K}{K V_f + K_{hs} V_h + V_s} \quad (15)$$

Čia n - sorbuotas analitės molekulių skaičius; c_o - pradinė analitės koncentracija tirpale; V_f , V_s , V_h - strypelio dangos, tirpalo ir viršerdvės tūriai; K - analitės pasiskirstymo koeficientas danga /tirpalas; K_{hs} - analitės pasiskirstymo koeficientas viršerdvė/tirpalas.

K yra:

$$K = \frac{K_H}{K_F} = K_{fh} K_{hs} \quad (16)$$

Čia K - analitės pasiskirstymo koeficientas danga/tirpalas; K_{fh} - analitės pasiskirstymo koeficientas danga/viršerdvė; K_{hs} - analitės pasiskirstymo koeficientas viršerdvė/tirpalas; K_H , K_F - analitės Henrio konstantos tirpale ir strypelio dangoje.

Analizuojant vandeninius mėginius, ekstrakcijos iš viršerdvės pusiausvyros trukmę apsprendžia tiek K_{fh} , tiek ir K_{hs} . Lakioms analitėms, kurių K_{fh} yra santykinai maži, o K_{hs} - dideli, išekstrahuotas analitės kiekis yra nežymus, palyginus su visu jos kiekiu viršerdvėje. Taigi analitės koncentracija tirpale ekstrakcijos metu beveik nesikeičia. Ekstrakcijos trukmę didžiąja dalimi lemia difuzija dujinėje fazėje ir ekstrakcijos trukmė yra pakankamai maža. Kai analitės K_{hs} yra mažas (mažai lakių junginių atveju), jos koncentracija viršerdvėje yra maža ir ekstrakcijai turi įtakos analitės koncentracijos pokytis tirpale. Trukmė, per kurią nusistovi pusiausvyra tarp tirpalo ir viršerdvės, būna ilga, taip pat ir ekstrakcija užtrunka žymiai ilgiau. Taigi, jei tirpalas nemišomas, KFME iš viršerdvės galima naudoti tada, kai analitės pasižymi dideliu lakumu ir hidrofobiškumu ir kai pasiskirstymo danga /viršerdvė koeficientai K_{fh} yra nedideli. Šiuos reikalavimus gerai tenkina lakūs organiniai junginiai, todėl tokiu būdu juos galima atskirti nuo mažiau lakių junginių.

Daugumai vidutiniškai lakių organinių junginių gaunamas didelis ekstrakcijos jautris, bet ilga pusiausvyros nusistovėjimo trukmė. Ilgą pusiausvyros nusistovėjimo trukmę galima sutrumpinti, padidinus konvekciją viršerdvėje ir tirpale. Lakių analičių pusiausvyros nusistovėjimo trukmei tirpalo maišymas įtakos beveik neturi, nes viršerdvės talpa tokiems junginiams yra didelė. Tačiau mažiau lakiems junginiams pusiausvyros nusistovėjimo trukmė mažėja, kai tirpalas maišomas.

Kietąfazę mikroekstrakciją įtakojantys parametrai

Dangos sluoksnio storis turi įtakos ekstrakcijos trukmei ir metodo jautriui. Storos dangos didina metodo jautrį, tačiau išauga pusiausvyros nusistovėjimo trukmė. Todėl ekstrahuojant mažiau lakias analites, kurių pasiskirstymo koeficientai danga/tirpalas dideli, reikia naudoti ploniausias dangas, su kuriomis įmanoma pasiekti reikalingą metodo jautrį. Lakiems junginiams geresni rezultatai gaunami naudojant storą dangos sluoksnį.

Desorbcijos sąlygos. Analičių desorbcijai iš strypelio įtakos turi desorbcijos temperatūra ir trukmė bei strypelio padėtis dujų chromatografo garintuve.

Desorbcijos temperatūra paprastai būna tarp 150 ir 250°C. Optimali desorbcijos temperatūra yra apytiksliai lygi mažiausiai lakios analitės virimo temperatūrai. Siekiant išvengti chromatografinių smailių išplitimo, pradinė dujų chromatografinės kolonėlės temperatūra turi būti žema arba kolonėlę reikėtų net šaldyti (kriofokusavimas).

Rekomenduojama pradinė kolonėlės temperatūra yra 80-100°C mažesnė nei lakiausias analitės virimo temperatūra. Taip pat svarbu, kad garintuve būtų didelis nešančiųjų dujų srauto greitis. Tai pagreitintų analičių desorbciją.

Desorbcijos trukmė priklauso nuo desorbcijos temperatūros. Pagrindinė analičių dalis desorbuojasi greičiau nei per 1s, nes didėjant temperatūrai, analičių pasiskirstymo koeficientai danga/dujos staigiai mažėja. Vis dėlto, norint išvengti likučio efekto ir pilnai desorbuoti analites, kartais prireikia net 10 ir daugiau minučių.

Mėginio tūris turėtų būti pasirenkamas, atsižvelgiant į strypelio dangą/mėginys pasiskirstymo koeficientą K. Kadangi dauguma analičių turi labai didelius K, iš mažų mėginių jos gali būti beveik pilnai išekstrahuotos vienos ekstrakcijos metu. Praktikoje apskaičiuoti limituojantį mėginio tūrį yra taikoma lygtis, į kurią įtraukta ir matavimo paklaida:

$$V_s = \frac{100KV_f}{E} \quad (17)$$

V_s, V_f – mėginio ir strypelio dangos tūriai;

E – matavimo paklaida, %;

K - analitės pasiskirstymo koeficientas strypelio dangą/mėginys.

Pvz., jei paklaida 5%, tai mėginio tūris $V_s=20KV_f$. Tai reiškia, kad junginiams, kurių K yra apie 200, o strypelio dangos storis 100 μm, 2 ml ekstrakcijos indo panaudojimas duos puikius rezultatus, tuo tarpu 40 ml ekstrakcijos indą galima naudoti junginiams, kurių $K<4000$. Panaudojant didesnius negu limituojantys mėginio tūrius, ne tik padidėja jautris, bet ir gaunamas geresnis tikslumas, kadangi mėginio dydžio svyravimas nebeturi įtakos rezultatams.

Atliekant ekstrakciją iš viršerdvės, analitės pasiskirsto tarp dujinės fazės ir strypelio dangos. Jei analitės koncentracija bus maža viršerdvėje, nustatymo jautris sumažės. Todėl viršerdvės tūris turėtų būti nedidelis. Šiuo atveju bendras sistemos tūris turi būti išlaikomas pastovus.

Maišymas. Maišymo efektyvumas lemia vandeninių mėginių pusiausvyros nusistovėjimo trukmę, nes yra pagreitinamas masių transportas tarp mėginio tūrio ir strypelio. Panardinus KFME strypelį į vandenį, aplink jį susidaro plonas statinis vandens sluoksnis, kurį labai sunku eliminuoti net ir stipriai maišant tirpalą. Nemašant tirpalo, analitės transportą ir vandeniniame tirpale, ir statiniame vandens sluoksnyje lemia difuzija. Vykstant sorbcijai, koncentracijos gradientas šiame sluoksnyje pastoviai mažėja, dėl to mažėja analitės srautas į strypelį, o tuo pačiu ir nustatymo jautris. Didėjant K, daugiau analitės molekulių turi difunduoti per šį sluoksnį, tuo pačiu ilgėja pusiausvyros nusistovėjimo trukmė. Todėl labai svarbu gerai maišyti tirpalą, ypatingai analitėms, kurių K dideli. Kai tirpalas gerai maišomas, galutinę

ekstrakcijos trukmę lemia tik difuzija per statinį vandens sluoksnį. Šis vandens sluoksnis prie strypelio vis tiek išlieka, tačiau yra labai plonas, ir todėl netgi didelės molekulinės masės medžiagos per jį lengvai difunduoja ir gali būti analizuojamos greitai.

Dažniausiai naudojamas maišymas magnetiniu maišikliu, kadangi jis yra prieinamiausias. Dar gali būti naudojamas indo, kuriame yra mėginys, arba strypelio judinimas, tačiau šiuo atveju galimi adatos arba strypelio pažeidimai. Populiarus ir labai efektyvus yra maišymas ultragarso voniose. Tačiau jis yra triukšmingas, reikalinga speciali įranga, be to, maišymo metu mėginys kaista, kartais analitės gali net skilti.

Ekstrakcijos trukmė. Ekstrakcijos trukmė apibrėžiama kaip laiko tarpas, po kurio išekstrahuojamas analitės kiekis tampa pastovus, t.y. nusistovi analitės pusiausvyra tarp mėginio ir strypelio dangos. Ekstrakcijos trukmė priklauso nuo analičių pasiskirstymo koeficientų ir maišymo. Kuo didesni analičių pasiskirstymo koeficientai, tuo lėčiau nusistovi jų pusiausvyra. Siekiant pagreitinti pusiausvyros nusistovėjimą, mėginiai yra maišomi. Ekstrakcijos trukmė žymiai sumažėja, atliekant KFME iš viršerdvės.

Norint išekstrahuoti maksimalų analitės kiekį, turi būti pasiekta pusiausvyra, tačiau dažnai tai labai ilgai užtrunka. Ilgai ekstrahuojant junginius, galimi jų nuostoliai dėl adsorbcijos ant indo sienelių, garavimo, mikrobinės degradacijos. Todėl paprastai nelaukiama, kol pusiausvyra pilnai nusistovės. Buvo nustatyta, kad per pirmus 20% viso pusiausvyrai nusistovėti reikalingo laiko yra išekstrahuojama 70-80% bendro analitės kiekio. Todėl praktikoje pasirenkama tam tikra trukmė ir viso eksperimento metu ekstrakcija trunka vienodai.

Ekstrakcijos temperatūra turi dvigubą poveikį: didėjant temperatūrai, difuzijos koeficientai vandenyje didėja ir ekstrakcijos trukmė mažėja, bet pasiskirstymo koeficientai tampa mažesni, t.y., mažėja nustatymo jautris. Todėl tiesioginės KFME atveju mėginys paprastai nėra kaitinamas. Mėginio kaitinimas yra svarbus, atliekant KFME iš viršerdvės, kai reikia pagreitinti analičių perėjimą į dujinę fazę. Šiuo atveju pasiskirstymo koeficientai danga/viršerdvė taip pat mažėja, tačiau, antra vertus, labai padidėja analičių koncentracija viršerdvėje. Todėl, kaip taisyklė, iš pradžių keliant mėginio temperatūrą ekstrakcijos išgava auga, o vėliau ima mažėti. Būtina nustatyti optimalią ekstrakcijos iš viršerdvės temperatūrą, kuriai esant ekstrakcijos išgava didžiausia.

Mėginio pH yra svarbus rūgštinėmis ar bazinėmis savybėmis pasižymintiems junginiams. Ekstrakcija daug efektyvesnė, jeigu šie junginiai yra nedisocijavę. Pvz., sumažinus pH, tirpale esantys rūgštiniai junginiai pereis į neutralią formą, jų ekstrakcija taps pilnesnė. Kad analitė pilnai pereitų į neutralią formą, tirpalo pH turėtų būti bent 2 vienetais mažesnis už analitės pK. Bazinėms analitėms pH turėtų būti didesnis už pK+2. Tačiau reikia atkreipti dėmesį į strypelio dangos stabilumą. Pvz., polidimetilsiloksano danga išlieka stabili, kai pH 4-10. Jei mėginys labiau rūgštinis arba šarminis, polidimetilsiloksanas pradeda irti.

Joninė jėga. Į vandeninį tirpalą pridėjus druskos, aplink disocijavusios druskos jonus susidaro hidratinė sfera, taigi dalis vandens molekulių nebėra laisvos. Galima teigti, kad susidariusi sfera sumažina vandeninės fazės koncentraciją, kurioje tirpsta analitės, dėl to analitės lengviau pereina į ekstrahentą. Dėl to neutralių organinių junginių pasiskirstymo koeficientai gali padidėti net keletą kartų, padidėja ir išekstrahuojamų junginių kiekis. Tačiau kartais, kai analitės būna disocijuotoje formoje, stebimas ekstrahuojamo junginio kiekio sumažėjimas, todėl pirmiausia analitę reikia pervesti į neutralią formą. Reikiamai joninei jėgai gauti dažniausiai naudojamos druskos yra Na_2SO_4 , MgSO_4 ir NaCl . Padidėjus tirpalo joninei jėgai, gali sumažėti strypelio atrankumas.

Organiniai tirpikliai. Vandeniniame mėginyje esantys organiniai tirpikliai stabdo analičių sorbciją, nes konkuruoja su analitėmis dėl sorbcinių vietų dangoje. Pvz., tiriant metanolio kiekio įtaką išekstrahuotam benzeno, tolueno, ksilenų ir etilbenzeno kiekiui buvo nustatyta, kad kol metanolio koncentracija tirpale neviršija 1%, jo įtaka praktiškai nepasireiškia. Toliau didėjant metanolio koncentracijai, stebimas sorbuotų analičių kiekio mažėjimas. Kai metanolio koncentracija 3%, benzeno kiekis sumažėja 20%, etilbenzeno ir ksileno - 15%.

Kietafazės mikroekstrakcijos strypeliai

Pramoniniu būdu gaminamuose kietafazės mikroekstrakcijos strypeliuose sorbuojanti danga dengiama ant kvarcinių strypelių. Kvarcas išlydomas ir įtaisu, naudojamu optinių pluoštų gavimui, ištempiamas į ploną $110 \pm 5 \mu\text{m}$ skersmens strypelį. Ataušintas strypelis padengiamas polimerine faze pratraukiant jį pro reikiamo skersmens aplikatorių su dengiančios medžiagos tirpalu. Po to strypelis apdorojamas termiškai ar veikiamas UV spinduliais ir susukamas į ritę. Gamybos proceso metu kvarcinio strypelio skersmuo ir dangos storis kontroliuojami kompiuteriu, todėl strypelių ir jų dangų skersmuo gerai atkartojami. Tokiu būdu gaminami homogenine faze padengti KFME strypeliai.

Heterogeninėms dangomis (polidimetilsiloksanas (PDMS) / divinilbenzenas (DVB), Karboksenas (CAR) / PDMS, Karbovaksas / DVB, Karbovaksas (CW) / sintetinė derva (TPR 100), padengti strypeliai gaminami dengiant rankiniu būdu keliomis stadijomis.

Norint užtikrinti rezultatų pasikartojamumą, strypelis kondicionuojamas reikiamoje temperatūroje inertinėje atmosferoje ir testuojamas panaudojant standartinius mišinius. KFME įtaise naudojami 2 cm ilgio strypeliai. Strypelis supjaustomas lygiomis 2 cm ilgio dalimis, tada nuo vieno strypelio galo nurėžiama 1 cm dangos. Šiuo galu strypelis priklijuojamas prie KFME įtaiso stūmoklio.

Dangų tipai

Išekstrahuotas analitės kiekis priklauso nuo ekstrakcinės fazės tūrio, todėl padidinti metodo jautrį galima didinant dangos sluoksnio storį. Prieš keletą metų buvo pasiūlyti

alternatyvūs KFME būdai, leidžiantys padidinti metodo efektyvumą, nedidinant ekstrakcinės fazės tūrio - tai sukamo strypelio sorbcinė ekstrakcija ir plonos plėvelės mikroekstrakcija. Sukamo strypelio metodo principas remiasi tuo, kad naudojami keli ploni dengti strypeliai, suvynioti į apvalkalą. Šis būdas lenkia paprastą KFME tikslumu ir jautrumu nustatant pėdsakų kiekius sudėtingose matricose. Esminis jo trūkumas - procesas trunka gerokai ilgiau, nes yra ribojamas analičių difuzijos per apvalkalą iki ekstrakcinės fazės. Plonos plėvelės ekstrakcija šiuo trūkumu nepasižymi, nes nėra jokio barjero, ribojančio mėginio dalelių priėjimą prie sistemos. Metodo esmė ta, kad naudojamos polimerinės membranos, o ne danga dengti strypeliai. Padidėjęs ekstrakcinės fazės plotas lemia geresnį jautrį ir tikslumą, neprailgėjant analizės trukmei. Tačiau šie alternatyvūs KFME būdai kol kas dar nėra komercializuoti.

Strypelių dangos pagal poliškumą skirstomos į nepolines, vidutiniškai polines ir polines.

Nepolinės dangos: PDMS (dangos storis 100 μm, 30 μm ir 7 μm).

Vidutiniškai polinės dangos: PDMS / DVB (dangos storis 65 μm).

Polinės dangos: poliakrilatas (PA) (dangos storis 85 μm), CW / DVB (dangos storis 55 μm), CW / TPR 100 (dangos storis 50 μm).

Polines analites geriau ekstrahuos strypeliai padengti polinėmis dangomis, nepolines – nepolinėmis. Lakiems junginiams geresni rezultatai gaunami naudojant storą ekstrahuojančią dangą, tuo tarpu mažiau lakiems - plonesnę.

Pramoniniu būdu gaminamų strypelių dangos klasifikuojamos į homogenines grynų polimerų dangas ir dangas, sudarytas iš poringų dalelių, įterptų į polimerinę fazę.

Homogeninės polimerinės dangos

Šiuo metu galimos dvi polimerinės dangos - polidimetilsiloksanas ir poliakrilatas. Dažniausiai naudojama polidimetilsiloksano danga. yra didelės klampos, gumos konsistencijos skystis, tačiau atrodo kaip kietas kūnas. Rekomenduojama desorbcijos temperatūra yra 200 - 320°C. Ši danga labai gerai ekstrahuoja nepolinius junginius. Tačiau optimizavus ekstrakcijos sąlygas, PDMS sėkmingai gali būti taikomas ir poliškesnių junginių nustatymui. PDMS dangos storis gali būti 7 μm, 30 μm arba 100 μm. Dangos gali būti susiūtos ir nesusiūtos. Susiūtose dangose polimerų grandinės surištos skersiniais ryšiais tarpusavyje bei su kvarciniu strypeliu. Tokios dangos gaunamos įvedant į polimero grandinę vinilo grupių. Susiūtos dangos termiškai stabilesnės (iki 320°C) nei nesusiūtos. Pastarąsias galima naudoti tik iki 270°C temperatūros.

Kita polimerinė homogeninė danga - poliakrilatas (dangos storis 85 μm). Poliakrilatas yra kieta kristalinė medžiaga, kuri virsta skysčiu desorbcijos temperatūroje. Maksimali desorbcijos temperatūra yra 220 - 320°C. Ši danga dalinai susiūta. Ji žymiai poliškesnė, todėl tinkama ekstrahuoti polinėms analitėms pvz., fenoliams. Difuzijos koeficientai PA dangoje yra apie 10 kartų mažesni negu į PDMS dangoje, todėl ilgėja junginių ekstrakcijos trukmė. PDMS ir PA ekstrahuoja analites absorbcijos mechanizmu.

Dangos, sudarytos iš poringų dalelių, įterptų į polimerinę fazę

Šios dangos sudarytos iš poringų dalelių, įterptų į polimerinę matricą. Kaip taisyklė, šios dangos pasižymi mažesniu mechaniniu patvarumu, nei homogeninės, bet yra atrankesnės. Pramoniniu būdu gaminamos šios nehomogeninės dangos: PDMS/DVB, PDMS/CAR, CAR / DVB ir CW /TPR 100.

Dangų savybės priklauso ne tik nuo jų prigimties, bet ir nuo dalelių poringumo bei porų dydžio. Didėjant dangos poringumui, padidėja dangos talpa, be to analitės adsorbuojamos stipriau. Divinilbenzeno polimero dalelės paprastai yra makroporinės (100 Å), sintetinė anglis - mikroporinė ir mezoporinė (5 – 50 Å).

Naudojant dangas, sudarytas iš poringų dalelių, įterptų į polimerinę fazę, ekstrakcija trumpesnė, šių sorbentų tiesinis intervalas ir talpa mažesni.

Pirmiausiai, nepriklausomai nuo dangos prigimties, analitė prikimba prie paviršiaus. Ar ji migruos į dangos tūrį, ar liks paviršiuje, priklauso nuo analitės difuzijos koeficiento dangoje dydžio. Organinių molekulių difuzijos koeficientai polidimetilsiloksane yra artimi jų difuzijos koeficientams organiniuose tirpikliuose, todėl difuzija į PDMS dangą vyksta gana greitai ir pasireiškia absorbcijos mechanizmas. Difuzijos koeficientai poliakrilate yra mažesni, tačiau pakankami, kad absorbcija būtų vyraujantis ekstrakcijos mechanizmas. Priešingai šioms dangoms, organinių molekulių difuzijos koeficientai DVB ir karbokseno dangų tūryje yra tokie maži, kad per visą KFME analizės laiką beveik visos molekulės lieka dangos paviršiuje. Per labai ilgą laiko tarpą (dienas ar savaites) dalis molekulių vis tiek prasiskverbia į dangą ir yra sunkiai pašalinamos netgi atliekant pakartotines desorbcijas, todėl likučiai trukdo analizei. Tačiau praktiniuose pritaikymuose ekstrakcija vykdoma trumpiau, todėl adsorbcija yra dominuojantis mechanizmas. Parenkant dangą konkrečiai analitei, atsižvelgiama į analitės molinę masę ir polingumą. Kai analitės molinė masė mažesnė negu 90 g/mol, nepriklausomai nuo to, kokiai junginių klasei ji priklauso, geriausiai tinka CAR – PDMS mišri danga. Su ja gaunamas analizinis atsakas apie šimtą kartų stipresnis negu su kitomis dangomis. Greičiausiai taip yra dėl poringų karbokseno dalelių, kurios gerai sulaiko į poras patekusias smulkias analitės molekules. Tačiau smulkiems aminams geriau tinka divinilbenzeno danga. Didėjant analitės molinei masei, aiškesnio dėsningumo, kuriuo būtų galima remtis parenkant dangą nepastebėta, nes skystos fazės didesnes analites sorbuoja taip pat gerai kaip ir porėtos, todėl poringumo efektas ne toks svarbus. Čia svarbesnis analičių poliškumas. Poliniams junginiams gerai tinka CW – DVB ir PA dangos. DVB – CAR danga taip pat gerai tinka didesnių analičių ekstrakcijai; didesnės koncentruojasi DVB sluoksnyje, o smulkesnės - karbokseno. Stebėtina, kad polinės poliakrilato dangos geba ekstrahuoti nepolinius junginius. Tai aiškinama π ryšių susidarymu. Taip pat nustatyta, kad karboksenas nelabai tinka didesnių analičių, ypač policiklinių aromatinių angliavandenilių, ekstrakcijai nes po ekstrakcijos sunku analites

desorbuoti. Išimtyms rodo, kad galima vadovautis bendrais principais parenkant dangas, tačiau konkrečiai analizei dangą geriausia parinkti eksperimentiškai.

Literatūra

1. Mitra S, editor. Sample preparation techniques in analytical chemistry. New Jersey: Wiley-Interscience; 2003.
2. Ney RE. Where did that chemical go? A practical guide to chemical fate and transport in the environment. New York: Van Nostrand Reinhold; 1990.
3. Psillakis E, kalogerakis N. Developments in liquid-phase microextraction. *Trends Anal. Chem.* 2003; 22: 565-574.
4. Liu H, Dasgupta KP. Analytical chemistry in a drop. Solvent extraction in a microdrop. *Anal. Chem.* 1996; 68: 1817-1821.
5. Xu L, Basheer C, Lee HK. Developments in single-drop microextraction. *J. Chromatogr. A* 2007; 1152: 184-192.
6. Wang Y, Kwok YC, He Y, Lee HK. Application of dynamic liquid-phase microextraction to the analysis of chlorobenzenes in water by using a conventional microsyringe. *Anal. Chem.* 1998; 70: 4610-4614.
7. Pedersen-Bjergaard S, Rasmussen KE. Liquid-liquid-liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis. *Anal. Chem.* 1999; 71: 2650-2656.
8. Belardi R, Pawliszyn J. The application of chemically modified fused silica fibers in the extraction of organics from water matrix samples and their rapid transfer to capillary columns. *Water Pollut. Res. J. Canada* 1989; 24: 179-185.
9. Pawliszyn J. Solid phase microextraction. Theory and practice. New York: Wiley-VCH; 1997.