

Stlačené tekutiny v analytických separačních metodách

Michal Roth
oddělení separací stlačenými tekutinami
Ústav analytické chemie AV ČR, v.v.i.
Veveří 97
60200 Brno

s využitím výsledků a prezentací kolegů Pavla Karáska,
Josefa Planety a
Jaroslava Póla

Struktura

vymezení tématu - proč stlačené tekutiny v analytice ?

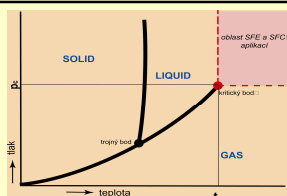
- 1) superkritická fluidní chromatografie (SFC)
- 2) superkritická fluidní extrakce (SFE)
- 3) extrakce org. rozpouštědly za zvýšených teplot a tlaků

PFE - Pressurized Fluid Extraction
PLE - Pressurized Liquid Extraction
PSE - Pressurized Solvent Extraction
ASE - Accelerated Solvent Extraction

- 4) extrakce stlačenou horkou (subkritickou) vodou

PHWE - Pressurized Hot Water Extraction
SubWE - Subcritical Water Extraction

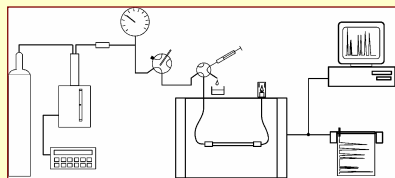
SFE, SFC ?



- využití vlastností látek v oblasti nad jejich T_c a P_c
- vlastnosti (hustota, solv. síla,...) mohou být řízeny volbou P a T
- CO_2 $T_c \sim 31^\circ C$ $P_c \sim 7.8 MPa$
- úspora času v porovnání s kapalinovou extrakcí
- šetrnější k životnímu prostředí - méně (nebo žádná) org. rozp.

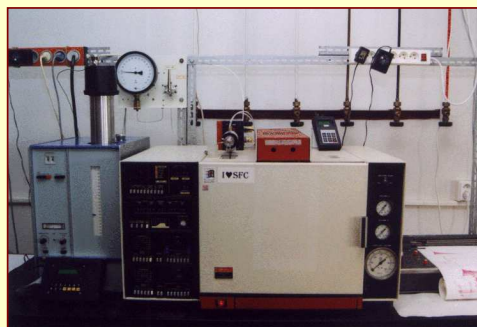
1) Superkritická fluidní chromatografie (SFC)

- * Stavba přístroje pro SFC
- * Příprava kolon pro SFC (mikro HPLC)
- * Příklady SFC separací
- * Neanalytické aplikace - systémy s iontovými kapalinami

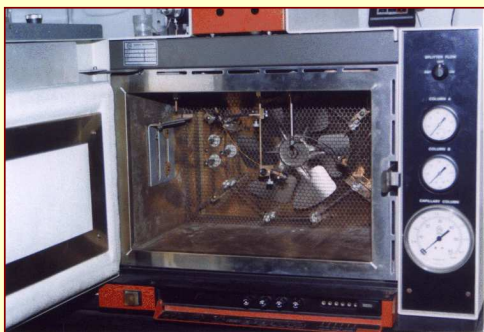


- Mobilní fáze (CO_2) v nadkritickém stavu: $p > 8 MPa$, $t > 31^\circ C$
- (HPLC) Vysokotlaká pumpa, dávkování pomocí ventilu
- (GC) Plamenově ionizační detektor (FID)
- (HPLC, GC) Kolony - náplňové (ϕ 320 μm - 4,6 mm)
kapilární (ϕ 50 μm - 100 μm), délka 10m
- (-) Restriktor pro omezení toku mobilní fáze

SFC zařízení (Varian 3700)



Detail vnitřku SFC zařízení

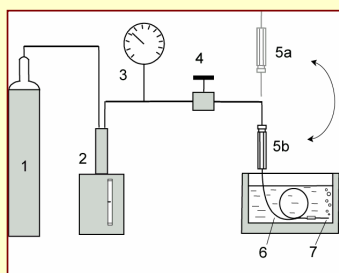


Příprava kapilárních náplňových kolon pro SFC (HPLC)

Požadavky na kolony:

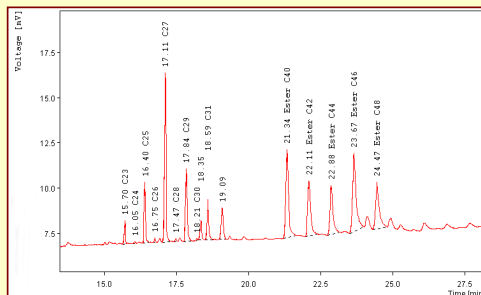
- Náplň sorbent o zrnitosti 3 nebo 5 μm , délka kolony do 1m
- Průměr kolony do 320 μm \Rightarrow $F = 4\mu\text{l}/\text{min}(\text{liq.})$, $F = 10\text{ml}/\text{min}(\text{g})$
- Pracovní tlak do 40 MPa \Rightarrow nároky na uzavření konců kolon
- Vysoká účinnost vyrobených kolon

Aparatura k plnění kapilárních náplňových kolon



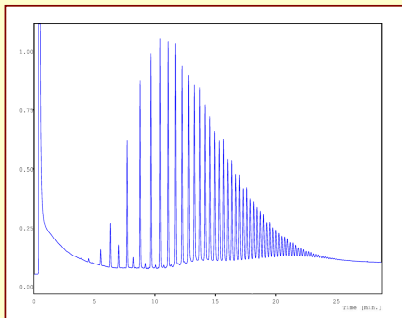
- 1 – CO₂ cylinder
- 2 - HPLC pump
- 3 – manometer
- 4 - on/off valve,
- 5 - stainless steel filling reservoir,
- 6 - fused silica capillary,
- 7 – restrictor

Příklady SFC separací



SFC separace pečete Rudolfa II (materiál včelí vosk). Kolona 320 μm x 150 mm, 5 μm Biospher C18, $t=80^\circ\text{C}$, FID 150°C, program m 8-35 MPa

Příklady SFC separací



SFC separace polydimethylsiloxanu. Kolona 320 μm x 150 mm, 5 μm Biospher C18, $t=80^\circ\text{C}$, FID 150°C, program 8-35 MPa

Iontové kapaliny (ionic liquids, IL)

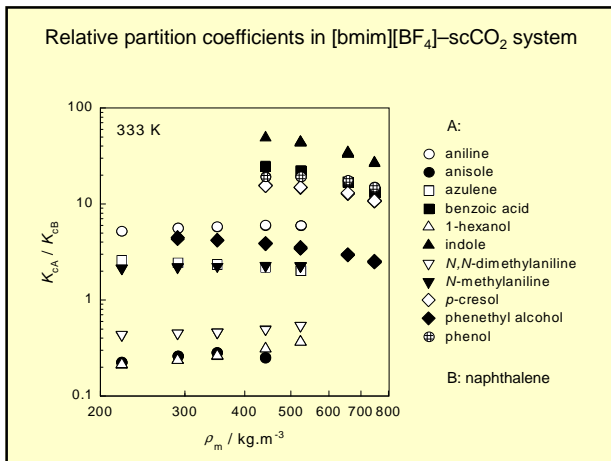
?

= organické soli, které jsou za pokojové teploty kapalné

= kapaliny složené výhradně z iontů, neobsahují částice (molekuly) bez elektrického náboje

vlastnosti IL se výrazně liší od běžných molekulárních rozpouštědel (voda, organická rozpouštědla)

počet „možných“ iontových kapalin = $\sim 10^{12}$

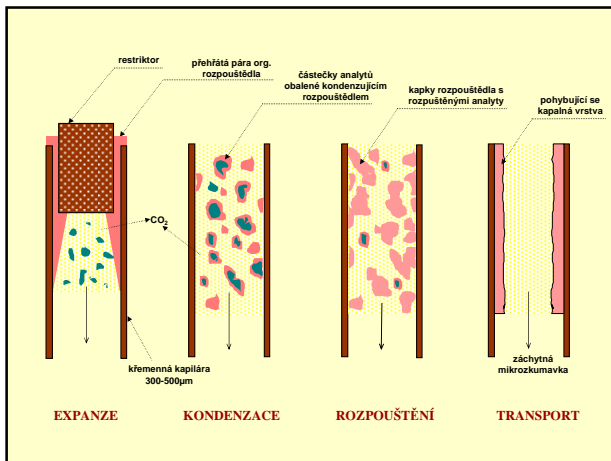
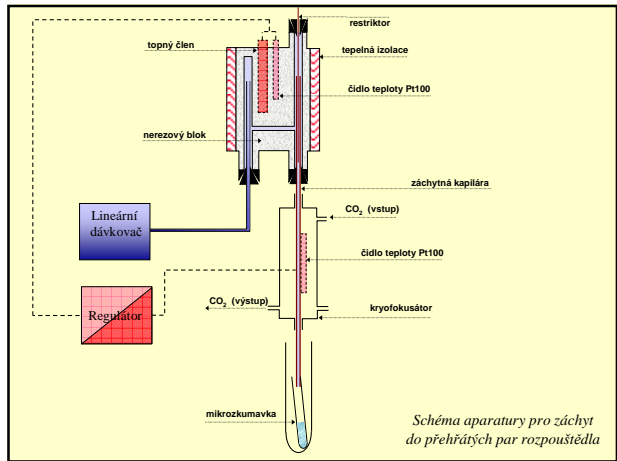
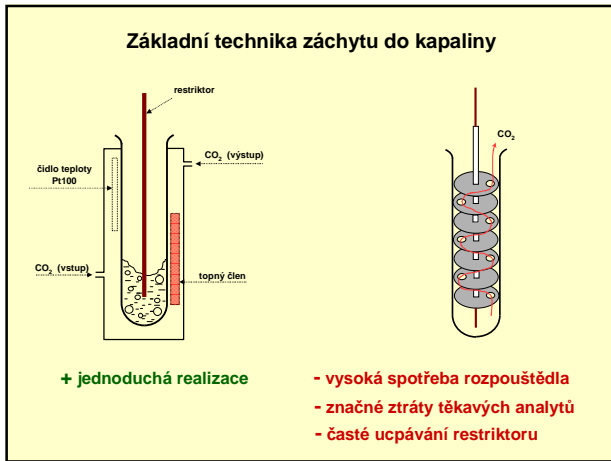


2) SFE - superkritická fluidní extrakce (CO₂)

tuhé vzorky vodné vzorky

solvatační schopnost CO₂ je velmi závislá na tlaku (hustotě)

? chrom. analýza - dekomprese - ztráty analytů - záchyt ?



SFE (příjemných) kapalných vzorků ?

Analýza vín

Direct Continuous Supercritical Fluid Extraction as a Novel Method of Wine Analysis: Comparison with Conventional Indirect Extraction and Implications for Wine Variety Identification

Pavel Karásek, Josef Planeta, Elena Varaďová Ostrá, Milena Mikešová, Jan Goliáš, Michal Roth, and Jiří Vejrosta

Journal of Chromatography A 2003, 1002, 13-23.

AURELIUS, FRANKOVKA, Müller Thurgau, MUSKÁT OTTONEL, NEUBURSKÉ, PÁLAVA, PORTUGALSKÉ MODRÉ, Rulandské bílé, RULANDSKÉ MODRÉ, RULANDSKÉ SĚDĚ, Ryzlink rýnský, Ryzlink vlašský, Sauvignon, SVATOVAVŘINECKÉ, Veltinské červené rané, Veltinské zelené, ZWEIGELTREBE

121 vzorků vín
21 odrůd broznů *Vitis vinifera* L.
4 sklízňe (ročníky 1996-1999)

Multivariate Statistics

of the wine varieties represented by ≥ 4 wine samples

cluster analysis - used to select the 4 samples/variety if more

discriminant analysis - elimination of redundant (= linearly dependent) component peak areas from the input data matrix

canonical correlation analysis - computation of discriminant functions, i.e., the latent factors differentiating among the wine samples

Info: <http://www.statsoft.com/textbook/stathome.html>

Computation tool: KyPlot spreadsheet SW, Koichi Yoshioka, http://www.qualest.co.jp/Download/KyPlot/kyplot_e.htm, <http://www.kyenslab.com/en>

Statistické zpracování (diskriminační analýza) chromatogramů

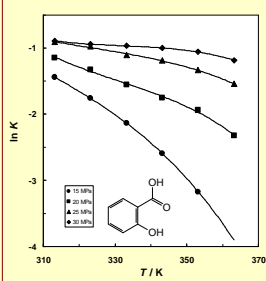
Ve srovnání s postupem přes extrakci tuhým sorbentem (SPE-SFE-GC) poskytuje přímá SFE vín (DCSFE-GC) mnohem lepší rozlišení odrůd

Další analytické aplikace přímé kontinuální SFE (DCSFE) vodných vzorků:

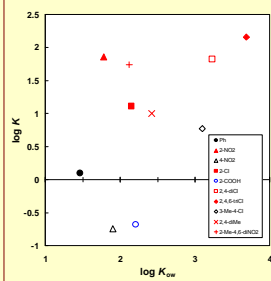
- **pivo** - aldehydy, ketony, mastné kyseliny, estery; PAH, PCB (DCSFE-GC)
- **přírodní insekticidy - pyrethryny** (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) (DCSFE-HPLC)
- **lykopen** (tetraterpen, červené barvivo rajských jableček aj.) (DCSFE-HPLC)

Měření mezifázové distribuce analytů v systému H₂O - scCO₂

Partition Coefficient ($K = y/x$) of Salicylic Acid as a Function of T and P



CO₂-Water Partition Coefficients (333 K, 20 MPa) vs. Octanol-Water Partition Coefficients at Ambient Conditions

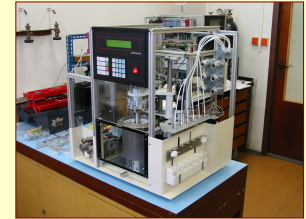


Red symbols = *ortho*-substituted phenols
Blue symbol = 2 dissociable protons

3) Kapalinová extrakce za zvýšených teplot [$T > T_{\text{boil}}^{\text{solvent}}$] a tlaků [$P > P_{\text{sat}}^{\text{solvent}}(T)$]

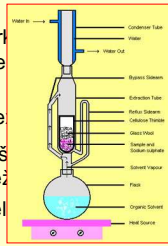
org. rozpouštědla / směsi: PFE, PLE, PSE, ASE

Instrumentace PFE - automatizované extraktory:



Výhody PFE proti (nízkotlaké) extrakci podle Soxhleta:

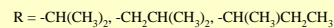
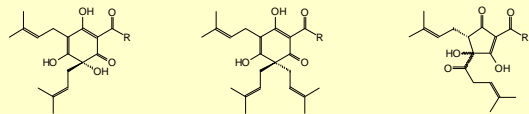
- vyšší rozpustnost analytů v důsledku jejich vyšší těkavosti při vyšších teplotách
- lepší přístup analytů z matrice vzorku do rozpouštědla, vyšší vstup hmoty, slabší interakce s matricí
- vyšší rychlost extrakce (a) a b) vede k rychlejší extrakci
- lepší kontrola složení extrakčního rozpouštědla, když mnohem méně než při Soxhletově extrakci
- lepší kontrola složení v případě použití směsných rozpouštědel - organických rozpouštědel v inertním prostředí
- lepší kontrola složení v případě použití směsných rozpouštědel - na rozdíl od Soxhletovy extrakce PFE nezahrnuje fázový přechod rozpouštědla (rovnováha kapalina-pára) a z něj plynoucí změny složení



Využití PFE - „nutričně“ významné látky v rostlinách

1) chmel (šišťice, chmelové pelety)

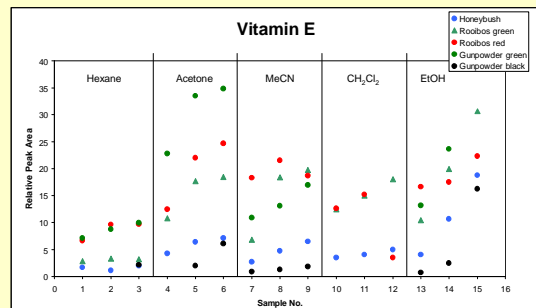
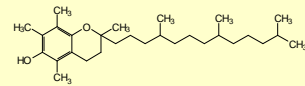
α -hořké kyseliny, humulony β -hořké kyseliny, lupulony isohumulony

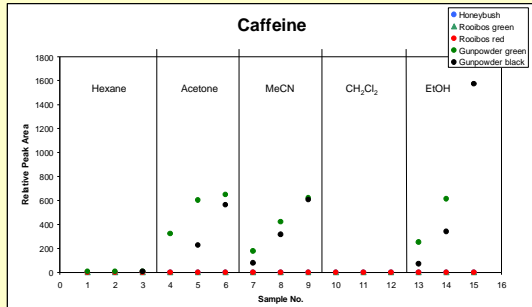
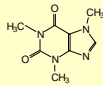


2) „čajové“ rostliny



- honeybush (*Cyclopia intermedia*) - jižní Afrika
- rooibos (*Aspalathus linearis*) - jižní Afrika
- čaj (*Camelia sinensis*) - Čína
- yerba maté (*Ilex paraguayensis*) - jižní Amerika

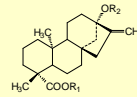




3) Steviosid

Stevia rebaudiana

cca 300x sladší než sacharosa



steviosid:
 $R_1 = \beta\text{-Glc}$
 $R_2 = \beta\text{-Glc-}\beta\text{-Glc}$
 steviol:
 $R_1 = R_2 = \text{H}$



4) Extrakce stlačenou horkou (subkritickou) vodou

Motivace:

Voda je nejen „nejzelenější“, ale také „nejladitelnější“ rozpouštědlem.

„Obvyklé“ podmínky (25 °C, 0.1MPa):

NaCl dobře rozpustný, benzen prakticky nerozpustný

„Superkritické“ podmínky (>374 °C, >22.1 MPa):

NaCl ~ nerozpustný, benzen ~ plně mísitelný

Využití vody za vysokých teplot a tlaků:

a) Superkritická voda ($t > 374\text{ °C}$, $P > 22\text{ MPa}$)

supercritical water oxidation, SCWO

b) Subkritická voda ($100\text{ °C} < t < 374\text{ °C}$, $P > P_{\text{sat}}(t)$)

„environmentální sanace“

extrakce rostlinných materiálů a surovin

analytická chemie – příprava vzorku

biopolymery – rozpouštění celulózy, hydrolyza proteinů

konverze (zplynování) biomasy – energie ($\text{CO} + \text{H}_2$)

Motivation

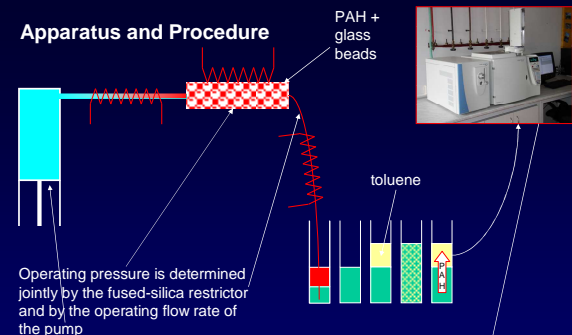
water = the “greenest” and the most “tunable” solvent

Property	“ambient” 25 °C, 0.1 MPa	“supercritical” 500 °C, 30 MPa
Density ρ / $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$	997.0	115
Cohesive energy density c / $\text{J}\cdot\text{cm}^{-3}$	2299	35.5
Solubility parameter δ / $(\text{J}\cdot\text{cm}^{-3})^{1/2}$	47.9	5.96
Internal pressure P_{int} / MPa	169	32
Ion product K_w / $(\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3})^2$	1×10^{-14}	1.5×10^{-12}
Relative permittivity ϵ	78.4	1.68

PHWE : $100\text{ °C} < t < 374\text{ °C}$, $P > P_{\text{sat}}(t)$

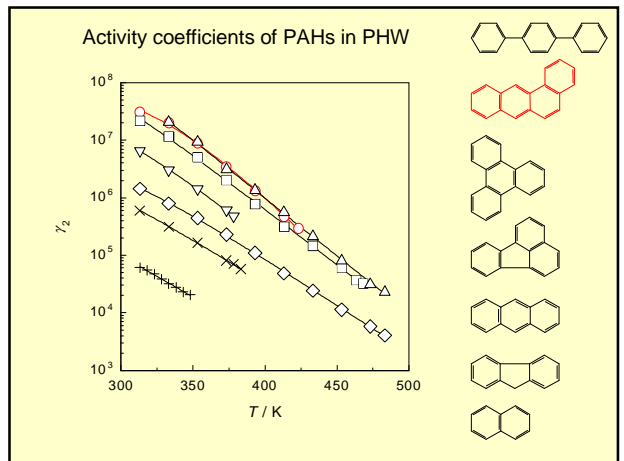
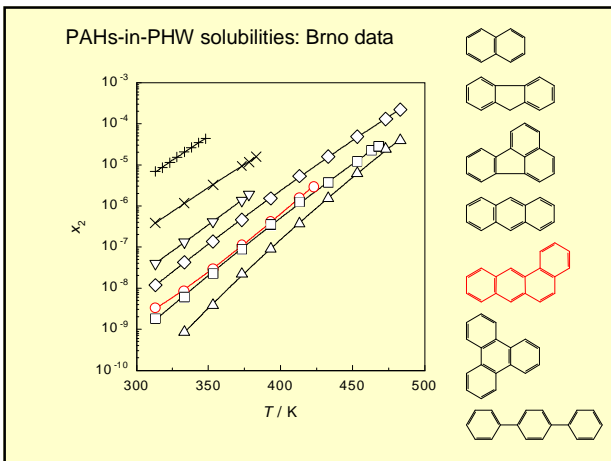
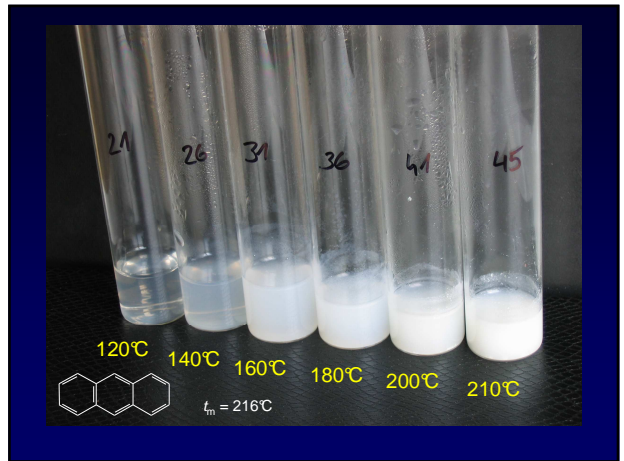
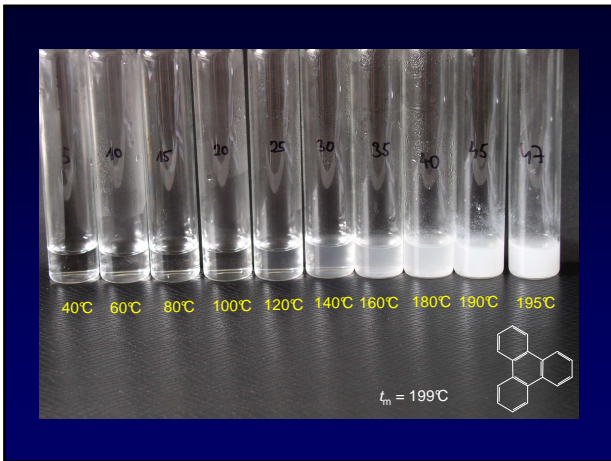
relative wealth of analytical applications of PHWE
 ×
 relative lack of solubility data

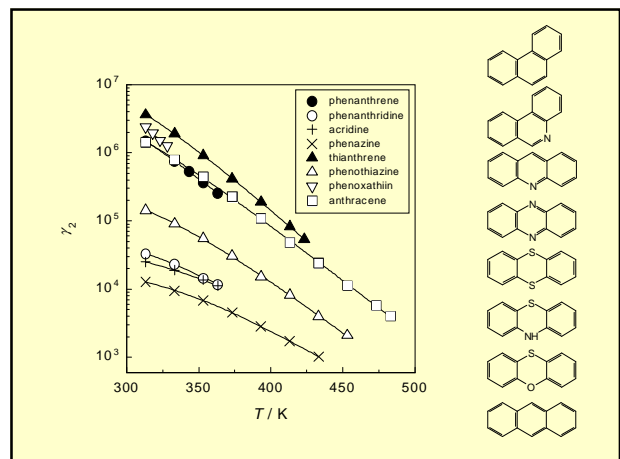
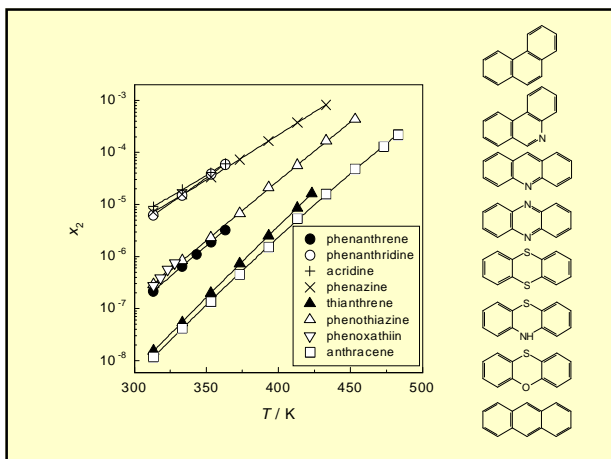
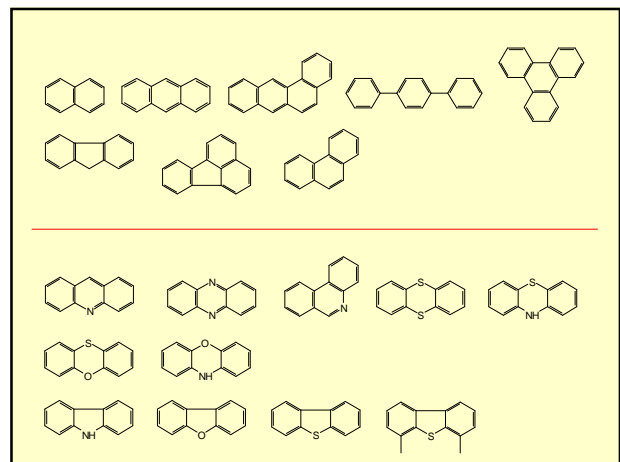
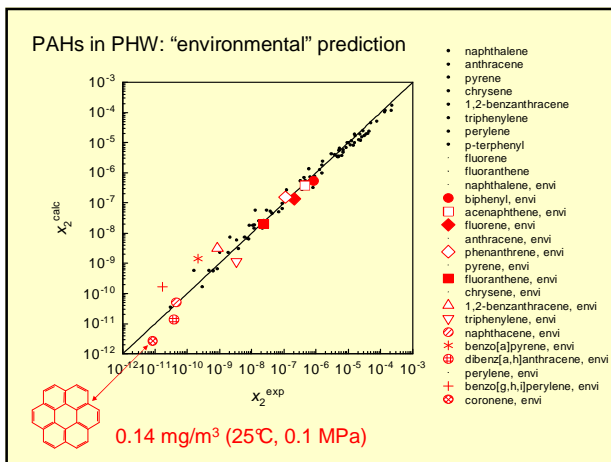
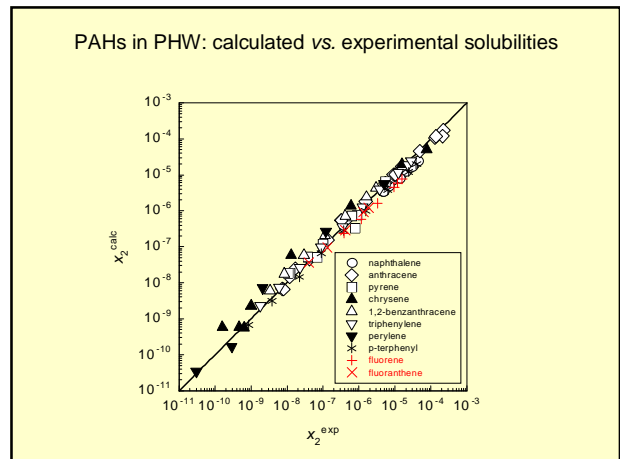
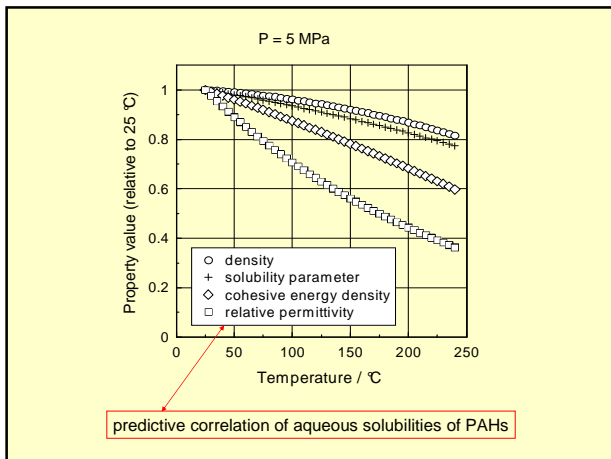
Apparatus and Procedure

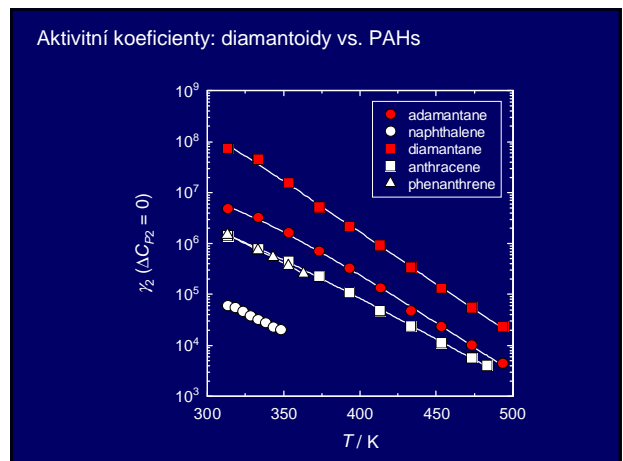
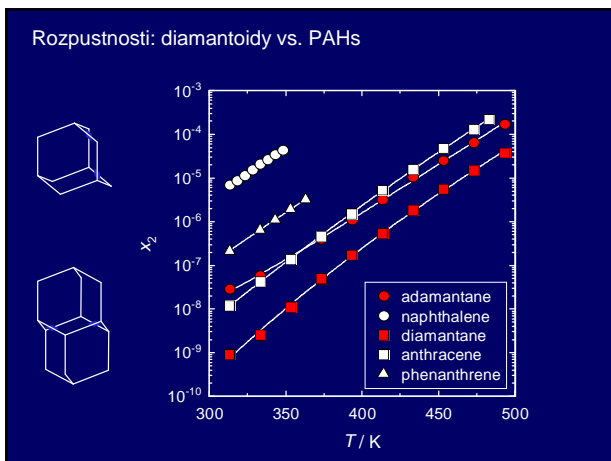
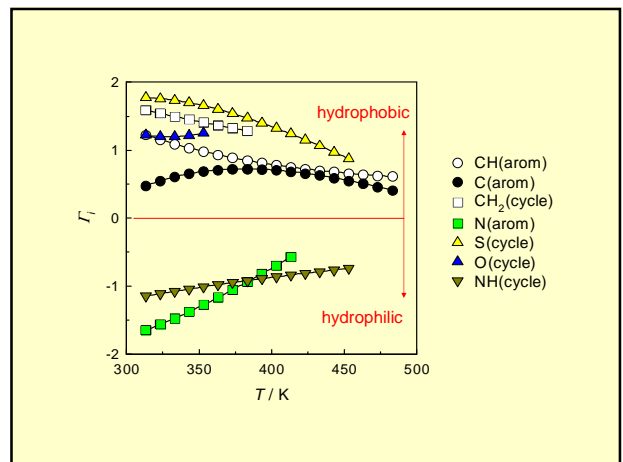
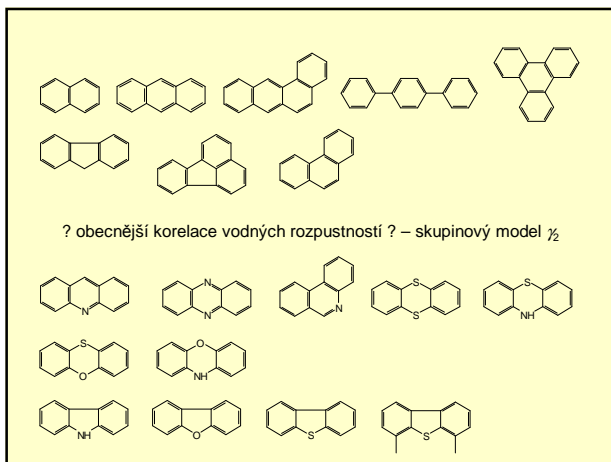
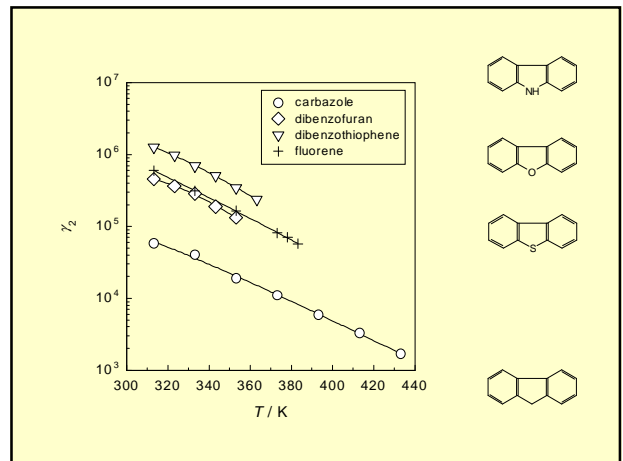
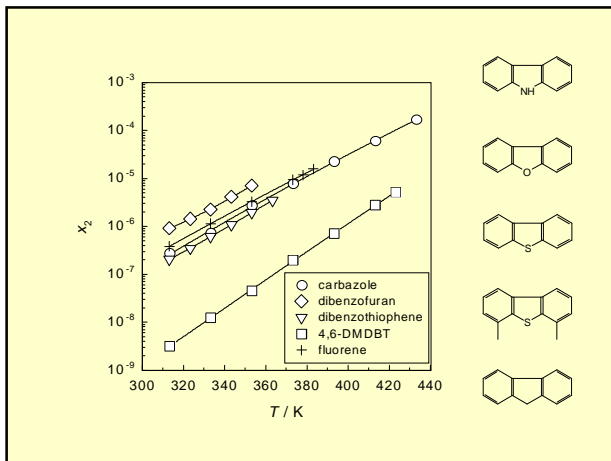


Operating pressure is determined jointly by the fused-silica restrictor and by the operating flow rate of the pump

Peak areas of the PAH and the internal standard together with volumetric dilution factors make it possible to obtain the solubility (equilibrium mole fraction) of the PAH in pressurized hot water, x_2







Děkuji za pozornost