

Stlačené tekutiny v analytických separačních metodách

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

s využitím výsledků a prezentací kolegů Pavla Karáska, Josefa Planety, Eleny Varadové Ostré, Jaroslava Póla, Barbory Hohnové, Lenky Štávikové, Marie Horké, Dany Moravcové a Karla Šlaisa

Struktura

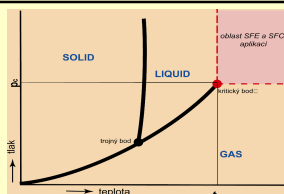
vymezení tématu - proč stlačené tekutiny v analytice ?

- 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
- 5) superkritická voda vs. křemenné povrchy – využití v analytických separačních metodách

SFE, SFC ?



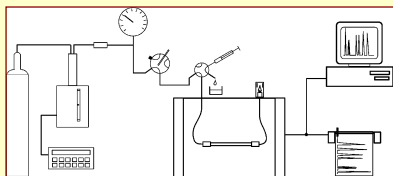
SF = supercritical fluid



- 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.
- hustota, solvatační schopnost ~ kapaliny
- viskozita, rychlost difuze ~ plyny

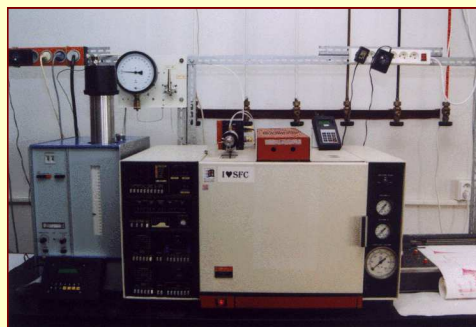
1) Superkritická fluidní chromatografie (SFC)

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

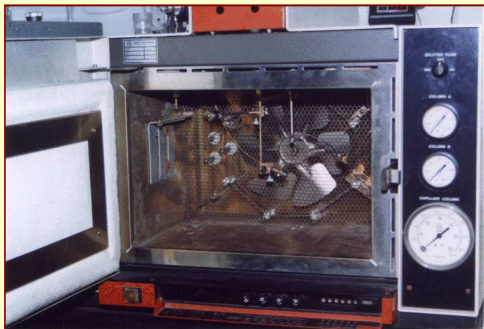


- Mobilní fáze (CO_2) v nadkritickém stavu: $p > 8$ MPa, $t > 31^\circ C$
- (HPLC) Vysokotlaká pumpa, dávkování pomocí ventilu
- (GC) Plamenově ionizační detektor (FID)
- (HPLC, GC) Kolony - náplňové (ϕ 320 μm - 4,6 mm)
kapilární (ϕ 50 μm - 100 μm), délka 10m
- (-) Restriktor pro omezení toku mobilní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

SFC zařízení (Varian 3700)



Detail vnitřku SFC zařízení

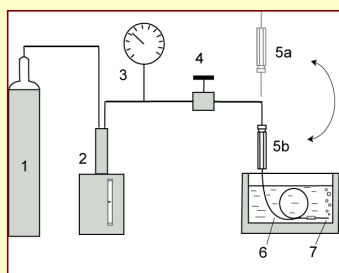


Příprava kapilárních náplňových kolon pro SFC (HPLC)

Požadavky na kolony:

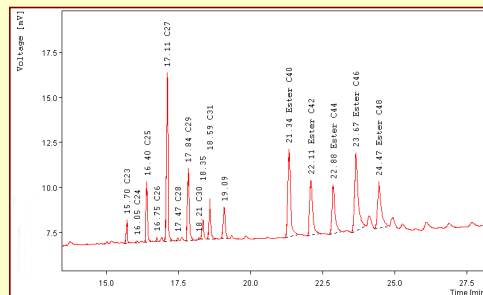
- Náplň sorbent o zrnitosti 3 nebo 5 μm , délka kolony do 1m
- Průměr kolony do 320 μm \Rightarrow $F = 4\mu\text{l}/\text{min}(\text{liq.})$, $F = 10\text{ml}/\text{min}(\text{g})$
- Pracovní tlak do 40 MPa \Rightarrow nároky na uzavření konců kolon
- Vysoká účinnost vyrobených kolon

Aparatura k plnění kapilárních náplňových kolon



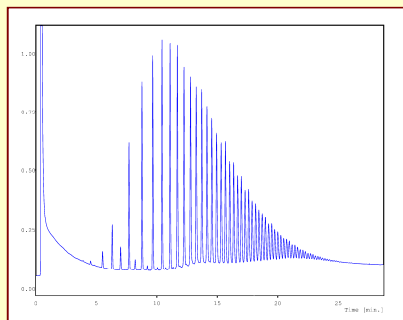
- 1 - CO₂ cylinder
- 2 - HPLC pump
- 3 - manometer
- 4 - on/off valve
- 5 - stainless steel filling reservoir
- 6 - fused silica capillary
- 7 - restrictor

Příklady SFC separací



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

Příklady SFC separací



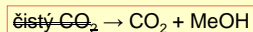
SFC separace polydimethylsiloxanu. Kolona 320 μm x 150 mm, 5 μm Biospher C18, $t=80^\circ\text{C}$, FID 150°C, program 8-35 MPa

SFC dnes ?

- chirální separace (enantiomery)
- separace a purifikace ve farmaceutickém průmyslu



vyšší „throughput“ než v HPLC
(více separací/analýz za časovou jednotku)



Iontové kapaliny (ionic liquids, IL)

?

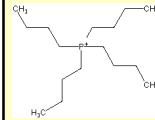
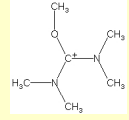
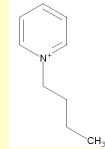
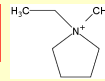
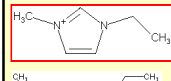
= organické soli, které jsou za pokojové teploty kapalné

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

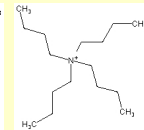
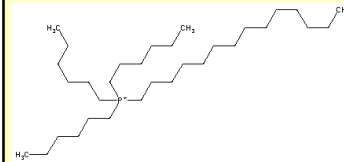
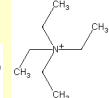
vlastnosti IL se výrazně liší od běžných molekulárních rozpouštědel (voda, organická rozpouštědla)

počet „možných“ iontových kapalin = $\sim 10^{15}$

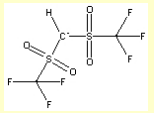
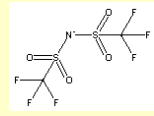
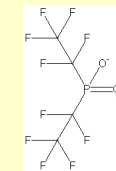
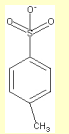
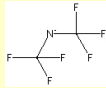
Ionic liquids – cations



+



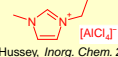
Ionic liquids – anions



History of Ionic Liquids ...1914 ...Walden... [(C₂H₅)₄N][NO₃]

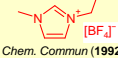
- 1980s: Chloroaluminate Ionic Liquids
1st generation

J.S. Wilkes, J.A. Levisky, R.A. Wilson and C.L. Hussey, *Inorg. Chem.* 21 (1982) 1263-1264.



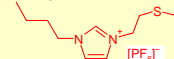
- 1990s: Air- and moisture-stable Ionic Liquids
2nd generation

J.S. Wilkes and M.J. Zaworotko, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* (1992) 965-966.



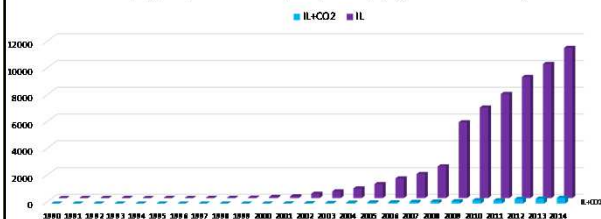
- 2000s: First examples of „Task Specific Ionic Liquids“
3rd generation

A.E. Visser, R.P. Swatoski, W.M. Reichert, R. Mayton, S. Sheff, A. Wierzbicki, J.H. Davis, Jr. and R.D. Rogers, *Chem. Commun.* (2001) 135-136.



- 2010s: Biodegradable Ionic Liquids
4th generation

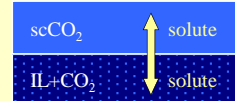
Vývoj počtu publikací o iontových kapalinách (IL) a jejich kombinacích s CO₂



Superkritická fluidní chromatografie

údaje o distribuci látek mezi superkritický CO₂ a iontovou kapalinou

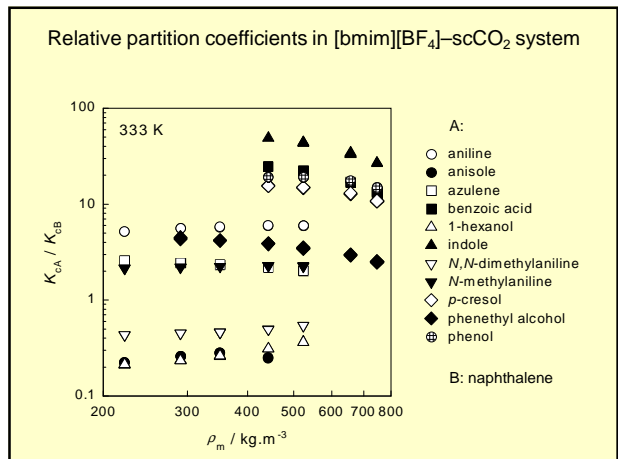
- „badatelský“ význam
- aplikace



IL

open tubular
capillary column
micropacked

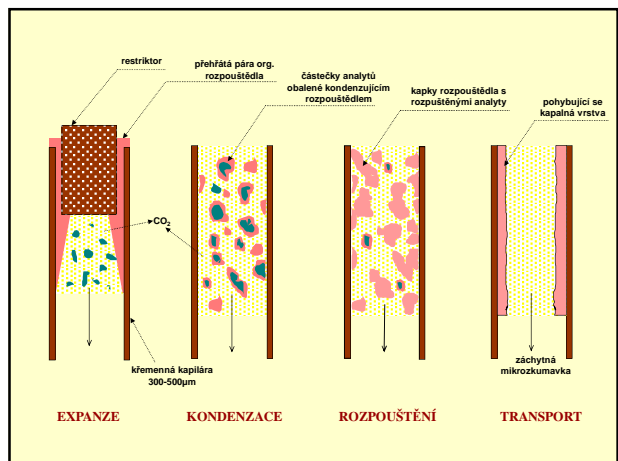
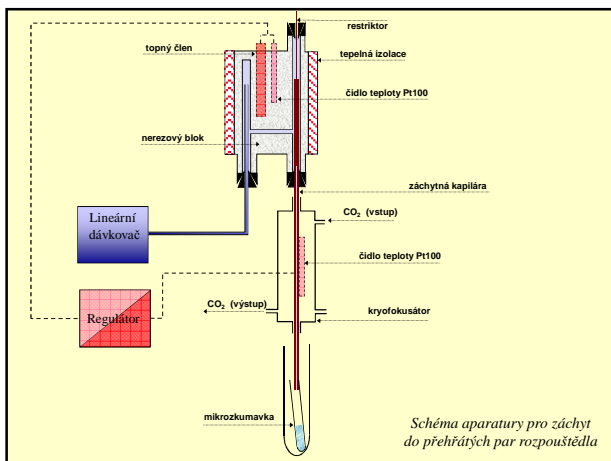
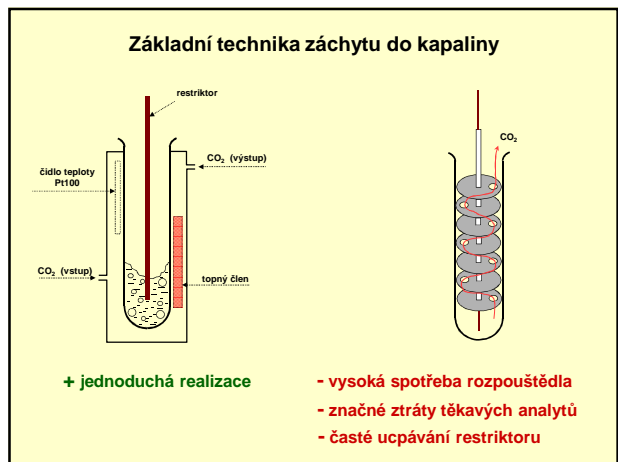
siloxane polymer (PDMS, $M_w \sim 4.8 \times 10^5$) IL



2) SFE - superkritická fluidní extrakce (CO₂)


tuhé vzorky vodné vzorky

solventační 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


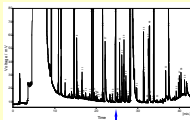
Pavel Karásek, Josef Planeta, Elena Varačová Ostrá, Milena Mikešová, Jan Goliáš, Michal Roth, and Jiří Vejrosta

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

AURELIUS	FRANKOVKA
Müller Thurgau	MUSKAT OTTONEL
NEUBURSKÉ	PÁLAVA
RULANDSKÉ BÍLÉ	RULANDSKÉ MODRÉ
RULANDSKÉ ŠEDÉ	Ryzlink rýnský
Veltínské červené rané	Veltínské zelené
Sauvignon	SVATOVAVŘINECKÉ
ZWEIGELTREBE	

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

wine sample (121×)

SPE Amberlite XAD-7


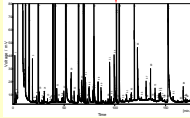
SFE of the sorbent

GC

C₃-C₁₀ alcohols, esters, fatty acids

DCSFE of wine, countercurrent

GC

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

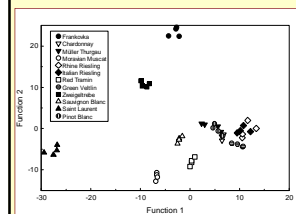
canonical correlation analysis - computation of discriminant functions, i.e., the latent factors differentiating among the wine samples

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

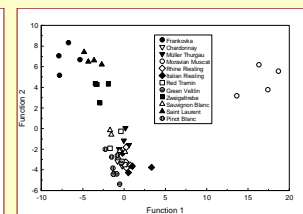
Computation tool: KyPlot spreadsheet SW, Koichi Yoshioka, http://www.qualest.co.jp/Download/KyPlot/kyplot_e.htm, <http://www.kyenslab.com/en>

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



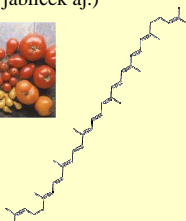
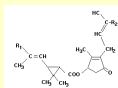
DCSFE-GC



SPE-SFE-GC

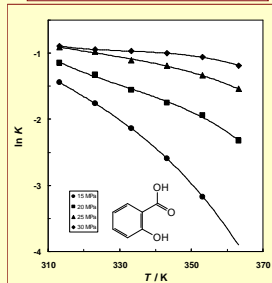
Další analytické aplikace přímé kontinuální SFE (DCSFE) vodných vzorků:

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

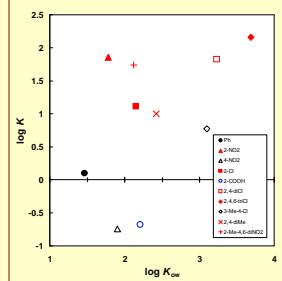


Měření mezifázové distribuce analytů v systému H₂O - scCO₂

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 [$P > P_{\text{sat}}(T)$]

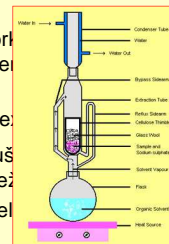
org. rozpouštědla / směsi: PFE, PLE, PSE, ASE

Instrumentace PFE - automatizované extraktory:



Výhody PFE proti (nízkotlaké) extrakci podle Soxhleta:

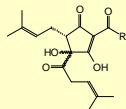
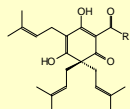
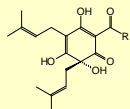
- vyšší rozpustnost analytů v důsledku jejich vyšší těkavosti při vyšších teplotách
- lepší přístup analytů z matrice vzorku do rozpouštědla - vyšší vstup hmoty, slabší interakce s matricí
- vyšší rychlost extrakce (a) a b) vede k rychlejší extrakci
- vyšší čistota extrakčního rozpouštědla - rozpouštědlo je vždy mnohem méně než v Soxhletově extrakci
- lepší kontrola složení organických rozpouštědel v prostředí
- lepší kontrola složení v případě použití směsných rozpouštědel - na rozdíl od Soxhletovy extrakce PFE nezahrmuje 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

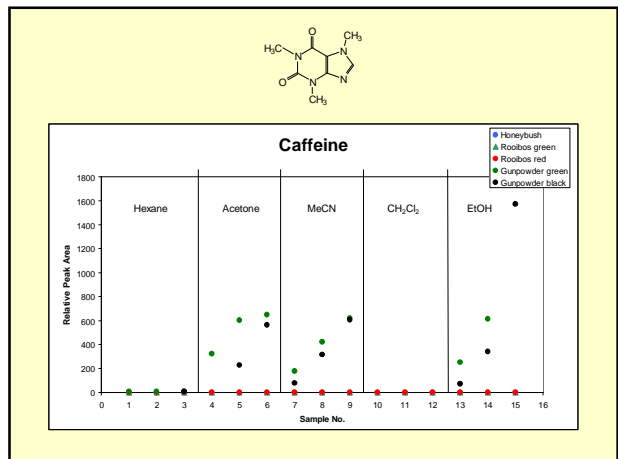
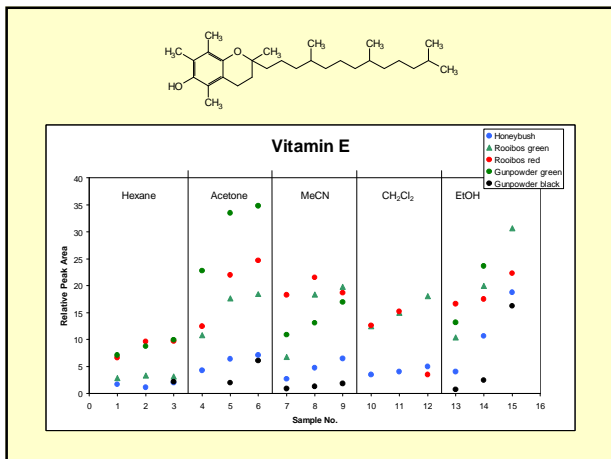


R = -CH(CH₃)₂, -CH₂CH(CH₃)₂, -CH(CH₃)CH₂CH₃

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 300× sladší než sacharosa

steviosid:
R₁ = β-Glc
R₂ = β-Glc-β-Glc

steviol:
R₁ = R₂ = H

4) Antioxidanty z hroznových slupek: off-line PFE-EPR

Svatovavřínecké Alibernet (rozemleté lyofilizované slupky)

PFE: MeOH, EtOH, 40–120°C, 15 MPa

antioxidanty z extraktů zhášejí radikály přidané do systému

časový vývoj EPR signálu ~ antioxidační aktivita extraktu

2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) or ABTS 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

4) Extrakce stlačenou horkou (subkritickou) vodou

Motivace:
Voda je nejen „nejzelenějším“, ale také „nejladitelnějším“ 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
superkritická voda rozpouští SiO₂ – geochemie, povrchy

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 (CO+H₂)

Motivation

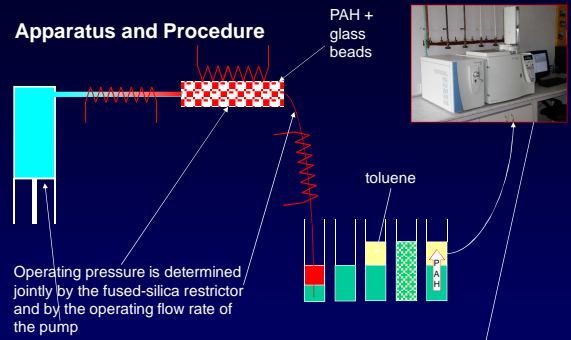
water = the "greenest" and the most "tuneable" solvent

Property	"ambient" 25 °C, 0.1 MPa	"supercritical" 500 °C, 30 MPa
Density ρ / kg·m ⁻³	997.0	115
Cohesive energy density c / J·cm ⁻³	2299	35.5
Solubility parameter δ / (J·cm ⁻³) ^{1/2}	47.9	5.96
Internal pressure P_{int} / MPa	169	32
Ion product K_w / (mol·dm ⁻³) ²	1×10^{-14}	1.57×10^{-23}
Relative permittivity ϵ	78.4	1.68

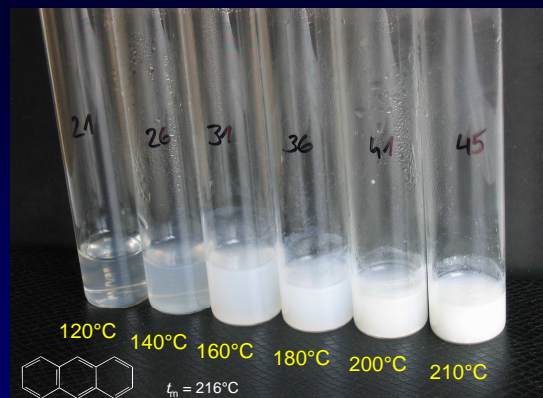
PHWE : $100^\circ\text{C} < t < 374^\circ\text{C}$, $P > P_{\text{sat}}(t)$

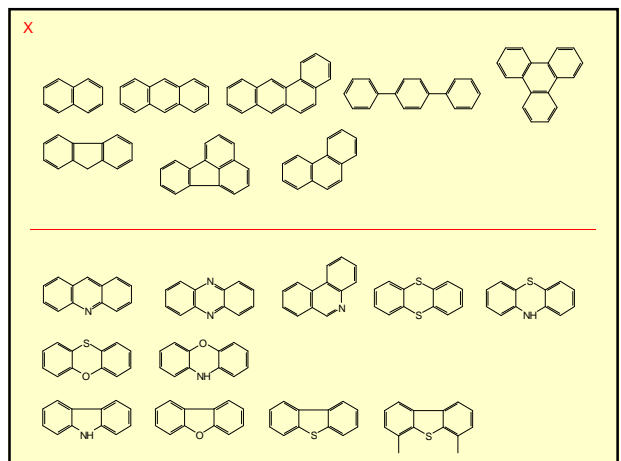
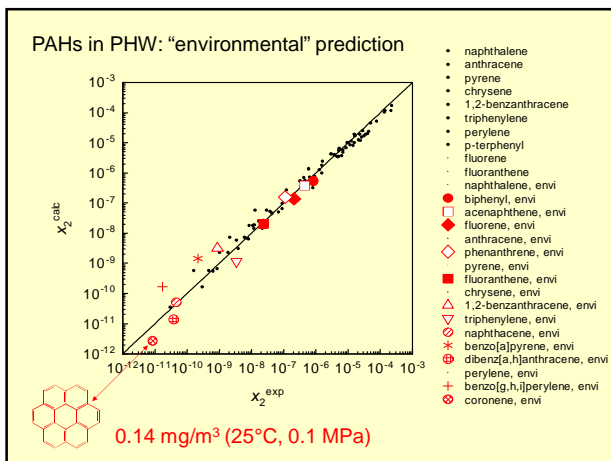
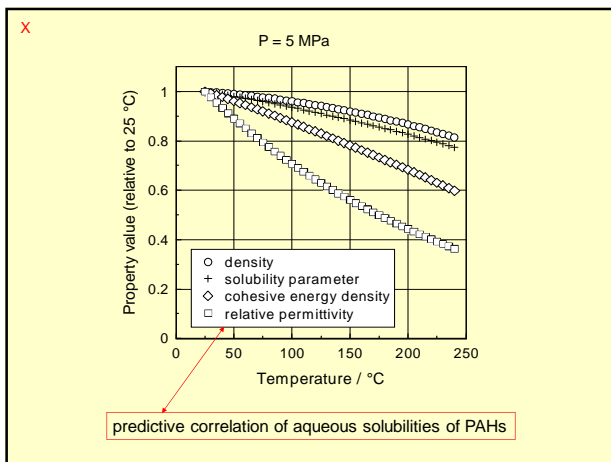
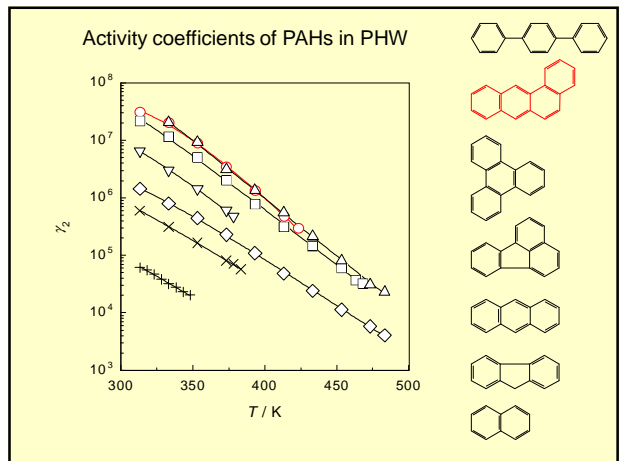
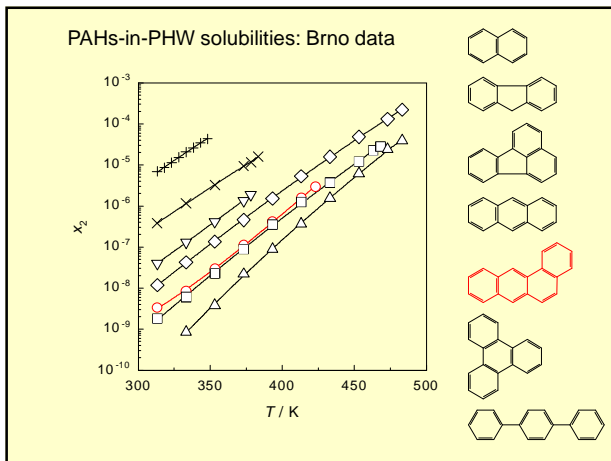
relative wealth of analytical applications of PHWE
×
relative lack of solubility data

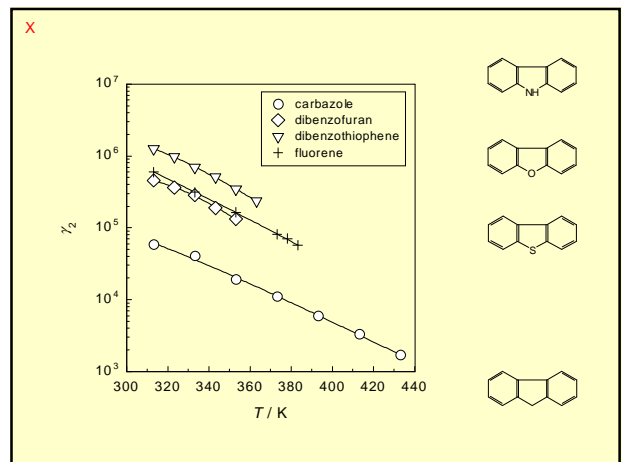
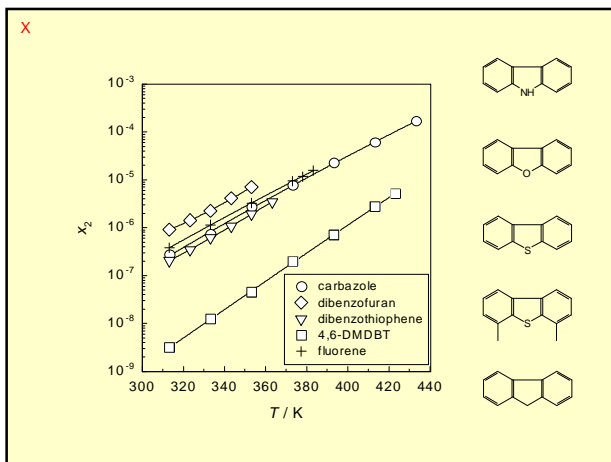
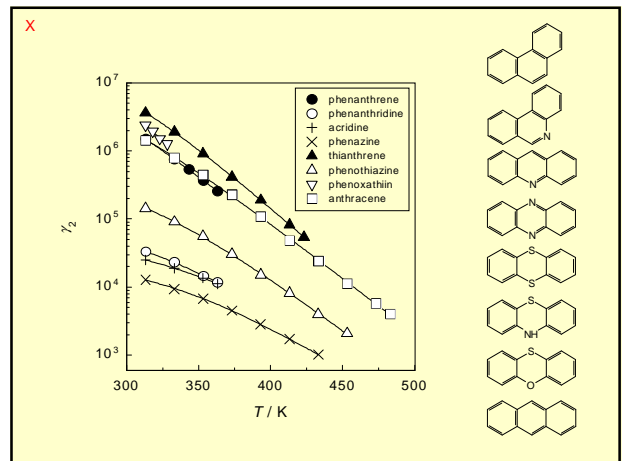
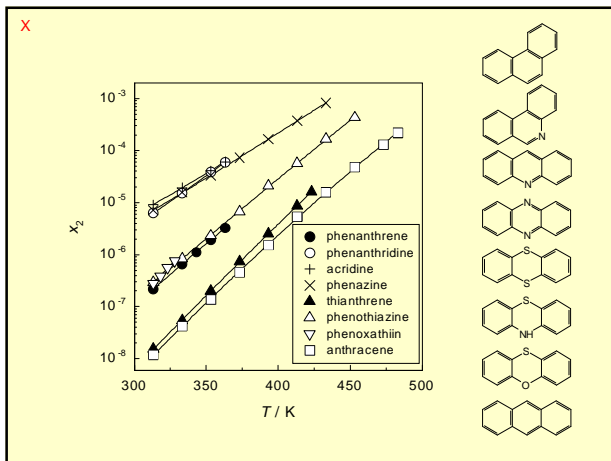
Apparatus and Procedure



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







OLED Structure

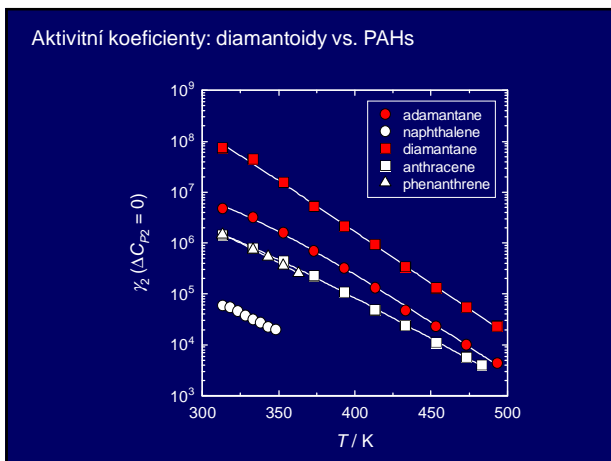
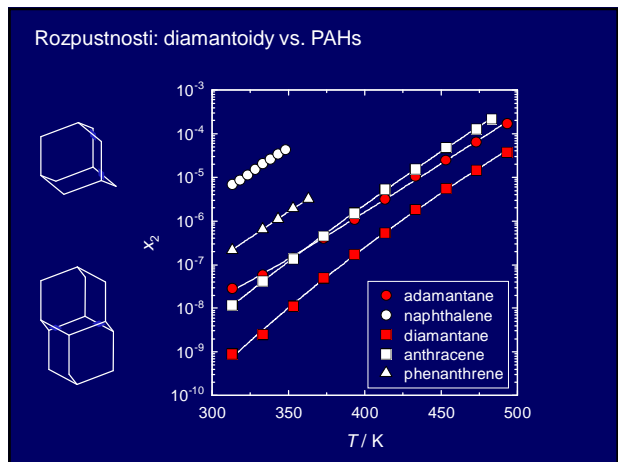
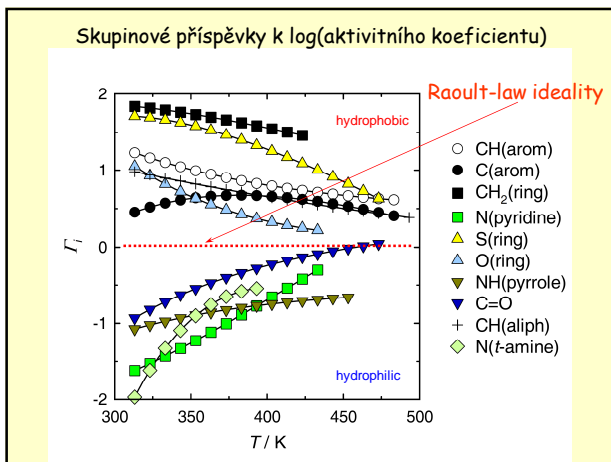
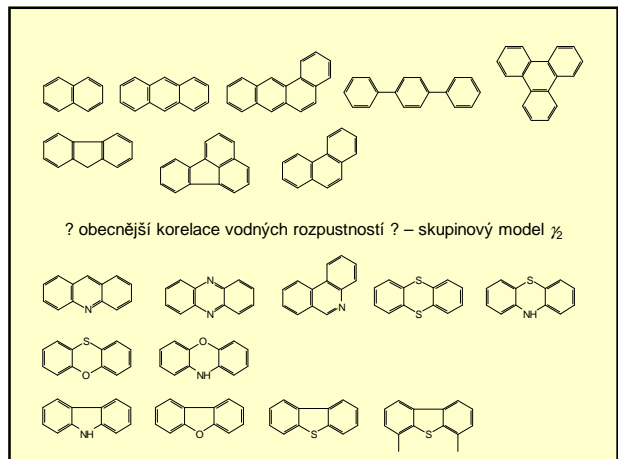
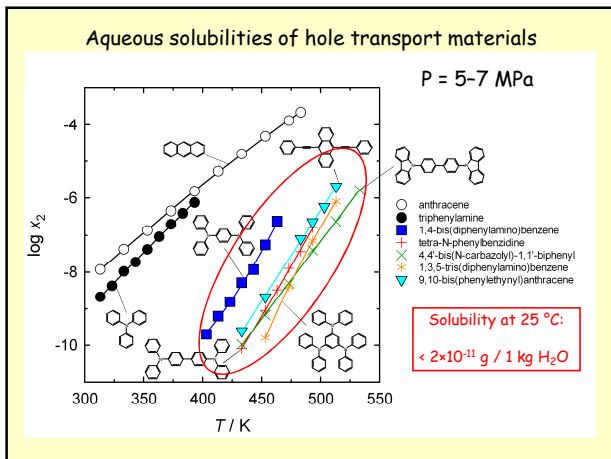
Organic Light Emitting Diode displays

Smartphones, tablets, etc. ... OLED displays

Increasing production \Rightarrow increasing rate of disposal
Environment ?? ... Aqueous solubilities

1,4-bis(diphenylamino)benzene tetra-N-phenylbenzidine 1,3,5-tris(diphenylamino)benzene

4,4'-bis(N-carbazolyl)-1,1'-biphenyl 9,10-bis(phenylethynyl)anthracene

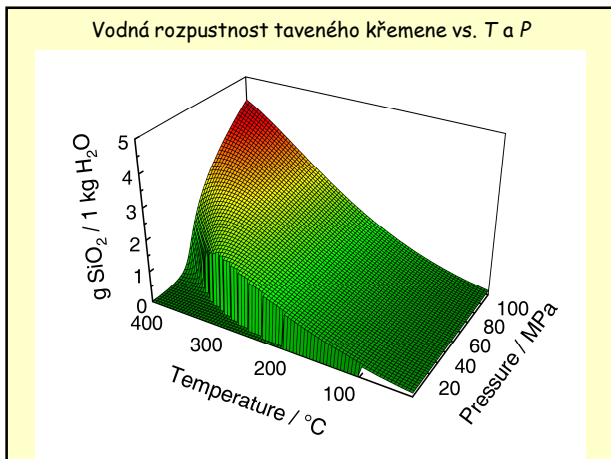


5) Superkritická voda vs. křemenné povrchy

SiO₂

Quartz Fused silica

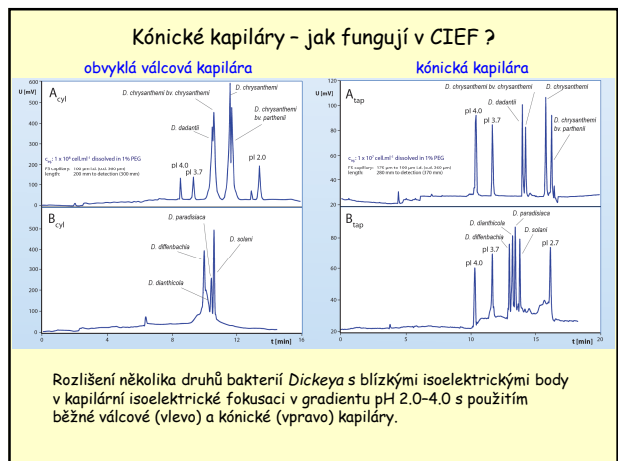
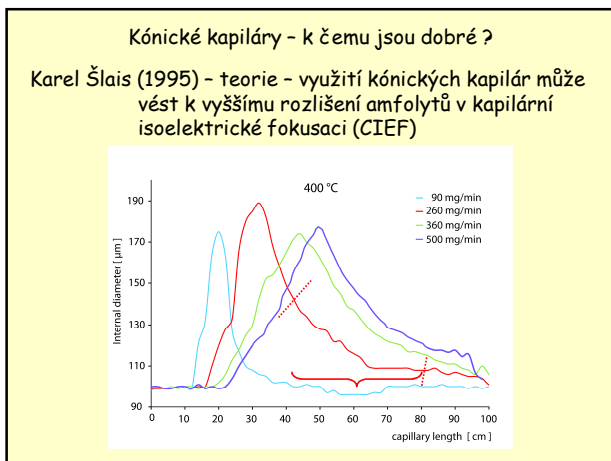
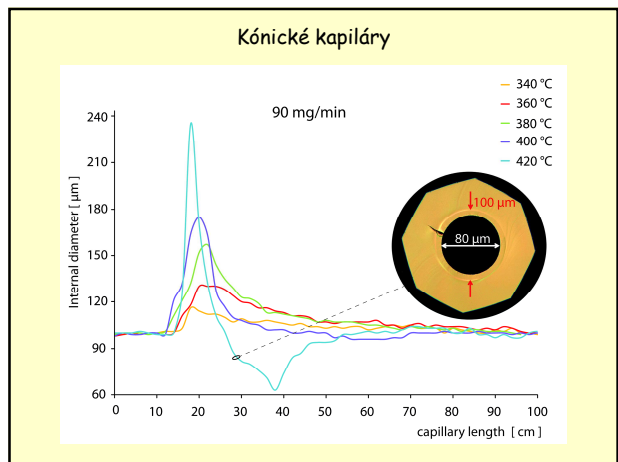
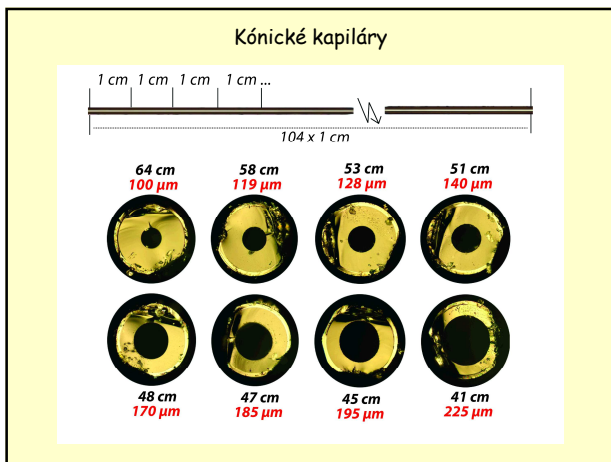
Both quartz and fused silica soluble in very hot water
↓
Water as silica surface treatment agent for separation devices



Víceúčelový extraktor/reaktor pro aplikace superkritické vody (do 500 °C a 75 MPa)

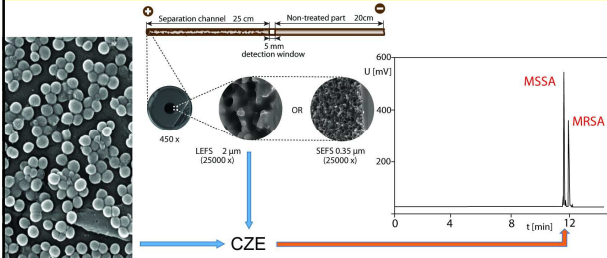
$T_c = 374\text{ °C}$
 $P_c = 22.1\text{ MPa}$

black - dynamic mode (basic setup)
red - semi-dynamic mode
green - cell static mode (lower surface)
grey - thermostated parts



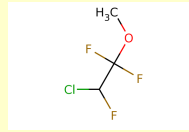
Kapiláry uniformního průměru s naleptaným vnitřním povrchem

Leptání superkritickou vodou lze provést i tak, že vnitřní průměr kapiláry zůstane konstantní, ale vnitřní povrch získá „porézní“ strukturu s dutinami definované velikosti



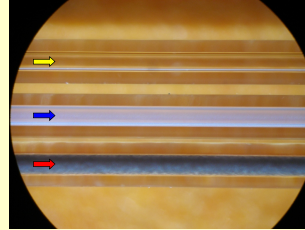
MRSA = methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*
MSSA = methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*

Columns - troubles in surface treatment - an example



→ untreated fused silica capillary (100 μm i.d.)

→ fused silica capillary after etching with 2-chloro-1,1,2-trifluoroethyl methyl ether (33 % of capillary volume filled with the liquid ether, capillary sealed, 320 °C, 12 hours) followed by etching with saturated methanolic solution of ammonium hydrogen difluoride (25 °C, 24 hours)

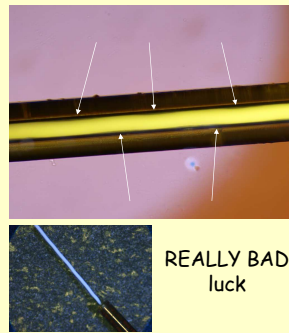
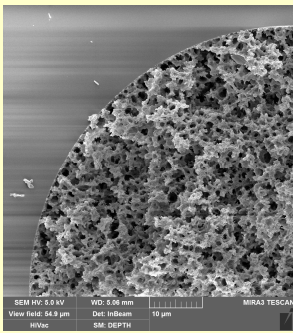


→ fused silica capillary after etching with 2-chloro-1,1,2-trifluoroethyl methyl ether (50 % of capillary volume filled with the liquid ether, capillary sealed, 350 °C, 12 hours); black coloration comes from the carbon soot produced by decomposition of the ether

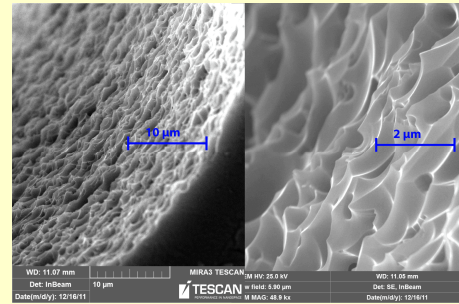
Monolithic silica (capillary) columns

Skill AND good luck

Skill and BAD luck

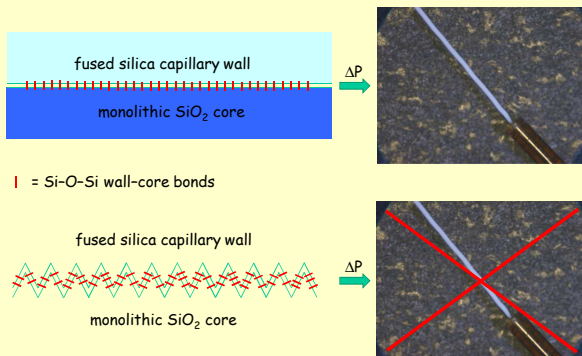


REALLY BAD luck

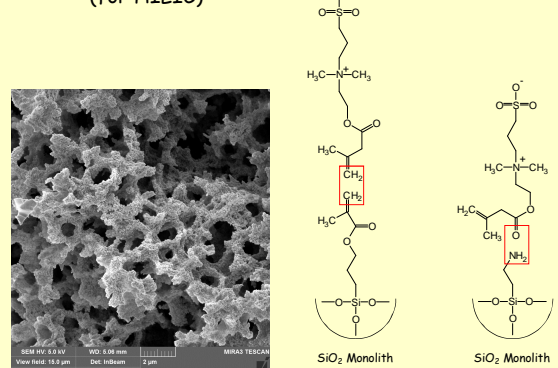


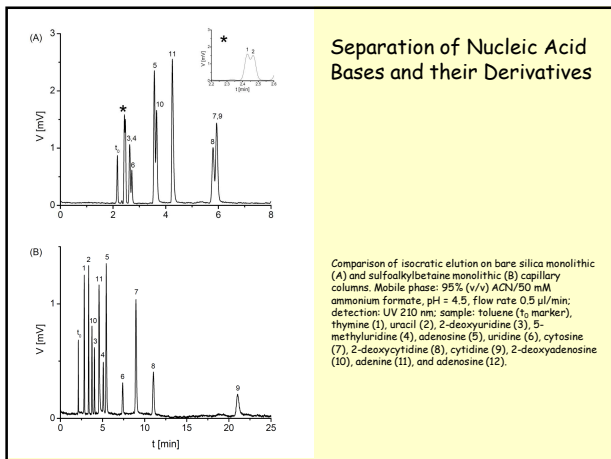
400 °C, 32 MPa, semi-dynamic mode, 20 replacements of SCW inside the capillary

Surface roughening versus mechanical stability of the column



SiO₂ Monolith Modification (for HILIC)





Děkuji za pozornost