

TECHNIKY ZPRACOVÁNÍ LABORATORNÍHO VZORKU

reprezentativní vzorek \Rightarrow analytický vzorek

dezintegrace + homogenizace vzorku \Rightarrow izolace analytů

Desintegrace	Modifikace	Izolace analytů
drcení mletí stříhání strouhání roztírání sekání	zporézňování tepelné sušení chemické sušení úprava pH úprava iontové síly přídavek rozpouštědla přídavek modifikátoru přídavek sorbentu	plyn kapalina tuhá fáze nadkritická tekutina



CHARAKTERIZACE IZOLAČNÍHO POSTUPU

Izolace analytů: převedení analytů do formy vhodné k analýze

Složitost provedení: *izolace* – jednostupňová X vícešupňová

Účinnost: výtěžnost = yield vs. zpětná výtěžnost = recovery
uvádíme v %, možná korekce výsledku
definice přijatelného rozpětí (např. 70 – 120 %)

Ekonomičnost: trend k miniaturizaci vs. dostatečnost navážky

Fáze izolačního média:

- A) plynná
- B) kapalná
- C) nadkritická
- D) pevná
- E) rozklad

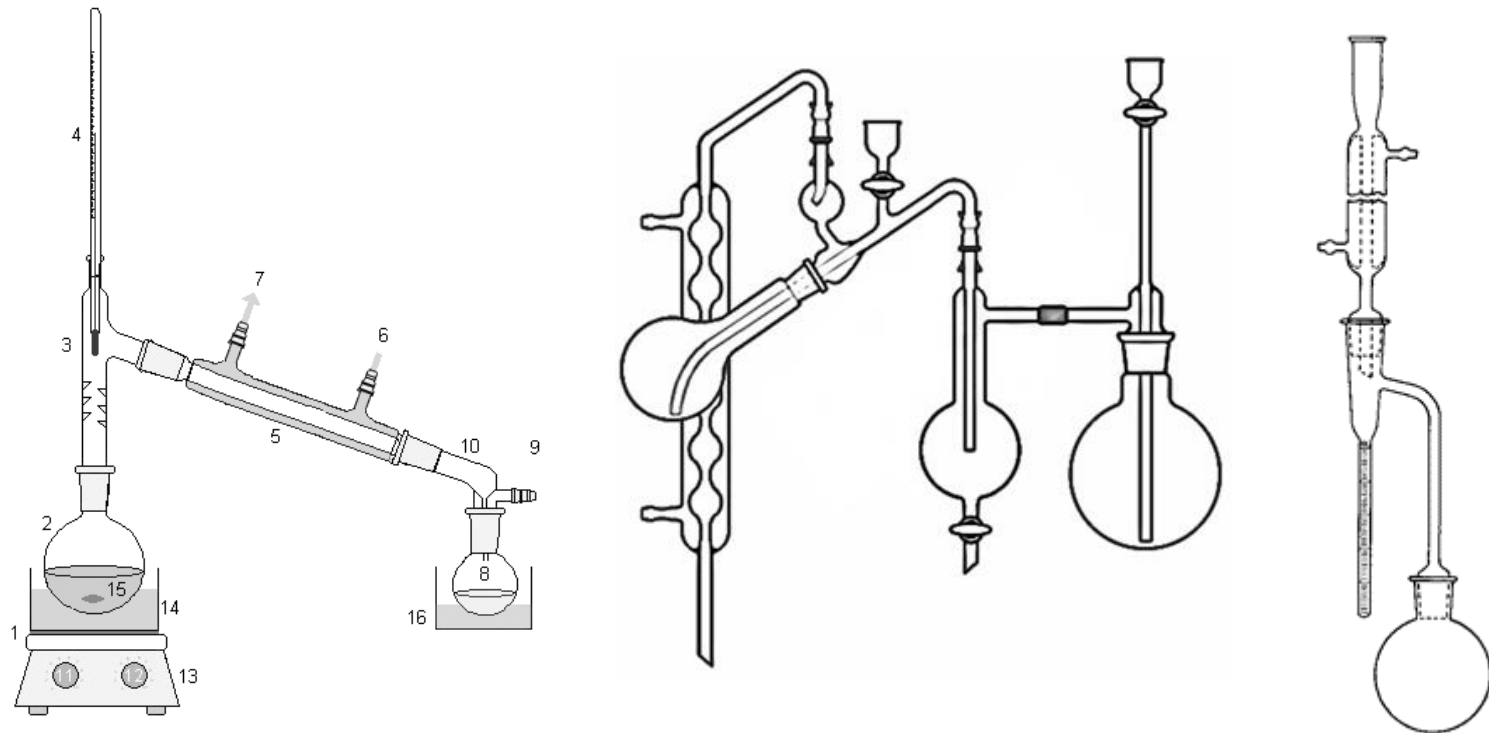


A1) Plynná fáze

Destilace – rozdělení podle teploty b.v., azeotropické směsi

Destilace pomocí vodní páry (např. Parnas Wagner ap.)

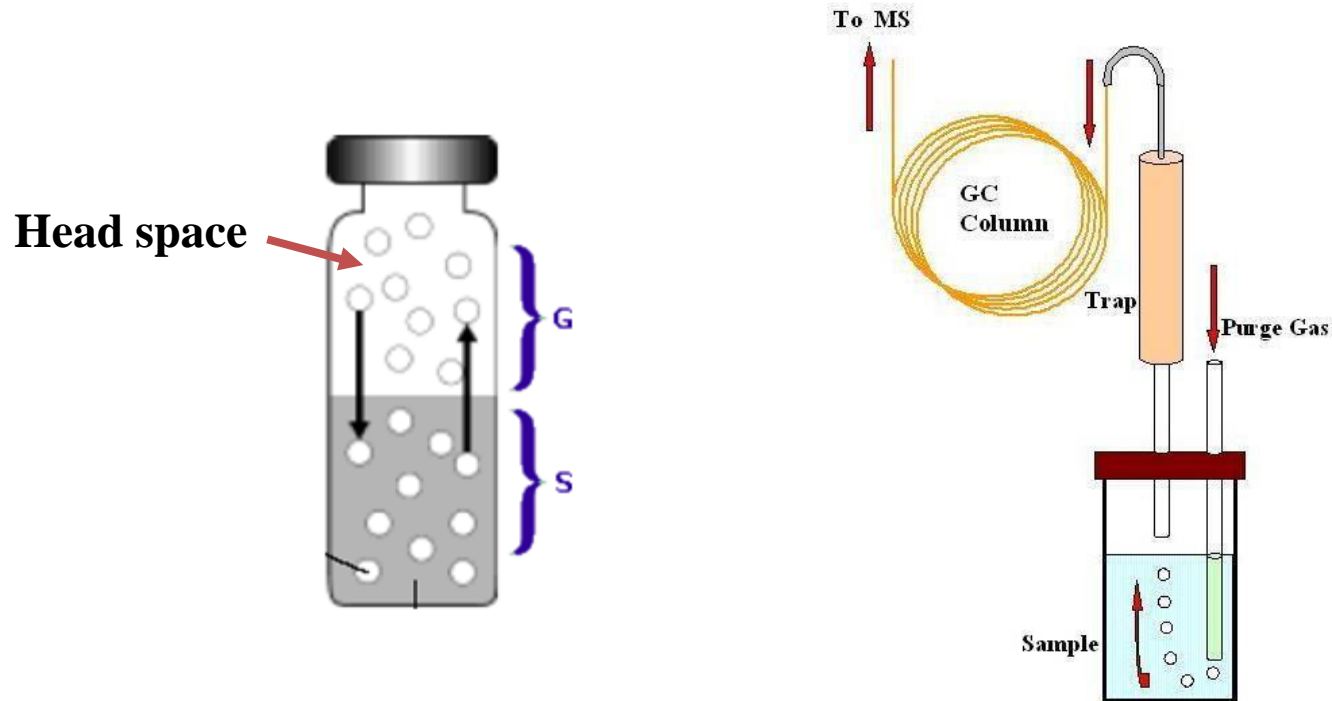
Destilace s rozpouštědly – hydro-destilace, s jinými rozpouštědly



A2) Plynná fáze

Head space (HS) – statický, dynamický (trap, kryofokusace)

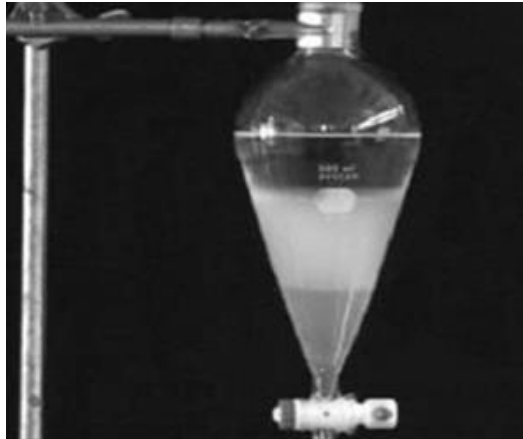
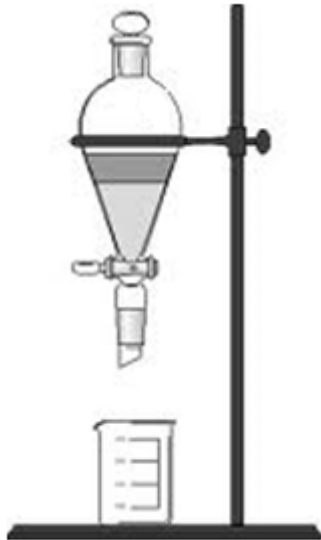
Purge & trap (PT) – dynamický (trap, kryofokusace)
– koncentrační technika



B1) Kapalná fáze

Liquid liquid extraction (LLE) – extrakce kapaliny kapalinou

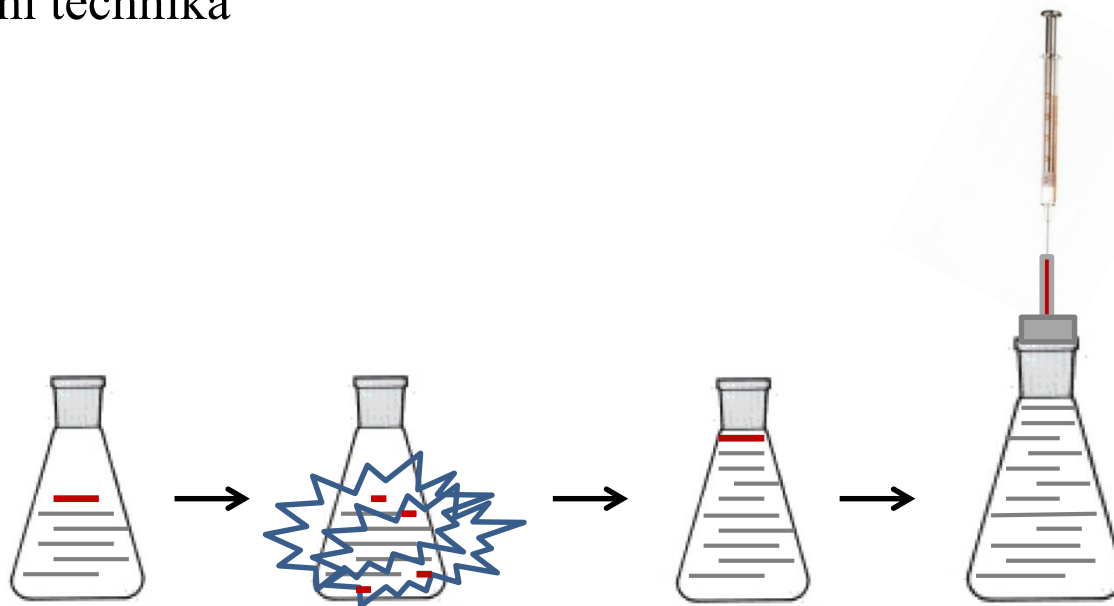
- nemísitelné kapaliny (částečná mísitelnost)
- rozrušení emulzí – iontová síla (NaCl), organické rozpouštědlo (MeOH)



B2) Kapalná fáze

Micro Liquid liquid extraction (MLLE) – mikro extrakce kapaliny kapalinou

- nemísitelné kapaliny v poměru 1 : 100 - 1000
 - např. 1 ml n-hexanu na 100 ml H₂O
- vhodná pro extrakci stopových množství limitně rozpustných sloučenin
 - např. nepolární kontaminanty vody (PCB, OCP)
- koncentrační technika



B3) Kapalná fáze

Liquid solid extraction (LSE) – extrakce pevné látky kapalinou

- extrakční kapalina dobře rozpouštějící analyty
- vhodné pro porézní vzorky (promíchání se sorbentem)
- pro nepolární sloučeniny je nutné použít sušení
- vázané formy je potřeba uvolnit např. hydrolýzou (HCl)

Třepání – ruční, mechanické



Vibrační



Ultrazvuková lázeň

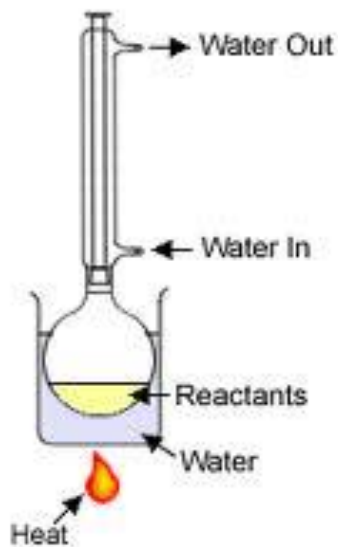


B4) Kapalná fáze

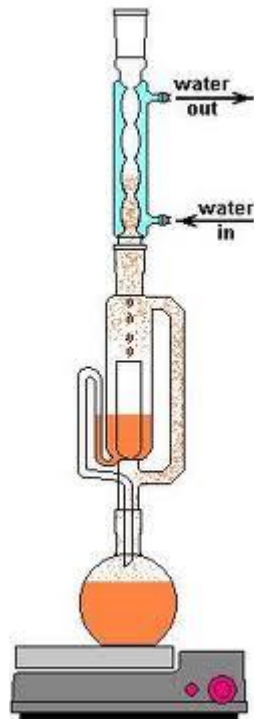
Liquid solid extraction (LSE) – extrakce pevné látky kapalinou

- aparatury pro intenzivní extrakci
- možnost extrakce vsádkové, v cyklech nebo kontinuálně - čistým rozpouštědlem

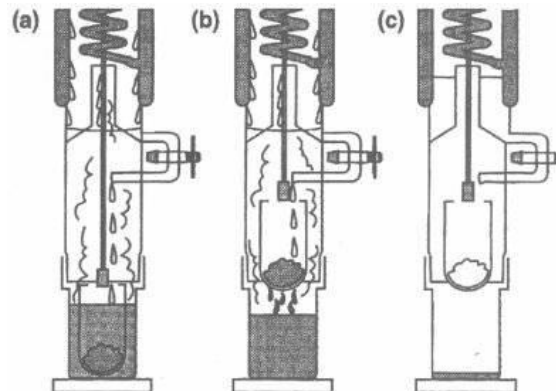
Reflux



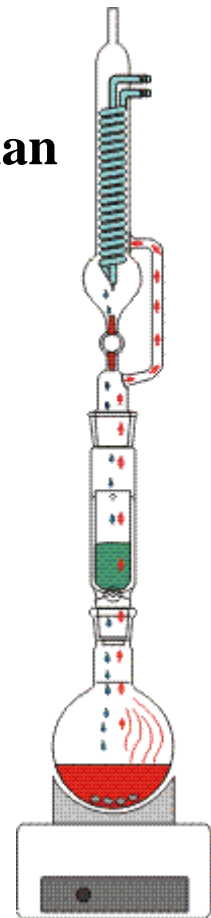
Soxhlett



Soxtec



Twisselman



B5) Kapalná fáze

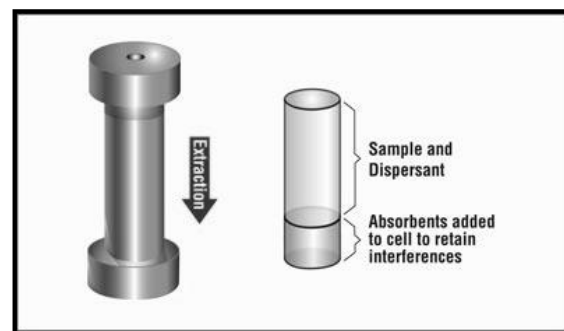
Liquid solid extraction (LSE) – extrakce pevné látky kapalinou

- přístroje pro intenzivní extrakci - nastavení selektivity extrakce (sorbent)
- možnost extrakce vsádkové nebo kontinuální - čistým rozpouštědlem

Microwave Assisted Solvent Extraction (MASE)



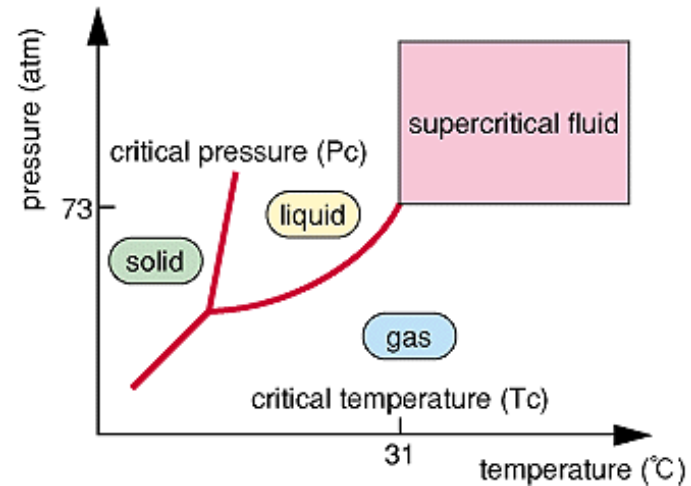
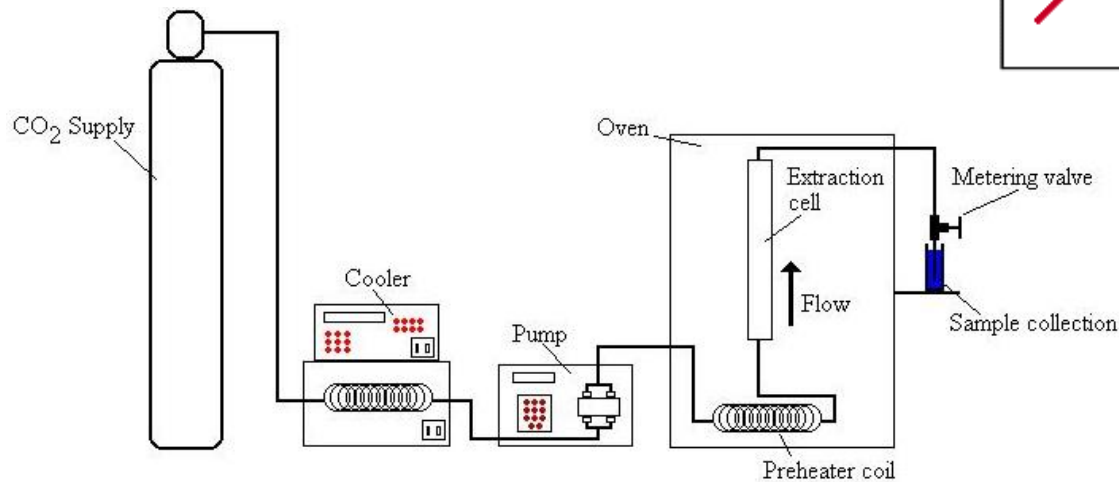
Accelerated Solvent Extraction (ASE)



C) Nadkritická fáze

Supercritical Fluid Extraction (SFE) - extrakce tekutinou v nadkritickém stavu

- přístroj pro intenzivní extrakci - nastavení selektivity extrakce (p , T , sorbent)
- možnost extrakce vsádkové nebo kontinuální - čistým rozpouštědlem
- základní extrakční sloučenina - CO_2
- modifikace MeOH, acetonem
- koncentrační technika



D1) Pevná fáze

Solid Phase Extraction (SPE) - kolonka, disk

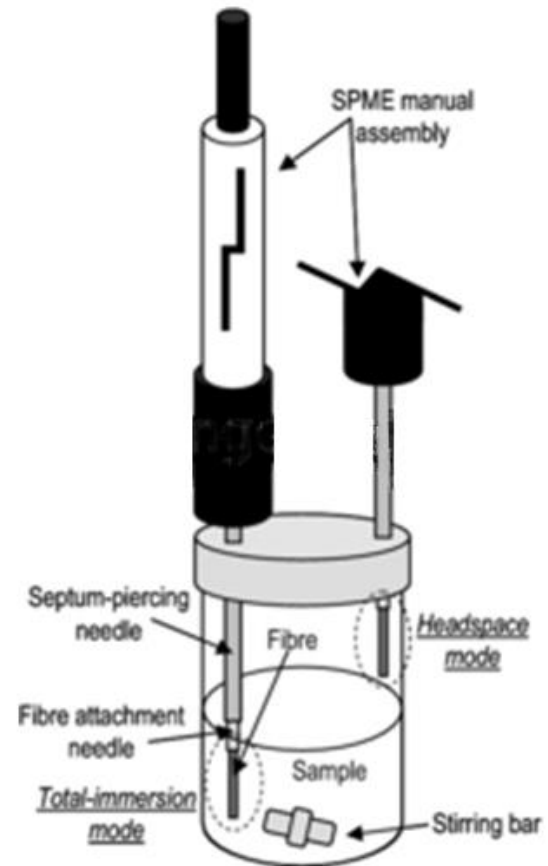
- silikagel C18 dominantní pro extrakci z polárního prostředí
- selektivita podle zvoleného sorbentu
- koncentrační technika



D2) Pevná fáze

Solid Phase Micro Extraction (SPME) – vlákno, tyčinka (míchadlo)

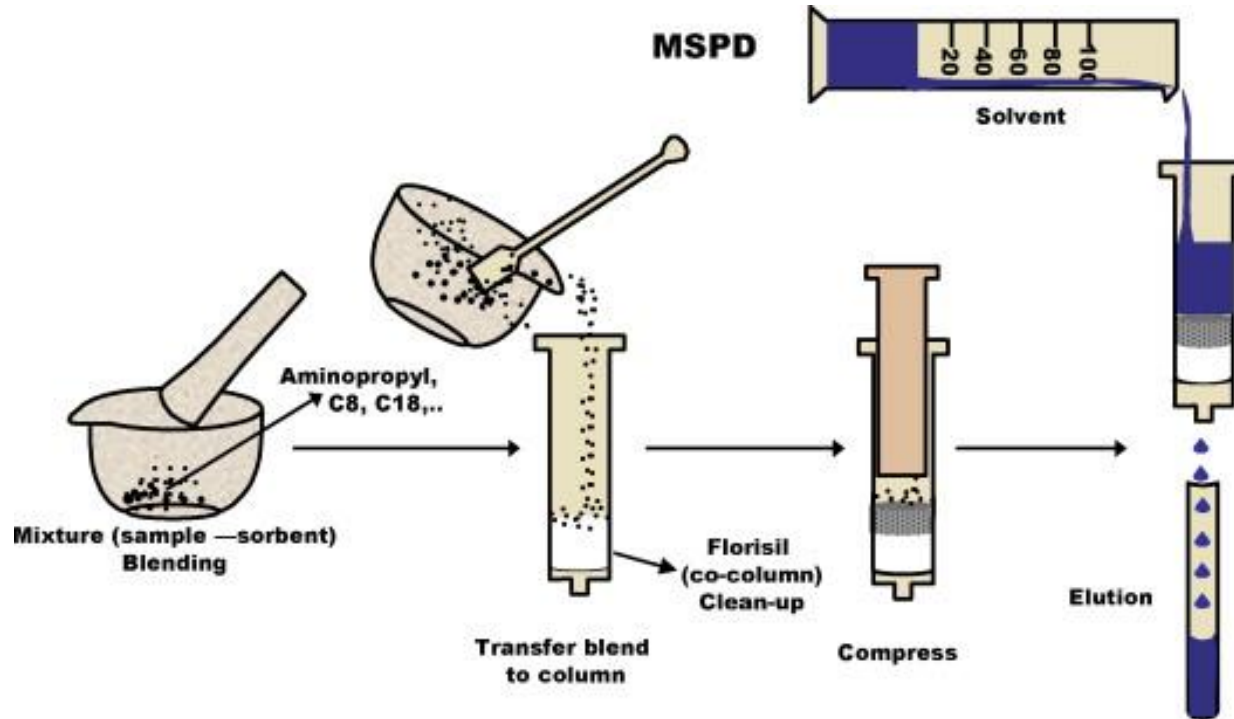
- silikagel C18 dominantní pro extrakci z polárního prostředí
- selektivita podle zvolené fáze na vlákne
- vzorkování plynné nebo kapalně fáze
- koncentrační technika
- spojení: HS-SPME-GC-MS
DI-SPME-LC-MS



D3) Pevná fáze

Matrix Solid Phase Dispersion (MSPD)

- selektivita podle zvoleného sorbentu



D4) Pevná fáze

Extrakce disperzní tuhou fází

(*QuEChERS – Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe*)

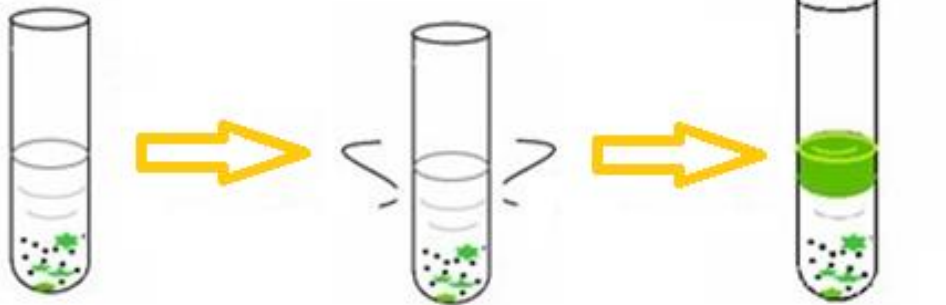
- vysolení analytů z vodné fáze do acetonitrilu
- dočištění - selektivita podle zvoleného sorbentu



Vzorek
MeCN
NaCl

Protřepání

Odstředění



E) Rozklad

Mineralizace:

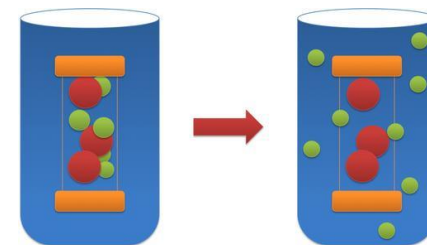
rozklad organické matrice vzorku za vzniku mineralizátu

- zvýšený tlak a teplota
 - suchá cesta – až 600 °C, mokrá cesta – až 300 °C
- ohřev v peci nebo mikrovlnami (fokusované)
- pomocná činidla – kyseliny (H_2SO_4 , HNO_3 , HCl , HClO_4)



Pomocné separační techniky

Membránové separace – (mikro)dialýza
statická x dynamická



Srážení (pH, soli, organické rozpouštědlo)

Filtrace



Sušení extraktu, destilace, RVO, Kuderna-Danish
Snyderův nástavec

Gravitační separace – různé odstředivky



Aplikace technik podle charakteru vzorku - I

Obsah hlavních složek: voda, bílkoviny, sacharidy (mono, oligo, poly)
lipidy (nepolární - TAG, polární – fosfolipidy)
– obsah v potravinách lze zjistit i z publikací

Homogenita vzorku:

- přirozeně homogenní
- nehomogenní - homogenizovatelné
- nehomogenní - obtížně homogenizovatelné

Velikost nezbytné navážky: pro homogenizaci vs. pro analytický postup

Obsah analytů: makro mikro/stopové ultrastopové

Počet analytů: single, multi → multi analyte / multi matrix metody

Izolace / extrakce (znalost a volba selektivity):

- podíl: polární, nepolární, těkavé složky
- velikosti molekul, rozpustnost, těkavost, stabilita
- aktivita: chemická, biologická



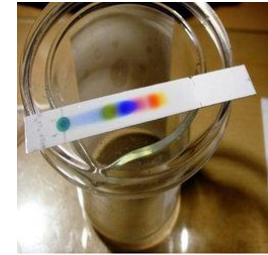
Aplikace technik podle charakteru vzorku - II

Preparativní metody aplikované pro: izolaci, frakcionaci, čištění extraktu

- lze je spojit s gravimetrickou analýzou (hmotnostní bilance frakcí)

LSC – Adsorpční chromatografie

- frakcionační nebo čistící (nevratné sorpce)



LC (HPLC, TLC, SPE, MSPD) – eluční, ionexová, chirální, bioafinitní

- frakcionační nebo preparativní, kvalitativní a semikvantitativní analýza

GPC (HPGPC) – hydrofilní, hydrofobní, různý rozsah M_w

- frakcionační nebo čistící – opakovatelné použití sloupce



Elektroforéza – gelová, papírová

- preparativní