

Proovide ettevalmistus

2005/2006 kevad

1

Eesmärgid

- Proov peab olema representatiivne.
- Proovi lahus peab olema homogeenne ja reprodutseeritavalt valmistatav ning analüüsiv.
- Proov ei tohiks sisaldada segavaid aineid.
- Proovi koostisosad ega solvent ei tohi kahjustada kolonni ega detektorit.
- Proovi solvent peab sobima kasutatava meetodiga: solvent peab lahustuma mobiilses faasis ilma, et see analüüdi retentsiooniga või lahutust mõjutaks.
- Parema tundlikkuse saavutamiseks võib kontsentreerida või derivatiseerida.

2005/2006 kevad

2

Etapid

- Proovi kogumine.
- Proovi transport ja säilitamine.
- Ettevalmistav etapp (nt kuivatamine, jahvatamine, sõelumine vmt).
- Kaalumine, lahustamine, lahjendamine.
- Võimalikud lisaprotseduurid: solventi asendamine, soolade eemaldamine, (kuivaks) aurutamine, külmutus-kuivatamine (*freeze-drying*).
- Tahkete osakeste eemaldamine.
- Ekstraheerimine.
- Derivatiseerimine.

2005/2006 kevad

3

Gaasid ja suspensioonid

- Lenduv orgaanika, gaasid
 - Tahkefaasiline lõksustamine.
 - Lõksustamine vedelasse faasi.
- Suspensioonid
 - Filtreerimine (paber- või membraanfiltril).
 - Tsentrifugimine.
 - Sedimentatsioon (sadestumine).

2005/2006 kevad

4

Vedelikud

- Tahke faasi ekstraktsioon.
- Vedelik-vedelik ekstraktsioon.
- Lahjendamine (kolonni ülelaadimise vältimiseks või lineaarsesse alasse jõudmiseks).
- Aurutamine.
 - Proovi soojendatakse kergelt atmosfäärirõhul õhu või inertgaasi voolus. Võib ka vaakumi kasutamisega.
 - Mitte liiga kiiresti! Ägeda keemisega võib analüüti kaotsi minna. Kuivaks ei tohi reeglina ajada. Rotaatorauruti on väga hea. Soovitav inertgaasi atmosfääris.

2005/2006 kevad

5

Vedelikud 2

- Destillatsioon.
 - Soojendatakse solventi keemiseni, lenduv analüüt kontsentreerub aurufaasis. Aurufaas kondenseeritakse.
 - Lenduvate ja termostabiilsete analüütide jaoks. Võib kasutada vaakum- ja veeaurudestillatsiooni.
- Mikrodialüüs.
 - Poolläbilaskev membraan kahe veefaasi vahel.
 - Hilisem kontsentreerimine (nt SPE) võib vajalik olla. Kasutatakse bio-rakendustes nt rakkude või valkude eraldamiseks.
 - Analooiliselt võib kasutada ultrafiltrimist ja pöördosmoosi.
- Lüofiliseerimine.
 - Proovi lahus külmutatakse ja solvent eemaldatakse sublimatsioonil.

2005/2006 kevad

6

Tahked proovid

- Tahke-vedelik ekstraktsioon.
 - Toatemperatuuril või kuumutades. Tahke osa eraldatakse filtreerimisel.
- Soxhleti ekstraheerimine.
- *Forced-flow leaching*.
 - Proov asetatakse läbivoolutorusse, millest solvent läbi voolab. Toru kuumutatakse solventi keemistemperatuuri lähedale.
- Homogeniseerimine.
- Töötlus ultraheliga (*sonication*).
- Lahustamine.

2005/2006 kevad

7

Tahked proovid 2

- *Accelerated solvent extraction (ASE)* ehk *pressurized solvent extraction (PSE)*.
 - Proovi kuumutatakse koos solventiga suletud nõus kõrgel rõhul solventi keemistemperatuurist kõrgema temp-ni.
- Automaatne Soxhlet (*aka Soxtec*).
 - Proovi hoitakse mõnda aega kuumas solventis, edasi tavaline Soxhleti ekstraktsioon.
- Superkriitilise fluidumi ekstraktsioon (*SFE*).
- Ekstraktsioon mikrolainete abil.
 - Kinnises (kui solvent neelab mikrolaineid) või lahtises (kui solvent mikrolaineid ei neela) anumad.
- Termiline ekstraktsioon.

2005/2006 kevad

8

Ekstraktsioon

Ekstraktsioon on füüsikalise-keemiline meetod ainete eraldamiseks segudest või lahustest, mis baseerub ainete erineval lahustuvusel mittesegunevates vedelikes (vedelik-vedelik).

Ekstraktsiooni eesmärgiks võib olla:

- segavate ainete kõrvaldamine
- ainete kontsentreerimine
- aine viimine sobivasse vormi (keskkonda)

2005/2006 kevad

9

Ekstraheerimise teooriast

Aine A jaotumist kahe faasi (vesi ja orgaaniline aine) vahel iseloomustatakse jaotuskoefitsiendiga K_d : $K_d = \frac{[A]_{org}}{[A]_{vesi}}$

vesi	A
org.	A

Ekstraheerimine toimub seda paremini, mida suurem on K_d

Orgaanika faasi jääv analüüdi osa E on avaldatav järgmiselt:

$$E = \frac{K_d V}{1 + K_d V} \quad V = \frac{V_{org}}{V_{vesi}}$$

2005/2006 kevad

10

Üks või mitu korda?

- Korduv ekstraheerimine väikese kogusega on efektiivsem, kui ühekordne ekstraheerimine suurema kogusega.

Nt. Aine A hulk 100 ml lahuses on 1 ühik ja jaotuskoefitsient on 5, siis ekstraheerimine ...

1 x 100 ml jätab veefaasi 17% ainest

2 x 50 ml – 8%

4 x 25 ml – 4%

2005/2006 kevad

11

Ekstraheeriva lahusti valik

- Lahusti peab võimalikult hästi lahustama meid huvitavat komponenti (teisi halvasti).
- Lahustite omavaheline lahustuvus olgu võimalikult väike (alla 10%).
- Tihedus võimalikult erinev (soovitavalt suurem) põhilahustist.
- Inertne.
- Ohutu ja odav.

2005/2006 kevad

12

Aparatuur

- Jaotuslehter – perioodiliseks ekstraheerimiseks, lihtne ja odav.
 - klaasist
 - plastmassist (polüpropüleen, teflon)
- Soxhleti ekstraktor – poolpidev režiim, kontsentreerib, sobib ka tahkete segude ekstraheerimiseks.



2005/2006 kevad

13

Jaotuslehtriiga ekstraheerimine

- Jaotusletrit ei täideta üle 2/3 ruumalast.
- Loksutamisel hoitakse ühe käega korgi, teisega kraani juurest.
- Loksutada jaotuslehtri pikitelje sihis ja mitte liiga kõvasti (emulsiooni tekke oht).
- Iga loksutamise järel lasta kraani kaudu ülerõhk välja (eriti oluline eetri korral).

2005/2006 kevad

14

Kihtide eraldumine

Kihid eralduvad kiiremini, kui

- vedelike tihedused on erinevad.
- jaotuslehtri kork on avatud.
- kopsida sõrmega jaotuslehtri alaosa.
- keerata jaotuslehter horisontaali ja keerutada (“veeretada”) aeglaselt ümber telje.
- tsentrifuugida.

2005/2006 kevad

15

Emulsiooni teke

Emulsioon kipub tekkima, kui

- vedelike tihedused on lähedased.
- veekeskkond on aluseline.

Emulsiooni lõhkumiseks võib proovida lisada mõnda inertset anorgaanilist soola, nt. Na_2SO_4

2005/2006 kevad

16

Jaotuslehtri tilkumine

Jaotuslehtri tilkumine võib põhjustada olulise analüüsivea, kuna uuritav aine on orgaanilises faasis üsna kontsentreeritud.

Tilkumise vältimiseks:

- lasta välja ülerõhk.
- määrada kraan (NB! määre võib lahustuda ja analüüsi segada!)
- kasutada teflonist jaotusletrit.

2005/2006 kevad

17

Tahke faasi ekstraktsioon - SPE

SPE (*solid phase extraction*) on ekstraktsiooni liik, mis kasutab tahket ja vedelat faasi, et eraldada lahusest mõni komponent (või aineklass).

Protseduur:

1. Uuritav lahus viiakse SPE kolonni.
2. Pestakse mittesoovitavad komponendid kolonnist välja.
3. Analüüt pestakse välja teise solvendiga.

2005/2006 kevad

18

SPE vs. vedelik-vedelik ekstraktsioon

- SPE tarbib vähem solvente
- SPE ekstrakt on kontsentreeritum
- SPE on spetsiifilisem, saadakse puhtam ekstrakt