

SPME (Solid phase microextraction)

Mikroextrakce tuhou fází

1. Princip

SPME (Solid phase microextraction) - mikroextrakce tuhou fází je izolační metoda, při níž dochází k sjednocení procesu vzorkování a extrakce. Principem této metody je sorbce složky vzorku na stacionární fázi pokrývající křemenné vlákno, které se nachází uvnitř kovové jehly. Vlákno o délce 1 cm pokryté polymerem je nejdůležitější součástí zařízení. Jehla slouží k ochraně vlákna před mechanickým poškozením a k propíchnutí septa v zátce vialky, ve které se nachází matrice. Jehla s vláknem se do zasune do vzorku, vlákno se z jehly při procesu vzorkování vysune pomocí pístu a po dosažení sorpční rovnováhy se zase zasune zpět do jehly. Po dosažení rovnováhy (individuální; 2 – 90 min) se vlákno zatáhne a celá jehla se ze vzorkované matrice vytáhne a vloží se do nástřikového prostoru chromatografu (plynového nebo kapalinového) a vlákno se opět vysune. K výhodám této metody patří rychlost stanovení, citlivost a také vysoká přesnost.



Obrázek 1. Zařízení pro vzorkování pomocí SPME

2. OPTIMALIZACE SPME METODY

Získání dobrých a spolehlivých výsledků při používání metody SPME je ovlivněna celou řadou faktorů, např. polaritou a tloušťkou stacionární fáze, způsobem vzorkování, hodnotou pH, iontovou silou roztoku, teplotou vzorku, mícháním apod.

2.1. Stacionární fáze

Na základě známého pravidla, že podobné se rozpouští v podobném, je třeba vybírat i vlákno. Znamená to, že nepolární vlákna by se měla používat pro extrakci nepolárních analytů a naopak. Panuje zde stejná shoda jako při vlastní analýze na chromatografické koloně při

plynové chromatografii s tím rozdílem, že množství stacionární fáze vlákna je výrazně menší než na koloně. Proto i malé rozdíly v polaritě stacionární fáze nemusí vést ke srovnatelné sorpční selektivitě.

Citlivost SPME metody ovlivňuje tloušťka stacionární fáze vlákna. Silnější vrstva je schopna vyextrahovat více analytu než vrstva tenká. Proto se vlákno se silnější vrstvou používá pro zachycení těkavějších látek. Tenká vrstva naopak zajišťuje zrychlenou difúzi a uvolnění výše vroucích látek během tepelné desorpce.

2.2. Délka doby sorpce

Doba sorpce se většinou volí tak, aby bylo dosaženo co možná největší extrakce analytu (dosažení rovnováhy – nejvyšší citlivost, dobrá opakovatelnost). Optimální doba se nejčastěji zjistí proměření závislosti výtěžnosti analytu na době sorpce. V některých případech se však ustanovení rovnováhy nedosáhne ani po několika hodinách, a proto lze volit kratší extrakční dobu, kterou je vhodné dodržovat při všech analýzách pro zajištění dobré opakovatelnosti.

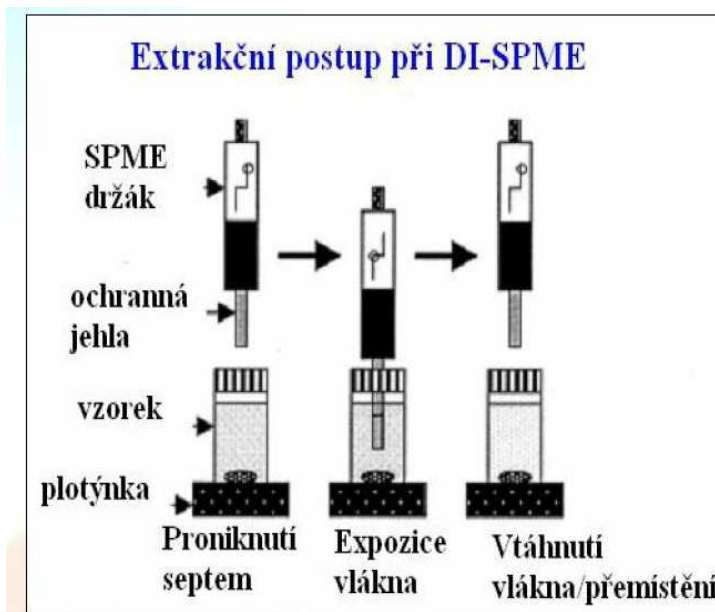
2.3. Zahřívání vzorku

Záhřev vzorku obecně zkracuje čas potřebný k dosažení rovnováhy; v důsledku toho se zkracuje i doba sorpce. U některých vzorků je zahřívání nutné, např. při headspace analýze složitých matric a analýze méně těkavých sloučenin. V headspace prostoru se potom zvýší koncentrace analytů, což umožňuje rychlejší a účinnější extrakci.

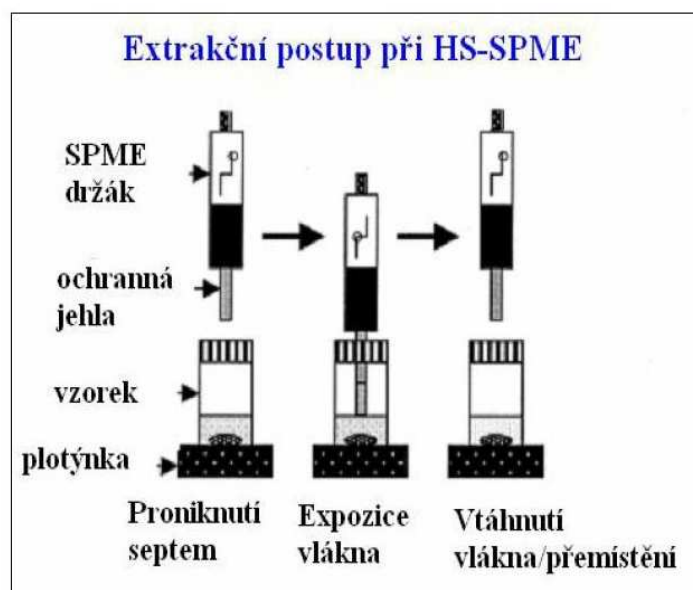
2.4. Způsob vzorkování

Metoda SPME umožňuje provádět dva způsoby extrakce. První způsob je přímá SPME, označovaná zkratkou DI-SPME (Direct Immersing SPME), při které dochází přímo k ponoření vlákna do vzorku. Druhým způsobem je headspace SPME, označovaná zkratkou HS-SPME (Headspace SPME). Tato druhá varianta využívá extrakci analytů z prostoru nad vzorkem v uzavřené nádobě. Na obrázcích 2 a 3 jsou znázorněny oba tyto způsoby vzorkování.

DI-SPME se používá především pro látky v kapalném skupenství a u některých tuhých látek. HS-SPME se používá pro extrakci těkavých látek. Ustálení rovnováhy mezi vláknem a analytem v plynném stavu je rychlejší než u DI-SPME, protože molekuly analytu se rychleji pohybují v plynu než v ostatních skupenstvích. Čas, který je potřeba pro vzorkování HS-SPME je většinou relativně krátký, 5-15 min.



Obrázek 2. Extrakční postup při DI-SPME



Obrázek 3. Extrakční postup při HS-SPME

2.5. Míchání vzorku

Míchání vzorku zlepšuje a zkracuje extrakci, zejména u molekul s vyšší molekulovou hmotností. Proměnlivé míchání je nežádoucí, protože způsobuje nižší opakovatelnost stanovení.

2.6. Objem vzorku

Objem vzorku bývá volen na základě rozdělovacího koeficientu vlákno-vzorek K_{fs} . Hodnoty koeficientu jsou pro různé analyty tabelovány, mohou se také vypočítat nebo určit experimentálně (dosažení rovnováhy). Musí se rovněž zohlednit ztráty analytů během doby potřebné k ustanovení rovnováhy (adsorpce na stěny, mikrobiální degradace).

3. VYUŽITÍ SPME

SPME metoda má řadu aplikačních využití. Používá se zejména v oblasti znečištění životního prostředí (PCB, PAH, pesticidy, fenoly, organokovové sloučeniny – Hg, Sn, Pb), ve farmaceutickém průmyslu zejména k izolaci terpenických sloučenin, siličných drog, jednotlivých obsahových a účinných látek přítomných v synteticky připravených léčivech i ve fytofarmakách, dále v léčebné kosmetice, v potravinářství (vonné a chuťové látky, mastné kyseliny, nežádoucí exogenní i endogenní kontaminanty) a rovněž ve forenzní analýze, toxikologii a jiných oborech.