

# STRATEGIE TVORBY SPME METODY

## I. OPTIMALIZACE

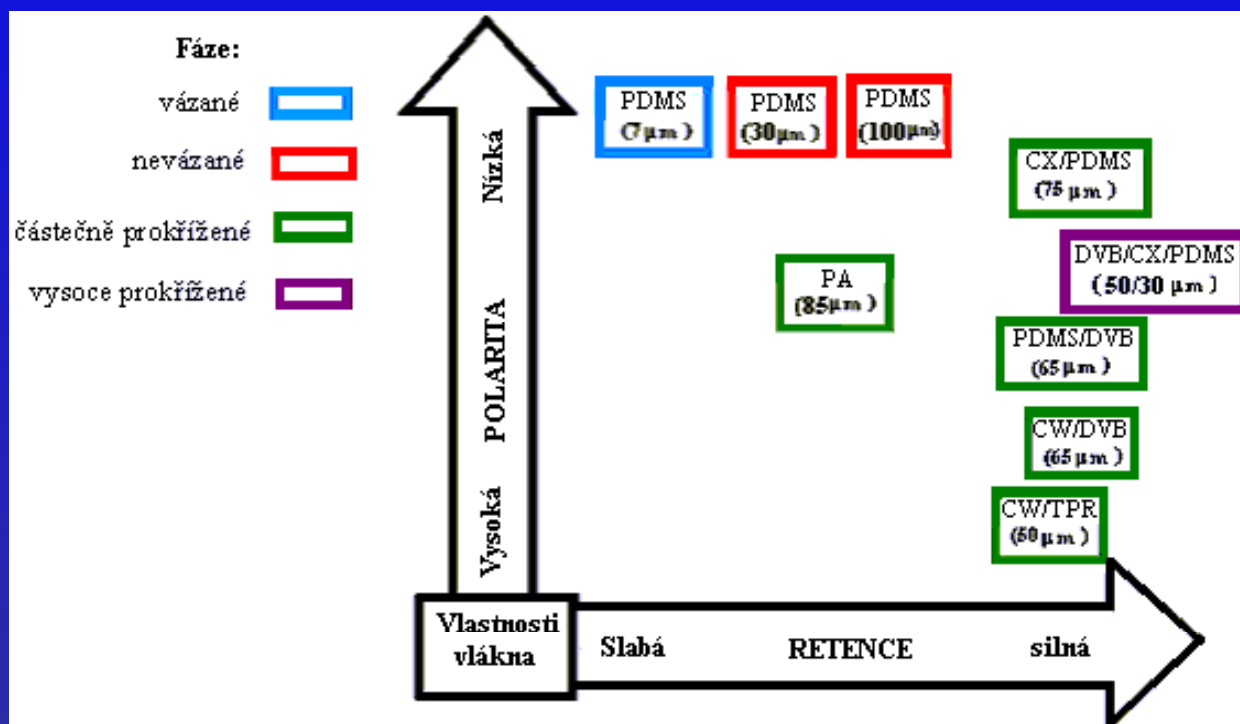
1. **Volba stacionární fáze** (polarita, tloušťka)
2. **Podmínky sorpce** (extrakční mód, úprava vzorku, poloha vlákna, teplota, doba, míchání)
3. **Podmínky desorpce** (umístění vlákna, teplota, délka; typ a objem rozpouštědla, statická X dynamická)

## II. CHARAKTERIZACE METODY

1. **Opakovatelnost**
2. **Lineární rozsah**
3. **Limit detekce**
4. **Způsob kvantifikace**

# I. OPTIMALIZACE SPME METODY

## a) POLARITA

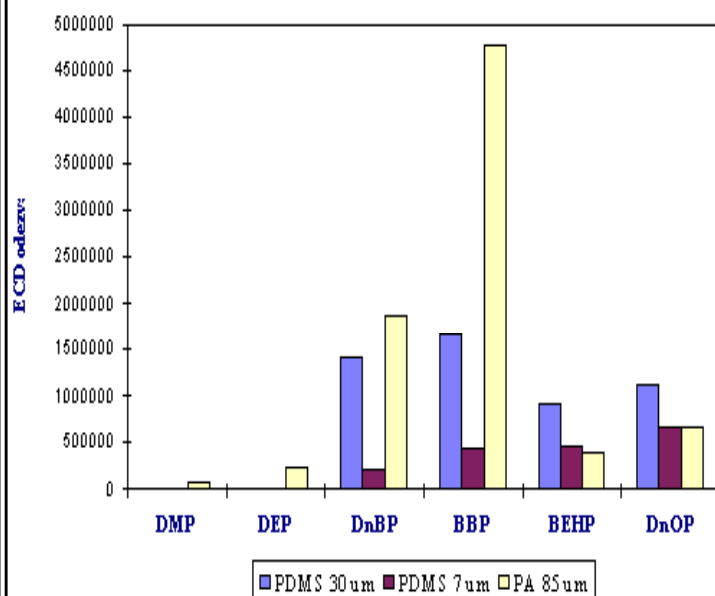


Kateřina HOLADOVÁ, 6. Seminář o SPME, 23.1 2004, VŠCHT Praha

# I. OPTIMALIZACE SPME METODY

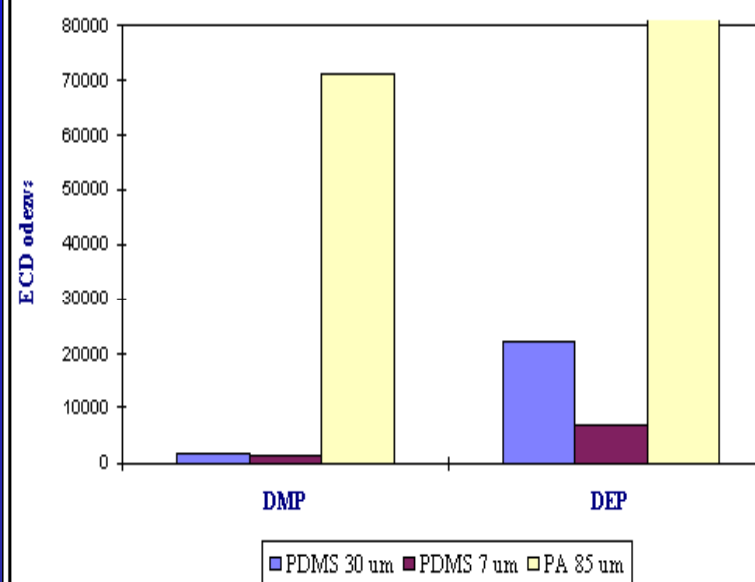
Množství PAEs extrahované různými SPME  
vlákny.

(20 min sorpce, míchání, 66 °C)



Množství DMP a DEP extrahované různými  
SPME vlákny.

(20 min sorpce, míchání, 66 °C)



# I. OPTIMALIZACE SPME METODY

## 1. VOLBA STACIONÁRNÍ FÁZE

POLARITA ANALYTU » POLARITA STACIONÁRNÍ FÁZE

MALÉ MOLEKULY ( $M_R = 60 - 90$ )

- sorpci ovlivňuje spíše typ sorpce (AD x AB) a velikost pórů
- nejlepší CX, DVB/CX, PDMS/DVB

STŘEDNĚ VELKÉ MOLEKULY ( $M_R = 90 - 500$ )

- důležitý tvar (substituenty) a velikost molekuly

Výhoda použití polárního vlákna se projeví u polárních analytů  
s  $M_R > 90$

# I. OPTIMALIZACE SPME METODY

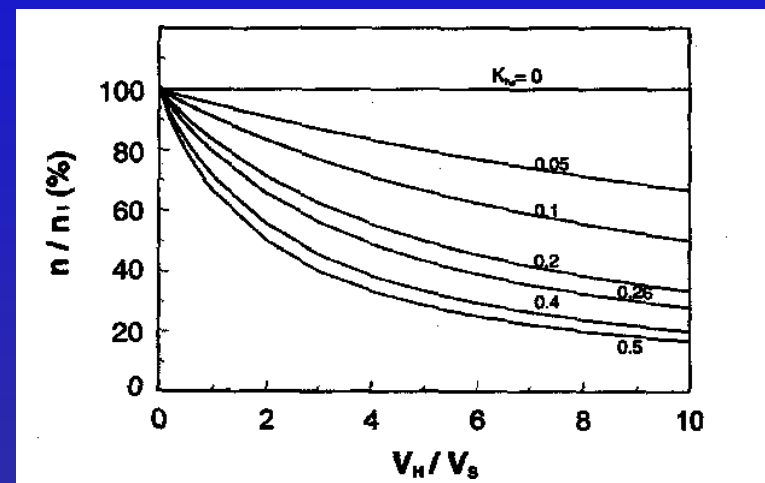
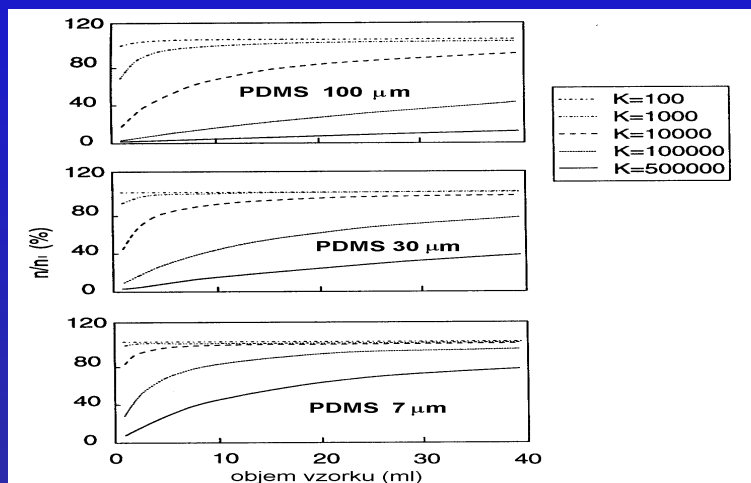
## 2. PODMÍNKY SORPCE

### a) ÚPRAVA VZORKU - objem, navážka

- **Objem** - výrazný vliv na citlivost (malé objemy)

**Přímá extrakce**

**H-S extrakce**



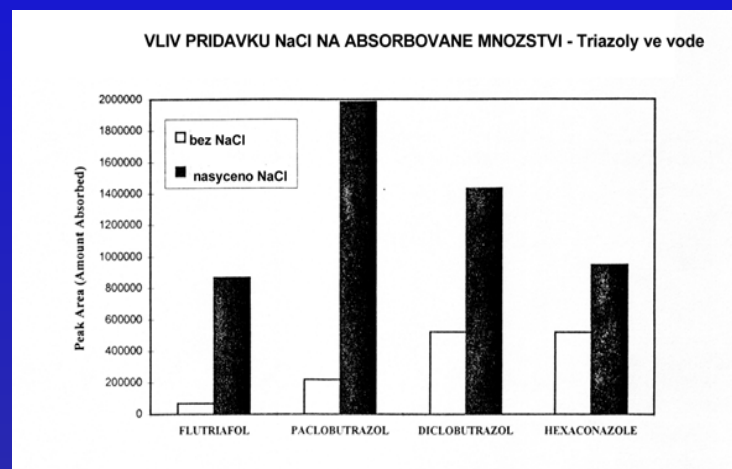
(J.Pawliszyn: *SPME: Theory and practice.*, Wiley-VCH, Inc., NY 1997, ISBN 0-471-19034-9)

Kateřina HOLADOVÁ, 6. Seminář o SPME, 23.1 2004, VŠCHT Praha

## a) ÚPRAVA VZORKU - modifikace matrice

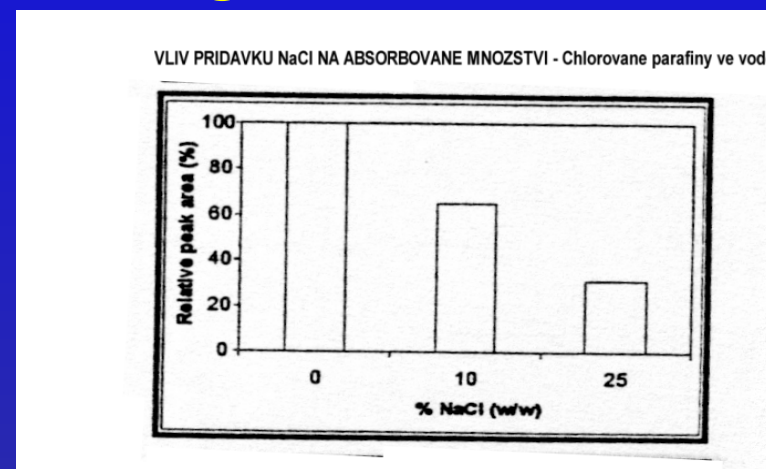
- **Přídavek solí** – vysolení **X** vnesení nečistot, sekundární kontaminace, poškození vlákna

### Pozitivní vliv NaCl



(S.J. Crook: Residue analysis of four triazole fungicides by automated SPME, Zeneca Agrochemicals, UK)

### Negativní vliv NaCl



(P. Castelas a kol.: SPME\_GC for the analysis of short-chain chlorinated paraffins in water samples, Extech 2001, Barcelona)

## a) ÚPRAVA VZORKU - modifikace matrice -přídavek solí

- **Pozitivní vliv:** neutrální molekuly – snížení rozpustnosti
- **Negativní vliv:** ionizované analyty – zvýšení iontové síly zvyšuje počet ionizovaných molekul oproti neutrálním – preferují roztok – **kombinace úpravy pH a vysolení**

### *Zvýšení sorbovaného množství fenolů z odpadních vod - PA*

(K.D.Bucholz aj.Pawliszyn: Anal. Chem.1994, 66, 160-167)

SLOUČENINA	pH 2	vysolení	pH 2 + vysolení	$pK_A$
<i>fenol</i>	0,9 x	5,5 x	6,0 x	9,89
<i>2,4-dinitrofenol</i>	10,1 x	0,2 x	16,8 x	4,09
<i>pentachlorfenol</i>	1,4 x	0,2 x	1,1 x	4,74

Kateřina HOLADOVÁ, 6. Seminář o SPME, 23.1 2004, VŠCHT Praha

a) **ÚPRAVA VZORKU** - modifikace matrice -přídavek solí  
**Poškození vlákna 65  $\mu\text{m}$  CWX/DVB - 30 % NaCl ve vodě**

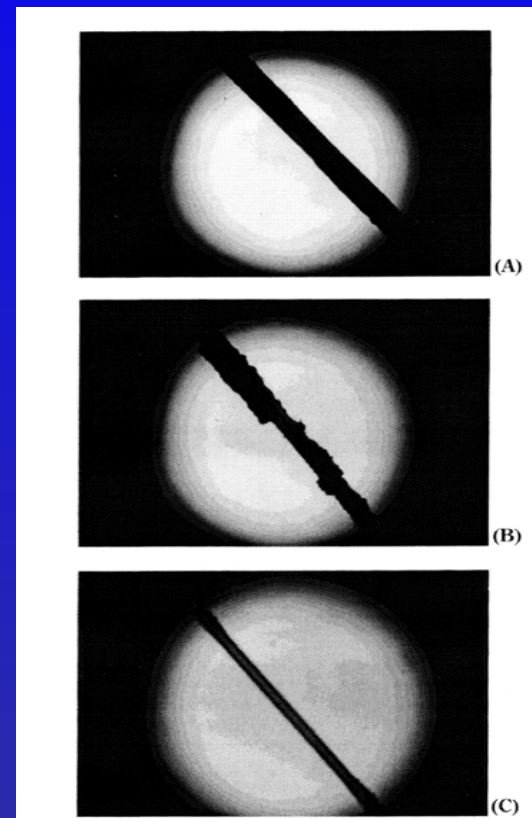
A...nové

B...6 extrakcí

C...15 extrakcí



**limit 10 % NaCl**  
**(100 extrakcí)**



*(F.Hernandez a kol.: Use of SPME for the Quantitative Determination of Herbicides in Soil and Water Samples, Anal.Chem 2000, Vol.72, No.10, 2313-2322)*

## a) ÚPRAVA VZORKU - modifikace matrice

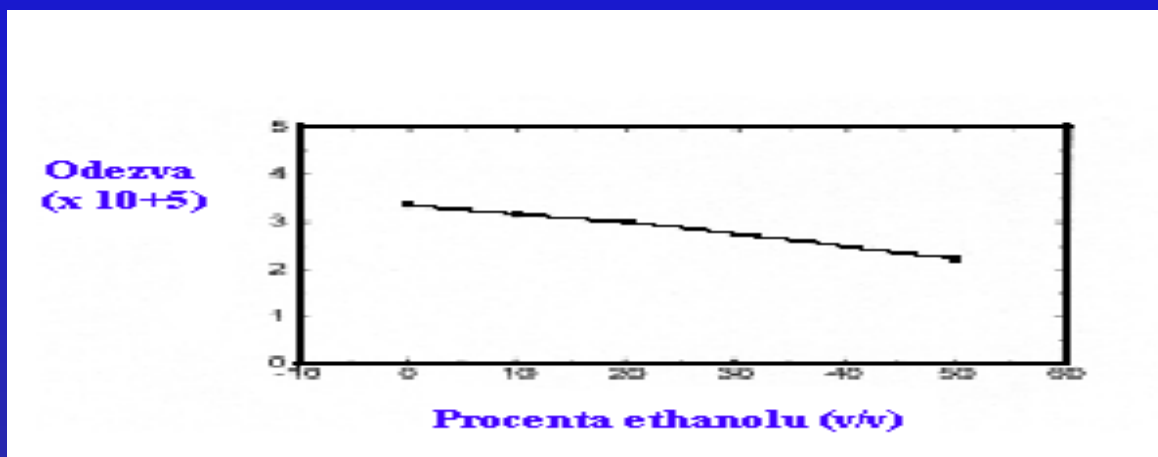
- **Vliv rozpouštědel** –  $\uparrow$  rozpustnost  $\Rightarrow$   $\downarrow$  K  $\Rightarrow$   $\downarrow$  výtěžek

**DŮVODY:** - analýza alkoholických nápojů

- analýza extraktů pevných vzorků

- přidavek standardů v rozpouštědlech

**VLIV ETHANOLU:** extrakce trans-resveratrolu z vody



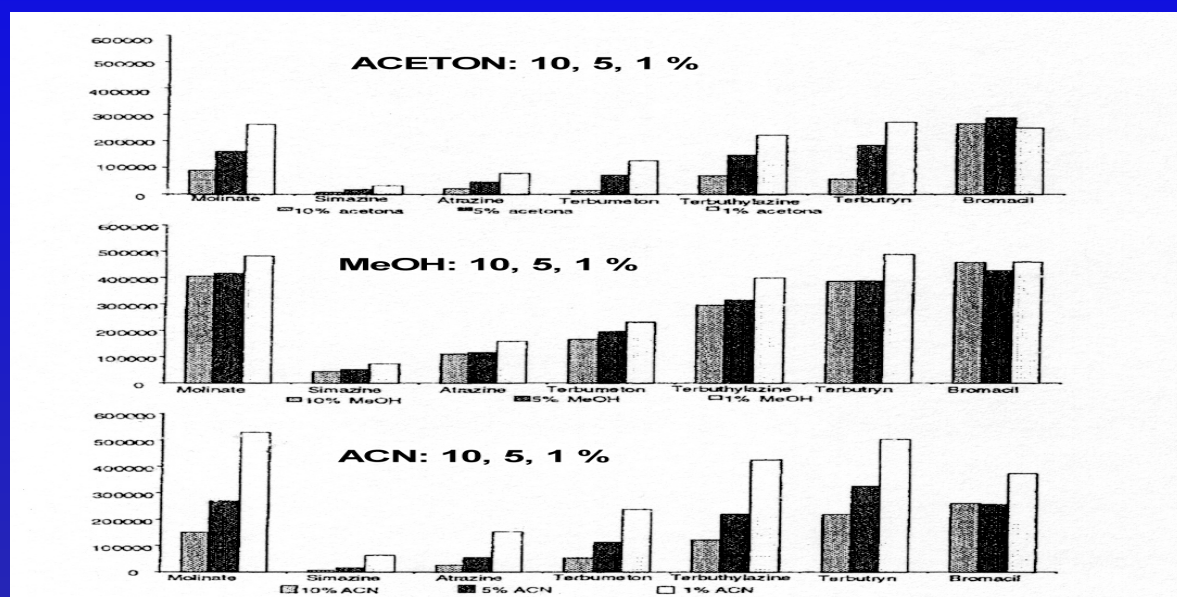
$\Rightarrow$  **do 20 % příliš neovlivňuje extrakci analytu**

(T.Luan a kol.: Analytica Chimica Acta 424 (2000) 19-25)

## a) ÚPRAVA VZORKU - modifikace matrice

### • Vliv rozpouštědel - ACETONITRIL, MeOH, ACETON

Extrakce triazinů z extraktů půdy (F.Hernandez a kol.:Anal.Chem.2000, 72, 2313)

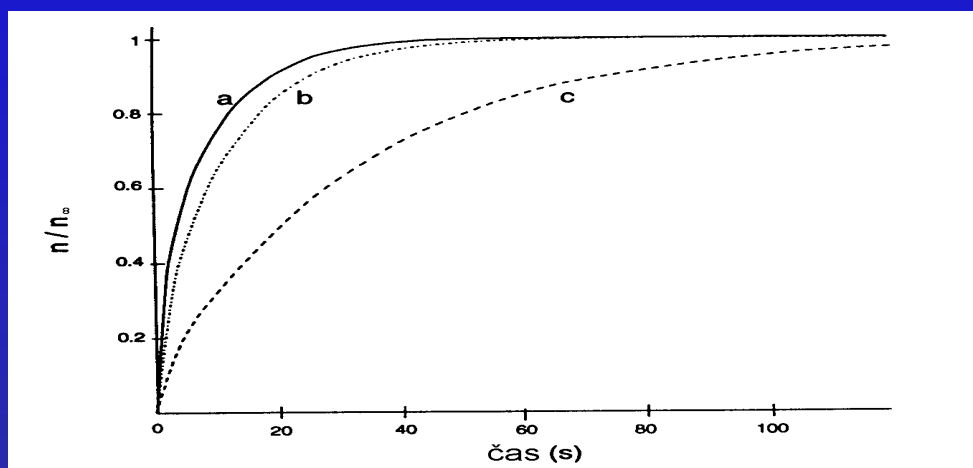


⇒ všechna rozpouštědla **max. do 1%**

**ACETON:** nejnižší výtěžky, + **ACN:** největší rozdíly mezi %  
**METHANOL:** nejmenší negativní vliv

## b) MÍCHÁNÍ - magnetické, sonikace, vibrace jehly (vialky)

- **H-S SPME - těkavé analyty** – nemá výrazný vliv
  - méně těkavé analyty – rychlejší transport
- **DI SPME** – rychlejší transport



- a) dokonale
- b) dobře
- c) špatně míchaný roztok

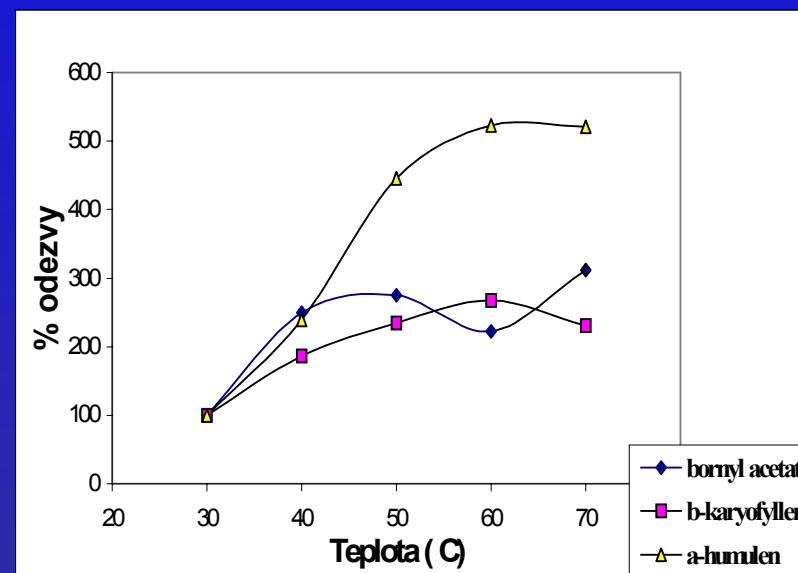
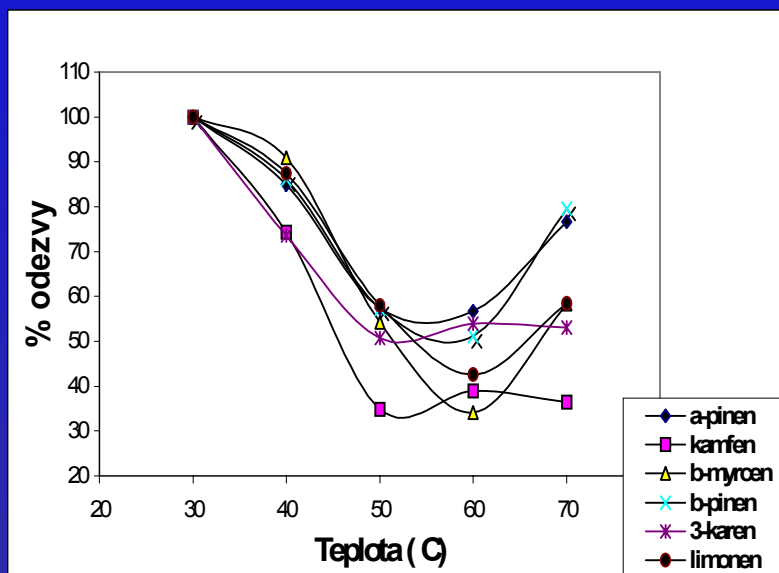
(J.Pawliszyn: *SPME: Theory and practice*, Wiley-VCH, Inc., NY 1997, ISBN 0-471-19034-9)

## c) TEPLOTA SORPCE

$\uparrow T \Rightarrow \uparrow$  difúze k vláknu,  $\downarrow$  zadrž analytu s. f.

x POVAHA ANALYTU

*H-S stanovení terpenů v kůře jehličnanů*



Kateřina HOLADOVÁ, 6. Seminář o SPME, 23.1 2004, VŠCHT Praha

## d) DOBA SORPCE

**ROVNOVÁHA** – max. citlivost, dobrá opakovatelnost

**X**

- často z praktického hlediska nepoužitelné

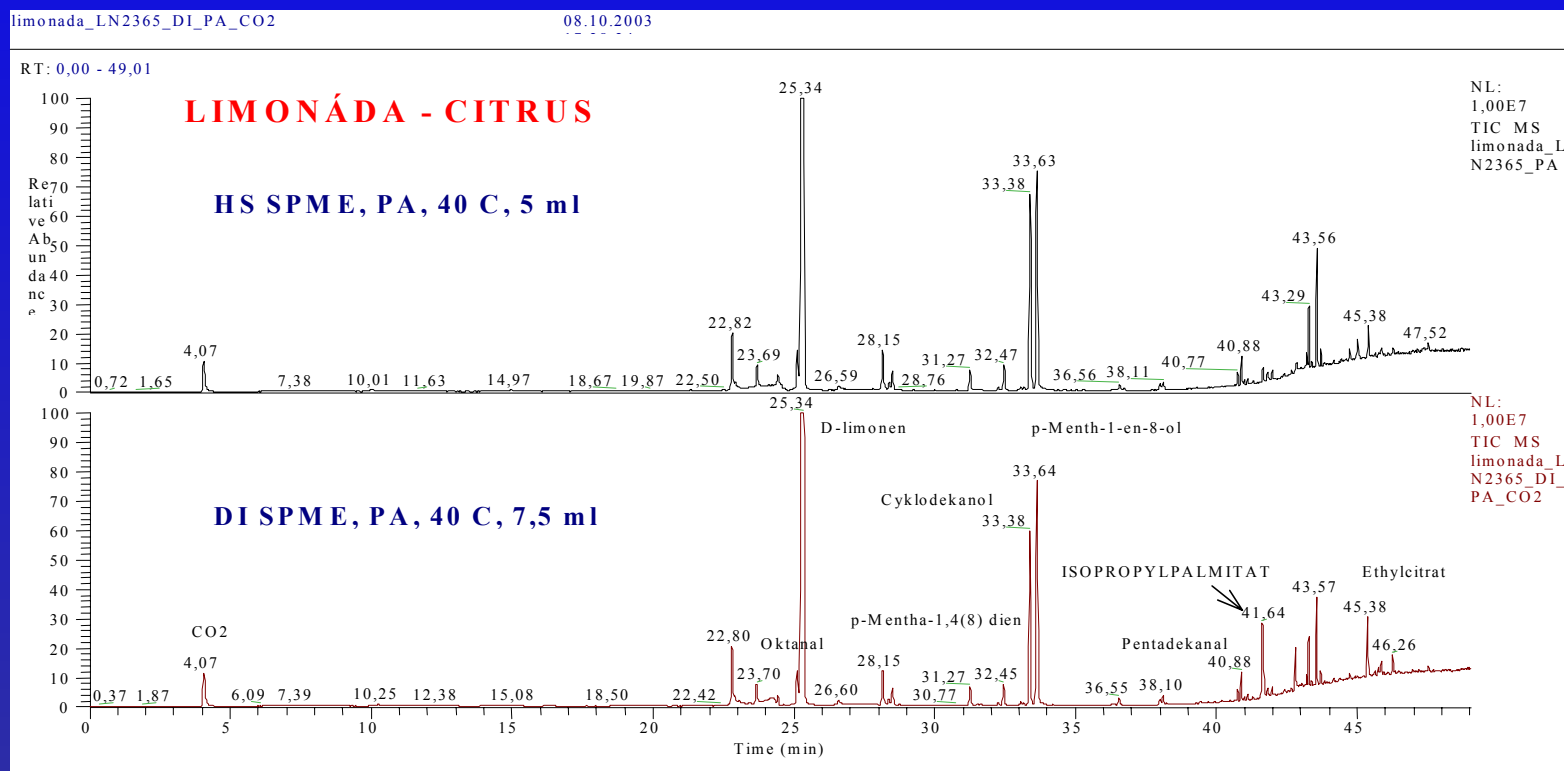
## e) POLOHA VLÁKNA PŘI VZORKOVÁNÍ

## f) TYP NÁDOBKY A UZÁVĚRU (tvar septa)

## g) EXTRAKČNÍ MÓD H-S x DI: povaha matrice a analytu

# g) EXTRAKČNÍ MÓD H-S x DI: povaha matrice a analytu

## CITLIVOST, INFORMACE O SLOŽENÍ VZORKU



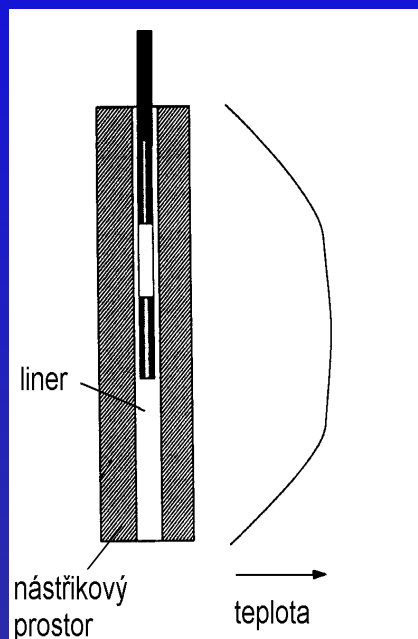
Kateřina HOLADOVÁ, 6. Seminář o SPME, 23.1 2004, VŠCHT Praha

# I. OPTIMALIZACE SPME METODY

## 2. PODMÍNKY DESORPCE

### a) POLOHA VLÁKNA V NÁSTŘIKOVÉM PROSTORU

% desorbovaného analytu, PDMS 30



Pozice	DMP	DEP	DnBP	BBP	BEHP	DnOP
2.5	108	99	51	34	4	2
3.0	100	100	100	100	100	100
3.5	122	106	96	87	73	12

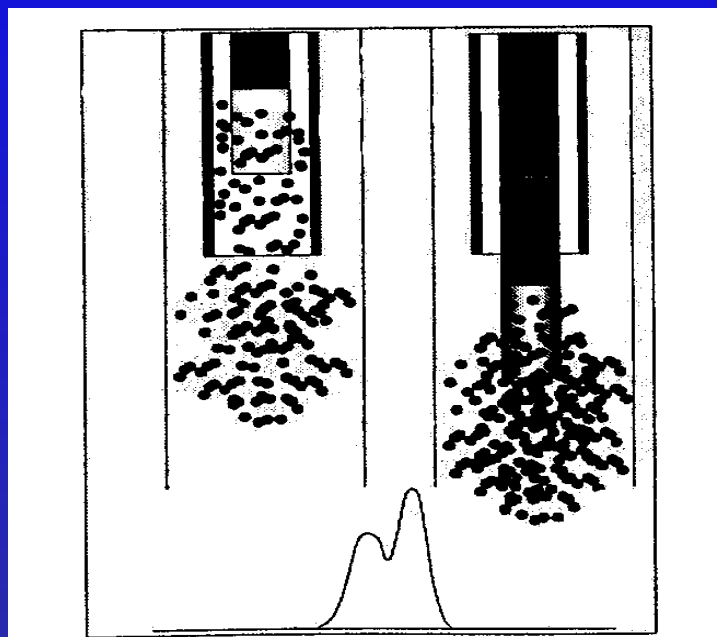
(J.Pawliszyn: *SPME: Theory and practice*, Wiley-VCH, Inc., NY 1997, ISBN 0-471-19034-9)

Kateřina HOLADOVÁ, 6. Seminář o SPME, 23.1 2004, VŠCHT Praha

# I. OPTIMALIZACE SPME METODY

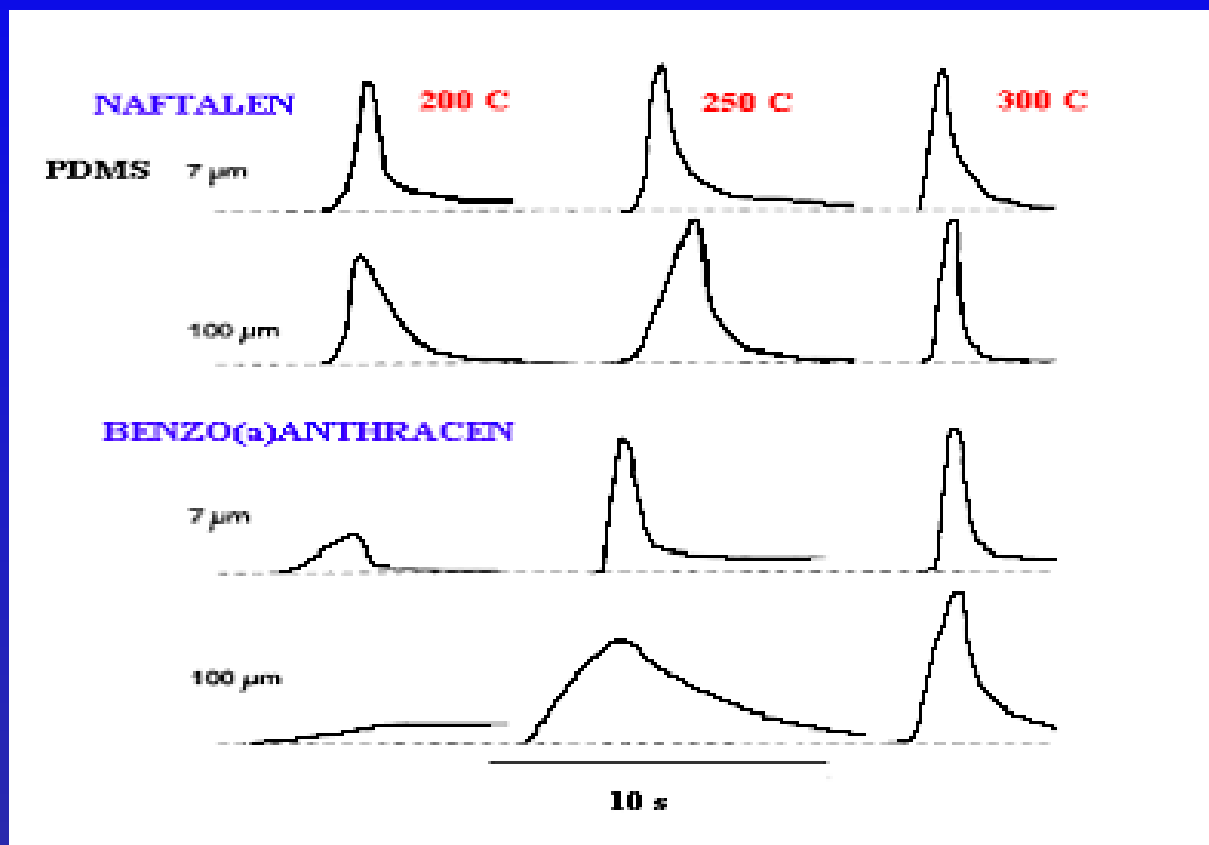
## 2. PODMÍNKY DESORPCE

### b) RYCHLOST VYSUNUTÍ VLÁKNA



*(J.Pawliszyn: SPME Theory and Applications, Course Notes, 2003)*

## c) DESORPČNÍ TEPLOTA - kvantitativně a rychle



(J.J. Lagenfeld a kol.: *J. Chromatogr.A*, 740, 139 (1996))

Kateřina HOLADOVÁ, 6. Seminář o SPME, 23.1 2004, VŠCHT Praha

## d) DÉLKA DESORPCE – souvisí s teplotou

- CARRY-OVER EFEKT**

PDMS 30, % analytu desorbovaného z vlákna při „blank“ analýze (100 % = desorpce po sorpci vzorku)

t (min)*	DMP	DEP	DnBP	BBP	BEHP	DnOP
5	0	0	10	0	41	40
30	0	0	23	2	31	32
50	0	0	1	1	3	7

\* t (min)...doba pobytu vlákna v injektoru po 5 min desorpční periodě

## d) DÉLKA DESORPCE – 5, 1, 0.5, 0.2 min

- **OVLIVNĚNÍ CHROMATOGRRAFIE (symetrie, šířka píku)**

*Terpenické látky v jehličí Smrku ztepilého*

Vzorek: 3.5 g větvíček

Extrakce: 25 °C, 20 min

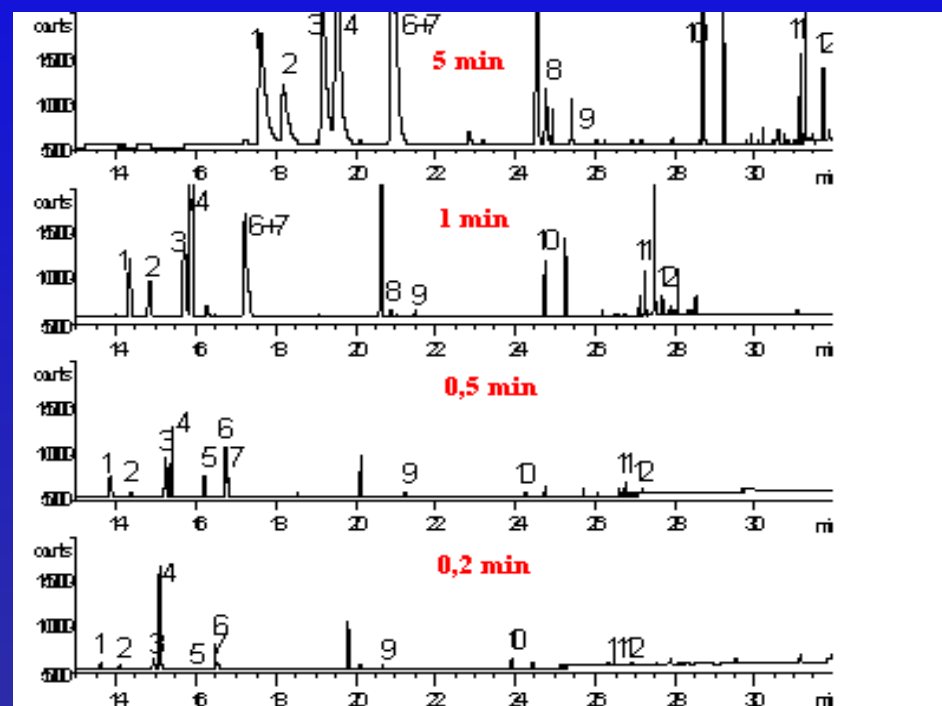
PDMS 100 μm

GC/FID, DB-5MS

990 μl liner

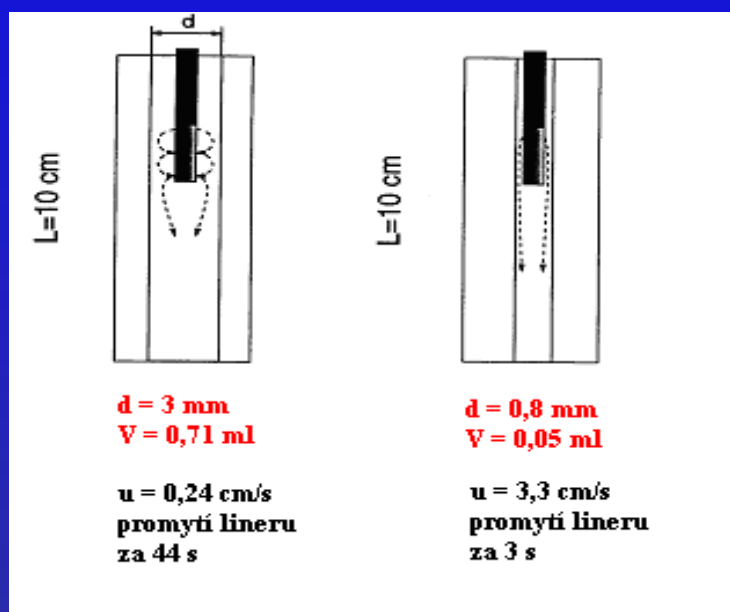


**1 minuta**



## e) OBJEM GC LINERU

- RYCHLOST A ÚČINNOST DESORPCE
- OVLIVNĚNÍ CHROMATOGRRAFIE
- MINIMALIZACE ZTRÁT



(J.Pawliszyn: *SPME: Theory and practice*, Wiley-VCH, Inc., NY 1997, ISBN 0-471-19034-9)

Kateřina HOLADOVÁ, 6. Seminář o SPME, 23.1 2004, VŠCHT Praha

- e) **OBJEM GC LINERU - 990, 250  $\mu$ l**
- f) **TYP GC KOLONY - DB-5MS (60m x 0.25mm x 0.25 $\mu$ m)**  
**- HP-VOC (60m x 0.2mm x 1.1  $\mu$ m)**

### *Terpeny v jehličí*

Vzorek: 3.5 g větviček

Extrakce: 25 °C, 20 min

PDMS/DVB

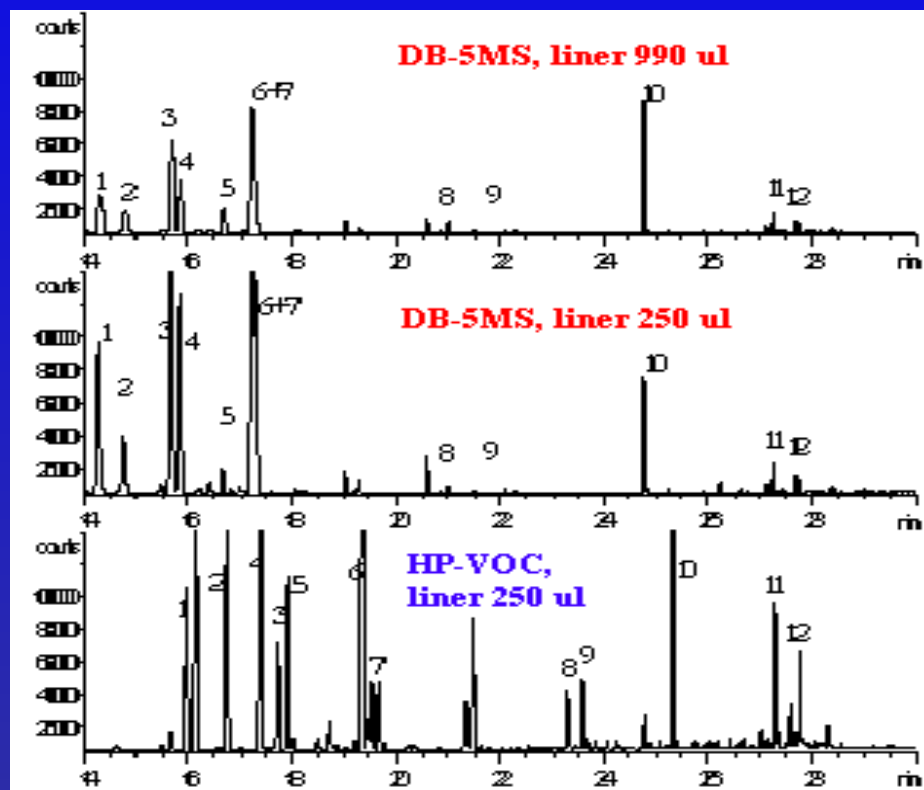
Desorpce: 1 min

GC/FID

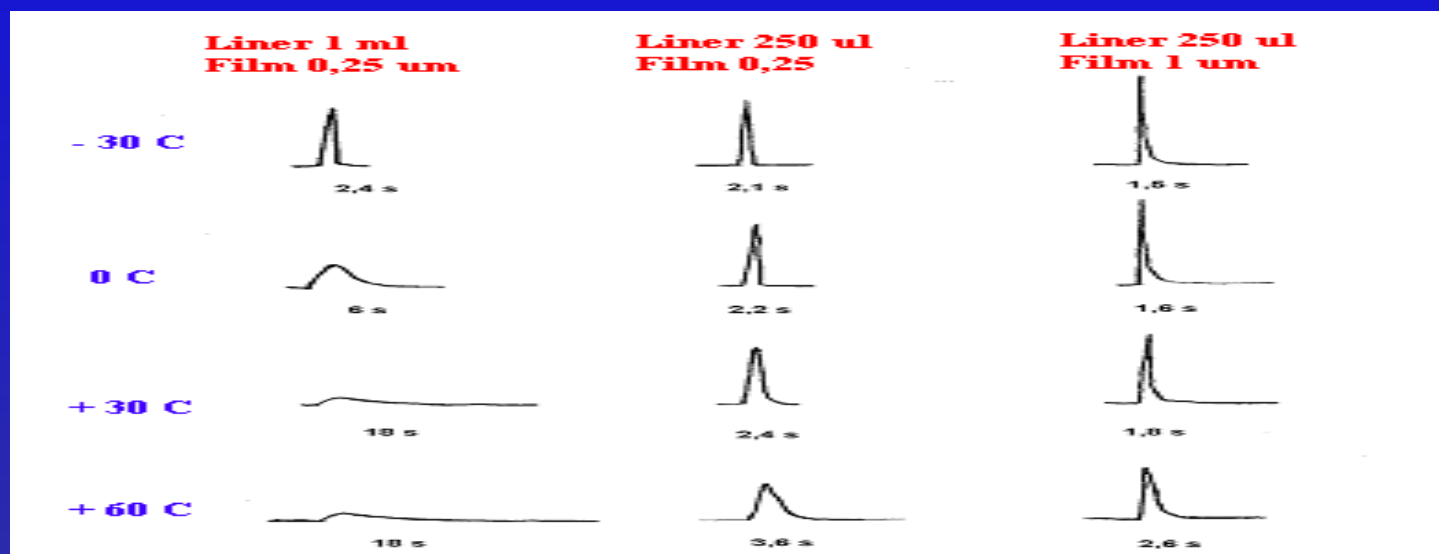


**LINER 250  $\mu$ l**

**Kolona HP-VOC**



- e) **OBJEM GC LINERU - 1 ml, 250  $\mu$ l**
- f) **TYP GC KOLONY - DB-5MS (60m x 0.25mm x 0.25 $\mu$ m)  
- DB-5MS (60m x 0.25mm x 1 $\mu$ m)**
- g) **POČÁTEČNÍ TEPLOTA PECE- -30, 0, +30, +60  $^{\circ}$ C**
- PDMS 100, Benzen, desorpční teplota 300  $^{\circ}$ C*



(J.J. Lagenfeld a kol.: *J. Chromatogr.A*, 740, 139 (1996))

Kateřina HOLADOVÁ, 6. Seminář o SPME, 23.1 2004, VŠCHT Praha

## II. CHARAKTERIZACE SPME METODY

### 1. OPAKOVATELNOST

### 2. LINEÁRNÍ ROZSAH

### 3. CITLIVOST – Mez stanovitelnosti

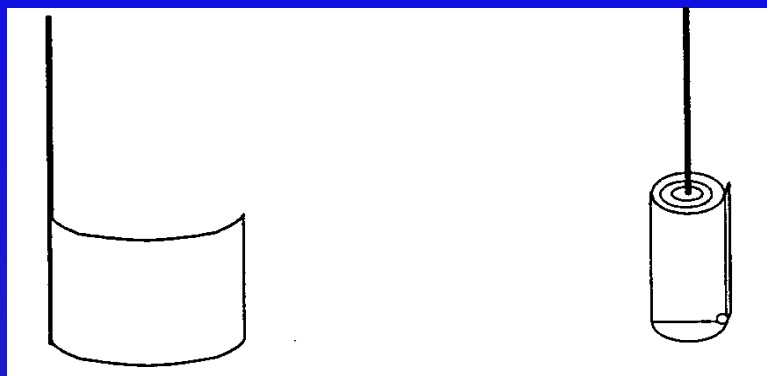
### 4. ZPŮSOB KVANTIFIKACE

- **Vnější standard – kalibrační křivka**
- **Standardní přídavek**
- **Přídavek značených analogů analytů**

# NOVÉ TRENDY V SPME

## SPME MEMBRÁNA

(J.Pawliszyn: SPME Theory and Applications, Course Notes, 2003)



- prokřížený PDMS
- počáteční rychlost SPME přímo úměrná povrchové ploše sorbentu

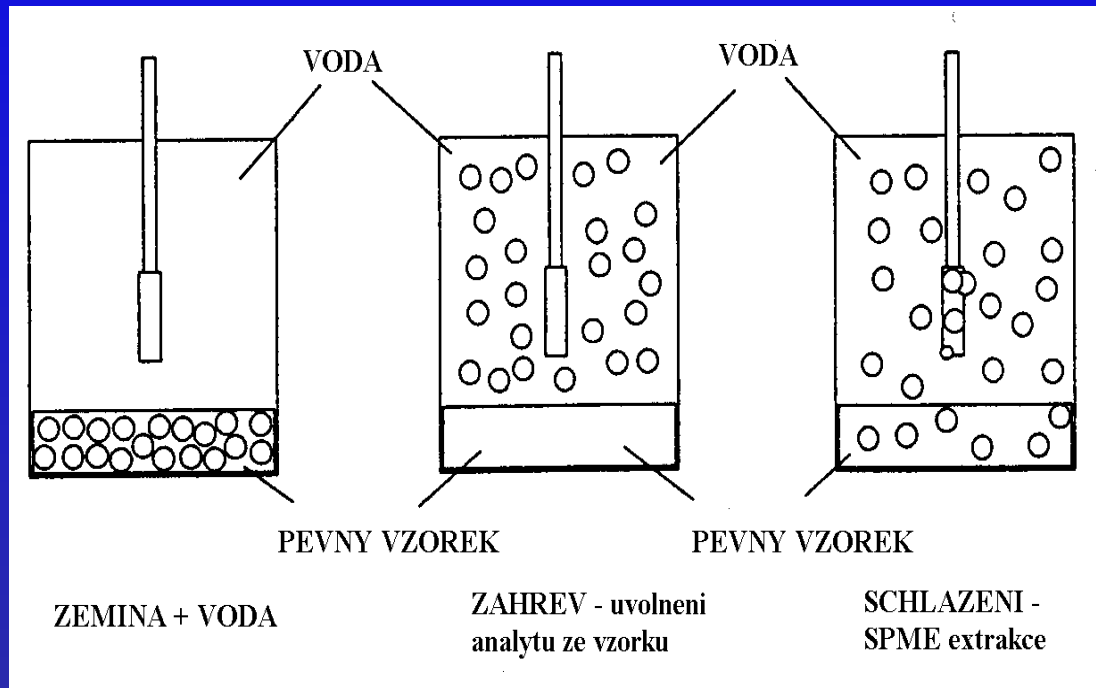
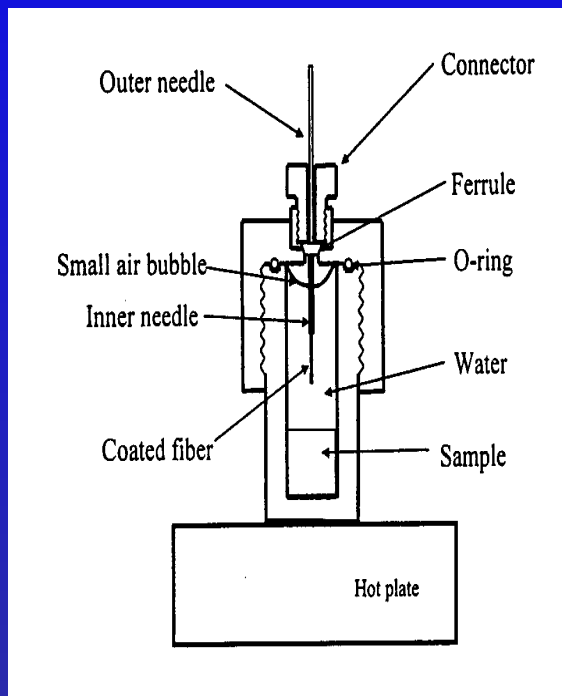


**RYCHLOST  
CITLIVOST  
X  
DESORPCE ???**

	<b>VLÁKNO</b> (100 $\mu\text{m}$ PDMS)	<b>MEMBRÁNA</b> (1 cm x 1 cm PDMS)
<b>PLOCHA POVRCHU</b>	$A_f = 10 \text{ mm}^2$	$A_m = 200 \text{ mm}^2$
<b>OBJEM FÁZE</b>	$V_f = 0,61 \text{ mm}^3$	$V_m = 2,55 \text{ mm}^3$
<b>POMĚR OBJEMŮ</b> $V_m / V_f = 4,5$ <b>POMĚR PLOCH</b> $A_m / A_f = 20$		

# NOVÉ TRENDY V SPME EXTRAKCE HORKÁ VODA / SPME

(J.Pawliszyn: *SPME Theory and Applications, Course Notes, 2003*)



Kateřina HOLADOVÁ, 6. Seminář o SPME, 23.1 2004, VŠCHT Praha

# APLIKACE SPME – SPME Application Guide, 3. vydání, 2001, 620 citací

<b>POTRAVINY</b>	<b>VODA</b>	<b>PŮDA</b>	<b>VZDUCH</b>
<b>20 %</b>	<b>35 %</b>	<b>6 %</b>	<b>3 %</b>
<b>FARMACEUT. A TOXIKOL. APLIKACE</b>		<b>PŘÍRODNÍ PRODUKTY</b>	<b>POLYMERY</b>
<b>23 %</b>		<b>7 %</b>	<b>1 %</b>
<b>POTRAVINY:</b>			
<b>TYP POTRAVINY</b>	<b>OLEJE A TUČNÉ MATRICE</b>	<b>9 %</b>	
	<b>VÍNO, DESTILÁTY, PIVO</b>	<b>26 %</b>	
	<b>OVOCNÉ A DALŠÍ NEALKO NÁPOJE</b>	<b>13 %</b>	
<b>ANALYTY</b>	<b>TÉKAVÉ (flavor,..)</b>	<b>70 %</b>	
	<b>PESTICIDY</b>	<b>6 %</b>	
<b>VLÁKNA</b>	<b>PDMS</b>	<b>38 %</b>	
	<b>PA</b>	<b>17 %</b>	
	<b>PDMS-CX</b>	<b>12 %</b>	

Kateřina HOLADOVÁ, 6. Seminář o SPME, 23.1 2004, VŠCHT Praha