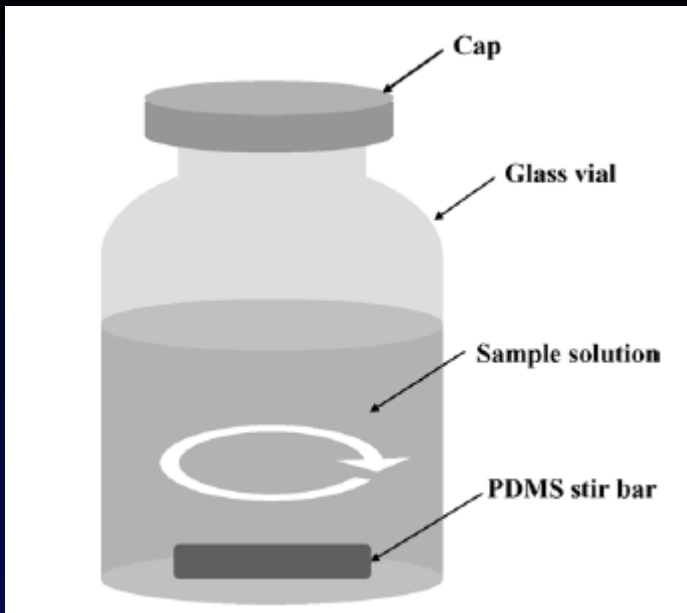




Εκχύλιση μέσω προσροφητικής ανάδευσης  
Stir Bar Sorptive Extraction SBSE



SPME (1999) → αύξηση του ενδιαφέροντος για τεχνικές προσρόφησης (sorbptive techniques)

Stir bar sorptive extraction - Research Institute of Chromatography (Kortrijk, Belgium) 1999 - Sandra and co-workers

*Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), a Novel Extraction Technique for Aqueous Samples: Theory and Principles, E. Baltussen, P. Sandra, F. David, C. Cramers; J. Microcolumn Separations, 11(10) 737-747 (1999)*

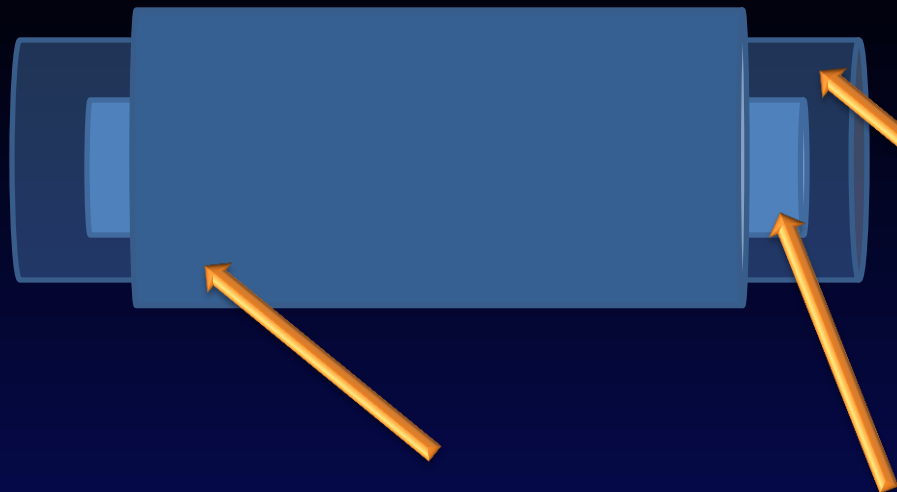
Πρώτη εμπορική διάθεση Gerstel (Mulheim, Germany) - "Twister".

Εκχύλιση οργανικών ουσιών – αναλυτών από υδατικά μέσα μέσω προσρόφησης σε στρώμα πολυμερούς που βρίσκεται επικαλυμένο - ακινητοποιημένο σε ράβδο ανάδευσης (συνήθως για προκαθορισμένο χρονικό διάστημα)



Μεταφορά της επικαλυμμένης ράβδου ανάδευσης σε συσκευή εκρόφησης προκειμένου απελευθερωθεί ο αναλύτης

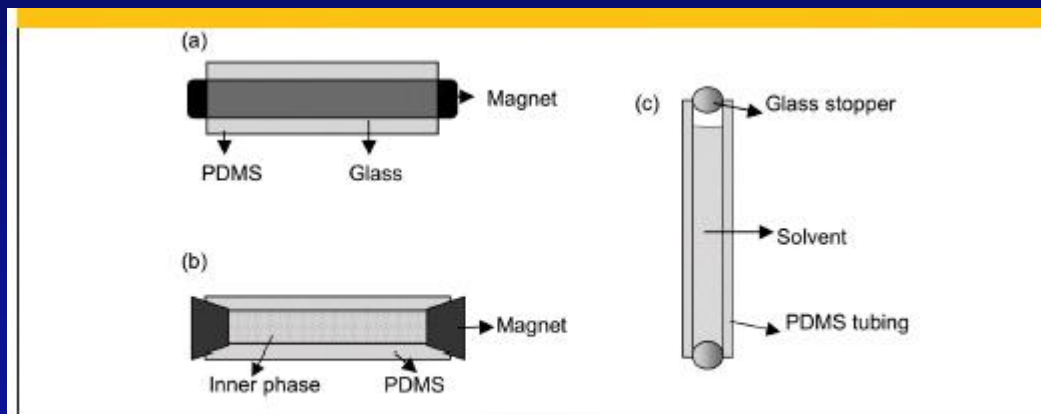
## Επικαλυμένη ανακινούμενη ράβδος (twister)



Γυάλινη επένδυση (προστασία πολυμερούς από τον σιδερένιο πυρήνα – η επαφή με το πολυμερές καταλύει αντιδράσεις αποδόμησης του πολυμερούς)

Επιστρωση από προσροφητικό πολυμερές

Σιδερένιος πυρήνας (απαραίτητος για την μαγνητική ανάδευση)



**Figure 1:** Schematic diagrams of (a) a conventional PDMS SBSE device, (b) a dual-phase SBSE device, and (c) a SMSE sampling device

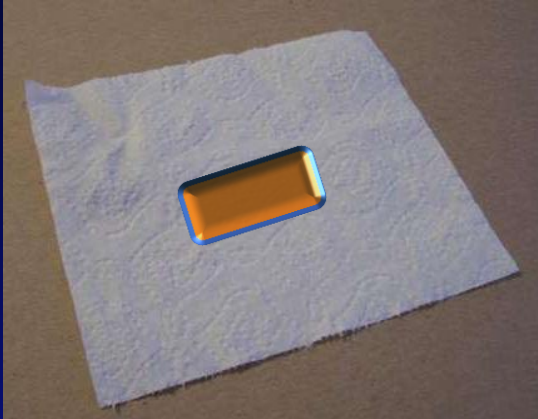


# Διαδικασία

Προσθήκη κατάλληλου διαλύτη



Απόσπαση υπολειμματικού ποσού διαλύτη

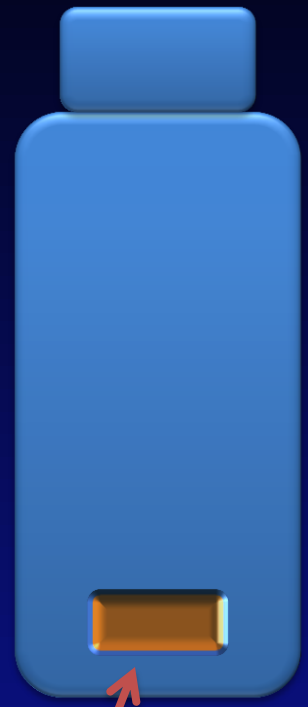
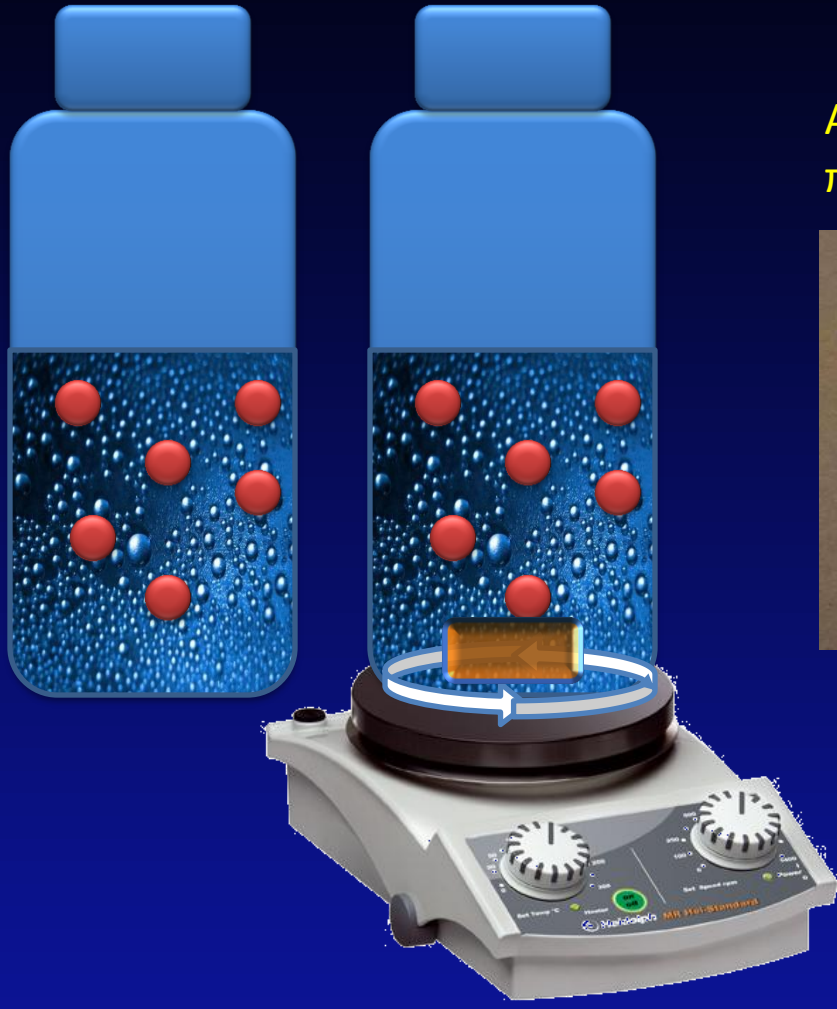


έκπλυση με H<sub>2</sub>O

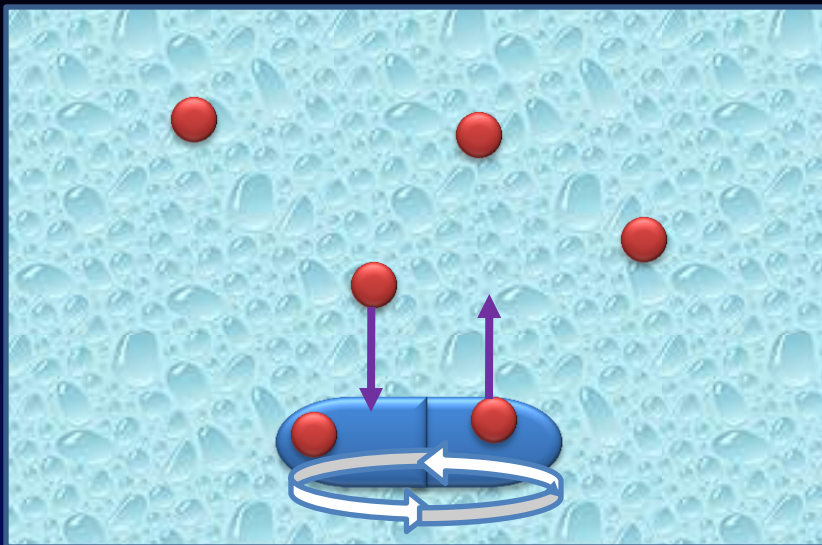
δεν προκαλεί εκρόφιση των αναλυτών απομακρύνει άλατα και συσδιάλυτες ουσίες που έχουν καθιζήσει στη ράβδο



Θερμική εκρόφιση



SPBE → χημική ισορροπία



SPBE → χημική ισορροπία αναλύτη μεταξύ υγρής φάσης και επικάλυψης

Εξαρτάται από τον συντελεστή κατανομής  
(για  $H_2O$  εξαρτάται από το συντελεστή μερισμού οκτανόλης –  $H_2O$   $K_{ow}$ )

Η έντονη μαγνητική ανάδευση διασφαλίζει την αποκατάσταση ισορροπίας με όλη τη μάζα του διαλύματος

$$K_{o/w} = K_{PDMS/W} = \frac{C_{PDMS}}{C_w} = \frac{\frac{m_{PDMS}}{V_{PDMS}}}{\frac{m_w}{V_w}} = \frac{m_{PDMS}}{m_w} \cdot \frac{V_w}{V_{PDMS}} = \beta \frac{m_{PDMS}}{m_w}$$

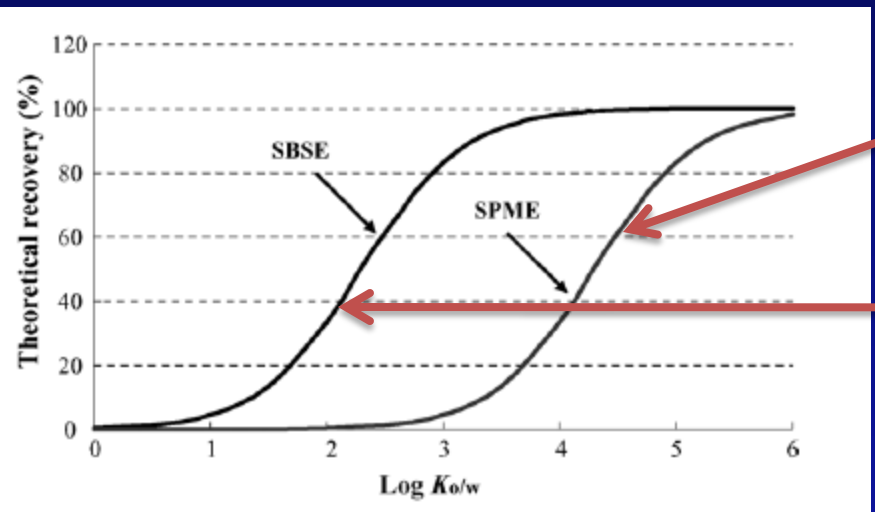
$$\frac{m_{PDMS}}{m_0} = \frac{\frac{K_{PDMS/W}}{\beta}}{1 + \frac{K_{PDMS/W}}{\beta}}$$

### ανάκτηση

- Η ανάκτηση αυξάνεται όσο αυξάνεται κ σταθερά  $K_{PDMS/W}$
- Η ανάκτηση αυξάνεται όσο μειώνεται το  $\beta \rightarrow$  αυάνεται ο όγκος του υλικού προσρόφησης PDMS

- $K_{o/w} \rightarrow$  συντελεστής μερισμού στο σύστημα οκτανόλης /  $H_2O$
- $K_{PDMS} \rightarrow$  συντελεστής μερισμού μεταξύ υλικού επικάλυψης (PDMS)/ $H_2O$
- $m_{PDMS} \rightarrow$  μάζα αναλύτη που προσροφήθηκε στην ράβδο
- $m_w \rightarrow$  μάζα αναλύτη που παρέμεινε στο  $H_2O$
- $V_{PDMS} \rightarrow$  όγκος ίνας
- $V_w \rightarrow$  όγκος  $H_2O$
- $m_0 \rightarrow$  συνολική μάζα του αναλύτη ( $m_0 = m_{PDMS} + m_w$ )

Έχει βρεθεί ότι μείωση του  $\beta$  (αύξηση του  $V_{PDMS}$ ) μειώνει τον χρόνο εξισορρόπησης



- SPME όγκος  $V_{PDMS} \sim 0.5 \mu L \rightarrow$  χαμηλή ανάκτηση για αναλύτες με χαμηλό συντελεστή  $K_{o/w}$  ( $< 10,000$ )
- SBSE όγκος  $V_{PDMS} \sim 25-125 \mu L \rightarrow$  αύξηση ευαισθησίας (50-250 φορές)  $\rightarrow$  ανάκτηση  $\sim 100\%$  για αναλύτες με  $K_{o/w} \sim 500$  ( $\log P > 2.7$ ).

SBSE (10 ml sample, 50l PDMS phase) and SPME (10 ml sample, 0.5l PDMS phase).

Η ποσότητα του αναλύτη που απομονώνεται εξαρτάται από την ποσότητα του υλικού επικάλυψης

(SPME~0.5-2μL SBSE~24-100μL – SBSE/SPME~50-250)



Υψηλότερη ευαισθησία (χαμηλότερα όρια ανίχνευσης σε σύγκριση με SPME)

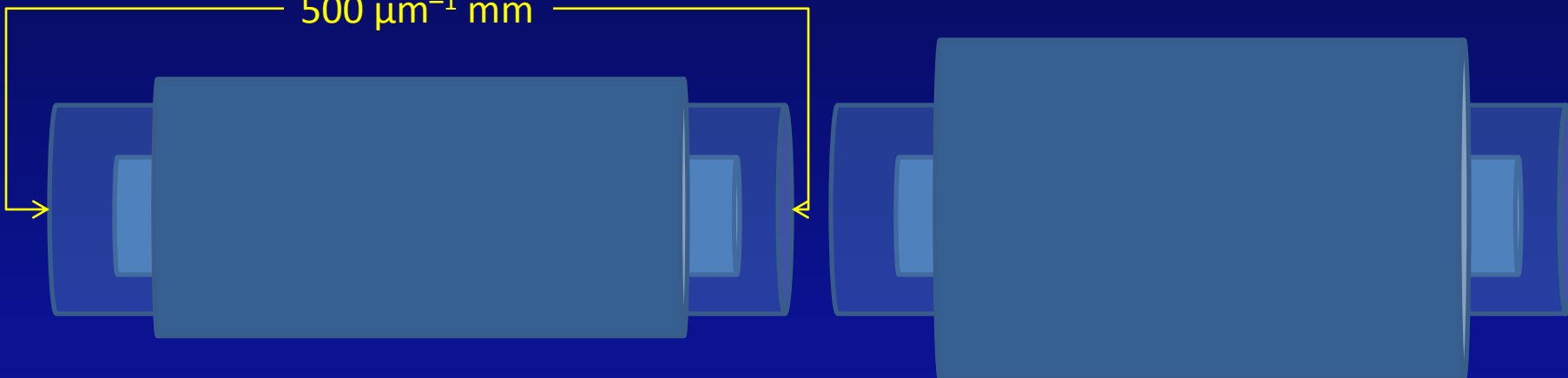


Αύξηση ευαισθησίας → χρήση ράβδων ανάδευσης με μεγαλύτερο πάχος επικάλυψης

☛ Σημαντικό πρόβλημα → δυσκολία επικάλυψης με μεγάλο πάχος πληρωτικού υλικού διότι δεν σταθεροποιείται επί της γυάλινης επιφάνειας → καταστροφή της ράβδου

Ανάκτηση → εξαρτάται από το χρόνο ανάδευσης, το υλικό επικάλυψης, τον χρόνο ανάδευσης (συνήθως 30-240 min), τον όγκο του δείγματος

500 μm<sup>-1</sup> mm

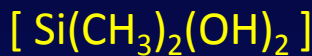
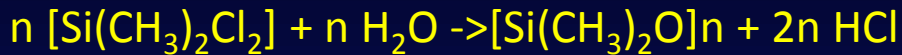


**Μειονέκτημα** → δεν υπόκειται σε αυτοματοποίηση

# Υλικά επικάλυψης

PDMS → πολυ-διμεθυλοπυριτία (polydimethylsiloxane)

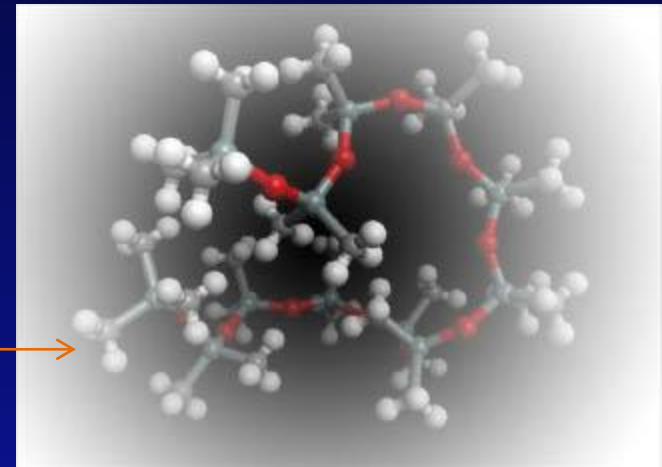
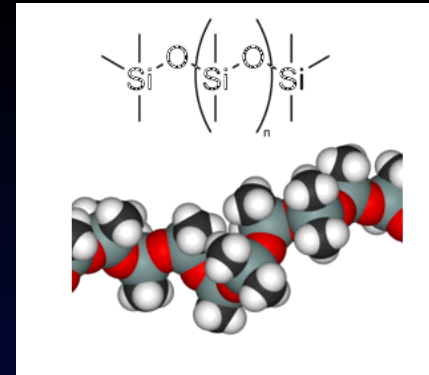
Σύνθεση PDMS: Υδρόλυση διχλωροδιμεθυλοπυριτίου (ο δεσμός Si-Cl είναι πολύ ασθενής και ευαίσθητος υπό συνθήκες υδρόλυσης)



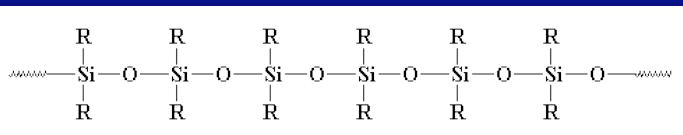
Αρχικός σχηματισμός ενδιάμεσου σιλανόλης που αφυδατώνεται

Διαθέτει 2 Cl – πολυμερίζεται και από τις δύο πλευρές και σχηματίζει μεγάλες αλυσίδες – μικρός αριθμός OH δεν πολυμερίζεται – παραμένει μικρή υπολλειματικότητα

Αντίδραση υπολλειματικών OH με B(OH)<sub>3</sub> (βορικό οξύ) → σχηματισμός δεσμών Si-O-B → σχηματισμός διασταυρούμενων αλύσεων (cross-linking) → σχηματισμός τρισδιάστατου πλέγματος

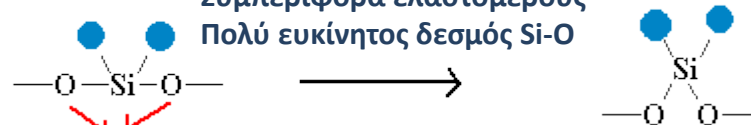


## Σιλικόνες



Συμπεριφορά ελαστομερούς

Πολύ ευκίνητος δεσμός Si-O



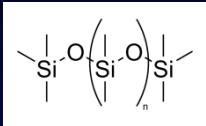


# Υλικά επικάλυψης

PDMS → πολυ-διμεθυλοπυριτία (polydimethylsiloxane)



Πολύ μικρή πολικότητα →



Αδυναμία εκχύλισης πολικών μορίων  
(εκχύλιση μη πολικών ή ασθενώς πολικών μορίων)



Προκειμένου να εκχυλισθούν πολικά μόρια  
απαιτείται σχηματισμός παραγώγων π.χ.

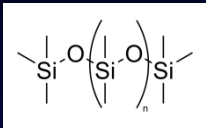


(αύξηση δυσκολίας, πειραματικού χρόνου,  
κόστους – μείωση βαθμού  
αυτοματοποίησης, επαναληψιμότητας–  
πιθανή αύξηση ευαισθησίας)

# Υλικά επικάλυψης

PDMS → πολυ-διμεθυλοπυριτία (polydimethylsiloxane)

Πολύ μικρή πολικότητα



Αδυναμία εκχύλισης πολικών μορίων  
(εκχύλιση μη πολικών ή ασθενώς πολικών μορίων)

Προκειμένου να εκχυλισθούν πολικά μόρια  
απαιτείται σχηματισμός παραγώγων π.χ.



(αύξηση δυσκολίας, πειραματικού χρόνου,  
κόστους – μείωση βαθμού  
αυτοματοποίησης, επαναληψιμότητας–  
πιθανή αύξηση ευαισθησίας)

**Επικαλυμένες ανακινούμενες ράβδοι  
διπλής φάσης  
(Dual phase twisters)**

Ταυτόχρονη εκχύλιση ουσιών  
αυξημένης πολικότητας

Εσωτερική κοιλότητα με πληρωτικό υλικό άλλου είδους  
(ενεργοποιημένος άνθρακας - activated carbon)

Μαγνητικός φραγμός  
(magnetic stopper)

Επικάλυψη PDMS



## Υλικά επικάλυψης

### Μοριακώς αποτυπωμένα πολυμερή (Molecularly imprinted polymers - MIPs)

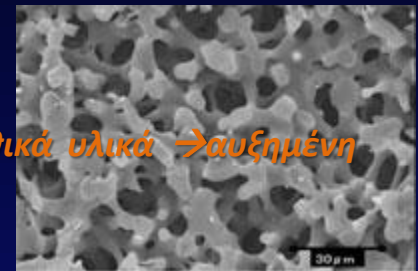
- (+) πολύ μεγάλη εκλεκτικότητα – (-) δυσκολία κατασκευής

### Μέσα περιορισμένης πρόσβασης (restricted access media – RAM) – *alkyldiol silica*

- (+) Μεγάλη συμβατότητα με βιολογικά δείγματα και ελάχιστη προκατεργασία – (-) ταχεία απενεργοποίηση

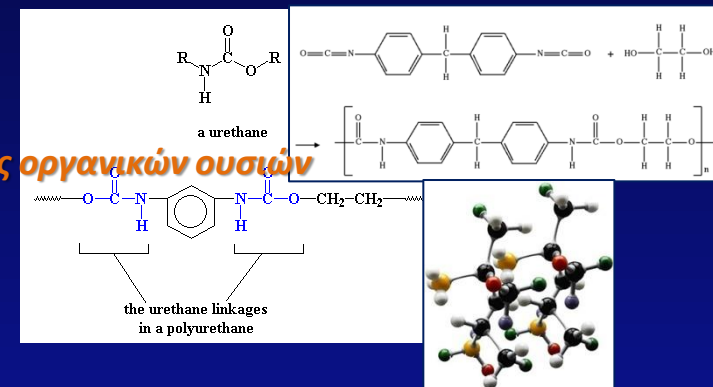
### Μονολιθική πυριτία (monolithic silica)

- (+) το όριο ανίχνευσης εξαρτάται από την ποσότητα επικάλυψης → μονολιθικά υλικά → αυξημένη μεταφορά μάζας (*mass transfer*) → υψηλότερη ευαισθησία



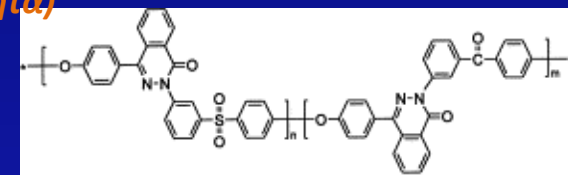
### Πολυουρεθάνη (polyurethane PU)

- (+) φθηνή, σταθερή και με σημαντική ικανότητα προσρόφησης **οργανικών ουσιών**



### PPESK (poly(phthalazine ether sulfone ketone) PPESK)

- (+) πορώδης επιφάνεια μεγάλης έκτασης (μεγάλη προσροφητική ικανότητα)
- προσρόφηση πολικών μορίων (αλληλεπίδραση με τις πολικές ομάδες)



# Τριχοειδές μεταφοράς

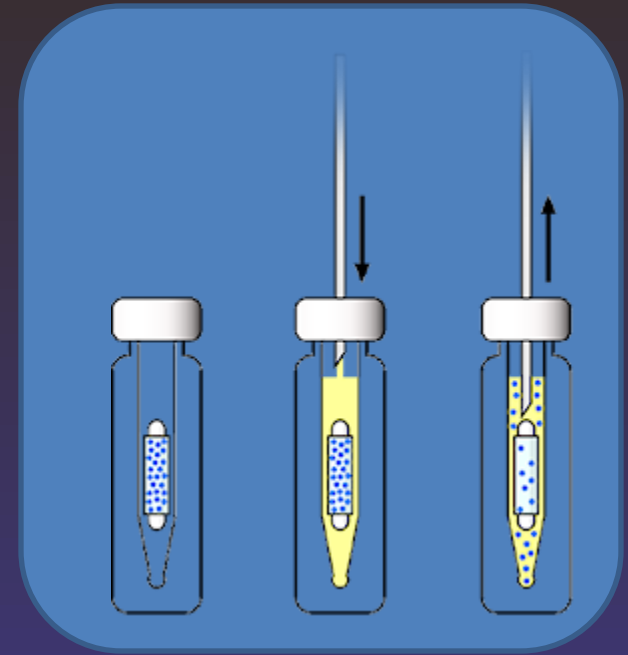


Υάλινη γραμμή μεταφοράς

Σύστημα θερμικής εκρόφησης

Λόγω της μεγάλης ποσότητας πληρωτικού υλικού → αργότερη εκρόφηση από SPME  
→ απαραίτητη η εστίαση του δείγματος  
Κρυογονική εστίαση (cryogenic focusing) -  $150^{\circ}\text{C}$  → υγρό  $\text{N}_2$

$150 - 300^{\circ}\text{C} / 5-15 \text{ min} / 10-50 \text{ ml min}^{-1} \text{ H}_2$



Σύστημα εκρόφησης με διαλύτη

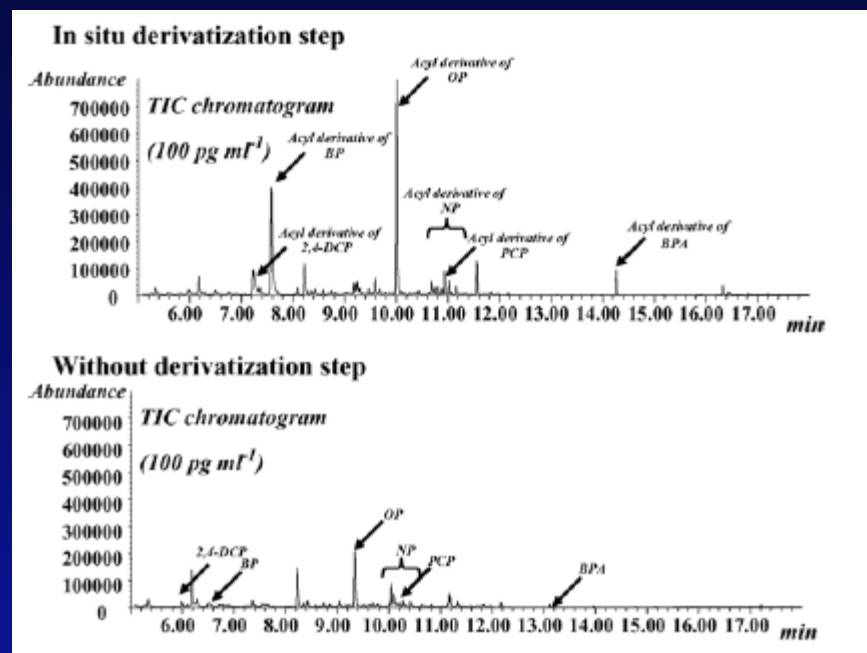
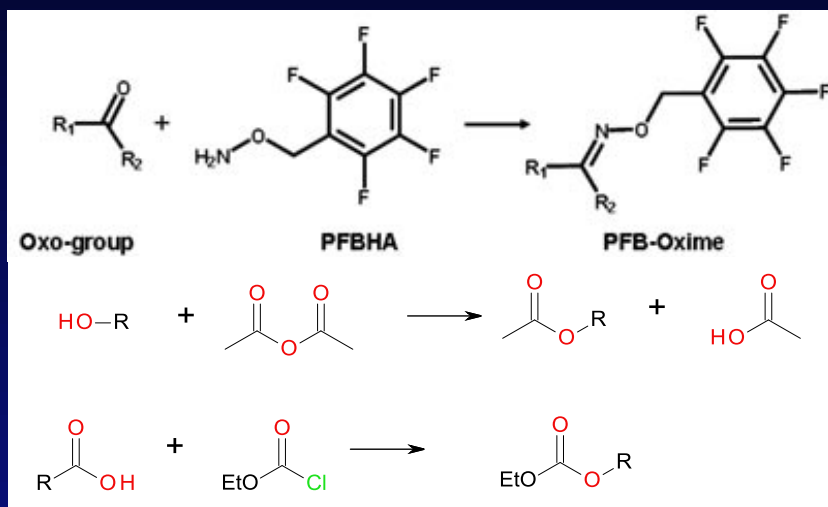
$100-200\mu\text{L MeOH}$  ή  $\text{ACN} /$   
θερμοκρασία δωματίου ή/και  
υπέρηχοι /  $5-10 \text{ min}$ .

## SBSE – *in situ* σχηματισμός παραγώγων (*in situ* derivatization)

Υψηλή πολικότητα → χαμηλή ικανότητα εκχύλισης → σχηματισμός παραγώγων



- αύξηση ικανότητας εκχύλισης ( $\uparrow K_{PDMS/W} \rightarrow \uparrow$  ανάκτησης)
- αύξηση πτητικότητας – ευχερέστερη ανάλυση GC
- ταχύτερη προσέγγιση ισορροπίας



**Μεγάλη αύξηση ευαισθησίας**

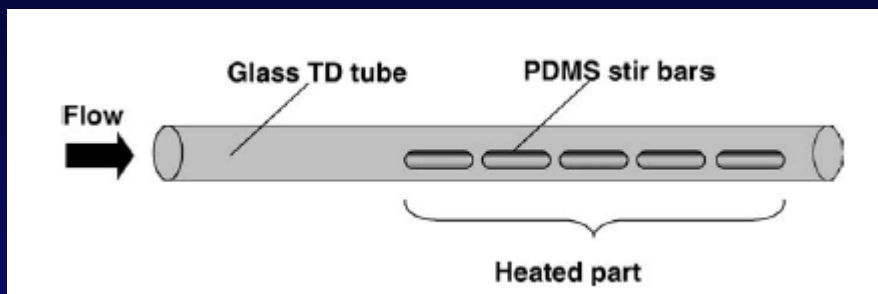
2,4-dichlorophenol (2,4-DCP), 4-*tert*-butylphenol, (BP), 4-*tert*-octylphenol (OP), 4-nonylphenol (NP), pentachlorophenol (PCP), bisphenol A (BPA)

## Εκρόφιση από πολλές ράβδους (multi-shot mode)

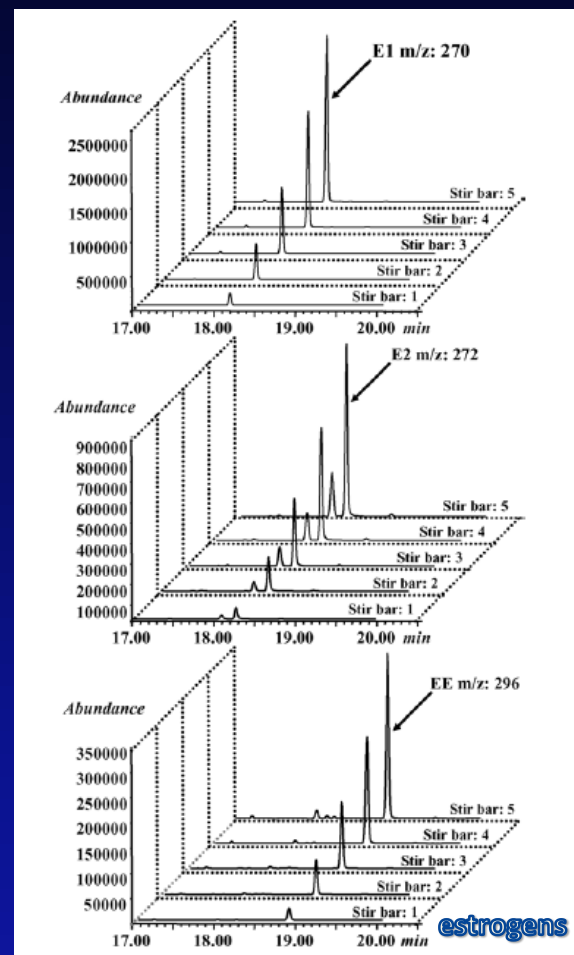
Ταυτόχρονη προσρόφιση από πολλές ράβδους → αύξηση ευαισθησίας (προσρόφιση μεγαλύτερης ποσότητας αναλύτη), μείωση του χρόνου προσρόφισης



Ταυτόχρονη εκρόφιση από πολλές ράβδους → αύξηση αναλυτικού σήματος (μεγαλύτερο ποσό αναλύτη ενίεται)

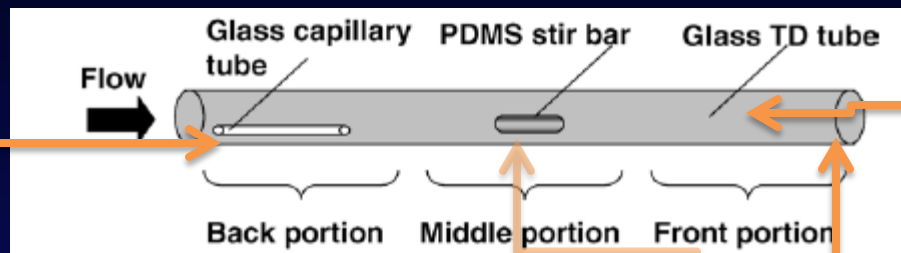


Χρήση με διαφορετικό προσροφητικό επικαλυμένων ράβδων → προσρόφιση αναλυτών διαφορετικής πολικότητας



## SBSE - in tube derivatization

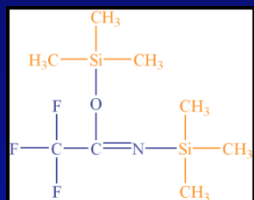
Δυσχέρεια στον σχηματισμό παραγώγων σε υδατικές συνθήκες → in tube derivatization  
Απαραίτητη η παραγωγοποίηση για ανάλυση GC



Σχηματισμός παραγώγου στην αέρια φάση

Τριχοειδής ίνα εμποτισμένη με αντιδραστήριο παραγωγοποίησης

Ράβδος με προσροφημένο αναλύτη



*N,O*-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA) → δυνατότητα σχηματισμού παραγώγων με πολλές ομάδες

Προσθήκη quartz wool quartz wool assisted (QWA) in tube silylation → αύξηση της διαθέσιμης για την αντίδραση ειδικής επιφάνειας → ευχερέστερος σχηματισμός παραγώγων

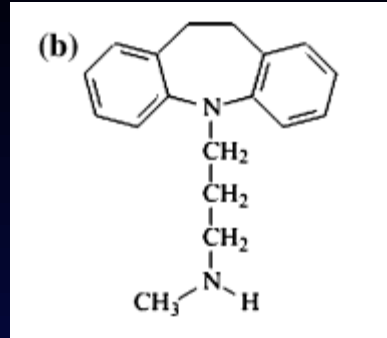
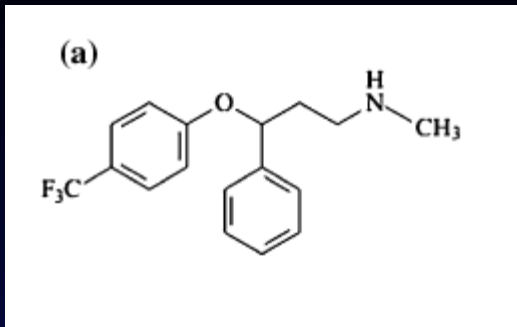


## Βελτίωση της προσρόφησης

- προσθήκη άλατος (φαινόμενο salting out)
- προσθήκη μεθανόλης (συναγωνιμός με τον αναλύτη για της θέσης πρόσδεσης της υάλου)



## Προσδιορισμός φλουοξετίνης



*Δεσιπραμίνη (εσωτερικό πρότυπο)*

### Προσρόφηση

1 mL πλάσμα

+ 4 mL βορικών pH 11

+ stir bar (Twister

TM, Gerstel, Mulheim a/d Ruhr, Germany)

0.5 mm - 10 mm length (24  $\mu$ L) PDMS 30 min 900 rpm

### Εκρόφηση

150  $\mu$ L MeOH  $\rightarrow$  ένεση 20  $\mu$ L MeOH

### Καθαρισμός

3 h - 300°C / He  $\rightarrow$  προσθήκη διαλύτη  $\rightarrow$  ένεση διαλύτη

για να εξατασθεί η διαμεταφορά (carry-over)

