

ΚΕΦ. 15

ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΜΕ ΕΚΧΥΛΙΣΗ

Διαχωρισμός με εκχύλιση

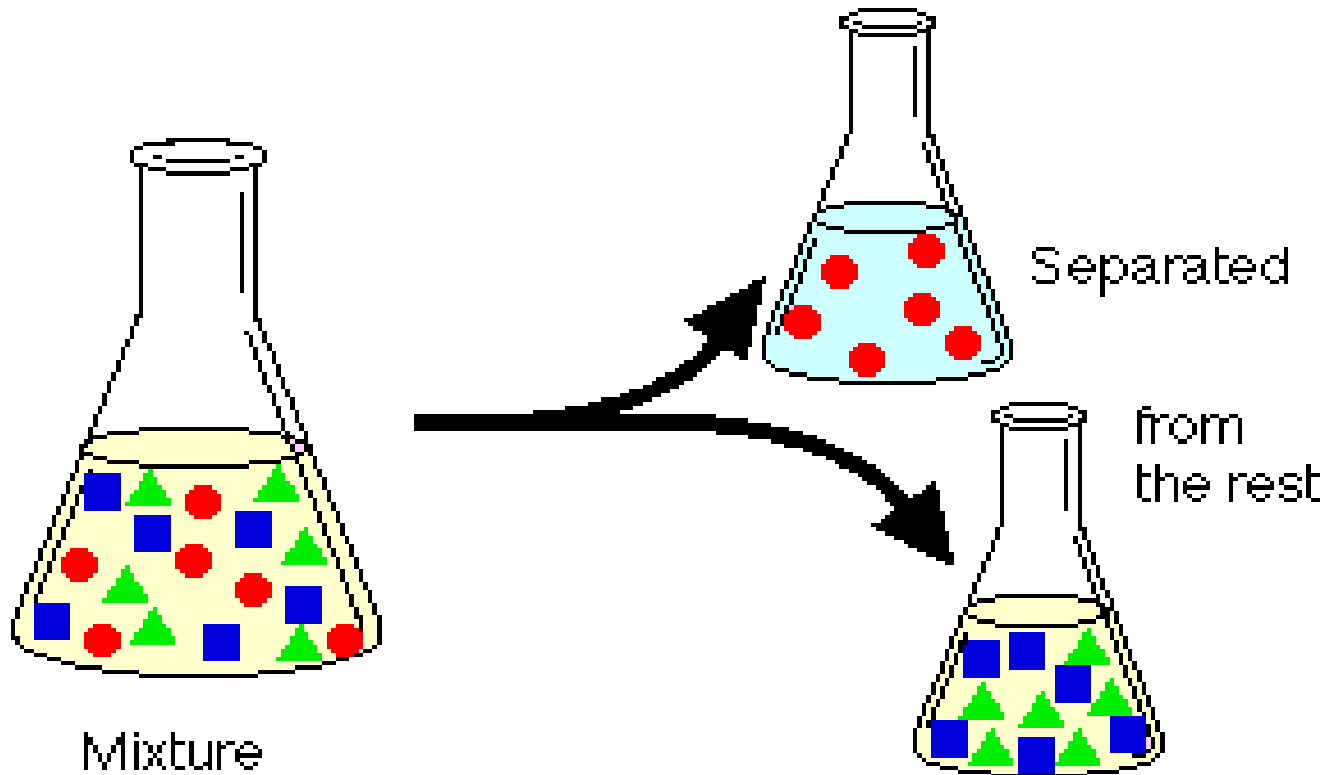
- Συνηθέστερη τεχνική διαχωρισμού βασισμένη στην **ισορροπία κατανομής** ουσιών μεταξύ 2 φάσεων με **ελάχιστη ανάμειξη**
- Ευρεία χρήση λόγω:
 - Απλότητας μεθοδολογίας
 - Ταχύτητας
 - Ευελιξίας
 - Εφαρμογής σε ουσίες σε ίχνη και σε μακροποσότητες

Τύποι Εκχυλίσεων

- Διαλυτοποίηση μείγματος ουσιών σε κατάλληλο διαλύτη
- Υγρό – υγρό εκχύλιση (**liquid – liquid extraction**)
 - Εκχύλιση διαλύματος μείγματος ουσιών με υγρό.
 - Κατανομή ουσίας στις δύο υγρές φάσεις
- Εκχύλιση στερεής φάσης (**solid- phase extraction**)
 - Διέλευση υγρής φάσης από **προσροφητικό υλικό**

Τι είναι η υγρό – υγρό εκχύλιση;

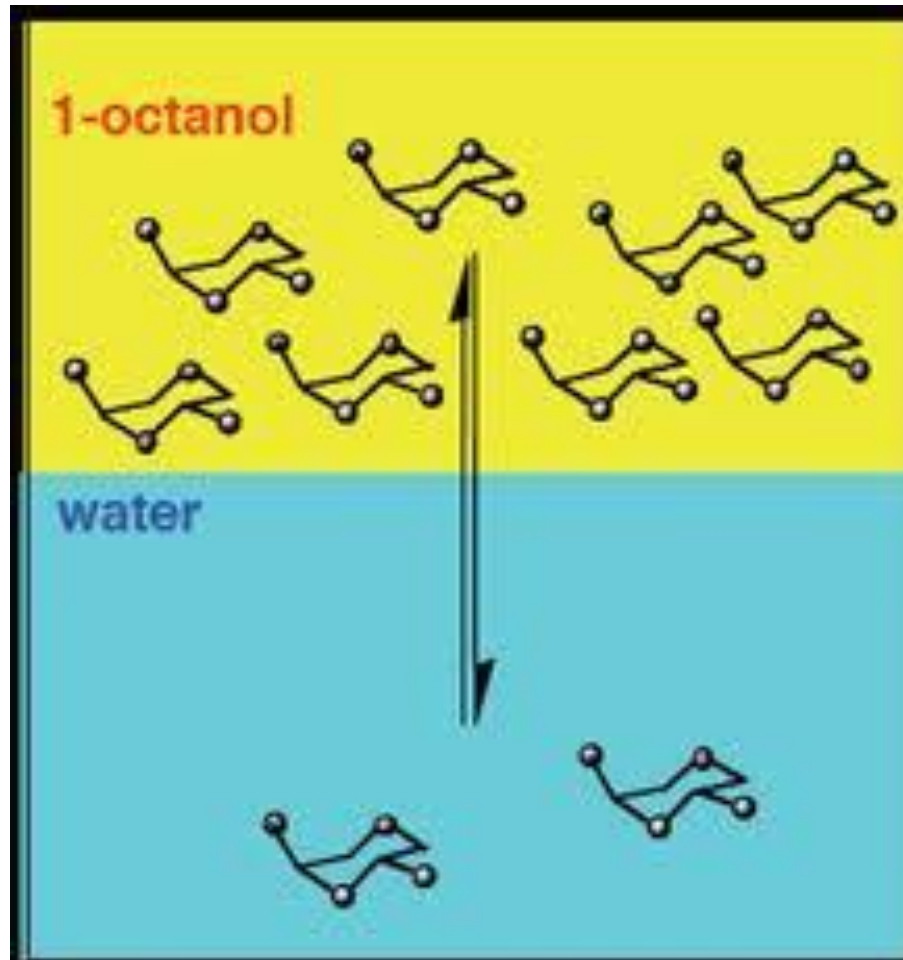
Μια χρήσιμη τεχνική για να διαχωρίζει συστατικά (ουσίες) από ένα μίγμα.



Κλασική υγρό – υγρό εκχύλιση

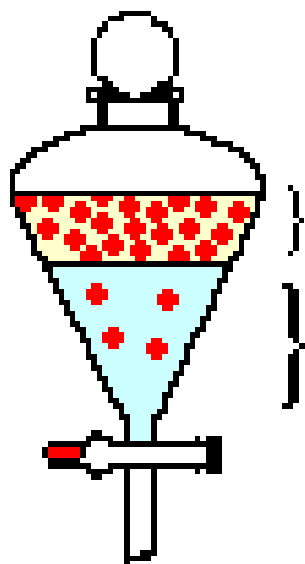
- Τα συστατικά ενός μείγματος κατανέμονται:
 - σε μια **υδατική φάση (w)**: ανόργανα ιόντα και πολικές οργανικές ουσίες
 - και μια **οργανική φάση (o)**: μη πολικές οργανικές ουσίες

Κατανομή μιας λιπόφιλης ουσίας μεταξύ οκτανόλης - νερού



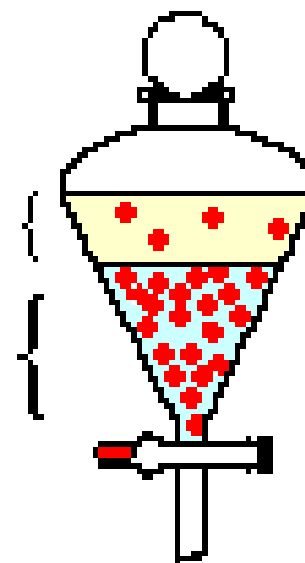
Υγρό – Υγρό Εκχύλιση

More
organic solvent
soluble compounds

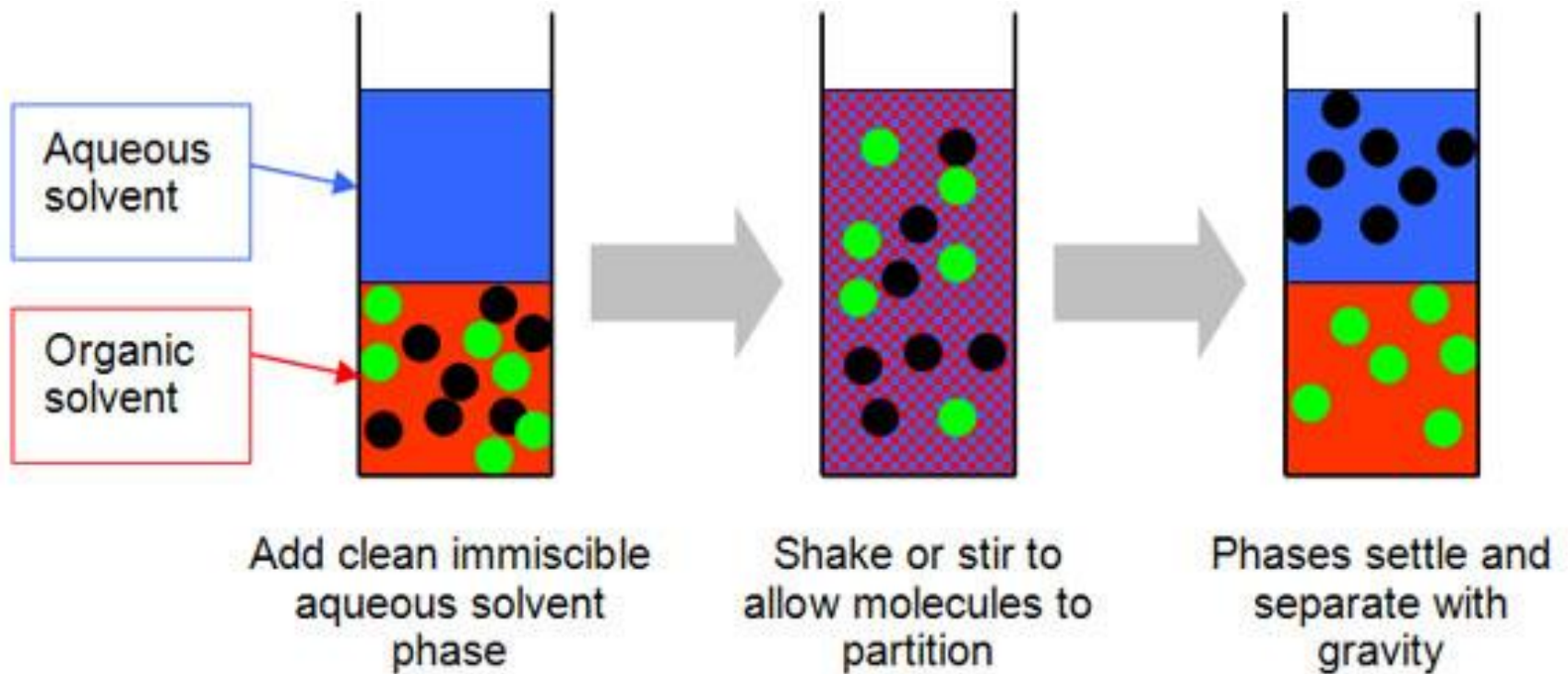


← Ether →
← Water →

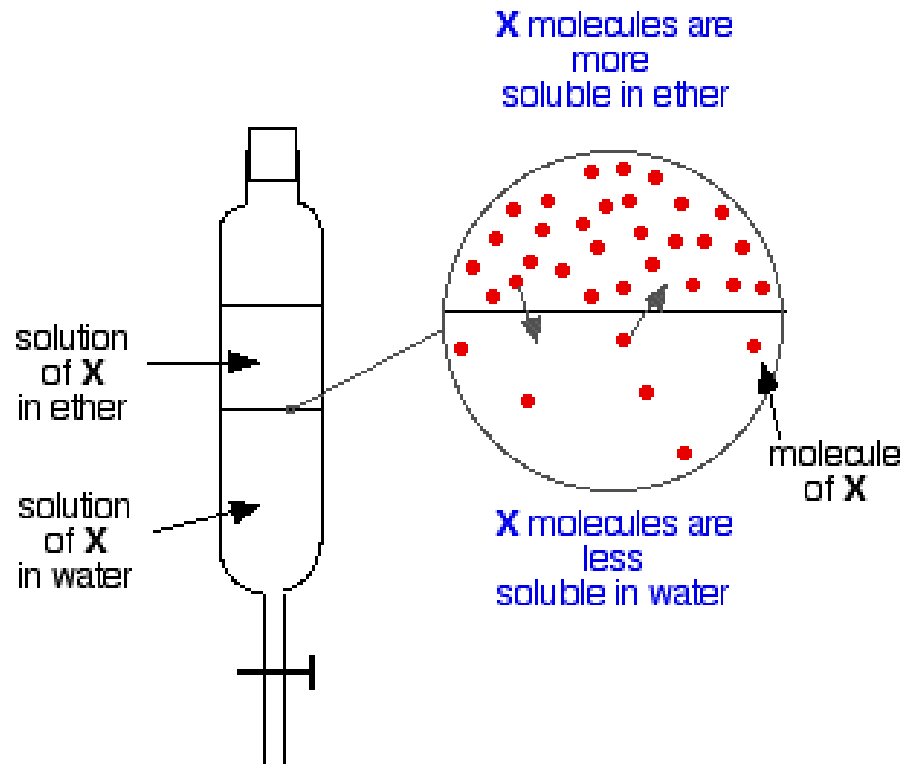
More
water-soluble
compounds



Ισορροπία Κατανομής – Νόμος Κατανομής



Ισορροπία Κατανομής – Νόμος Κατανομής



Μια ουσία Α κατανέμεται μεταξύ
διαλυτών 1 και 2 (Νόμος Κατανομής)

Συντελεστής _ Κατανομής

$$K_D = \frac{\alpha_2}{\alpha_1}$$

- **Συντελεστής Κατανομής K_D :**
 - Εξαρτάται μόνο από τη θερμοκρασία
 - Ισχύει μόνον όταν η ουσία Α βρίσκεται στις δύο φάσεις με την ίδια μορφή

Εάν συμβαίνουν ισορροπίες (διάσταση, σύζευξη, πολυμερισμός, συμπλοκοποίηση)

Λόγος _ Κατανομής

$$D = \frac{C_2}{C_1}$$

- C_1, C_2 : Αναλυτικές (ολικές) συγκεντρώσεις
- Κατά συνθήκη όταν η μια φάση είναι H_2O γράφεται στον παρονομαστή

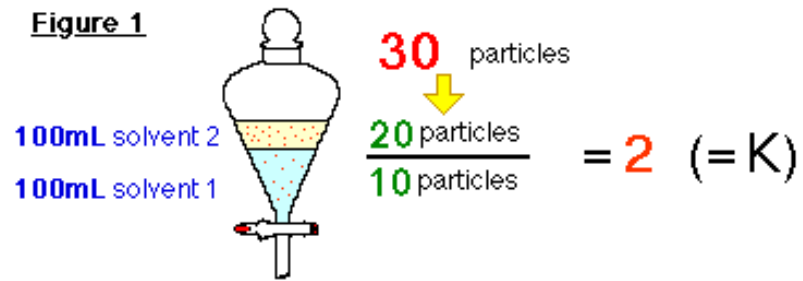
$$K_D = \alpha_o/\alpha_w, D = C_o/C_w$$

Λόγος Κατανομής D εξαρτάται:

- Πειραματικές συνθήκες
- Με ρύθμιση συνθηκών διαφοροποιείται και επιτυγχάνεται διαχωρισμός

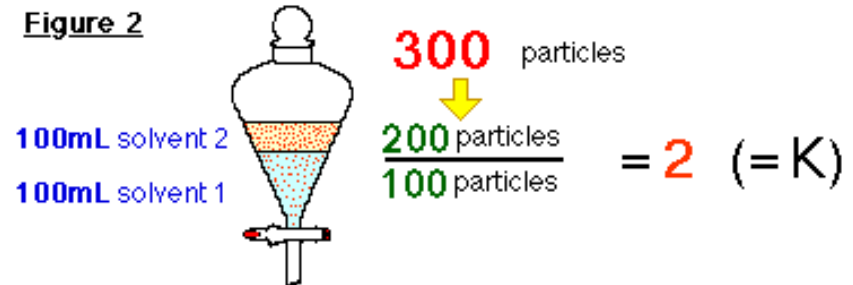
(1) Εάν υπάρχουν **30** σωματίδια μιας ουσίας, αυτά κατανέμονται μεταξύ ίσων όγκων **διαλύτη 1** και **διαλύτη 2**

Figure 1



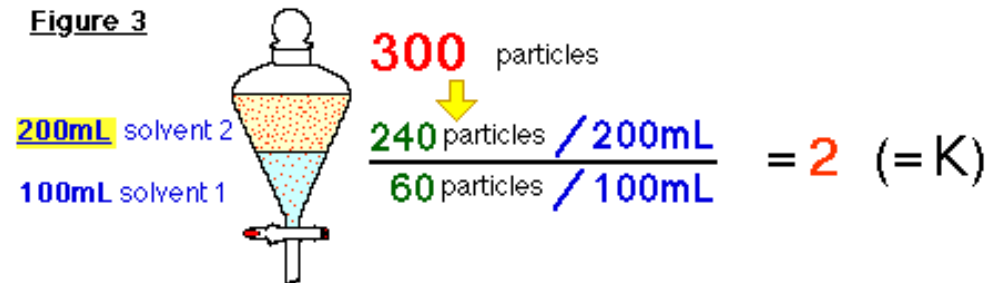
(2) Εάν υπάρχουν **300** σωματίδια της ουσίας, παρατηρείται ο ίδιος λόγος κατανομής στους διαλύτες 1 και 2

Figure 2



(3) Εάν διπλασιασθεί ο όγκος του διαλύτη 2 (**200 mL** διαλύτη 2 και **100 mL** διαλύτη 1), τα **300** σωματίδια της ουσίας κατανέμονται όπως φαίνεται

Figure 3



Εάν χρησιμοποιηθεί μεγαλύτερος όγκος διαλύτη εκχύλισης, εκχυλίζεται μεγαλύτερη ποσότητα ουσίας (solute)

Για δεδομένο όγκο εκχυλιστικού, αποτελεσματικότερη είναι η **πολλαπλή εκχύλιση**

$$W_n = \left(\frac{V_1}{DV_2 + V_1} \right)^n W_o$$

- W_o : g ουσίας A που περιέχονται σε V_1 ml διαλύτη 1
- V_2 : διαδοχικά ίσα κλάσματα διαλύτη 2
- W_n : παραμένουσα ποσότητα A στο διαλύτη 1
- Για όγκο V εκχυλιστικού, η εκχύλιση είναι αποτελεσματικότερη, όσο ο αριθμός εκχυλίσεων n είναι μεγαλύτερος (με όγκο $V_2 = V/n$)

Το εκχυλισθέν ποσοστό %E σε μια εκχύλιση

- V_1 = όγκος εκχυλιζόμενου διαλύματος (H_2O)
- V_2 = όγκος εκχυλιστικού (οργανικός διαλύτης)
- D = λόγος κατανομής

$$\% E = \frac{100D}{D + (V_1 / V_2)}$$

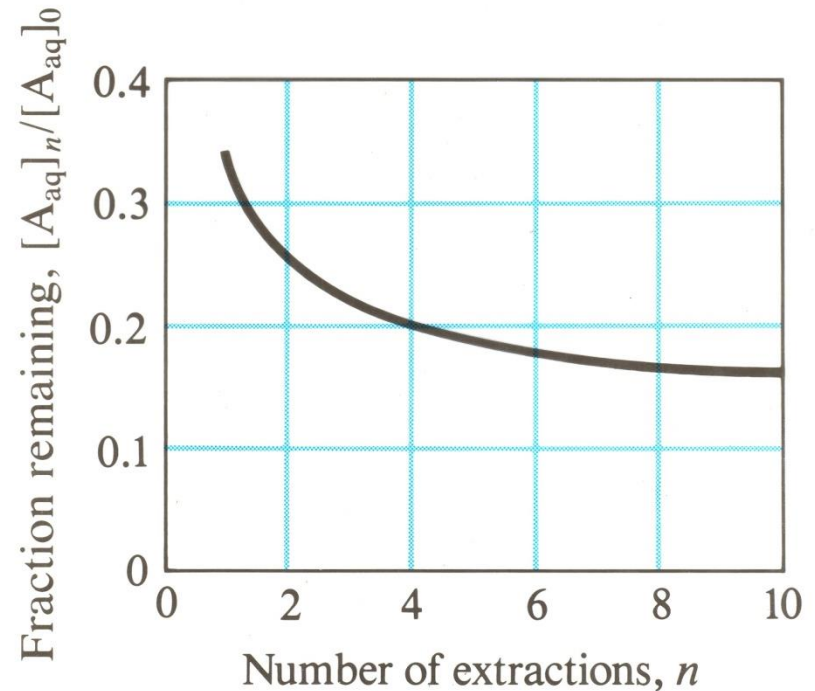
Κλάσμα ουσίας που παραμένει στο διαλύτη 1 (π.χ. H₂O)

$$f_n = \frac{W_n}{W_o} = \left(\frac{V_1}{DV_2 + V_1} \right)^n = \left(\frac{1}{D(V_2/V_1) + 1} \right)^n$$

- $DV_2 / V_1 =$ παράγοντας χωρητικότητας
- Εάν $D \gg$ αρκεί μόνο 1 εκχύλιση
- Εάν D ικανοποιητικό, απαιτούνται n εκχυλίσεις
- Εάν D μικρό, εφαρμόζεται η τεχνική συνεχούς εκχυλίσεως ή εκχύλιση κατ'αντιρροή

Διαδοχικές Εκχυλίσεις

- Εκχύλιση με τον ίδιο όγκο διαλύτη, αλλά χωρισμένο σε αρκετά μικρότερα κλάσματα, είναι αποτελεσματικότερη
- Συνήθως δεν εκτελούνται περισσότερες από 3 διαδοχικές εκχυλίσεις



$$K = 2,$$

$$V_w = 100 \text{ mL},$$

$$V_o = 100/n \text{ mL}.$$

Υπολογισμός αριθμού εκχυλίσεων για επιθυμητό ποσοστό εκχυλιζόμενης ουσίας

Παράδειγμα 15-2. Πόσες διαδοχικές εκχυλίσεις λουτρού απαιτούνται με 5,00 mL αιθέρα κάθε φορά, για την εκχύλιση 5,00 mL υδατικού διαλύματος, που περιέχει 0,0400 g φαρμακευτικής ουσίας A, ώστε να εκχυλισθούν 99,9% της ουσίας A, εάν ο λόγος κατανομής είναι 9,0; Ποιό βάρος της ουσίας A απομακρύνεται με κάθε εκχύλιση;

Λύση. Αντικαθιστώντας τα δεδομένα στην εξίσωση (15-4) έχουμε

$$\frac{W_n}{W_0} = \frac{100 - 99,9}{100} = \left(\frac{5,00}{(9,0 \times 5,00) + 5,00} \right)^n$$

$$\frac{W_n}{W_0} = \left(\frac{1}{D(V_2/K) + 1} \right)^n$$

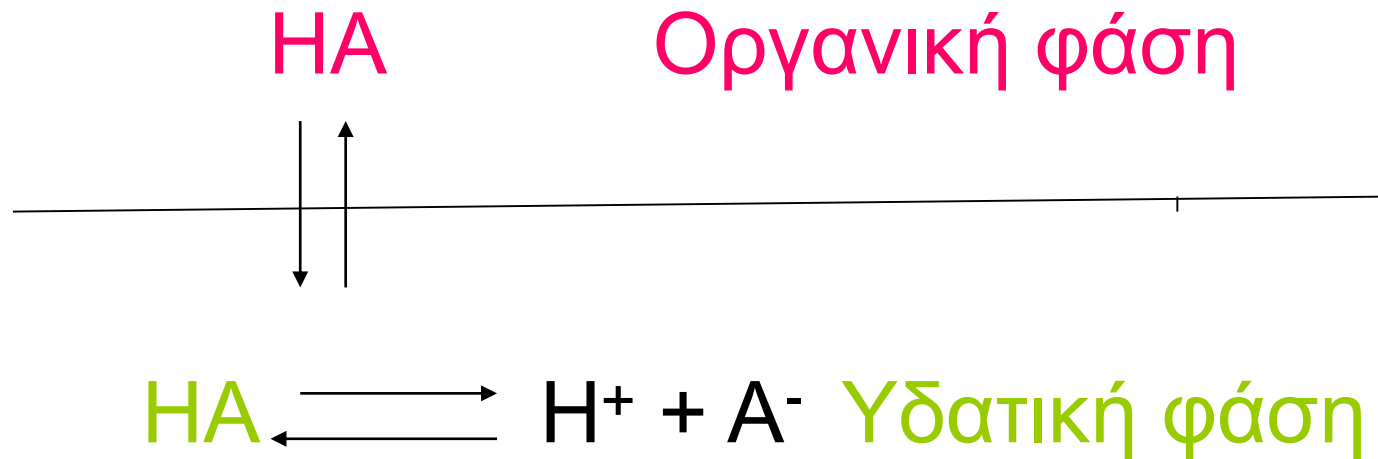
$$\text{ή } \frac{1}{1000} = \left(\frac{1}{10} \right)^n \quad \text{ή } n = 3.$$

$$\log(0,001) = n \log 0,10 \rightarrow n = 3$$

$$\text{Για } n=1, W_1 = \left(\frac{5,00}{(9,0 \times 5,00) + 5,00} \right) W_0 = 0,100 W_0.$$

Άρα απομακρύνονται με την πρώτη εκχύλιση τα 90% της ουσίας A, δηλαδή 0,0360 g. Όμοια βρίσκεται, ότι με τη δεύτερη και την τρίτη εκχύλιση απομακρύνονται 0,0036 και 0,00036 g της ουσίας A, αντίστοιχα.

Κατανομή ασθενούς οξέος μεταξύ οργανικού διαλύτη και νερού



Κατανομή ασθενούς οξέος μεταξύ οργανικού διαλύτη και νερού

$$D = \frac{(C_{HA})_o}{(C_{HA})_w} = \frac{[HA]_o}{[HA]_w + [A^-]_w}$$

$$K_D = \frac{[HA]_o}{[HA]_w}, K_a = \frac{[H^+]_w [A^-]_w}{[HA]_w}$$

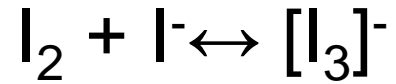
$$D = \frac{[HA]_o}{[HA]_w + \frac{K_a [HA]_w}{[H^+]_w}} = \frac{[HA]_o}{[HA]_w \left(1 + \frac{K_a}{[H^+]_w} \right)}$$

Κατανομή ασθενούς οξέος μεταξύ οργανικού διαλύτη και νερού

$$D = \frac{K_D [H^+]_w}{[H^+]_w + K_a}$$

- Εάν $[H^+]_w \gg K_a$, $\rightarrow D \approx K_D$ και το οξύ εκχυλίζεται στην οργανική φάση
- Εάν $[H^+]_w \ll K_a$ (αλκαλικό), τότε $D \approx (K_D [H^+]_w) / K_a \ll 1$, το οξύ παραμένει στην υδατική φάση
- Η σχέση επιτρέπει τον **πειραματικό προσδιορισμό της K_a** , από δεδομένα D και K_D κατά την εκχύλιση του οξέος από ρυθμιστικό διάλυμα (γνωστή $[H^+]_w$).

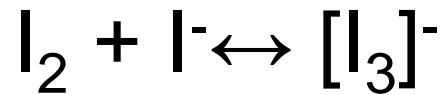
Επίδραση Συμπλοκοποίησης στην Εκχύλιση



$$K_f = \frac{[I_3^-]_w}{[I_2]_w [I^-]_w}, K_D = \frac{[I_2]_o}{[I_2]_w}$$

$$D = \frac{[I_2]_o}{[I_2]_w + [I_3^-]_w}$$

Επίδραση Συμπλοκοποίησης στην Εκχύλιση



$$D = \frac{K_D}{1 + K_f [I^-]_W}$$

- D συνάρτηση $[I^-]_W$
- Εάν $[I^-]_W \ll \rightarrow K_f [I^-]_W \ll$ και $D \approx K_D$ και το I_2 εκχυλίζεται στην οργανική φάση
- Εάν $K_f [I^-]_W \gg \rightarrow D \ll$ και το I_2 παραμένει στην υδατική φάση

Τεχνική Εκχύλισης Στερεών με Υγρό

- Τεχνική για φαρμακοτεχνικά παρασκευάσματα
- **Εκχυλίσματα** (extracta) από φυτικές ή ζωϊκές δρόγες με διαλύτη (ειλήματα)
- **Βάμματα** (tincturae) με εκχύλιση φυτικών δρογών με αλκοόλη ή υδατοαλκοολικά διαλύματα

Εκχύλιση στερεών στη Φαρμακευτική Ανάλυση

- Προσδιορισμός συστατικών σε δρόγες
- Προσδιορισμός συστατικών σε στερεά σκευάσματα
 - Δισκία, αλοιφές, υπόθετα
 - Διασπορά (θέρμανση) → Διήθηση ή φυγοκέντρηση → λήψη κλάσματος για ανάλυση
- Αποδοτικότερη παραλαβή ουσιών με **εκχυλιστήρα Soxhlet**

Εκχύλιση Soxhlet

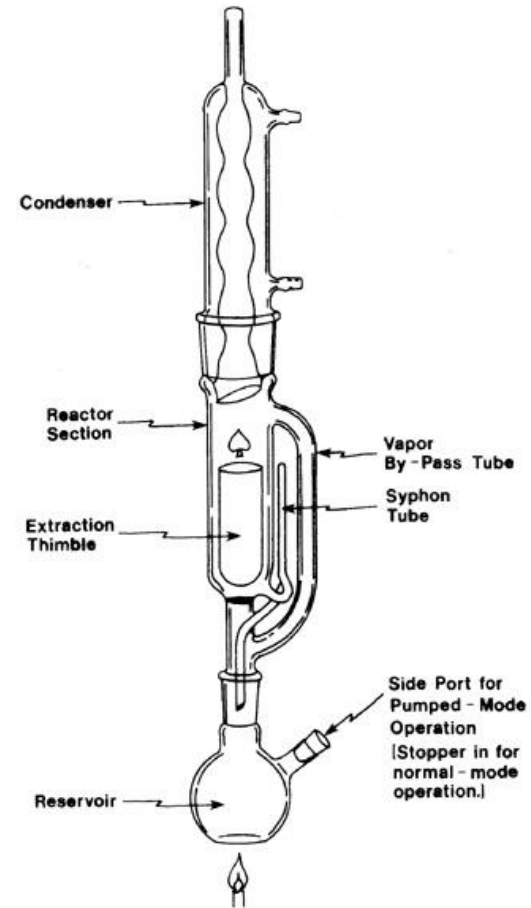
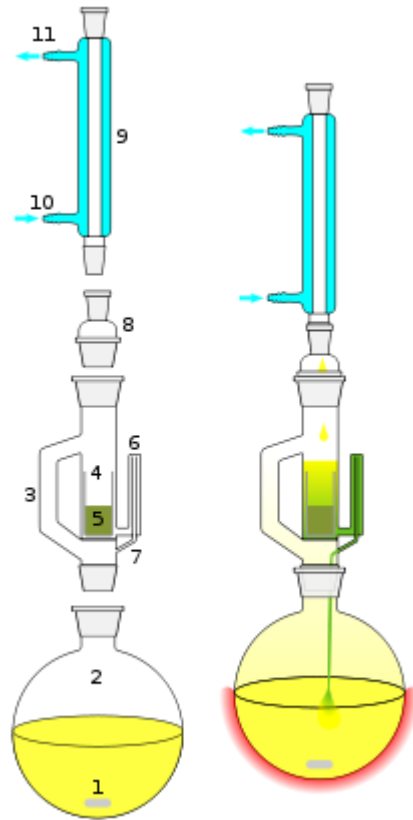
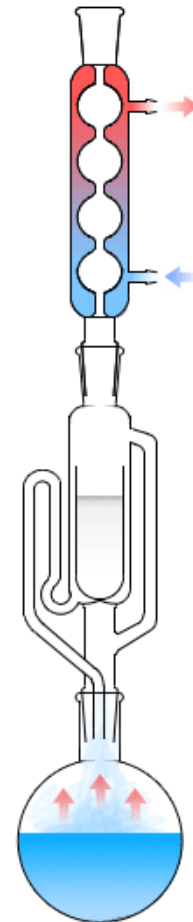
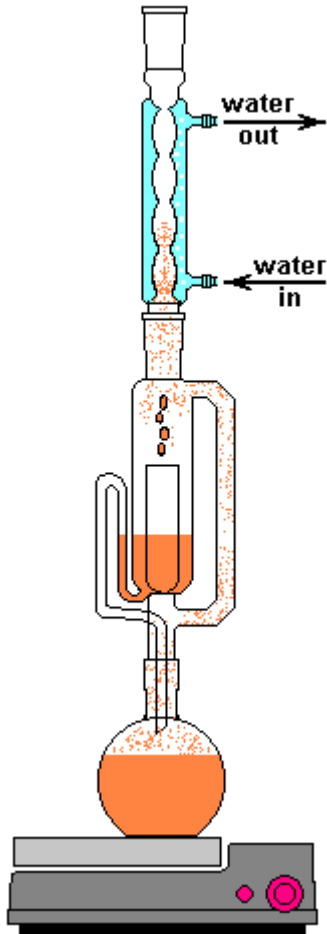
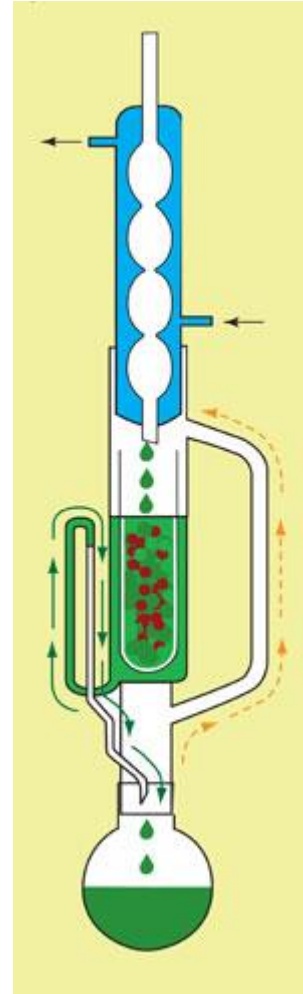


Figure 1 SOXHLET EXTRACTOR

Εκχύλιση Soxhlet



Εκχύλιση Soxhlet

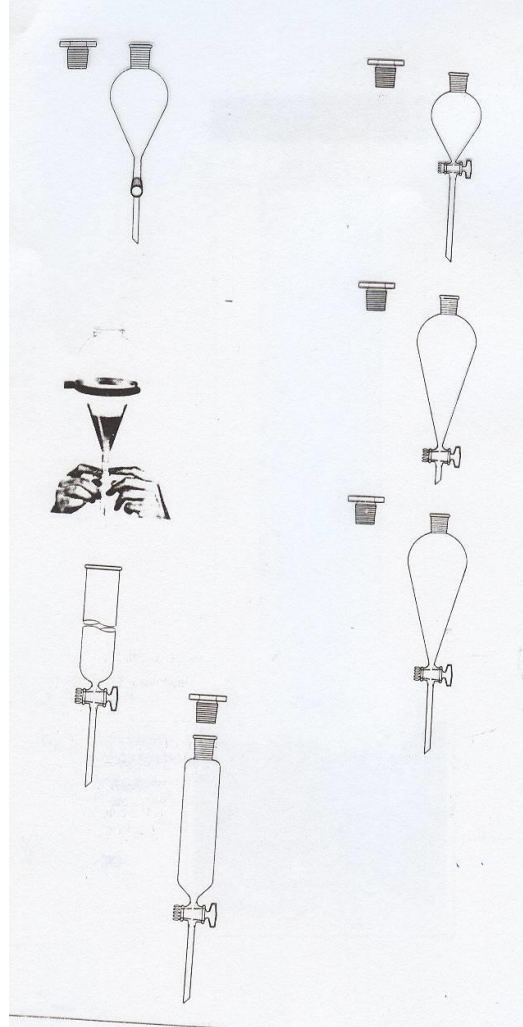


Υγρό – Υγρό Εκχύλιση

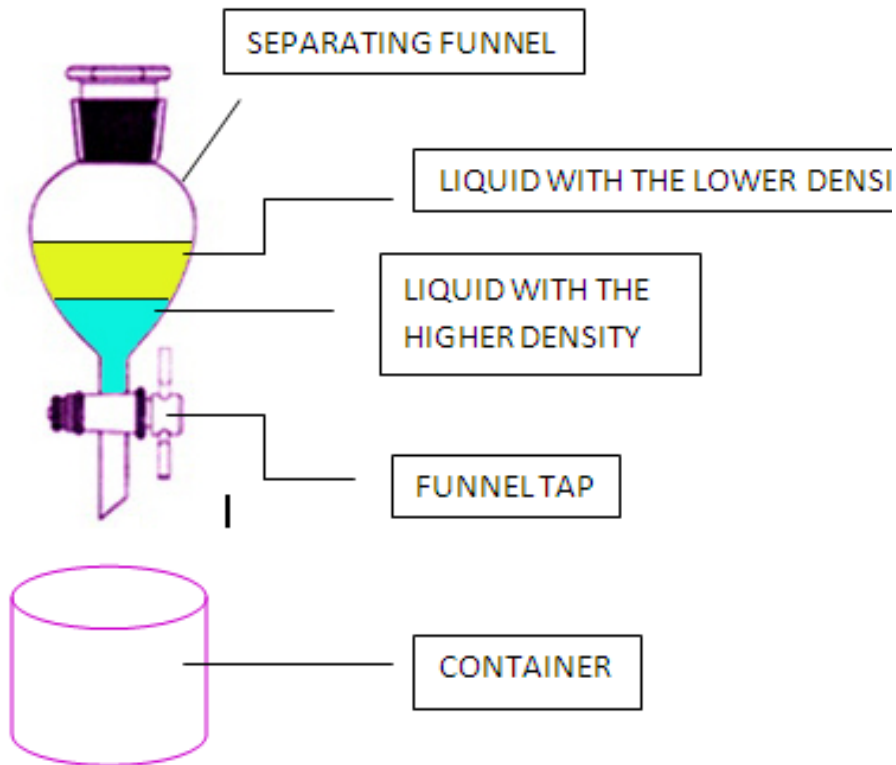
Τεχνική Λουτρού (με διαχωριστική χοάνη)

- Ανάμειξη εκχυλιζόμενου διαλύματος με εκχυλιστικό διαλύτη
- Ανατάραξη
- Αποκατάσταση ισορροπίας
- Διαχωρισμός φάσεων
 - Από στρόφιγγα κάτω
 - Αναρρόφηση επάνω

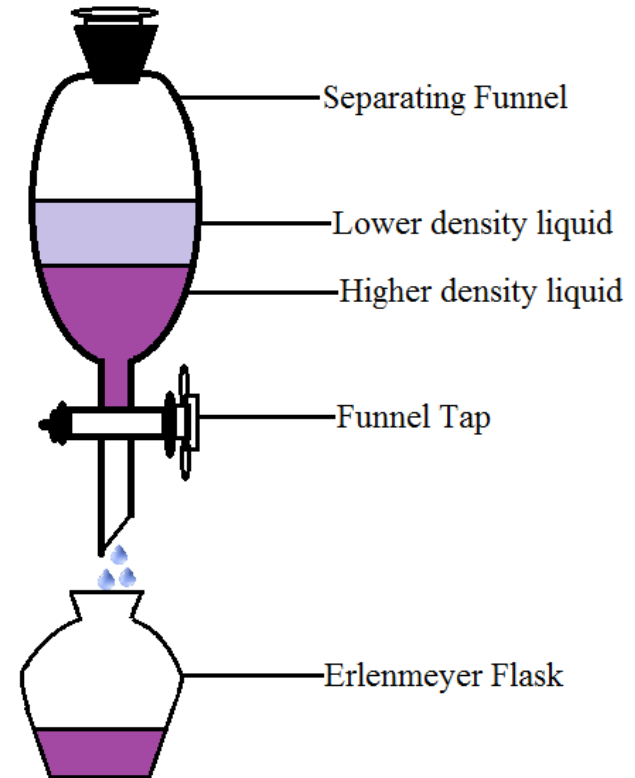
Διαχωριστικές Χοάνες για υγρό – υγρό εκχύλιση



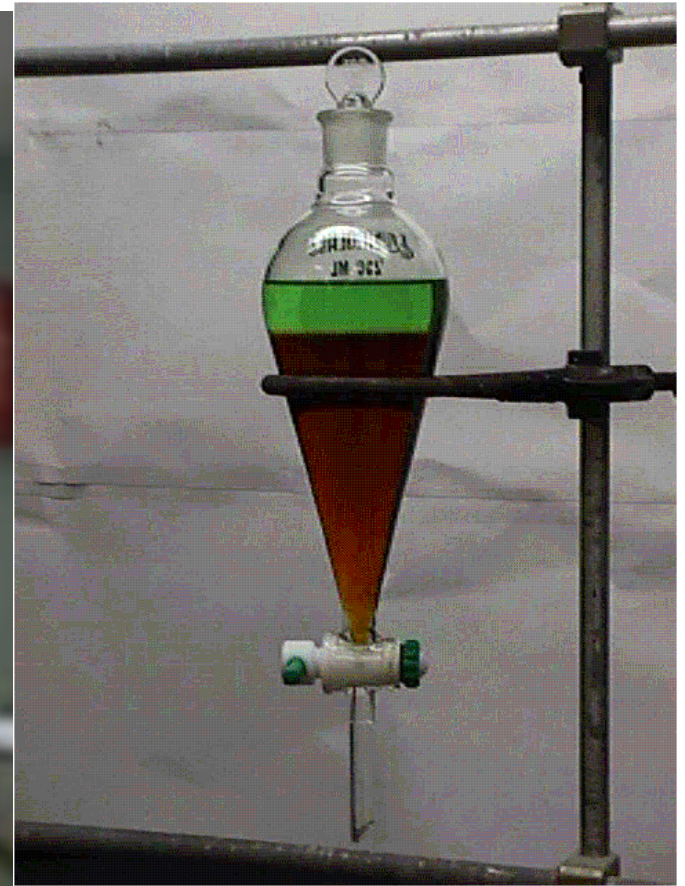
Υγρό – Υγρό Εκχύλιση Τεχνική Λουτρού (με διαχωριστική χοάνη)



Liquid-liquid Extraction



Υγρό – Υγρό Εκχύλιση Τεχνική Λουτρού (με διαχωριστική χοάνη)



Υγρό – Υγρό Εκχύλιση

Τεχνική Λουτρού (με διαχωριστική χοάνη)

- Επιδιώκεται διαχωρισμός ουσιών με βάση τη **διαφορετική κατανομή** στους δύο διαλύτες
- Η δυνατότητα διαχωρισμού εξαρτάται από τον Παράγοντα Διαχωριστικότητας

$$\alpha = K_{D,2}/K_{D,1} \quad \text{ή} \quad D_2/D_1$$

- Εάν $\alpha = 1$ υπάρχει αδυναμία διαχωρισμού
- Επιδιώκεται μεταβολή D_2 και D_1
ώστε $\alpha \neq 1$

Τρόποι Διαφοροποίησης Λόγων Κατανομής

- Επιλογή κατάλληλου διαλύτη
- Έλεγχος ιοντικής ισχύος
- Έλεγχος pH
- Έλεγχος λιποφιλικότητας ιόντων

Τρόποι Διαφοροποίησης Λόγων Κατανομής

Επιλογή Διαλύτη

- Επιλέγεται διαλύτης έτσι ώστε $D_{\text{αναλύτη}}$ μεγάλος και $D_{\text{παρεμποδιστή}}$ μικρός
- Κριτήριο η διαλυτότητα μιας ουσίας σε ένα διαλύτη

Επιλογή Διαλύτη ως Εκχυλιστικού (1)

- Να μην αντιδρά με την εκχυλιζόμενη ουσία
- Η διαλυτότητα της ουσίας στο εκχυλιστικό μέσο όσο το δυνατόν μεγαλύτερη, ενώ των παρεμποδιστών μικρότερη
- Πλήρης διαχωρισμός των δύο στοιβάδων μετά από την ανακίνηση
 - Να διαφέρουν στην πυκνότητα
 - $d_{\text{οργαν}} \neq d_{\text{υδατ.}}$

Επιλογή Διαλύτη ως Εκχυλιστικού (2)

– Παραδείγματα πυκνότητας διαλυτών:

CHCl_3 $d = 1,50$

CCl_4 $d = 1,59$

H_2O $d = 1,00$

Βενζόλιο $d = 0,88$

Αιθέρας $d = 0,71$

Επιλογή Διαλύτη ως Εκχυλιστικού (3)

- Η ουσία να ανακτάται εύκολα από το εκχυλιστικό
 - Με ζέση (π.χ. Αιθέρας) ή επανεκχύλιση με H_2O
- Αμοιβαία διαλυτότητα μικρή
- Όχι τάση σχηματισμού γαλακτώματος
- Όχι τοξικός ή εύφλεκτος
- Να είναι οπτικά διαφανής για φασματοφωτομετρικές μετρήσεις

The Solubility Test

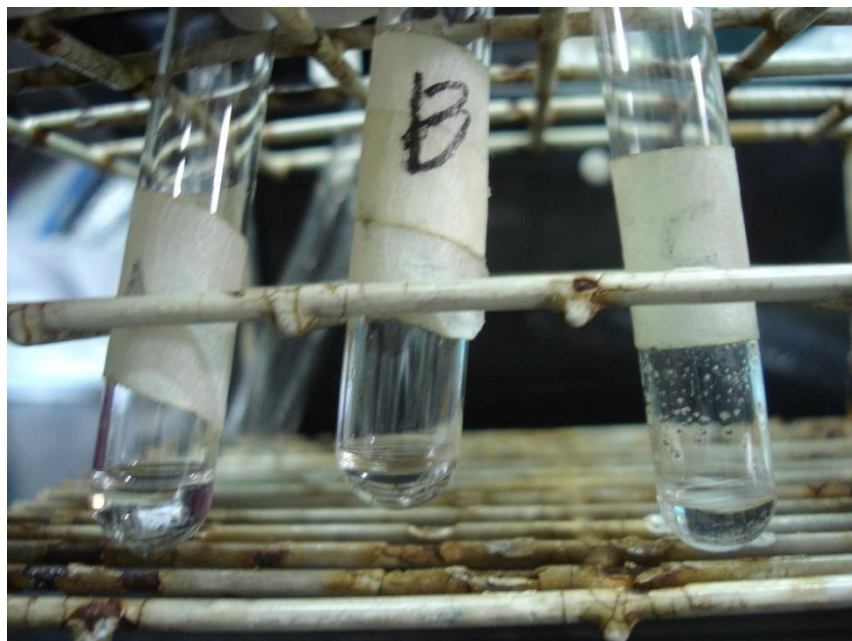


Figure 1.1 The actual solubility test.
L-R: Acetone+benzoic acid, Ether+benzoic acid, Hexane+benzoic acid

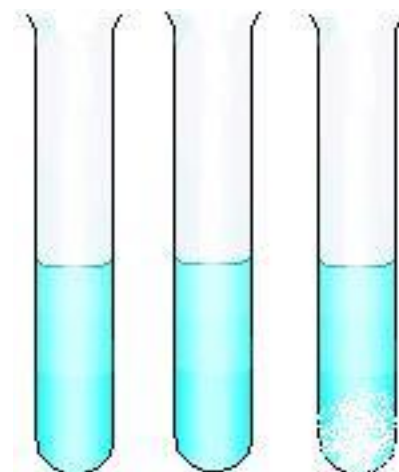


Figure 1.2 The idealized solubility test.
L-R: Acetone+benzoic acid,
Ether+benzoic acid, Hexane+benzoic acid

And Other Results

Solvent	Water	Benzoic Acid
Acetone	Miscible	Soluble
Ether	Immiscible	Soluble
Hexane	Immiscible	Insoluble

- ▶ Ο καλύτερος διαλύτης εκχύλισης: Αιθέρας

Discussion

Ο προστιθέμενος διαλύτης να μην αναμειγνύεται με το διάλυμα

- Μπορεί να ελεγχθεί με μέτρηση της στοιβάδας του υδατικού διαλύματος, πριν και μετά την προσθήκη του διαλύτη.

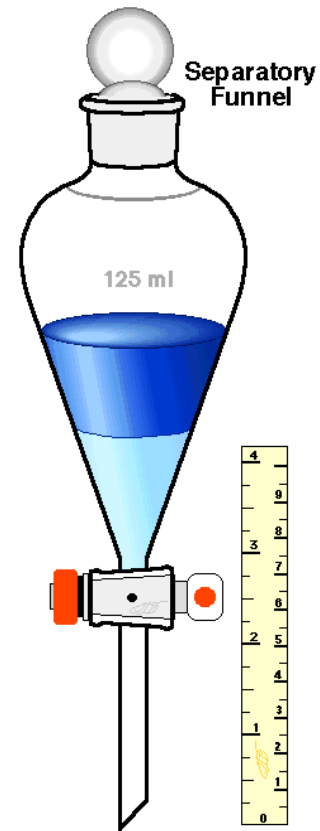


Figure 2.1 A diagrammatic representation of a separatory funnel showing layer formation.

Discussion

- Ο προστιθέμενος διαλύτης και το διάλυμα να έχουν **διαφορετικές πυκνότητες** για να επιτυγχάνεται **διαχωρισμός στοιβάδων (φάσεων)**.
 - Ο αιθέρας με την μικρότερη πυκνότητα σχηματίζει την άνω στοιβάδα.

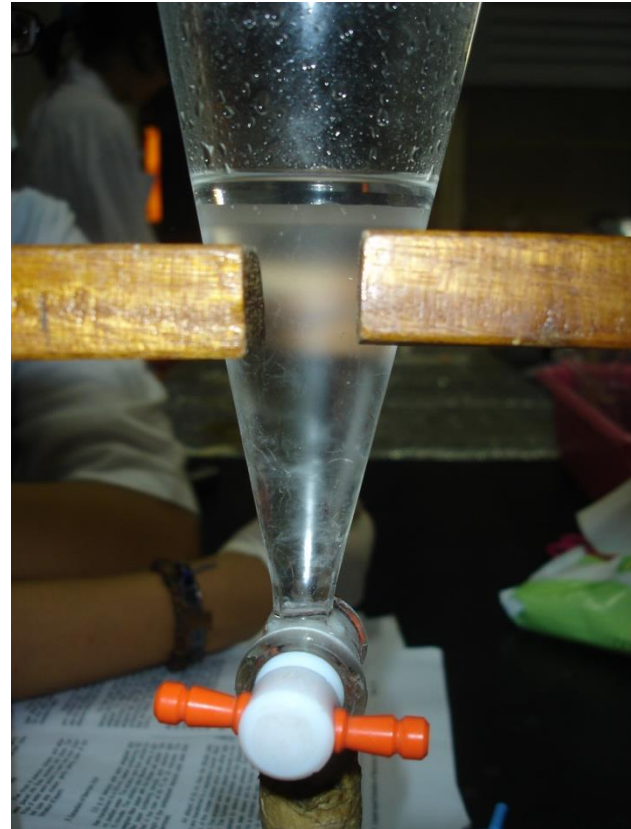


Figure 2.2 Layer separation showing ether forming above the denser aqueous layer.

Discussion

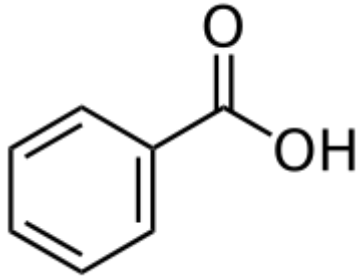
- Ο προστιθέμενος διαλύτης να είναι περισσότερο πτητικός από το προς εκχύλιση συστατικό.
- Το βενζοϊκό οξύ μπορεί να ανακτηθεί από τον αιθέρα με εξάτμιση.



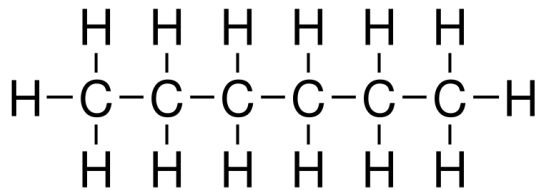
Figure 2.3 The ether component is separated from the benzoic acid by evaporation.

Discussion

- Το αποτέλεσμα των ελέγχων αναμειξιμότητας και διαλυτότητας μπορεί να εξαχθεί από την πολικότητα των ουσιών:

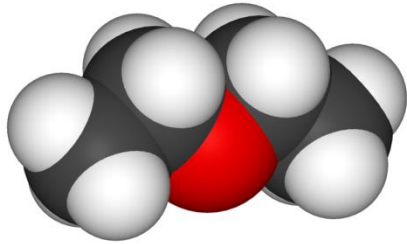


Το βενζοϊκό είναι πολικό και στις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις σχηματίζει δύο δεσμούς υδρογόνου

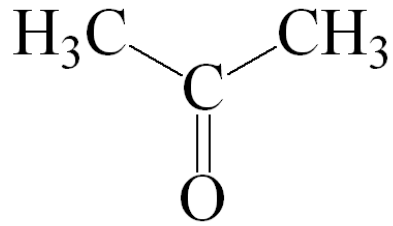


Το εξάνιο είναι άπολο και οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις οφείλονται σε δυνάμεις London

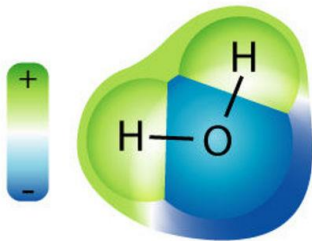
Discussion



Ο Αιθέρας είναι ασθενώς πολικός και στις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις σχηματίζει δεσμούς διπόλου - διπόλου



Η ακετόνη είναι πολική και στις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις σχηματίζει ένα δεσμό υδρογόνου



Το νερό είναι πολικό και στις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις σχηματίζει δεσμούς υδρογόνου

Discussion

- Η αρχή πίσω από τη δοκιμή διαλυτότητας;
“**Το όμοιο διαλύει το όμοιο**”

– Βενζοϊκό οξύ [πολικό] + Ακετόνη [πολική] = **Διαλυτό**

– Βενζοϊκό οξύ [πολικό] + Αιθέρας [ασθενώς πολικός] =
Διαλυτό

– Βενζοϊκό οξύ [πολικό] + Εξάνιο [μη πολικό] = **Αδιάλυτο**

– Βενζοϊκό οξύ [πολικό] + Νερό [πολικό] = **Ελαφρά
διαλυτό**

Γιατί;

Γιατί το νερό είναι πολύ πολικό για να διαλύσει πλήρως το βενζοϊκό οξύ.

Discussion

Solvent	Water	Benzoic Acid
Acetone	Miscible	Soluble
Ether	Immiscible	Soluble
Hexane	Immiscible	Insoluble

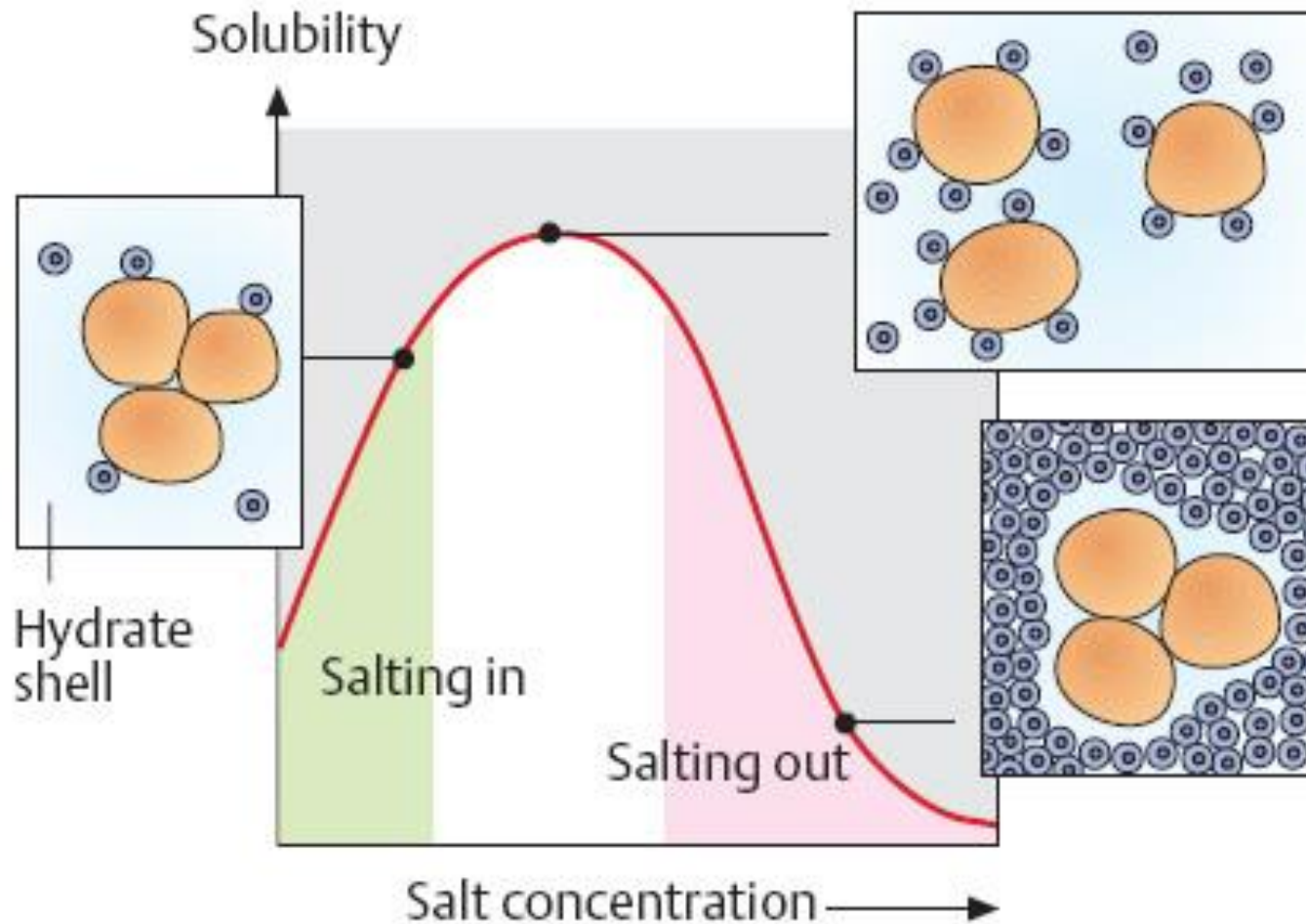
- ▶ Από τις δοκιμές διαλυτότητας και αναμειξιμότητας, ο καλύτερος διαλύτης εκχύλισης είναι ο αιθέρας.
 - Μπορεί να **διαλύσει** την επιθυμητή ουσία (βενζοϊκό οξύ)
 - Είναι **μη αναμειξιμος** με το διαλύτη του διαλύματος (νερό)
 - Έχει **διαφορετική πυκνότητα** από το διαλύτη του διαλύματος (νερό)
 - Είναι **πιο πτητικός** από την επιθυμητή ουσία (βενζοϊκό οξύ)

Τρόποι Διαφοροποίησης Λόγων Κατανομής

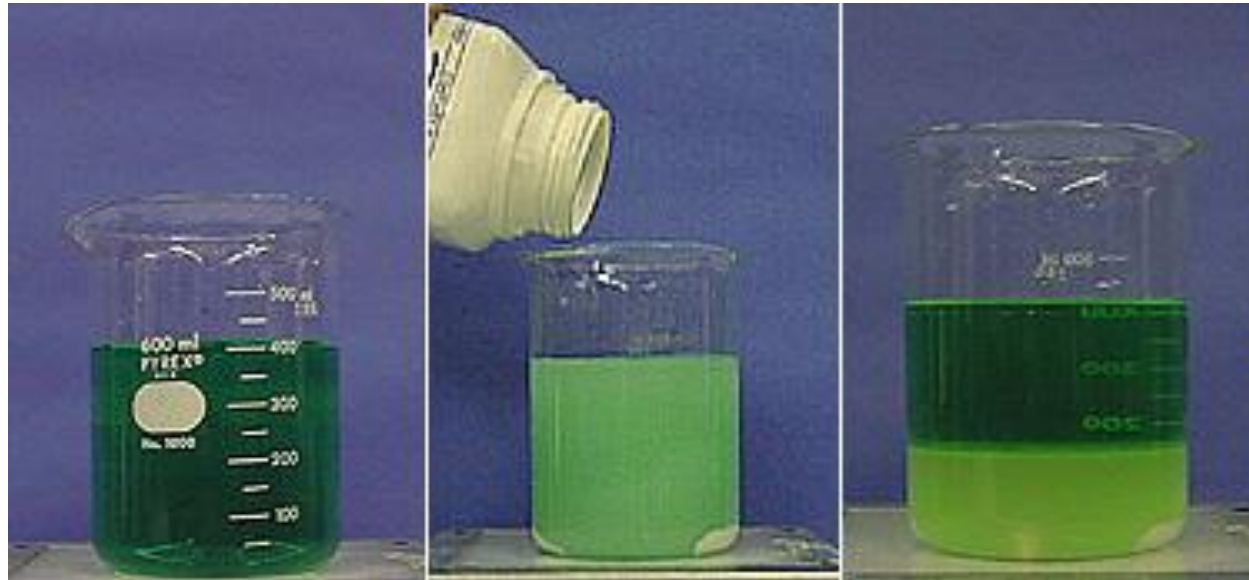
Έλεγχος Ιοντικής Ισχύος

- Αύξηση συγκεντρώσεως ανόργανων αλάτων του υδατικού διαλύματος προκαλεί:
 - Εφυδάτωση των ιόντων
 - Μείωση της ενεργότητας ύδατος
 - Μείωση διαλυτότητας μη ηλεκτρολυτών
- Φαινόμενο εξαλάτωσης (salting out effect)
- Κατά τις υγρό – υγρό εκχυλίσσεις προστίθεται NaCl ή Na_2CO_3 ή Na_2SO_4
 - Φαινόμενο εξαλάτωσης
 - Διάσπαση γαλακτώματος

Επίδραση Συγκέντρωσης Άλατος στη Διαλυτότητα Μη Ηλεκτρολύτη



Προσθήκη Ανθρακικού Νατρίου σε μείγμα
μεθανόλης - νερού δημιουργεί δύο φάσεις λόγω
φαινομένου εξαλάτωσης



Τρόποι Διαφοροποίησης Λόγων Κατανομής

Έλεγχος pH

- Φάρμακα ασθενή οξέα (HA) και βάσεις (B) είναι διαλυτά σε οργανικούς διαλύτες, ενώ τα ιόντα τους A^- και BH^+ είναι διαλυτά στο H_2O
- Το ποσοστό ιοντισμού εξαρτάται από το pH, όπως περιγράφεται από την εξίσωση Henderson

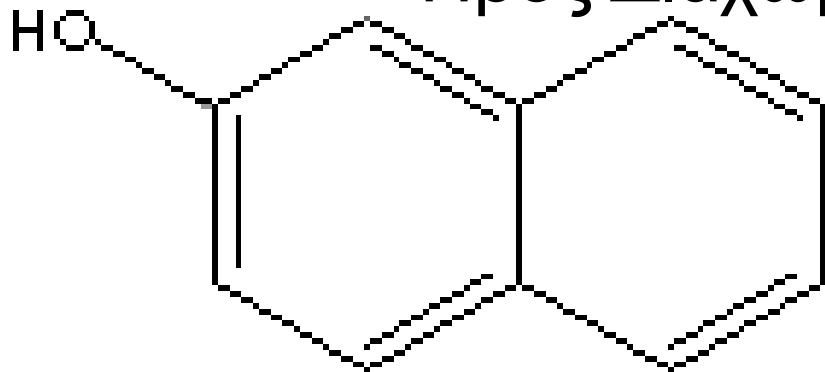
$$pH = pka + \log [A^-]/[HA]$$

- Επομένως με έλεγχο του pH μπορεί να διαφοροποιηθεί ο λόγος κατανομής και να επιτευχθεί διαχωρισμός

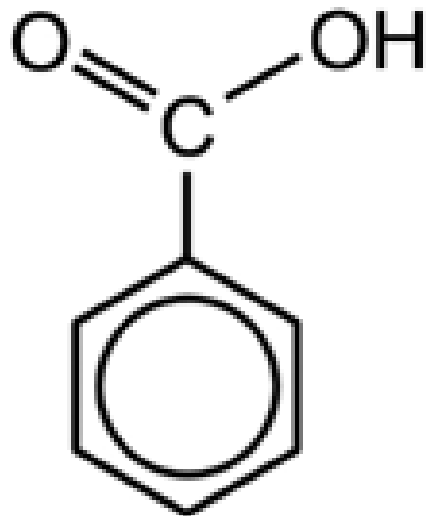
Τρόποι Διαφοροποίησης Λόγων Κατανομής

Έλεγχος pH

Προς Διαχωρισμό Ουσίες



Β-Ναφθόλη,
 $pK_a = 9,51$



Βενζοϊκό Οξύ
 $pK_a = 4,18$

Επίδραση pH στο διαχωρισμό
β-ναφθόλης και βενζοϊκού οξέος με οργανικό διαλύτη
βενζόλιο

- **pH < 2** Αμφότερα μη-ιοντικά, αμφότερα μεταφέρονται στην οργανική στοιβάδα του βενζολίου
- **pH > 5** Το βενζοϊκό οξύ αποπρωτονιώνεται και παραμένει στην υδατική φάση
- ↙-η ναφθόλη ακόμη μεταφέρεται στο βενζόλιο
- **pH 11** Αμφότερα δίστανται και αμφότερα παραμένουν στην υδατική στοιβάδα

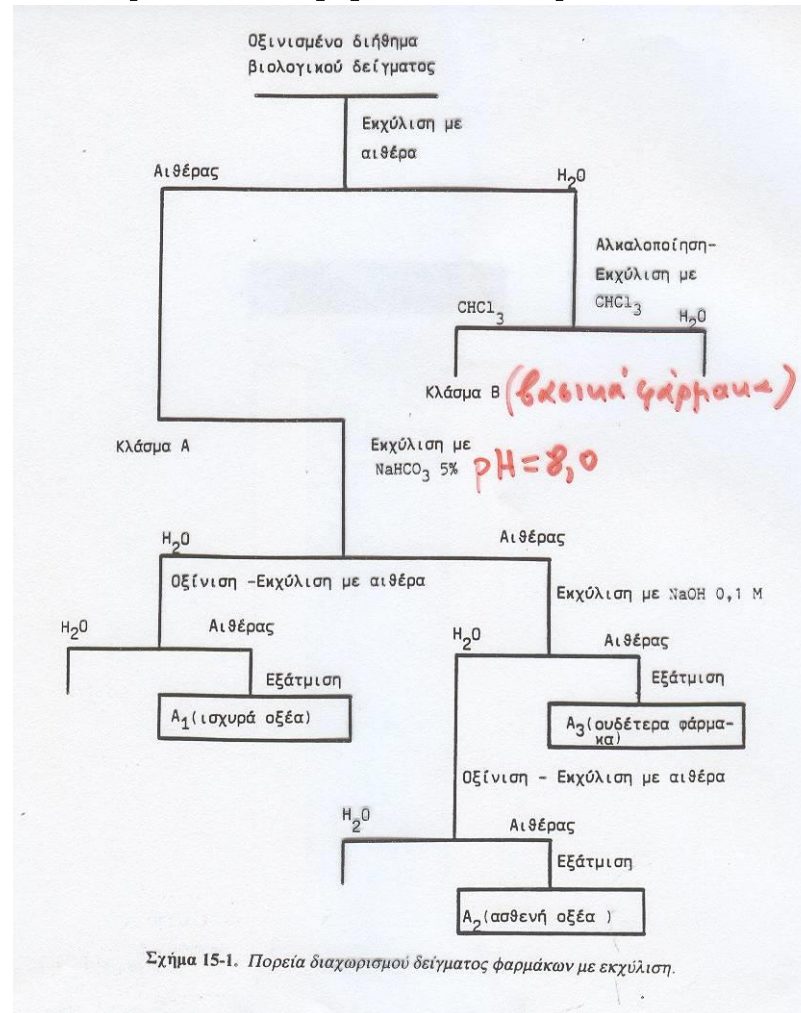
Σχήμα Διαχωρισμού Ασπιρίνης και μιας Αντιισταμινικής Αμίνης

- Ασπιρίνη (ακετυλοσαλικυλικό οξύ):
 $\text{HOOC} - \text{Phe-OCOCH}_3$, $\text{pK}_a = 3,48$
 - Αντιισταμινική αμίνη: $\text{R}'\text{-NH}_2$
 - Προσθήκη οξέος στο διάλυμα ($\text{pH} < 0,48$)
 $\text{Ar-COOH} \qquad \qquad \qquad \text{R-NH}_3^+$
 - Εκχύλιση με αιθέρα, παραλαβή ασπιρίνης
 - Προσθήκη NaOH στην υδατική στοιβάδα
 $\text{R-NH}_3^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{R-NH}_2$
- $\text{pH} = \text{pK}_a - 3 \rightarrow [\text{HA}] = 99,9\%$
 $\text{pH} = \text{pK}_a + 3 \rightarrow [\text{A}^-] = 99,9\%$

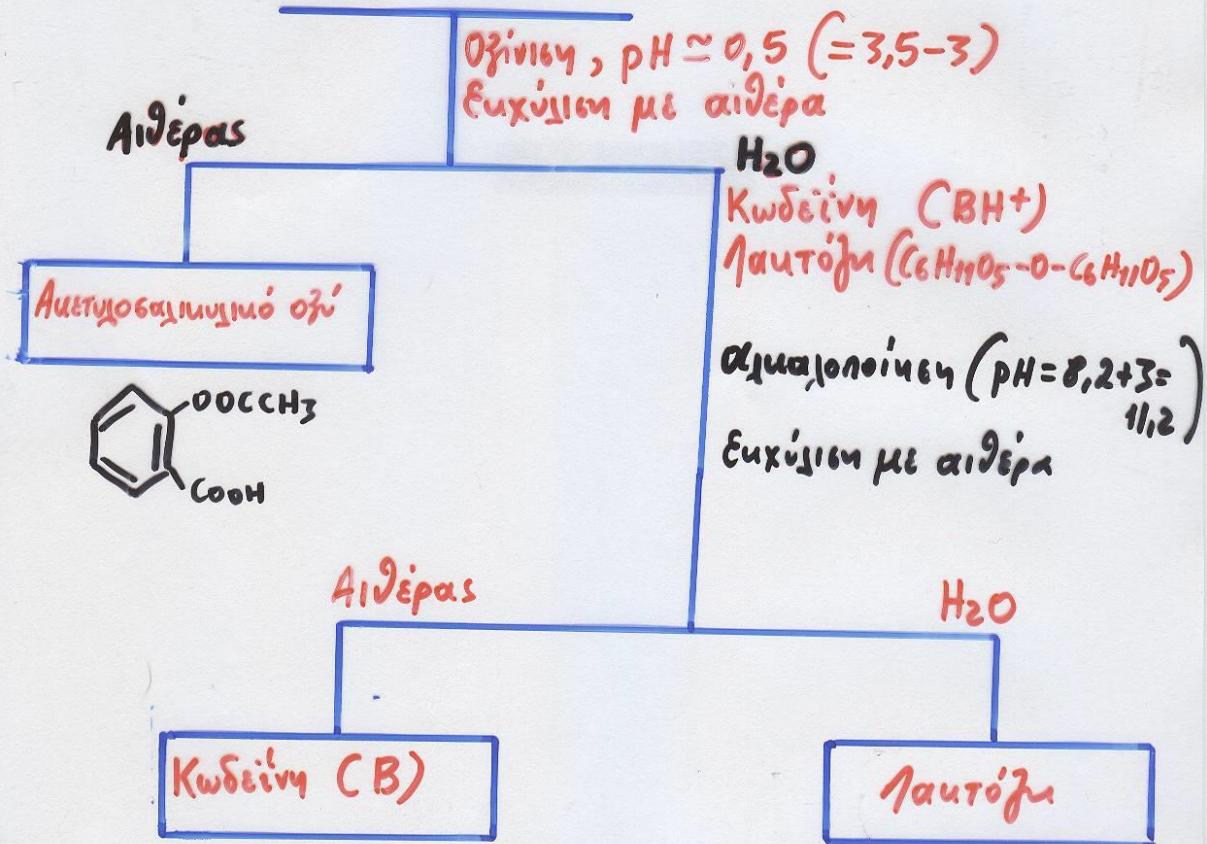
Εφαρμογές

- Συνδυασμός υγρό – υγρό εκχύλισης με ρύθμιση pH για την κλασμάτωση φαρμάκων από βιολογικά υγρά
- Προηγείται καθίζηση πρωτεϊνών με βολφραμικό ή τριχλωροξεικό οξύ

Πορεία διαχωρισμού δείγματος φαρμάκων με εκχύλιση



15-6. Να σχεδιασθεί ένα σχήμα εκχύλισης για τον ποσοτικό διαχωρισμό των συστατικών ενός δισκίου που περιέχει φωσφορική κωδεΐνη (pK_a συζυγούς οξέος κωδεΐνης = 8,2), ασπιρίνη (ακετυλοσαλικυλικό οξύ, $pK_a = 3,5$) και λακτόζη.



(Η λακτόζη ως ποτιστική ένωση είναι αδιάλυτη στον αιθέρα)

Τρόποι Διαφοροποίησης Λόγων Κατανομής

Έλεγχος Λιποφιλικότητας Ιόντων (1)

- Τα μικρού μεγέθους ιόντα είναι πολικά και παραμένουν στην υδατική στοιβάδα
- Εάν προστεθεί μεγάλου μεγέθους και αντιθέτου φορτίου ιόν σχηματίζει με τα ιότα του διαλύματος λιπόφιλα ζεύγη ιόντων (ion-pair) που μεταφέρονται στην οργανική στοιβάδα
- Μεταφορείς ιοντικών αντιδραστηρίων σε οργανικό διαλύτη αποτελούν οι μακροκυκλικές ενώσεις «crown ethers»
 - Το MnO_4^- είναι διαλυτά στο βενζόλιο παρουσία αιθέρα κορώνας (κατάλυση μεταφοράς φάσεως)

Φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός αμινών
φαρμάκων και αλάτων τετρακυλαμμωνίου με
χρήση δείκτη (HΔ) και εκχύλιση

- Το pH του διαλύματος ρυθμίζεται έτσι,
ώστε η προς προσδιορισμό ουσία και ο
δείκτης (αντιδραστήριο ιοντικού ζεύγους)
να είναι ιοντικά
- $\text{RNH}_3^+ + \Delta^- \rightarrow \text{RNH}_3^+\Delta^-$
- $\text{R}_4\text{N}^+ + \Delta^- \rightarrow \text{R}_4\text{N}^+\Delta^-$
- Τα λιπόφιλα ιοντικά ζεύγη εκχυλίζονται με
οργανικό διαλύτη και μετρείται η
απορρόφηση στο φασματοφωτόμετρο

Ογκόμετρηση Δύο Φάσεων

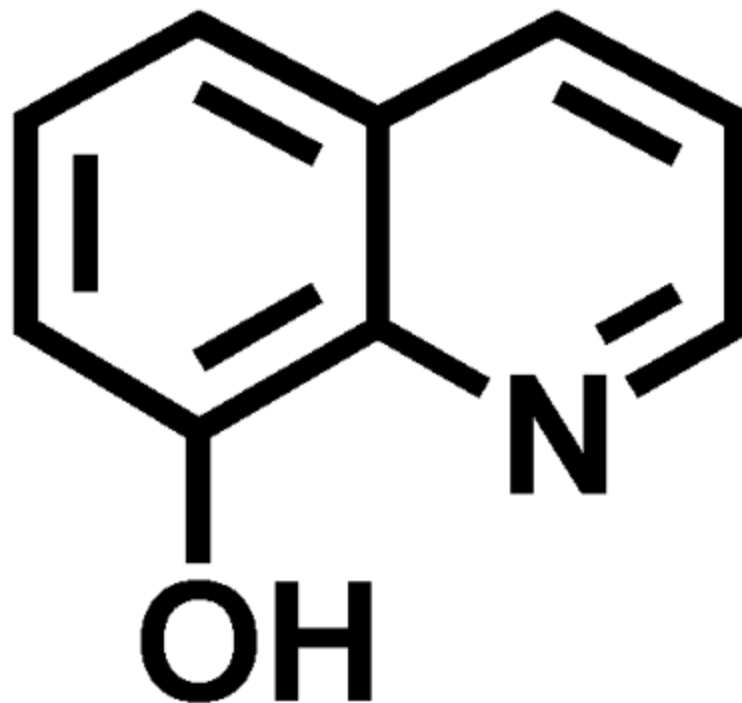
- Άλατα τεταρτοταγούς αμμωνίου (απορρυπαντικά, επιφανειοδραστικά) ογκομετρούνται σε μακρόστενο σωλήνα με πρότυπο διάλυμα τετραφαινυλοβορικού νατρίου (Φ_4B^-) (σχηματίζεται ίζημα) παρουσία δείκτη (κυανού βρωμοθυμόλης, ΗΔ) και μικρής στοιβάδας $CHCl_3$
- Πριν το ΤΣ το δημιουργούμενο λιπόφιλο ιοντικό ζεύγος $R_4N^+\Delta^-$ εκχυλίζεται στη στοιβάδα του $CHCl_3$ και τη χρωματίζει
- Στο ΤΣ όλη η ποσότητα του R_4N^+ καθιζάνει και η έγχρωμη στοιβάδα του χλωροφορμίου αποχρωματίζεται

Φασματοφωτομετρικός Προσδιορισμός Μεταλλοϊόντων με Σχηματισμό Εκχυλίσιμων Ουδέτερων Συμπλόκων

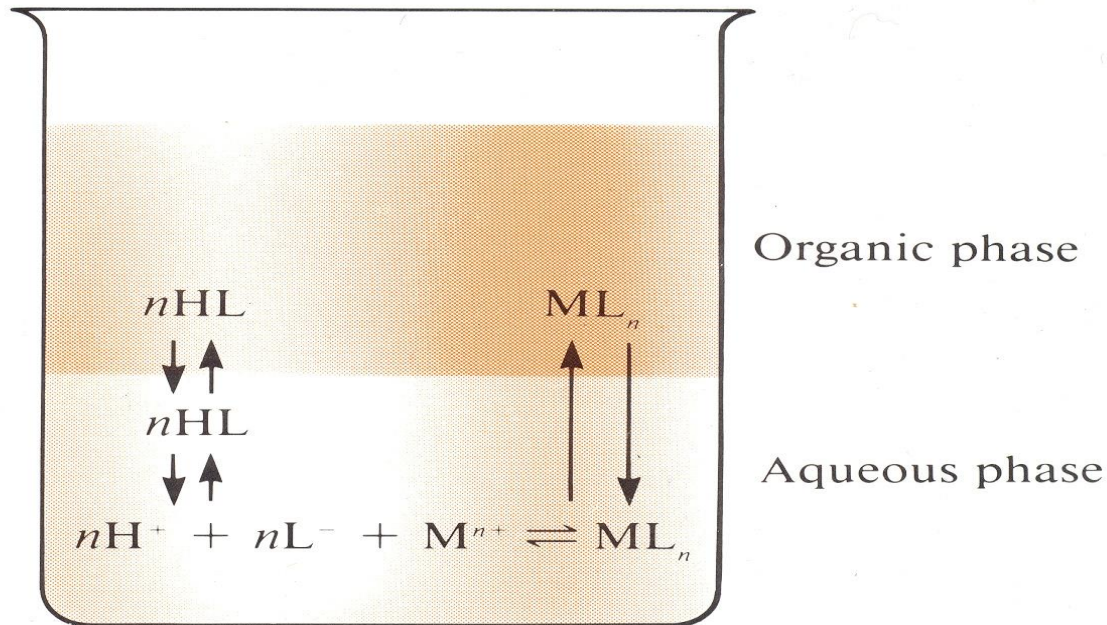
- Μεταλλοϊόντα, όπως Pb^{2+} , Hg^{2+} , Zn^{2+} σχηματίζουν με διθειζόνη ουδέτερα σύμπλοκα που εκχυλίζονται με $CHCl_3$.
- Ο προσδιορισμός μπορεί να γίνει φασματοφωτομετρικά (UV-Vis) ή με Φασματοφωτομετρία Ατομικής Απορρόφησης
- Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται **προσυγκέντρωση** (preconcentration) (εκχύλιση μεγάλου όγκου υδατικού διαλύματος με μικρό όγκο οργανικού διαλύτη).

Εκχύλιση Μετάλλων

- Πρέπει να σχηματίζουν ουδέτερα, λιπόφιλα σύμπλοκα εκχυλίσιμα σε ένα οργανικό διαλύτη
- Χρησιμοποιούνται συμπλεκτικά αντιδραστήρια
- Π.χ. 8-υδροξυκινολίνη, διθειζόνη, κλπ (oxine, 8-quinolinol)

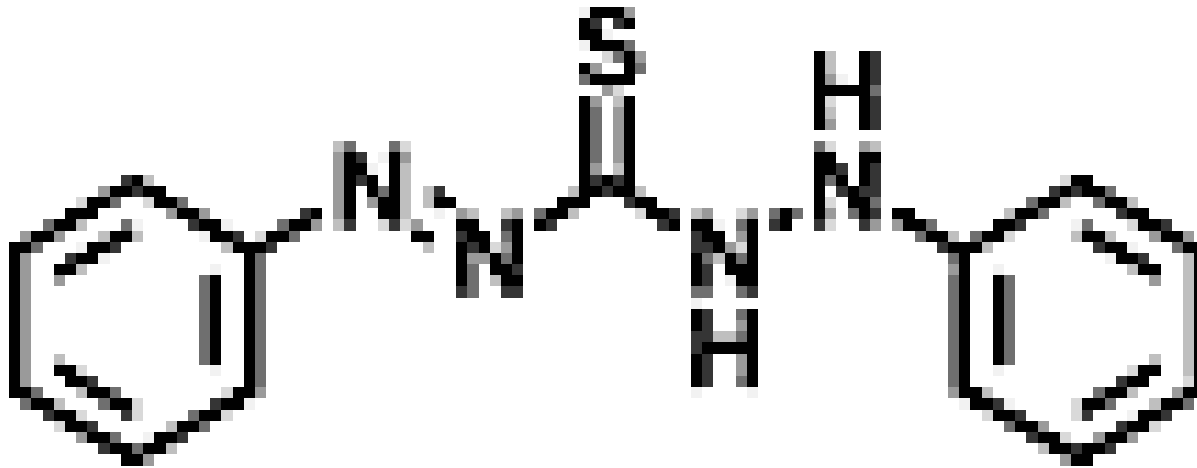


Ισορροπίες Συμπλοκοποίησης – Εκχύλισης Μεταλλοϊόντων



Συμπλεκτικά Αντιδραστήρια για την Εκχύλιση Μεταλλοϊόντων

- **Διθειζόνη**



Εκχύλιση Στερεάς Φάσης

Solid Phase Extraction (SPE)

- Αποτελεσματική τεχνική προκατεργασίας δειγμάτων (καθαρισμός, απομόνωση)
- Χρησιμοποιείται **προσροφητικό υλικό** προσυσκευασμένο σε μικροφυσίγγια (μικροστήλες) μιας χρήσεως (sep-pak, bond-elute, κλπ)
- Το προσροφητικό υλικό είναι συνήθως SiO_2 που φέρει δραστικές ομάδες:
 - Μη πολικές
 - Πολικές
 - Ομοιοπολικές
 - Κατιοανταλλακτικές
 - Ανιοανταλλακτικές

Εμπορικά μικροφυσίγγια εκχύλισης στερεάς φάσεως



Στάδια Εκχύλισης Στερεάς Φάσης

1. **Εξισορρόπηση** στερεής φάσης για την ενεργοποίηση των δραστικών ομάδων του προσροφητικού υλικού
 - Διαβίβαση κατάλληλου διαλύτη
2. **Διαβίβαση διαλύματος δείγματος**
 - Κατακράτηση επιθυμητής ουσίας
3. **Έκπλυση** με διαλύτη
 - Απομάκρυνση ανεπιθύμητων ουσιών
4. **Εκλεκτική έκλουση** (παραλαβή) με κατάλληλο διαλύτη

Στάδια Εκτελέσεως SPE

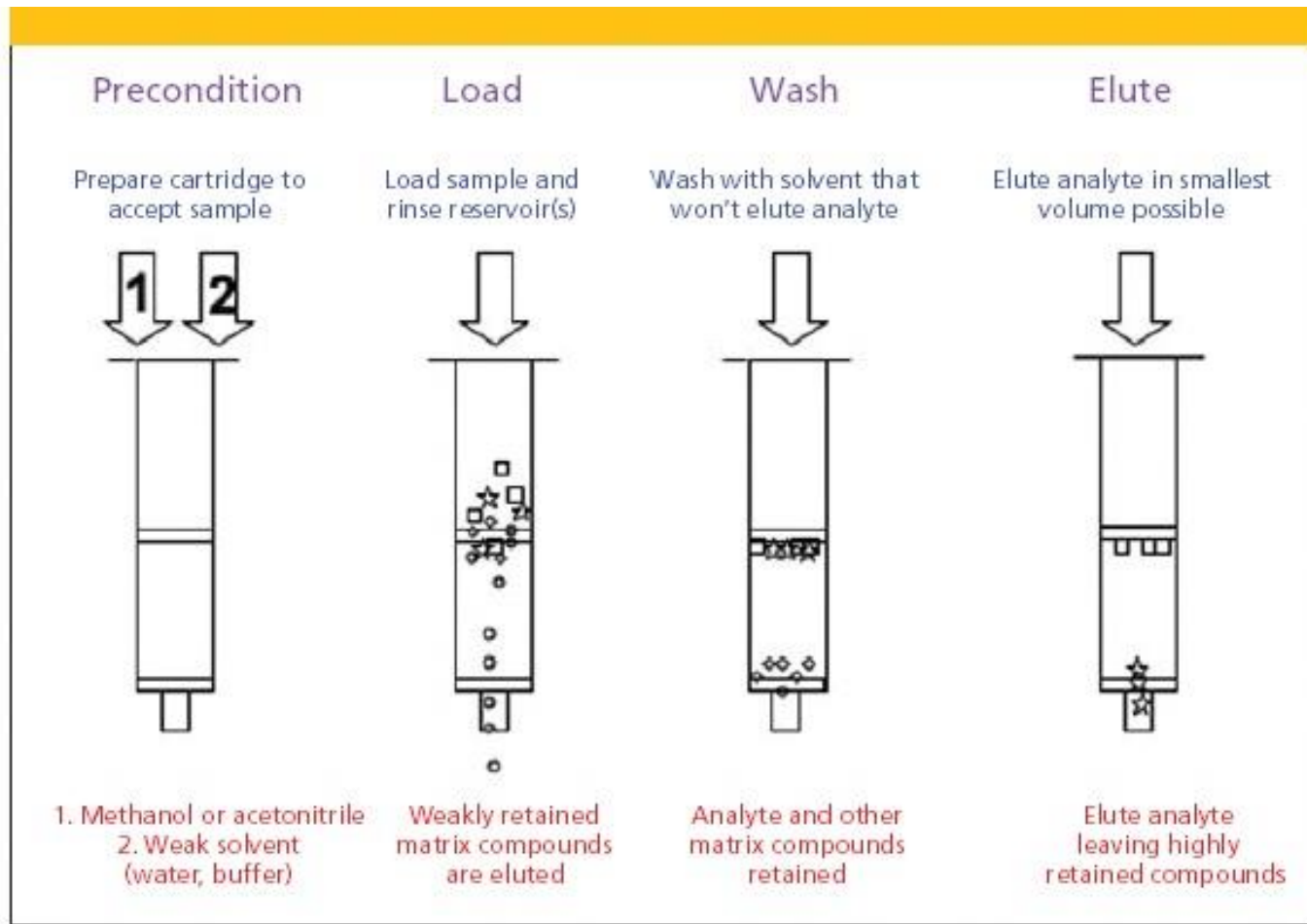
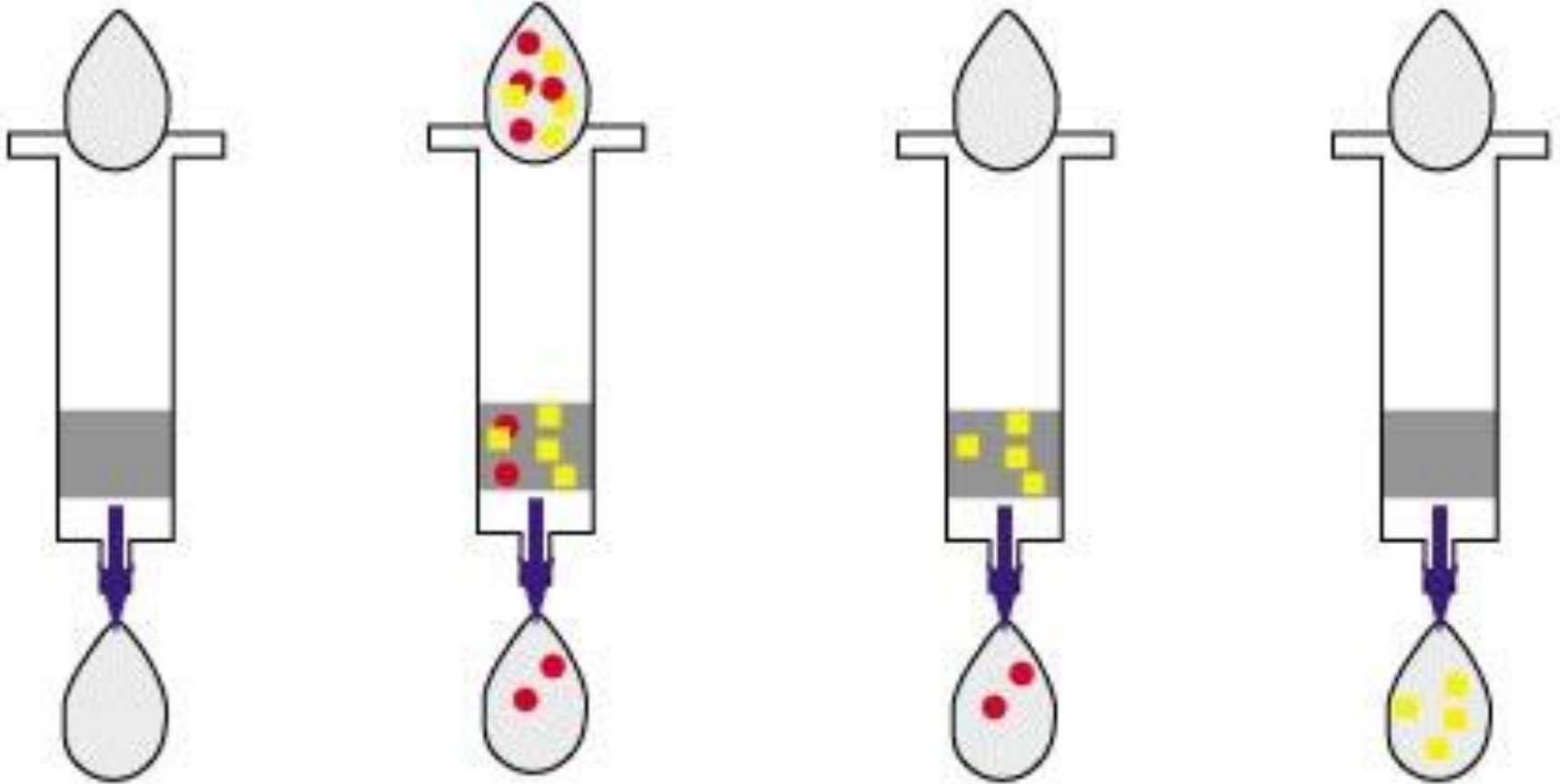
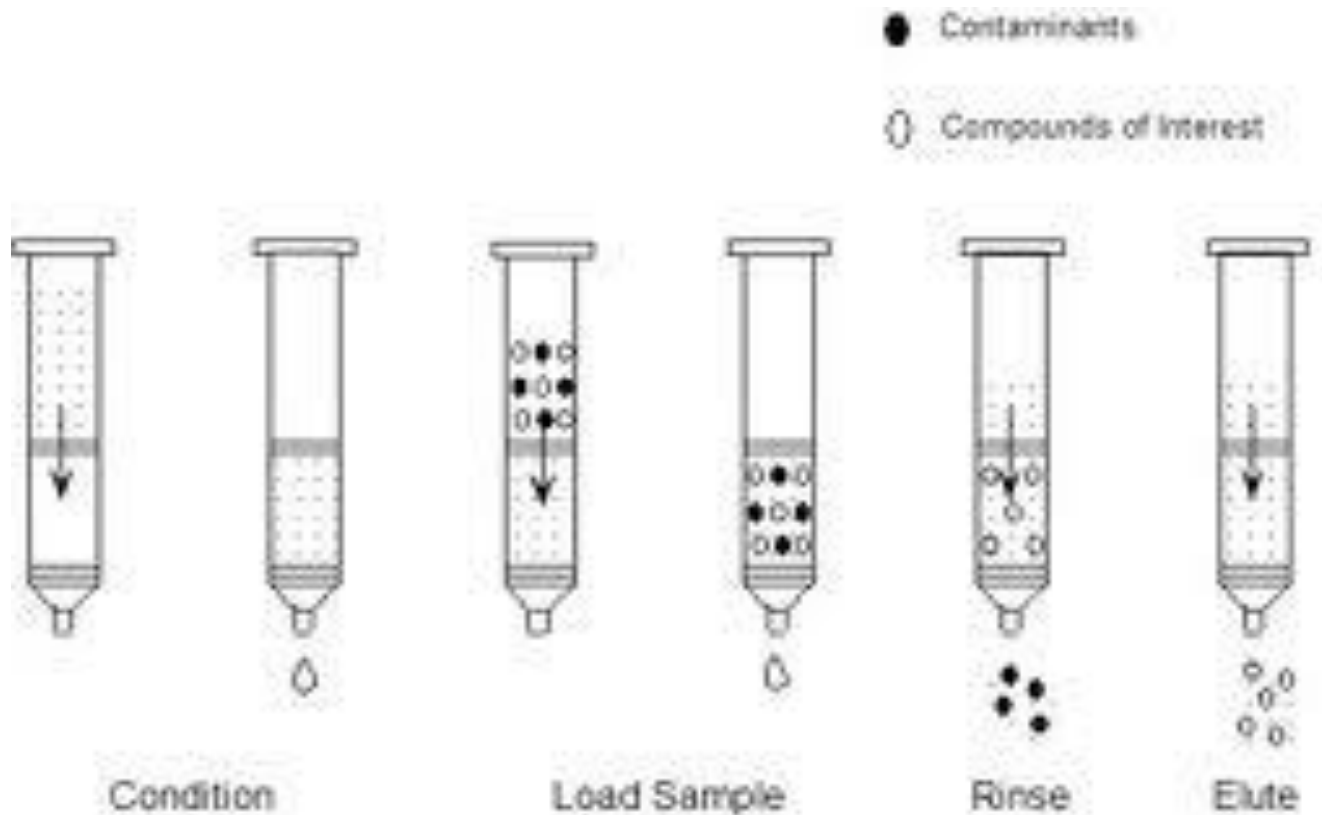


Figure 1: Steps in the SPE process.

Αρχή Διαχωρισμού με SPE

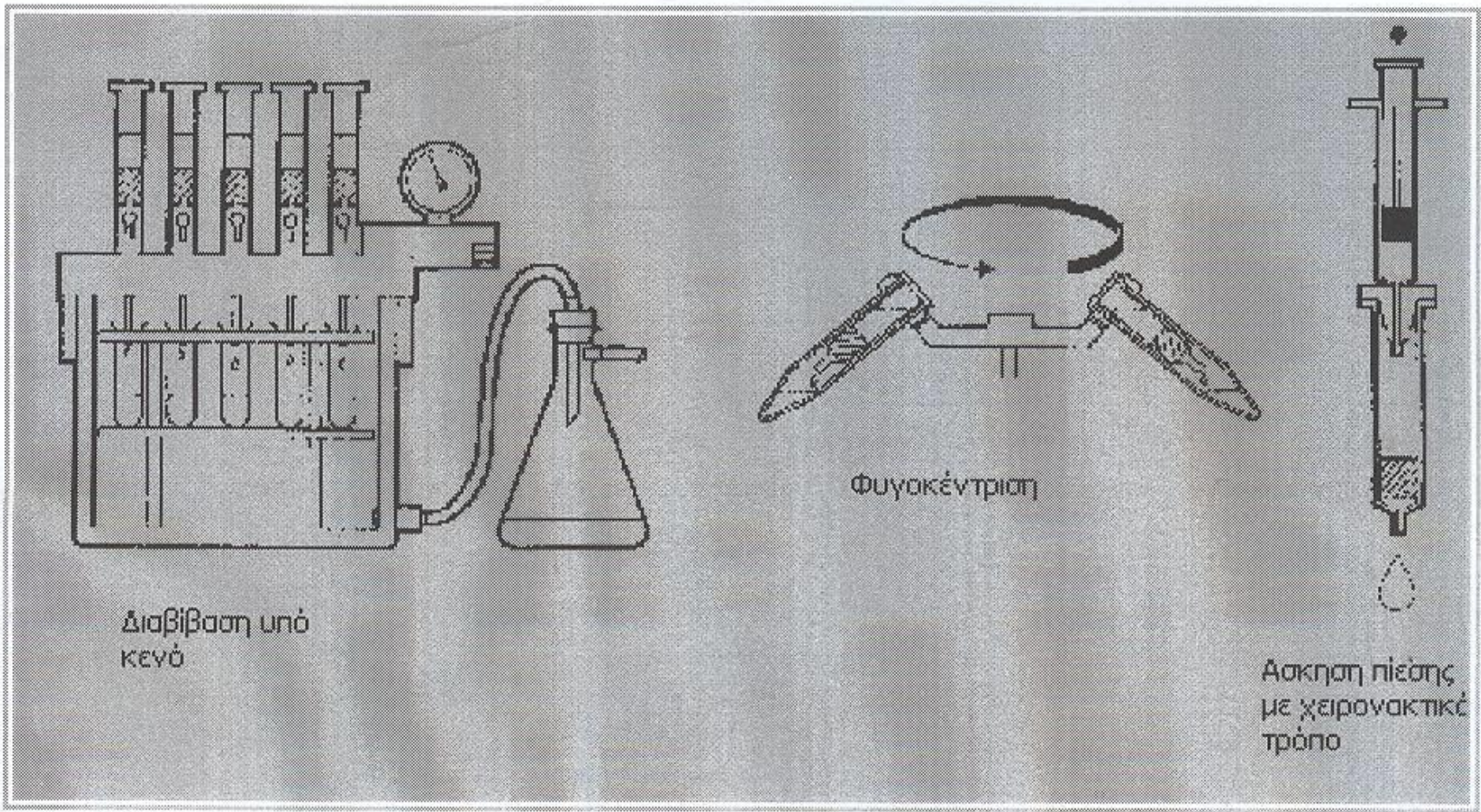


Στάδια Διαχωρισμού με SPE



Τεχνικές Διαβίβασης Διαλυτών

- Υπό κενό σε ειδικές συσκευές
- Με φυγοκέντρωση
- Μηχανική άσκηση πίεσης

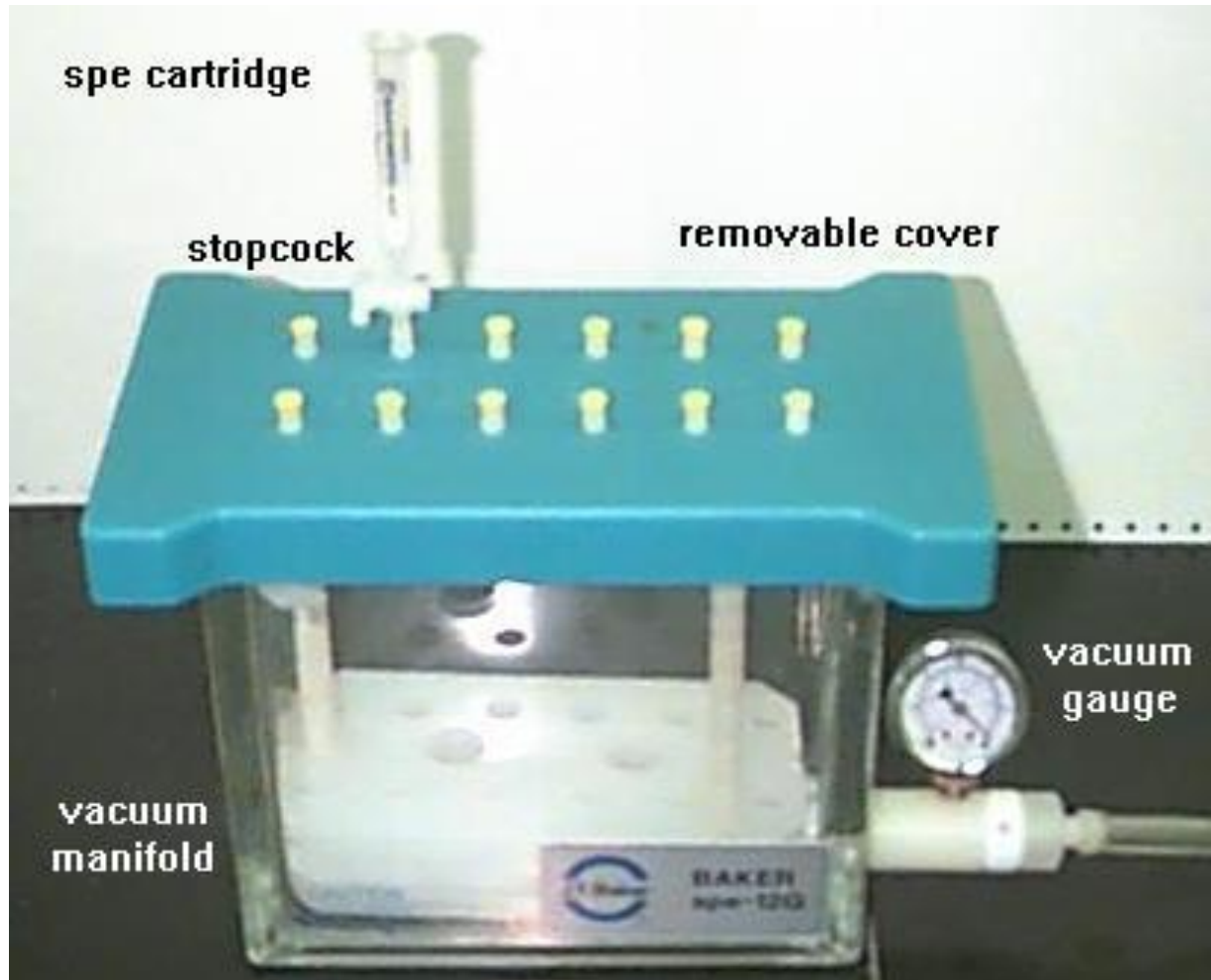


Τρόποι εισαγωγής διαλυτών στην εκχύλιση στερεάς φάσης

Διαβίβαση διαλύτη από φυσίγγια SPE με τη βοήθεια κενού σε ειδική συσκευή



Διαβίβαση διαλύτη από φουσίγγια SPE με τη βοήθεια κενού σε ειδική συσκευή



Εφαρμογές SPE (1)

- Εφαρμόζεται για την κατεργασία (καθαρισμό, απομόνωση) δειγμάτων:
 - Φυτικά δείγματα
 - Αίμα
 - Ούρα
 - Σκόνη δισκίων
 - Έλαια, κλπ
- Για την απομόνωση ουσιών προς προσδιορισμό: φάρμακα, φυτοφάρμακα, χρωστικές, πολυαρωματικοί υδρογονλαθρακες, βιταμίνες, κλπ

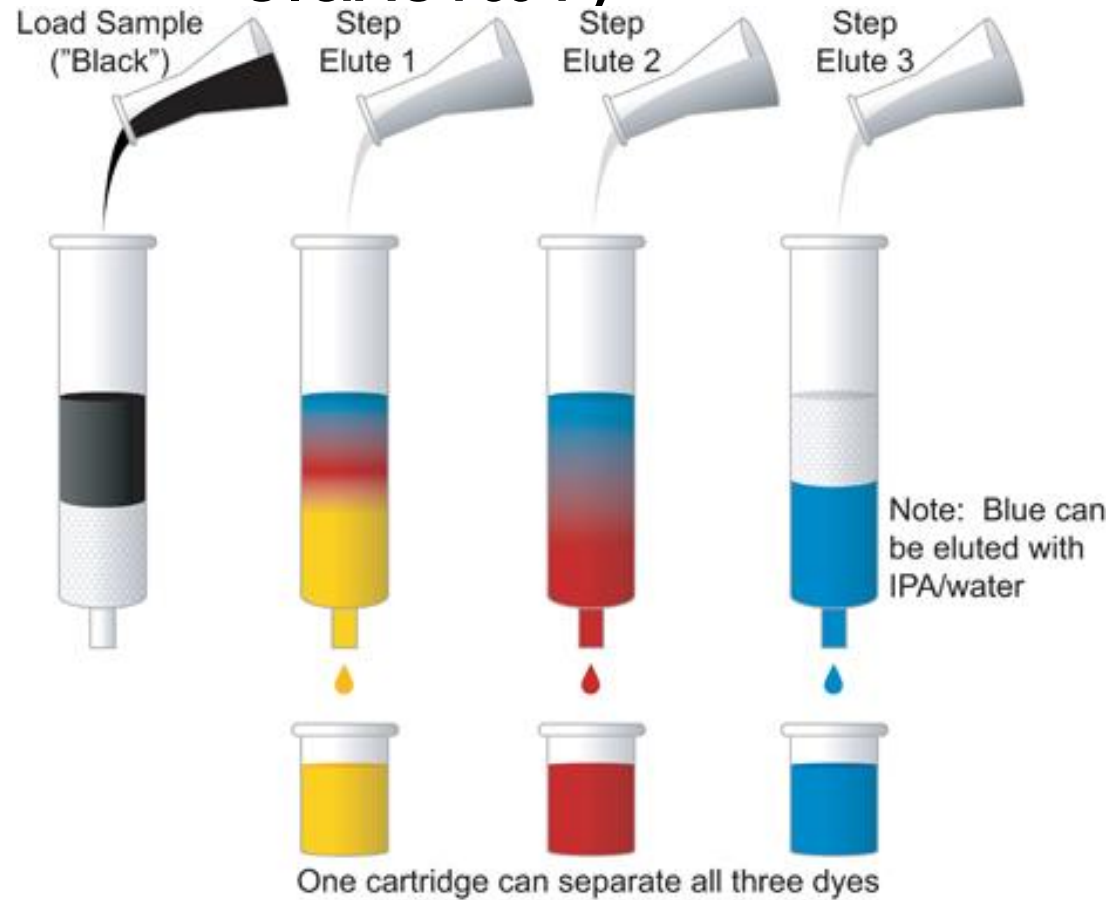
Εφαρμογές SPE (2)

- Απομόνωση αναλύτη από ένα σύνθετο μίγμα
- Διαχωρισμός συστατικών με βαθμιδωτή εκχύλιση
- Απομάκρυνση παρεμποδίζοντων συστατικών
- Εμπλουτισμός (pre-concentration)
- Απομάκρυνση αλάτων από δείγματα μεγαλομορίων
- In situ παραγωγοποίηση
- Φύλαξη δείγματος και μεταφορά

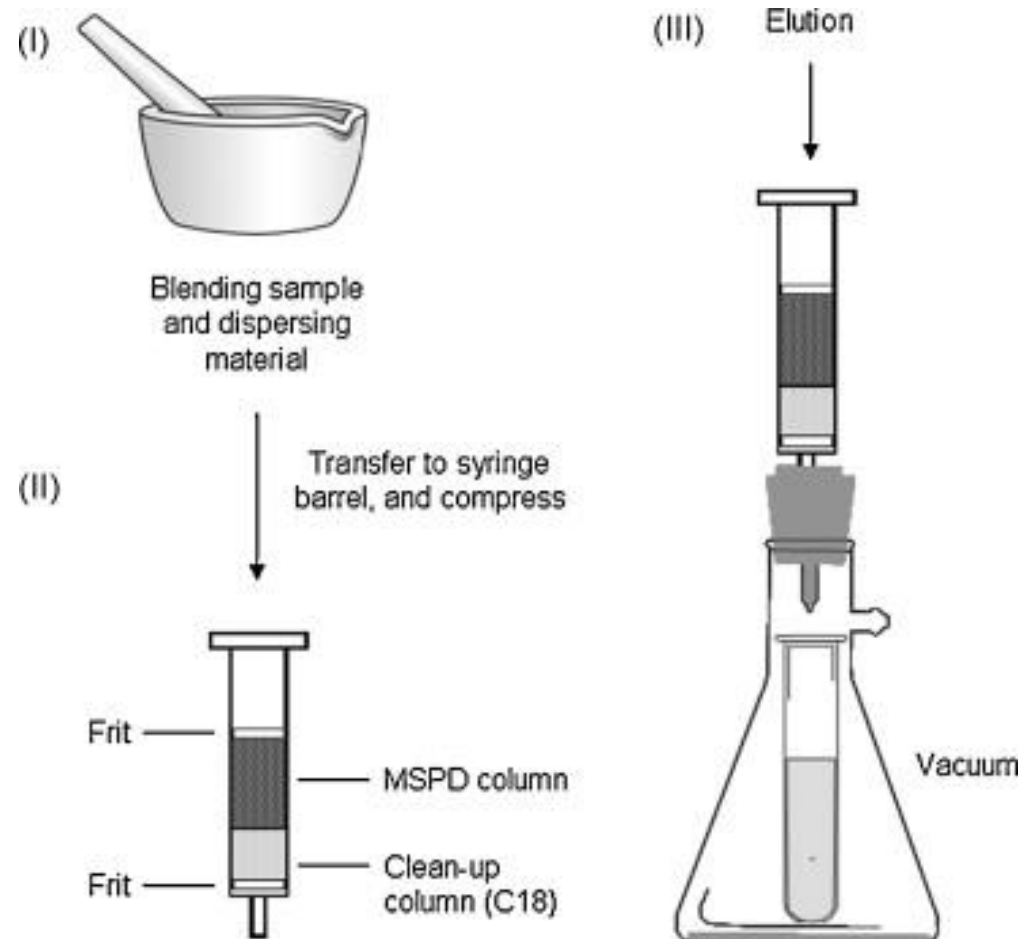
Παράγοντες που καθορίζουν την αποτελεσματικότητα της SPE

- Φύση αναλύτη
- Φύση του υποστρώματος (sample matrix)
- Διαλύτης έκλουσης

Κλασματικός Διαχωρισμός Ουσιών (Μαύρο Μελάνι) με SPE (προσθήκη διαφορετικών διαλυτών)

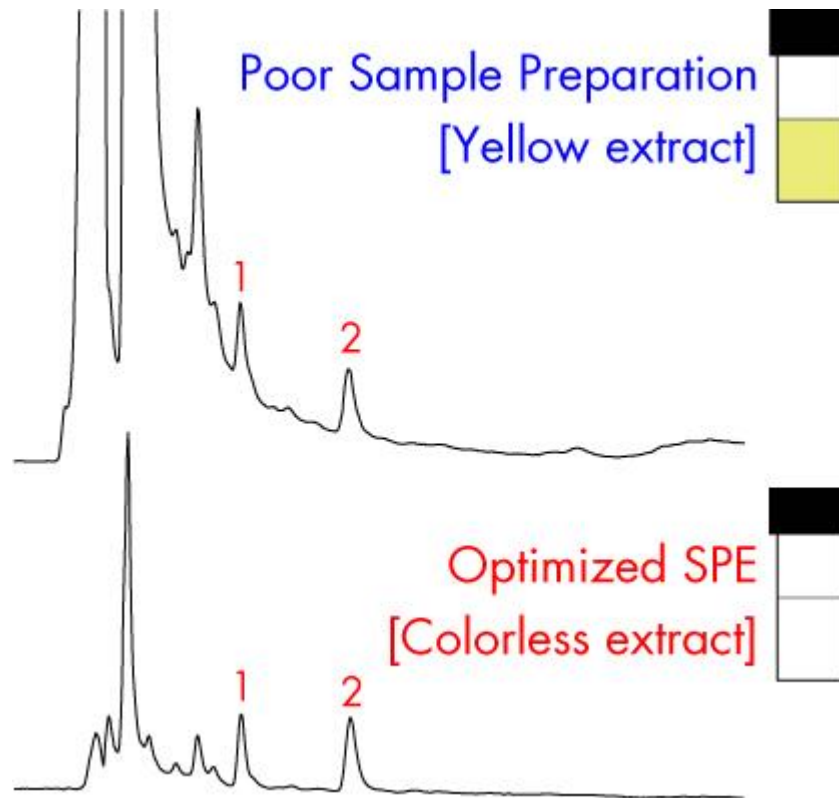


Καθαρισμός (Clean – up) Δείγματος Με τη Βοήθεια SPE σε Σύριγγα

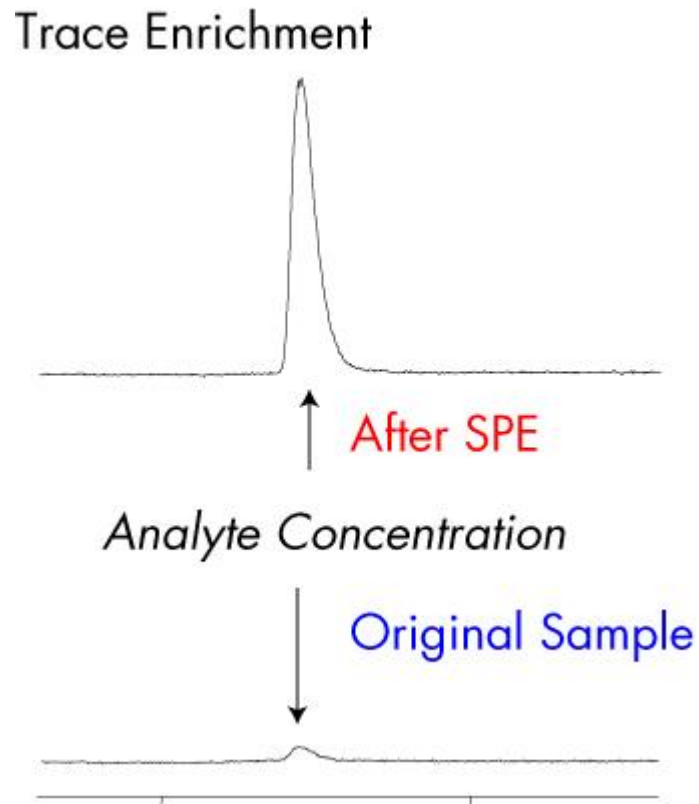


Καθαρισμός (clean-up) δείγματος πριν την ανάλυση με HPLC

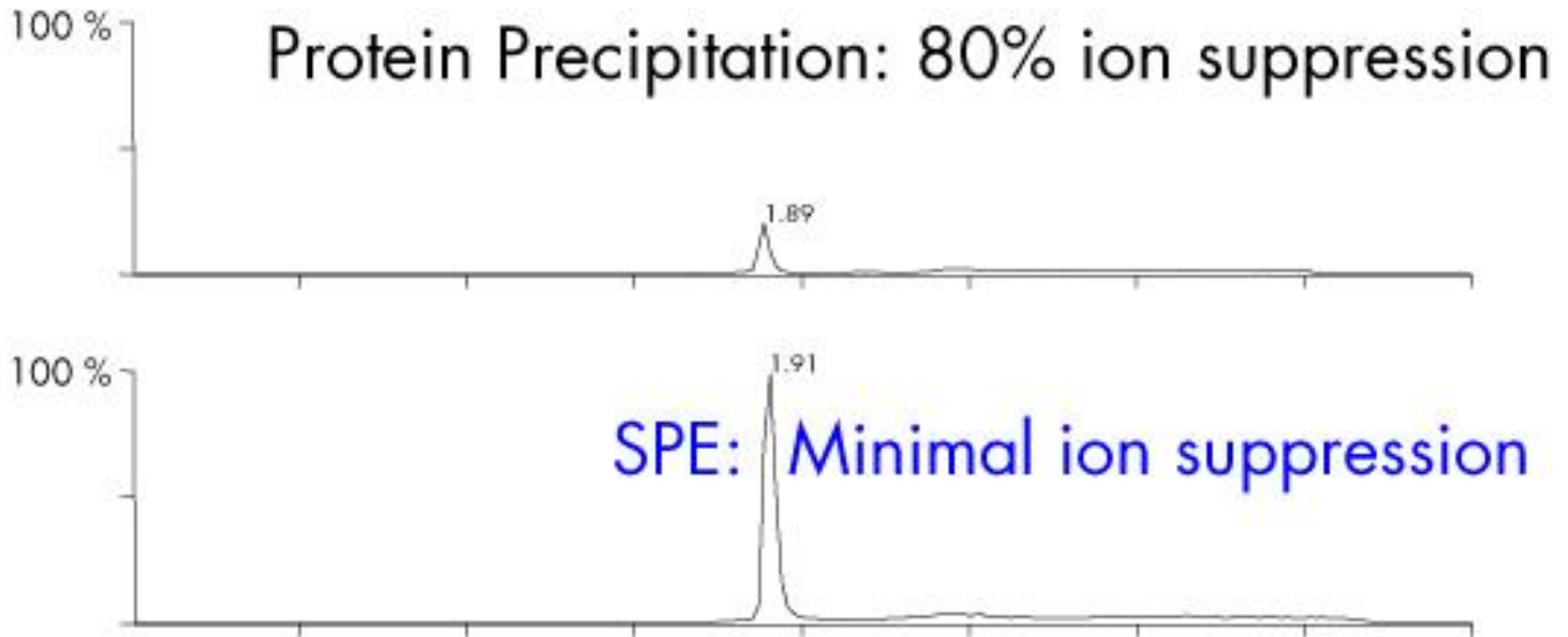
Το χρωματογράφημα του εκλούσματος από SPE
(κάτω) είναι καθαρότερο και αξιοποιήσιμο



Προσυγκέντρωση Δείγματος με SPE



Απομάκρυνση πρωτεϊνών με SPE από βιολογικό δείγμα. Η παρουσία της πρωτεΐνης προκαλεί μείωση σήματος στην τεχνική LC-MS



Πλεονεκτήματα SPE

- Λιγότερο χρονοβόρα διαδικασία
- Απλότητα στο χειρισμό
- Πιο φιλική στο περιβάλλον
- Αποτελεσματική απομάκρυνση παρεμποδιζόντων συστατικών
- Αποφυγή σχηματισμού γαλακτώματος
- Περιορισμός συνεκχύλισης συστατικών μήτρας δείγματος
- Δυναμική τεχνική με πολλά ερευνητικά περιθώρια