

Možnosti ke zvážení v případě práce s nerozpustnými vzorky a SPE

Extrakce na pevné fázi se rutinně volí jako technika přípravy vzorku před analýzou HPLC a GC. Poskytuje:

- Přechistění;
- Pre-koncentraci analytů;
- Výměnu rozpouštědla.

To funguje dobře pro jakékoli homogenní kapalně vzorky, ale nerozpustný vzorek jednoznačně nelze aplikovat přímo na zařízení SPE. Zde zvážujeme, jak nejlépe přistupovat k manipulaci s nerozpustnými vzorky před SPE.

První stupeň předúpravy vzorku zahrnuje homogenizaci nerozpustného vzorku s vhodným rozpouštědlem. Rozpouštědlo vybrané pro tento účelby mělo:

- Být efektivní při rozpouštění analytu.
- Být efektivní při rozpouštění matrice vzorku, i když to není nutné, pokud je vzorek dobře smíchán s rozpouštědlem.
- V ideálním případě být slabé rozpouštědlo, pokud jde o fázi SPE. To nemusí být vždy možné a proto někdy musí být vzorek před nanesením do SPE zkumavky vzorek odpařen a rekonstituován.

Po vytvoření suspenze vzorku ve vhodném rozpouštědle by měl být vzorek promíchán na vortexu, aby se podpořilo důkladné promíchání, a poté odstředěn, aby nerozpustné složky matrice sedimentovaly. Rozpouštědlo by pak mělo být odebráno pro další zpracování.

V tomto okamžiku je třeba zvolit mechanismus SPE:

SPE metoda na reverzní fázi

Mechanismus	Slabé rozpouštědlo	Silné rozpouštědlo
Reverzní fáze	Voda/pufr	Acetonitril/Metanol (hexan jako nejsilnější)
Normální fáze	Hexane/Heptan	Středně polární organická rozpouštědla jako DCM, MTBE, IPA (voda jako nejsilnější)
Iontová výměna	Vodný pufr o pH, které podporuje iontově výměnné interakce mezi analytem a SPE sorbentem	Organické rozpouštědlo, typicky methanol s úpravou pH k narušení iontoměničových interakcí.

V tomto bodě je třeba vzít v úvahu vlastnosti analytu i ředidlo vzorku. Extrakce na reverzní fázi jsou účinné pro středně polární až středně hydrofobní analyty, ale pouze pokud jsou rozpuštěny ve slabém rozpouštědle, jako je voda. Pokud je vzorek rozpuštěn ve středopolárním rozpouštědle, bude nutné vzorek buď naředit, nebo alternativně odpařit a rekonstituovat. Totéž platí pro normální fázi, kde je třeba vzorky rozpustit v hexanu/heptanu, aby se analyty úspěšně zachytily během nanášení vzorku do SPE zkumavky.

Tyto příklady snad tento koncept ilustrují.

1) Extrakce PCBs z půdy.

PCBs jsou hydrofobní a snadno se rozpouštějí v nepolárním rozpouštědle. Půdu lze vysušit, zvážit a poté extrahovat pomocí hexanu (nebo heptanu). Po důkladném promíchání a odstředění může být výsledný roztok aplikován přímo do kondicionované silikátové SPE zkumavky umožňující provedení extrakce na normální fázi.

2) Tylosin z masa.

Tylosin je antibiotikum s log P 1,0. Extrakce z masa směsí acetonitrilu a vody (80:20) naruší jakékoli hydrofobní interakce uvolňují tylosin. Po odstředění bude výsledný kapalný vzorek vyžadovat další ředění vodou, aby se snížila síla nanášeného rozpouštědla před extrakcí s reverzní fází.

3) Enilkonazol z pomerančů.

Enilconazol je fungicid široce používaný v zemědělství a často se používá s citrusovými plody. Lze jej snadno extrahovat z pomerančů pomocí acetonitrilu. Protože enilkonazol je zásaditý, přidání HCl do acetonitrilového extraktu podpoří protonaci analytu, což umožní jeho přímé zadržování na silném kationtoměničovém materiálu SPE. To značně zjednodušuje proces extrakce, protože není vyžadováno žádné ředění vzorku (na rozdíl od reverzní fáze nebo extrakce na normální fázi, kde by 100% acetonitril způsobil, že by analyt během nanášení nebyl zadržen).

Pro další rady nebo návrhy týkající se přípravy vzorků navštivte:

www.phenomenex.com/techniques/solid-phase-extraction