

## EXTRAKCIE SPLŇAJÚCE PRINCÍPY ZELENEJ CHÉMIE VYUŽÍVANÉ V STOPOVEJ ANALÝZE KOVOV

INGRID HAGAROVÁ

Ústav laboratórneho výskumu geomateriálov, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Mlynská dolina G, 842 15 Bratislava  
hagarova@fns.uniba.sk

Došlo 3.11.14, prijaté 20.11.14.

Kľúčové slová: zelená chémia, extrakcie, stopová analýza, kovy

### Obsah

1. Úvod
2. Superkritická fluidná extrakcia (Supercritical Fluid Extraction; SFE)
3. Extrakcia stlačenou horúcou vodou (Pressurized Hot-Water Extraction; PHWE)
4. Extrakcia podporená ultrazvukom (Ultrasound-Assisted Extraction; UAE)
5. Mikroextrakcia v systéme kvapalina-kvapalina (Liquid-Liquid Microextraction; LLME)
6. Disperzná mikroextrakcia v systéme kvapalina-kvapalina (Dispersive Liquid-Liquid Microextraction; DLLME)
7. Extrakcia s využitím teploty zákalu micelárnych roztokov (Cloud Point Extraction; CPE)
8. Mikroextrakcia v systéme kvapalina-tuhá fáza (Solid-Phase Microextraction; SPME)
9. Extrakcia podporená mikrovlnným žiarením (Microwave-Assisted Extraction; MAE)
10. Záver

### 1. Úvod

Aj napriek moderným detekčným metódam (ktorých citlivosť a selektivita je značne vysoká), stanovenie stopových až ultrastopových koncentrácií mnohých analytov v komplexných maticiach vyžaduje vypracovanie separačných postupov, ktoré vedú nielen k separácii sledovaného analytu, ale aj k jeho nakoncentrovaniu, prípadne k rozlíšeniu jeho rôznych špecií. V súčasnosti je však potrebné zohľadniť nielen spoľahlivosť vypracovaného postupu, ale aj bezpečnosť, rýchlosť, finančné nároky a v neposlednom rade sa do popredia dostávajú kritériá zohľadňujúce princípy zelenej chémie<sup>1</sup>, ktorých cieľom je zredukovať dopad chemických aktivít na ľudské zdravie a životné prostredie. Aj napriek tomu, že je hlavný dôraz v tejto oblasti sústredený na organickú syntézu v snahe vyhnúť sa tvorbe medziproduktov, minimalizovať spotrebu nebezpečných organických činidiel a spotrebu energie,

neobišla snaha implementovať environmentálne prijateľné postupy ani do analytickej chémie. V tejto oblasti je hlavná pozornosť sústredená na redukcii používania koncentrovaných kyselín a organických rozpúšťadiel, minimalizáciu času potrebného na úpravu vzorky a efektívne využitie energie. Väčšina postupov je zameraná na miniaturizáciu extrakčných techník<sup>2</sup>, ktoré sú využiteľné pri stanovení rôznych organických analytov v prípade chromatografických analýz. V prípade anorganických analytov<sup>3</sup> si úprava vzorky častokrát vyžaduje rozdielny prístup z dôvodu použitej detekcie, kde v prípade spektrometrickej alebo elektrochemickej detekcie môže použitie niektorých organických rozpúšťadiel predstavovať vážny problém.

Tento prehľad je zameraný na „zelenějšíe“ alternatívy separačných postupov, ktoré boli využité pri extrakciách anorganických analytov (najmä ťažkých, toxických a esenciálnych stopových kovov). Hlavná pozornosť je venovaná postupom, v ktorých sú používané bezpečnejšie činidlá (a to: SFE, PHWE, CPE), v ktorých sú radikálne zredukované objemy používaných činidiel (a to: LLME, DLLME, SPME) a v ktorých je efektívnejšie využitá energia a čas potrebný pri úprave vzorky (a to: UAE, MAE). Vypracovanie nových postupov využívajúcich uvedené separačné techniky predstavuje oblasť výskumu, ktorý napreduje takmer až exponenciálne. Z toho dôvodu je počet publikovaných prác naozaj značný, čo neumožňuje uviesť v tomto prehľade všetky dostupné práce. V každej kapitole, ktorá je venovaná jednotlivým extrakčným technikám tak bude uvedených iba pár príkladov z posledného obdobia.

### 2. Superkritická fluidná extrakcia (Supercritical Fluid Extraction; SFE)

Superkritická fluidná extrakcia (Supercritical Fluid Extraction; SFE) využíva na extrakciu superkritickú tekutinu (chemické individuum pri teplote a tlaku nad svojim kritickým bodom), ktorá si uchováva rozpúšťacie vlastnosti kvapalín, ale transportnými vlastnosťami sa blíži k parametrom charakteristickým pre plyny<sup>4</sup>. Najčastejšie sa ako superkritická tekutina používa CO<sub>2</sub> pre svoje nízke hodnoty kritických veličín ( $t_k = 31,1 \text{ °C}$  a  $p_k = 7,38 \text{ MPa}$ )<sup>4,5</sup>. Okrem toho je táto superkritická tekutina netoxická, nehorľavá, inertná, lacná, dostupná v požadovanej čistote a nezaťažuje životné prostredie<sup>6</sup>. Limitujúcim faktorom je však nepolárny charakter superkritického CO<sub>2</sub>, čo vedie k neschopnosti extrahovať polárne analyty<sup>7</sup>. Nápomocným v tomto smere je prídavok máloho množstva polárneho organického rozpúšťadla<sup>8</sup>, ktoré dokáže modifikovať polaritu superkritickej tekutiny, a tak umožňuje extrahovať molekuly s rôznou polaritou. Priama extrakcia iónových analytov však nie je možná ani v modifikovanom superkritickom CO<sub>2</sub> (cit.<sup>7,8</sup>). Extrakcia iónov kovov si tak vyžaduje

vytvorenie stabilných neutrálnych komplexov, ktoré sú rozpustné v čistom alebo modifikovanom superkritickom CO<sub>2</sub> (cit.<sup>5,8</sup>). Z mnohých komplexotvorných činidiel, ktoré sú využívané pri tvorbe komplexov rôznych kovov, nie všetky sú dostatočne rozpustné v superkritickom CO<sub>2</sub>. Napríklad rozpustnosť mnohých dietylditiokarbamátov (DDC) kovov je v superkritickom CO<sub>2</sub> pomerne obmedzená. Ak je však vodík v ligande substituovaný fluórom (napr. bis(trifluóroetyl)ditiokarbamát, FDDC), tak sa rozpustnosť FDDC chelátov v superkritickom CO<sub>2</sub> značne zvýši<sup>8</sup>. Jedna z prvých prác<sup>9</sup>, v ktorej je opísaná extrakcia Cu<sup>2+</sup> iónov z kvapalných a tuhých matric využíva práve FDDC. Pri extrakcii Hg<sup>2+</sup> iónov je potrebné využiť rovnaké chelatačné činidlo a superkritický CO<sub>2</sub> modifikovaný 5% metanolom, zatiaľ čo metylortuť a dimetylortuť môžu byť extrahované priamo nemodifikovaným superkritickým CO<sub>2</sub> bez prídavku chelatačného činidla<sup>10</sup>. FDDC bol úspešne využitý aj pri selektívnej extrakcii šesťmocného chrómu z tuhých matric<sup>11</sup>. Z ďalších činidiel možno spomenúť fluórované β-diketóny, ktorých použitie pri tvorbe komplexov s rôznymi iónmi kovov vedie k zvýšenej rozpustnosti v porovnaní s nesubstituovanými derivátmi. Príklady ich využitia možno nájsť v publikovaných prehľadoch venovaných využitiu SFE v analytickej chémii<sup>12–14</sup>. Organozlúčeniny fosforu patria k ďalšej početnej skupine komplexotvorných činidiel, ktoré môžu byť využité pre tvorbu komplexov v prípade SFE. Príklady ich využitia možno taktiež nájsť v už spomínaných prehľadných článkoch<sup>12–14</sup>. Potenciál nahradiť organozlúčeniny fosforu, a tak umožniť vypracovať ekologickejšie extrakčné postupy, má napr. *N,N,N',N'*-tetrabutyl-3-oxapentándiamid (TBODA), ktorý bol použitý pri extrakcii Nd<sup>3+</sup> a Eu<sup>3+</sup> z kyslých vodných roztokov s využitím superkritického CO<sub>2</sub> modifikovaného prídavkom acetónu<sup>15</sup>.

### 3. Extrakcia stlačenou horúcou vodou (Pressurized Hot-Water Extraction; PHWE)

Extrakcia stlačenou horúcou vodou (Pressurized Hot-Water Extraction; PHWE) využíva ako extrakčné činidlo vodu pri teplotách 100–374 °C a tlakoch 1–6 MPa (cit.<sup>16</sup>). Kritické veličiny pre vodu<sup>17–19</sup> sú  $t_k = 374\text{ °C}$  a  $p_k = 22,1\text{ MPa}$ . Pre analytické účely sa pracuje s tzv. subkritickou vodou pri už spomenutých teplotách a mierne zvýšených tlakoch, ktoré postačujú na udržanie vody v kvapalnom stave<sup>16</sup>. Značná variabilita nastavením rôznych experimentálnych podmienok umožňuje dosiahnuť rôzne dielektrické konštanty použitého extrakčného činidla, čo vedie k jeho všestrannému využitiu<sup>20</sup>.

Medzi prvých, ktorí opísali extrakciu polárnych, mierne polárnych a nepolárnych organických analytov z pôd s využitím stlačenej horúcej vody patria Hawthorne a spol.<sup>21</sup>. Odvtedy táto extrakčná technika našla značné využitie pri extrakcii širokej škály polárnych aj nepolárnych analytov z environmentálnych, biologických a geologických vzoriek<sup>16</sup>.

V prípade iónových anorganických analytov je často využívaná stlačená horúca voda s prídavkom kyseliny du-

sičnej. Napríklad prídavok 4 % (v/v) HNO<sub>3</sub> bol použitý pri extrakcii toxických kovov z pôd<sup>22</sup>, z použitých priemyselných olejov<sup>23</sup> alebo uhlia<sup>24</sup>. Nižšia koncentrácia HNO<sub>3</sub> (1 % (v/v)) bola použitá pre extrakciu Cd a Pb z rastlinného materiálu<sup>25</sup>. Prídavok 0,1 M HNO<sub>3</sub> bol postačujúci pri extrakcii Al, As, B, Ba, Cd, Cu, Fe, Mn, Pb, Se a Zn zo vzoriek prachových častíc (PM<sub>10</sub>)<sup>26</sup>. Pri extrakcii Cr, Mn, Ni, Cd a V z hornín bolo možné dosiahnuť pozitívne výsledky bez modifikácie extrakčného činidla pre všetky sledované analyty okrem vanádu<sup>27</sup>. Stlačená horúca voda modifikovaná prídavkom kyseliny octovej (150 mM) bola úspešne využitá pri extrakcii As, Ba, Cd, Cr, Mn, Ni, Pb a Zn z rôznych jedlých chaluš<sup>28</sup>. Zaujímavou aplikáciou, ktorú možno v prípade PHWE spomenúť, je simultánna extrakcia anorganického Se aj organicky viazaného Se, čo je výhodou navyše, ktorá takisto zohľadňuje princípy zelenej chémie<sup>29</sup>.

### 4. Extrakcia podporená ultrazvukom (Ultrasound Assisted Extraction; UAE)

Pri extrakcii podporenej ultrazvukom (Ultrasound Assisted Extraction; UAE) sú vzorka a rozpúšťadlo vystavené pôsobeniu ultrazvuku (US), čo sú mechanické vlny s frekvenciami 20–40 kHz (cit.<sup>30</sup>). Pri prechode ultrazvuku následne dochádza k expanzii a stlačovaniu molekúl média. V kvapalinách dochádza k vzniku, rastu a zániku bublín a dutín. Prítomnosť tuhej látky v kvapaline spôsobuje, že je rozpad bublín asymetrický a v kvapaline vzniká prúdenie. Nárazmi prúdov do tuhej látky dochádza k prieniku rozpúšťadla do vzorky. Rýchlosť prieniku kvapaliny môže byť až 400 km h<sup>-1</sup>, a preto je účinok veľmi silný. V praxi sú používané dva typy zariadení pre extrakciu podporenú ultrazvukom, a to ultrazvukové vane alebo ultrazvukové sondy.

Využitie US v prípade extrakcii kovov z rôznych tuhých matric možno uskutočniť s cieľom: (1) stanoviť celkové koncentrácie sledovaných analytov s využitím zriedených kyselín<sup>31</sup>, (2) stanoviť rôzne špecie sledovaného prvku s využitím vhodných extrakčných činidiel<sup>32</sup> a (3) selektívne rozpustiť rôzne tuhé frakcie environmentálnych vzoriek (napr. organickú hmotu, oxidy, uhličitany a pod.) s cieľom získať informácie o potenciálnej mobilite a biopristupnosti sledovaných analytov<sup>33</sup>.

V poslednom období narástol značne počet aplikácií, v ktorých UAE využíva zriedené kyseliny pri extrakcii totálnych (prípadne pseudo-totálnych) koncentrácií rôznych kovov z rôznych typov matric, príklady ktorých sú prehľadne spracované v nedávno publikovanom článku<sup>34</sup>. Aj v prípade špeciálnej analýzy má využitie UAE narastajúcu tendenciu. Z mnohých príkladov možno uviesť aspoň pár, ako napr. selektívnu extrakciu anorganického Hg<sup>2+</sup> a metylortute zo slávk<sup>35</sup> s využitím HCl, extrakciu rôznych špecií arzenu z biologických vzoriek s využitím zmesi voda/metanol<sup>36</sup>, extrakciu rôznych špecií antimónu z tuhých vzduchových častíc s využitím rôznych extrakčných činidiel (napr. hydroxylamín hydrochloridu, zmesi kyseliny citrónovej a askorbovej, kyseliny fosforečnej)<sup>37</sup> alebo selektívnu extrakciu šesťmocného chrómu

z environmentálnych vzoriek s využitím zásaditých extrakčných činidiel ako napr. zmesi  $\text{NH}_4\text{SO}_4/\text{NH}_4\text{OH}$  (cit.<sup>38</sup>) alebo zmesi  $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$  (cit.<sup>39</sup>). V prípade frakcionáčnych štúdií, pri ktorých sú využívané sekvenčné extrakčné postupy, sa zisťujú koncentrácie rôznych kovov viazaných na rôzne geochemické fázy v environmentálnych vzorkách (najmä v sedimentoch, pôdach, lietavých popolčekoch a odpadových kaloch)<sup>40</sup>. Použitie UAE v takýchto postupoch značne redukuje čas (v porovnaní s pôvodne navrhnutými postupmi extrakcií), rádozo z desiatok hodín na desiatky minút<sup>34</sup>. Pri použití UAE a značnej redukcii času boli porovnateľné výsledky dosiahnuté v prípade takej matrice ako je odpadový kal<sup>33</sup>, ale v prípade sedimentov boli rozdiely v dosiahnutých výsledkoch značné<sup>41</sup>. Aj napriek tomu, sumy extrahovateľných koncentrácií kovov (tzv. nereziiduálny podiel) sú porovnateľné vo všetkých postupoch, čo možno využiť pre rýchly odhad koncentrácií najpohyblivejších frakcií. Okrem sekvenčných extrakčných postupov možno UAE využiť aj v prípade jedнокrokových extrakcií (s využitím napr. EDTA), kde ide taktiež o snahu získať informácie o mobilizovateľných frakciách kovov v pôdach<sup>42</sup> alebo sedimentoch<sup>43</sup>.

## 5. Mikroextrakcia v systéme kvapalina-kvapalina (Liquid-Liquid Microextraction; LLME)

Mikroextrakcia v systéme kvapalina-kvapalina (Liquid-Liquid Microextraction; LLME) je založená na prechode analytu medzi nemiešateľnými kvapalinami s využitím malých objemov extrakčného činidla, čo predstavuje značnú redukciiu objemu použitých extrakčných činidiel v porovnaní s klasickou extrakciou v systéme kvapalina-kvapalina (Liquid-Liquid Extraction; LLE).

Extrakčná rýchlosť v LLME je priamoúmerná ploche medzifázového rozhrania a nepriamoúmerná objemu extraktantu. Z dostupnej literatúry možno zistiť, že existujú rôzne prístupy pre LLME, z ktorých medzi najpoužívanejšie patrí mikroextrakcia jednou kvapkou (Single-Drop Microextraction; SDME), mikroextrakcia kvapalnou fázou v dutom vlákne (Hollow-Fiber Liquid-Phase Microextraction; HF-LPME), extrakcia s využitím tuhnúcej plávajúcej organickej kvapky (Solidification of Floating Organic Drops Microextraction; SFOD-ME) a disperzná mikroextrakcia v systéme kvapalina-kvapalina (Dispersive Liquid-Liquid Microextraction; DLLME). Posledne menovanej extrakčnej technike bude patriť nasledujúca kapitola.

SDME využíva mikrokvapku extraktantu, ktorá je vytlačená z ihly striekačky so skoseným hrotom a môže byť zavádzaná buď<sup>44</sup>: (1) priamo do roztoku vodnej vzorky, kedy ide o priamu SDME (Direct Single-Drop Microextraction; D-SDME), (2) do organického rozpúšťadla, ktoré tvorí tenkú vrstvu nad roztokom vodnej vzorky (Liquid-Liquid-Liquid Microextraction; LLLME) alebo (3) je ihla v prípade prchavého analytu zavádzaná do priestoru nad vzorkou a ide o tzv. techniku headspace (Headspace Single-Drop Microextraction; HS-SDME). Po uplynutí

extrakčného času je kvapka vtiahnutá späť do injekčnej striekačky a injektovaná priamo do použitého detektora, čo je v prípade anorganických analytov najčastejšie elektrotermická atómová absorpčná spektrometria (ETAAS), využitá takmer až v 60 % publikovaných prác<sup>45</sup>. Nízke finančné náklady, rýchlosť a rozmanitosť extrakčných činidiel robia z tejto techniky techniku vhodnú pre využitie v rôznych typoch aplikácií. Exponenciálny nárast v počte aplikácií, ktoré zahŕňajú rozmanitú škálu vzoriek (napr. voda, krmivá, biologické tekutiny, rastlinný materiál a geologické vzorky) a detekciu kovov ako aj organokovových špecií je zdokumentovaný v nedávno publikovaných prehľadoch<sup>45,46</sup>.

HF-LPME bola navrhnutá v snahe odstrániť nevýhody SDME, a to predovšetkým nestabilitu kvapky a obtiažnosť pri odstraňovaní kvapky z roztoku. V prípade tejto techniky je analyt extrahovaný do činidla nemiešateľného s vodou, ktoré je imobilizované v póroch dutého vlákna, ktoré je tam držané prostredníctvom kapilárnych síl. Pri použití HF-LPME môžu byť využité dvojfázové alebo trojfázové systémy<sup>44</sup>. Ako príklady dvojfázových systémov pri použití iónových kvapalín možno uviesť prekoncentráciu Pb a Ni z environmentálnych a biologických vzoriek<sup>47</sup> alebo prekoncentráciu Ag, Al, As, Mn a Ti z nafty a benzínu<sup>48</sup>. Trojfázové systémy boli v poslednom období využité pri stanovení stopových koncentrácií Hg vo vodách<sup>49</sup> alebo Co, Pd, Cd a Bi v rôznych environmentálnych alebo biologických vzorkách<sup>50</sup>.

SFOD-ME bola navrhnutá pre jednoduchšie odstránenie malej kvapky extrakčného činidla zo vzorky po extrakcii. Činidlo s bodom topenia, ktorý je blízky izbovej teplote (napr. 1-undekanol, bod topenia približne 15 °C) je zvolený pre extrakciu analytu, pri ktorej sa použije mechanické alebo ultrazvukové miešanie. Po extrakcii je vzorka ponorená do ľadového kúpeľa, v ktorom extrakčné činidlo stuhne, kvapka sa odstráni a činidlo sa nechá následne roztopiť. Extrakt sa potom injektuje do zvoleného detektora. Využitie SFOD-ME v prípade anorganickej analýzy možno demonštrovať stanovením stopových koncentrácií Hg (cit.<sup>51</sup>) alebo Zn (cit.<sup>52</sup>) vo vodách.

## 6. Disperzná mikroextrakcia v systéme kvapalina-kvapalina (Dispersive Liquid-Liquid Microextraction; DLLME)

Disperzná mikroextrakcia v systéme kvapalina-kvapalina (Dispersive Liquid-Liquid Microextraction; DLLME) je založená na tvorbe zakaleného roztoku, ktorý vzniká pri rýchlym injektovaní zmesi extrakčného a disperzného činidla do roztoku vodnej vzorky. Používané extrakčné činidlá majú najčastejšie vyššiu hustotu ako voda, čo po centrifugácii vedie k ich usadeniu na dne extrakčnej nádoby. V prípade DLLME ovplyvňuje extrakčnú účinnosť najmä: (1) extrakčné činidlo, (2) disperzné činidlo, (3) objem použitého extrakčného činidla a (4) objem použitého disperzného činidla. Ako extrakčné činidlá sa volia organické činidlá, ktoré sú miešateľné s disperzným

čínidlom, zatiaľ čo ich miešateľnosť s vodou je minimálna. Doposiaľ najčastejšie využívané chlórované uhlíkovodíky (ako napr. chlórbenzén, chloroform, chlorid uhličitý alebo tetrachlóretyl)<sup>53</sup> sú postupne nahrádzané iónovými kvapalinami a masnými alkoholmi<sup>54</sup> v snahe minimalizovať používanie toxických čínidiel. Disperzné čínidlo by malo byť miešateľné aj s extrakčným čínidlom aj s vodnou vzorkou. Zohráva dôležitú úlohu pri znižovaní povrchového napätia medzi vodou a extrakčným čínidlom a napomáha tvorbe kvapiek malého rozmeru. Najčastejšie používané sú aceton, metanol, acetonitril, tetrahydrofurán a etanol<sup>54</sup>. Aj napriek tomu, že DLLME je technikou často využívanou pri separácii a prekoncentracii predovšetkým rôznych organických polutantov (medzi nimi najčastejšie pesticídov, ale aj rôznych fenolov ako napr. chlórphenolov, bifenolov a alkylfenolov)<sup>55,56</sup>, postupy pre separáciu a prekoncentraciu kovov patria k druhej najpočetnejšej skupine<sup>57,58</sup>. V prípade anorganických analytov je však potrebné použiť vhodné chelatačné čínidlo na prevedenie analytu do extrakčného čínidla. Najčastejšie využívané sú pyrolidínditiokarbamát amónny (APDC) a dietylditiokarbamát sodný (DDTC)<sup>55</sup>. Z analyzovaných matric je najviac publikovaných prác venovaných stanoveniu stopových kovov vo vodách, no možno nájsť aj aplikácie, pri ktorých sú stanovované kovy v pôdach a rôznych potravinách<sup>55</sup>. Z analyzovaných kovov je najviac postupov vypracovaných pre separáciu a prekoncentraciu Cu, Pb a Cd (cit.<sup>55</sup>). Z iných anorganických analytov možno spomenúť nedávno publikované práce venované stanoveniu Ag v biologických vzorkách<sup>59</sup> a stanoveniu Bi v krvných sérach a farmaceutických produktoch obsahujúcich tento kov<sup>60</sup>.

## 7. Extrakcia s využitím teploty zákalu micelárnych roztokov (Cloud Point Extraction; CPE)

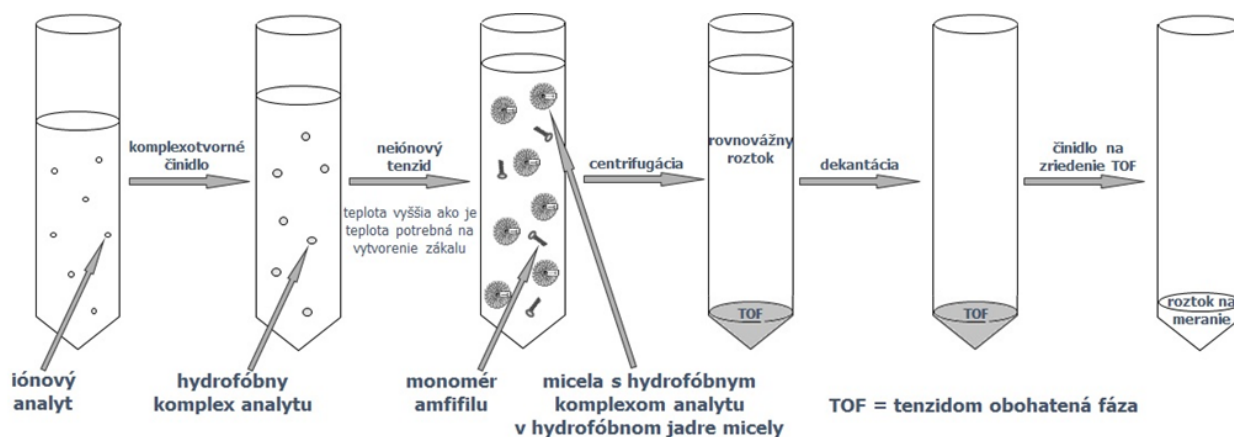
Extrakcia s využitím teploty zákalu micelárnych roztokov (Cloud Point Extraction; CPE) využíva vo svojich

postupoch ako extrakčné čínidlo najčastejšie neiónové tenzidy. Princíp fázovej separácie spočíva v tom, že po pridaní neiónového tenzidu k vodnému roztoku a následnom zahriatí nad určitú teplotu (ktorá je charakteristická pre každý tenzid), dochádza k vytvoreniu zákalu v dôsledku preskupenia micelotvorných zložiek a vzniku ďalšej fázy. Takto sa získajú dve fázy, a to tenzidom obohatená fáza (ktorá obsahuje hydrofóbne a nepolárne zlúčeniny zachytené v nepolárnych jadrách micel) a vodná fáza (kde je koncentrácia tenzidu blízka kritickej micelárnej koncentracii)<sup>61</sup>. Schématicky je postup CPE znázornený na obr. 1.

Z uvedeného je zrejme, že prvým krokom pri využití CPE je v prípade iónových analytov výber vhodného komplexotvorného čínidla, ktoré vytvorí hydrofóbny komplex so sledovaným analytom. K najčastejšie využívaným čínidlám patria pyridylazo zlúčeniny (1-(2-pyridylazo)-2-naftol, PAN; 4-(2-pyridylazo)rezorcínol, PAR; 2-(5-brómo-2-pyridylazo)-5-dietylaminofenol, 5-Br-PADAP), tiazolylazo zlúčeniny (1-(2-tiazolylazo)-2-naftol, TAN; 2-(2-tiazolylazo)-*p*-krezol, TAC; 4-(2-tiazolylazo)rezorcínol, TAR), ditiokarbamáty (amónium pyrolidín ditiokarbamát, APDC; dietylamónium-*N,N'*-dietylditiokarbamát, DDTC), ditiózón (difenylkarbazón, H<sub>2</sub>Dz) a jeho deriváty, 8-hydroxychinolín (oxín, 8-HQ) a jeho deriváty, amónium *O,O'*-dietylditiiofosfát (DDTP)<sup>62</sup>.

Od svojho uvedenia je táto extrakčná technika značne využívaná nielen pri separácii a prekoncentracii kovov vo forme ich hydrofóbnych komplexov, ale aj pri purifikácii proteínov a separácii rôznych organických polutantov, predovšetkým z environmentálnych a biologických kvapalných vzoriek. V odbornej literatúre možno nájsť prehľadné články venované CPE, v ktorých sú detailne opísané princípy fázovej separácie neiónových tenzidov v závislosti od teploty, zhrnuté typy aplikácií, ako aj výhody a obmedzenia týchto separácií<sup>63–70</sup>.

Nahradenie organických čínidiel netoxickými a neprchavými tenzidmi je „zelenjšou“ alternatívou v porovnaní s klasickými extrakčnými technikami. Značné



Obr. 1. Schématické znázornenie postupu pri CPE kovov

plus predstavuje použitie biodegradovateľných tenzidov. Ako nevýhodu možno uviesť to, že po odstránení vodnej fázy sa získava vysoko viskózna tenzidom obohatená fáza, ktorú je nevyhnutné pred samotným stanovením analytov nariediť vhodným činidlom, ktoré je kompaktilné so zvoleným detektorom. Najčastejšie sa používajú metanolicke alebo etanolicke roztoky zriedených minerálnych kyselín (najmä  $\text{HNO}_3$  alebo  $\text{HCl}$ ). V poslednom období však boli publikované aj postupy bez použitia metanolicke roztokov s využitím dvoch konvenčných CPE postupov za sebou, tzv. duálna CPE (d-CPE). Prvým príkladom je stanovenie stopových koncentrácií  $\text{Cu}^{2+}$  iónov v krvných sérach pacientov s vírusovou hepatítidou<sup>71</sup> a druhým príkladom je stanovenie toxických stopových prvkov (As, Cd, Ni a Pb) v extraktach umelých slín zo šňupavého tabaku<sup>72</sup>.

## 8. Mikroextrakcia v systéme kvapalina-tuhá fáza (Solid-Phase Microextraction; SPME)

Mikroextrakcia v systéme kvapalina-tuhá fáza (Solid-Phase Microextraction; SPME) bola pôvodne navrhnutá pre úpravu vzoriek pred GC analýzou a je zameraná predovšetkým na organické analyty. Analyty sú v tomto prípade extrahované do vhodnej stacionárnej fázy, ktorá pokrýva nosné vlákno (najčastejšie vlákno z kremenného skla)<sup>73,74</sup>. Kremenné vlákno spolu so stacionárnou fázou sú ponorené buď priamo do vzorky alebo do priestoru nad vzorkou (už spomínané „headspace“ usporiadanie) a následne premiestnené do vhodného analyzátoru, v ktorom dochádza k desorpcii a analýze<sup>75,76</sup>. Krehkosť vlákien viedla k snahe využiť ako nosné materiály rôzne kovy, prípadne zliatiny, čo malo za následok vyššiu trvanlivosť a termickú stabilitu nosného vlákna<sup>75</sup>. Okrem vlákien sú opisované aj postupy využívajúce magnetické miešadlá pokryté rôznymi polymermi, rôzne rotujúce disky alebo listy tenkého papiera<sup>75</sup>. Všetky uvedené techniky patria medzi statické postupy, ktoré sa uskutočňujú v miešaných vzorkách. Okrem statického usporiadania sú v prípade organických analytov opisované aj dynamické usporiadania, kedy sa hovorí o kapilárnej mikroextrakcii (CME)<sup>75</sup>. V prvej aplikácii venovanej anorganickému analytu bolo použité kremenné vlákno pokryté poly(dimetylsiloxánom), ktorý bol modifikovaný kyselinou di-(2-etylhexyl)fosforečnou, čo viedlo k vzniku mikropróby s iónovými kapacitou. Takto pripravené vlákno bolo použité pri extrakcii  $\text{Bi}^{3+}$  z okyslených vodných roztokov<sup>77</sup>. Vlákna pokryté crown éterom boli použité pri extrakcii  $\text{Hg}^{2+}$  iónov z vodných roztokov<sup>78</sup>. Z ďalších príkladov využitia SPME pri stanovení stopových kovov možno uviesť stanovenie olova v krvi a moči po jeho derivatizácii na tetraetylolovo<sup>79</sup>, stanovenie metylortute v biologických vzorkách<sup>80</sup>, stanovenie tributylcínú vo vodách a sedimentoch<sup>81</sup>, rôznych organokovových zlúčenín cínu, olova a ortuti vo vodách<sup>82</sup> alebo špeciálnu štúdiu zameranú na selektívne stanovenie  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $[\text{Pb}(\text{CH}_3)]^{3+}$ ,  $[\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_5)]^{3+}$  a  $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$  vo vodách<sup>83</sup>.

## 9. Extrakcia podporená mikrovlnovým žiarením (Microwave-Assisted Extraction; MAE)

Princíp extrakcie podporenej mikrovlnovým žiarením (Microwave-Assisted Extraction; MAE) spočíva vo využití mikrovlnového žiarenia pri ohrievaní vzorky a extraktantu počas extrakcie. Mikrovlnové žiarenie je vysokofrekvenčné neionizujúce elektromagnetické žiarenie, ktoré vyvoláva pohyb polárnych molekúl a iónov kvapalín. Jeho frekvenčný rozsah leží medzi rádiovými vlnami a infračervenou oblasťou elektromagnetického spektra<sup>84</sup>, čo zodpovedá frekvencii od 0,3 do 300 GHz, resp. vlnovým dĺžkam od 100 do 1 cm. Komerčne dostupné zariadenia používané pri MAE možno z hľadiska konštrukcie rozdeliť na: (1) mikrovlnové pece s rozptýleným žiarením (multi mode system), v ktorých je mikrovlnové žiarenie náhodne dispergované vo vnútornom priestore pece, v ktorom je vzorka ožiarená rovnomerne (ktoré sa zvyknú označovať aj ako systémy s uzatvorenými nádobami (closed-vessel system)) a (2) mikrovlnové pece s usmerneným mikrovlnovým žiarením (single mode system), v ktorých je mikrovlnové žiarenie fokusované na vyhradenú zónu, kde je vzorka vystavená oveľa silnejšiemu elektromagnetickému poľu ako v prvom prípade (zvyknú sa označovať aj ako systémy s otvorenými nádobami (open-vessel system))<sup>84</sup>. V analytických laboratóriách sú bežne využívané systémy s uzatvorenými nádobami<sup>85</sup>. Pri vypracovaní extrakčných postupov treba zohľadniť: (1) výber vhodného extrakčného činidla, (2) objem extrakčného činidla, (3) teplotu extrakcie, (4) čas extrakcie a (5) charakter matrice<sup>84,85</sup>. V prípade anorganických analytov je MAE využívaná najčastejšie v trojkrokových sekvenčných extrakčných postupoch pri frakcionačných štúdiách rôznych stopových kovov v sedimentoch<sup>86–89</sup> alebo kaloch<sup>90</sup>, kde dochádza k značnej redukcii času v porovnaní s pôvodne navrhnutými extrakčnými postupmi bez mikrovlnového ohreву a dosiahnutí porovnateľných výsledkov. V prípade jednokrokových extrakcií (najčastejšie s EDTA) možno využitie MAE nájsť pri extrakcii stopových kovov z ryže<sup>91</sup>, zo vzoriek pôd a kompostu<sup>92</sup> alebo vzoriek rôznych rastlín<sup>93</sup>. Z ďalších príkladov možno uviesť postupy, pri ktorých boli získané pseudo-totálne až totálne obsahy rôznych stopových kovov v sedimentoch po extrakcii s využitím rôznych zmesí kyselín<sup>94,95</sup>.

## 10. Záver

Z princípov zelenej chémie, ktoré sú úzko spojené s extrakčnými postupmi využívanými na separáciu a prekoncentráciu kovov možno vyzdvihnúť tieto: používanie bezpečnejších činidiel a rozpúšťadiel namiesto toxických organických činidiel (SFE, PWHE, CPE), používanie zriedených minerálnych kyselín namiesto koncentrovaných (MAE), zredukovanie krokov (a teda aj času) extrakčného postupu (SPME), zredukovanie množstva vzorky ako aj množstva činidla potrebného na extrakciu (LLME,

DLLME), zredukovanie času a energie potrebnej na extrakciu sledovaného analytu (UAE, MAE).

Na záver už možno iba podotknúť, že „zelenější“ alternatívy extrakčných techník využívaných v (ultra) stopovej analýze kovov sú častokrát bezpečnejšie, rýchlejšie, lacnejšie a značne znižujú riziko kontaminácie vzorky. Toto všetko vedie k ich intenzívnemu rozvoju a snahe vypracovať postupy využiteľné aj v rutinných laboratóriách, čomu má v značnej miere napomôcť automatizácia vypracovaných postupov.

*Práca vznikla v rámci riešenia projektu, ktorý je finančne podporovaný grantom Vedeckej grantovej agentúry Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu SR a Slovenskej akadémie vied VEGA 1/0274/13.*

## LITERATÚRA

- Anastas P. T.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* 29, 167 (1999).
- Sarafraz-Yazdi A., Amiri A.: *Trends Anal. Chem.* 29, 1 (2010).
- Rocha D. L., Batista A. D., Rocha F. R. P., Donati G. L., Nóbrega J. A.: *Trends Anal. Chem.* 45, 79 (2013).
- Chuchvalec P., Novák J. P.: *Chem. Listy* 101, 989 (2007).
- Wai C. M., Wang S. F.: *J. Chromatogr. A* 785, 369 (1997).
- Kirchner M., Matisová E.: *Chem. Listy* 98, 396 (2004).
- deCastro M. D. L., Tena M. T.: *Trends Anal. Chem.* 15, 32 (1996).
- Lojková L., Vejrosta J.: *Chem. Listy* 92, 988 (1998).
- Laintz K. E., Wai C. M., Yonker C. R., Smith R. D.: *Anal. Chem.* 64, 2875 (1992).
- Wai C. M., Lin Y. H., Brauer R., Wang S. F., Beckert W. F.: *Talanta* 40, 1325 (1993).
- Foy G. P., Pacey G. E.: *Talanta* 51, 339 (2000).
- Ashraf-Khorassani M., Combs M. T., Taylor L. T.: *J. Chromatogr. A* 774, 37 (1997).
- Herrero M., Mendiola J. A., Cifuentes A., Ibáñez E.: *J. Chromatogr. A* 1217, 2495 (2010).
- Pourmortazavi S. M., Nasrabadi M. R., Hajmirsadeghi S. S.: *Curr. Anal. Chem.* 10, 3 (2014).
- Tian G., Liao C. M., Rao L.: *Ind. Eng. Chem. Res.* 47, 2803 (2008).
- Teo C. C., Tan S. N., Yong J. W. H., Hew C. S., Ong E. S.: *J. Chromatogr. A* 1217, 2484 (2010).
- Zychová M., Růžičková M., Macák J., Janda V.: *Chem. Listy* 107, 126 (2013).
- Gajdoš M., Varhola M.: *Chem. Listy* 107, 848 (2013).
- Kronholm J., Hartonen K., Riekkola M. L.: *Trends Anal. Chem.* 26, 396 (2007).
- Chen Y., Guo Z. P., Wang X. Y., Qiu C. G.: *J. Chromatogr. A* 1184, 191 (2008).
- Hawthorne S. B., Yang Y., Miller D. J.: *Anal. Chem.* 66, 2912 (1994).
- Priego-Lopez E., de Castro M. D. L.: *Talanta* 58, 377 (2002).
- Fernández-Pérez V., Jiménez-Carmona M. M., Luque de Castro M. D.: *Anal. Chim. Acta* 433, 47 (2001).
- Fernández-Pérez V., Jiménez-Carmona M. M., Luque de Castro M. D.: *J. Anal. At. Spectrom.* 14, 1761 (1999).
- Morales-Muñoz S., Luque-García J. L., Luque de Castro M. D.: *Spectrochim. Acta, Part B* 58, 159 (2003).
- Morales-Riffo J. J., Richter P.: *Anal. Bioanal. Chem.* 380, 129 (2004).
- Akinlua A., Smith R. M.: *Talanta* 81, 1346 (2010).
- Rey-Rubio R., Moreda-Pineiro J., Alonso-Rodriguez E., Lopez-Mahia P., Muniategui-Lorenzo S., Prada-Rodriguez D.: *At. Spectrosc.* 33, 179 (2012).
- Varade C. M. R., de Castro M. D. L.: *J. Anal. At. Spectrom.* 13, 787 (1998).
- Priego-Capote F., Luque de Castro M. D.: *J. Biochem. Biophys. Methods* 70, 299 (2007).
- Lavilla I., Vilas P., Bendicho C.: *Food Chem.* 106, 403 (2008).
- Huerga A., Lavilla I., Bendicho C.: *Anal. Chim. Acta* 534, 121 (2005).
- Kazi T., Siddiqui A., Kazi G., Arain M., Afridi H.: *Chemosphere* 63, 411 (2006).
- Bendicho C., De La Calle I., Pena F., Costas M., Cabaleiro N., Lavilla I.: *Trends Anal. Chem.* 31, 50 (2012).
- Rio-Segade S., Bendicho C.: *J. Anal. At. Spectrom.* 14, 263 (1999).
- Muñiz-Naviero O., Moreda-Piñeiro A., Bermejo-Barrera A., Bermejo-Barrera P.: *At. Spectrosc.* 25, 79 (2004).
- Bellido-Martin A., Gomez-Ariza J. L., Smichowsky P., Sanchez-Rodas D.: *Anal. Chim. Acta* 649, 191 (2009).
- Wang J., Ashley K., Marlow D.: *Anal. Chem.* 71, 1027 (1999).
- Yebra M. C., Cespon R. M.: *At. Spectrosc.* 29, 27 (2008).
- Filgueiras A. V., Lavilla I., Bendicho C.: *J. Environ. Monit.* 4, 823 (2002).
- Pérez G., Valiente M., Bendicho C.: *Open Anal. Chem. J.* 2, 40 (2008).
- Hwang S. S., Park J. S., Namkoong W.: *J. Ind. Eng. Chem.* 13, 650 (2007).
- Remeteiová D., Růžičková S., Rusnák R.: *Microchim. Acta* 163, 257 (2008).
- Pena-Pereira F., Lavilla I., Bendicho C.: *Trends Anal. Chem.* 29, 617 (2010).
- Pena-Pereira F., Lavilla I., Bendicho C.: *Anal. Chim. Acta* 669, 1 (2010).
- Jain A., Verma K. K.: *Anal. Chim. Acta* 706, 37 (2011).
- Abulhassani J., Manzoori J. L., Amjadi M.: *J. Hazard. Mater.* 176, 481 (2010).
- Nomngongo P. N., Ngila J. C., Msagati T. A. M., Modley B.: *Microchem. J.* 114, 141 (2014).
- Lopez-Garcia I., Rivas R. E., Hernandez-Cordoba M.: *Anal. Chim. Acta* 743, 69 (2012).

50. Guo X. Q., He M., Chen B. B., Hu B.: *Talanta* 101, 516 (2012).
51. Lopez-Garcia I. Rivas R. E., Hernandez-Cordoba M.: *Anal. Bioanal. Chem.* 369, 3097 (2010).
52. Ma J., Zhang J., Du X., Lei X., Li J.: *Microchim. Acta* 168, 153 (2010).
53. Rezaee M., Yamini Y., Faraji M.: *J. Chromatogr. A* 1217, 2342 (2010).
54. El-Shahawi M. S., Al-Saidi H. M.: *Trends Anal. Chem.* 44, 12 (2013).
55. Zgola-Grześkowiak A., Grześkowiak T.: *Trends Anal. Chem.* 30, 1382 (2011).
56. Herrera-Herrera A. V., Asensio-Ramos M., Hernández-Borges J., Rdríguez-Delgado M. A.: *Trends Anal. Chem.* 29, 728 (2010).
57. Leong M. I., Fuh M. R., Huang S. D.: *J. Chromatogr. A* 1335, 2 (2014).
58. Saraji M., Boroujeni M. K.: *Anal. Bioanal. Chem.* 406, 2027 (2014).
59. Dittert I. M., Vitali L., Chaves E. S., Maranhao T. A., Borges D. L. G., de Favere V. T., Curtius A. J.: *Anal. Methods* 6, 5584 (2014).
60. Rastegarzadeh S., Pourreza N., Larki A.: *Anal. Methods* 6, 3500 (2014).
61. Hagarová I.: *Chem. Listy* 108, 949 (2014).
62. Pytlakowska K., Kozik V., Dabioch M.: *Talanta* 110, 202 (2013).
63. Sanz-Medel A., Campa M. D. F., Gonzalez E. B., Fernandez-Sanchez M. L.: *Spectrochim. Acta, Part B* 54, 251 (1999).
64. Quina F. H., Hinze W. L.: *Ind. Eng. Chem. Res.* 38, 4150 (1999).
65. Stalikas C. D.: *Trends Anal. Chem.* 21, 343 (2002).
66. Burguera J. L., Burguera, M.: *Talanta* 64, 1099 (2004).
67. Paleologos E. K., Giokas D. L., Karayannis M. I.: *Trends Anal. Chem.* 24, 426 (2005).
68. de Almeida-Bezerra M., Zezzi-Arruda M. A., Costa-Ferreira S. L.: *Appl. Spectrosc. Rev.* 40, 269 (2005).
69. Silva M. F., Cerutti E. S., Martinez L. D.: *Microchim. Acta* 155, 349 (2006).
70. Hagarová I.: *Chem. Listy* 103, 712 (2009).
71. Arain S. A., Kazi T. G., Afridi H. I., Abbasi A. R., Panhwar A. H., Naeemullah A., Shanker B., Arain M. B.: *Spectrochim. Acta, Part A* 133, 651 (2014).
72. Arain S. S., Kazi T. G., Arain M. B., Afridi H. I., Brahman K. D., Naeemullah A.: *Microchem. J.* 112, 42 (2014).
73. Deng J., Yang Y., Wang X., Luan T.: *Trends Anal. Chem.* 55, 55 (2014).
74. Aziz-Zanjani M. O., Mehdinia A.: *Microchim. Acta* 181, 1169 (2014).
75. Mehdinia A., Aziz-Zanjani M. O.: *Trends Anal. Chem.* 51, 13 (2013).
76. Risticovic S., Niri V. H., Vuckovic D., Pawliszyn J.: *Anal. Bioanal. Chem.* 393, 781 (2009).
77. Otu E. O., Pawliszyn J.: *Mikrochim. Acta* 112, 41 (1993).
78. Jia C. R., Luo Y. Z., Pawliszyn J.: *J. Microcolumn Sep.* 10, 167 (1998).
79. Yu X. M., Yuan H. D., Gorecki T., Pawliszyn J.: *Anal. Chem.* 71, 2998 (1999).
80. Mester Z. N., Lam J., Sturgeon R., Pawliszyn J.: *J. Anal. At. Spectrom.* 15, 837 (2000).
81. Wu J. C., Mester Z., Pawliszyn J.: *J. Anal. At. Spectrom.* 16, 159 (2001).
82. Parkinson D. R., Bruheim I., Christ I., Pawliszyn J.: *J. Chromatogr. A* 1025, 77 (2004).
83. Yu X. M., Pawliszyn J.: *Anal. Chem.* 72, 1788 (2000).
84. Halko R., Hutta M.: *Chem. Listy* 101, 649 (2007).
85. Eskilsson C. S., Björklund E.: *J. Chromatogr. A* 902, 227 (2000).
86. Canepari S., Cardarelli E., Ghighi S., Scimonelli L.: *Talanta* 66, 1122 (2005).
87. Pazos-Capeans P., Barciela-Alonso M. C., Bermejo-Barrera A., Bermejo-Barrera P.: *Talanta* 65, 678 (2005).
88. Arain M. B., Kazi T. G., Jamali M. K., Baig J. A., Afridi H. I., Jalbani N., Sarfraz R. A.: *Pedosphere* 19, 476 (2009).
89. Castillo M. L. A., Alonso E. V., Cordero M. T. S., Pavon J. M. C., de Torres A. G.: *Microchem. J.* 98, 234 (2011).
90. Jamali M. K., Kazi T. G., Arain M. B., Afridi H. I., Jalbani N., Kandhro G. A., Shah A. Q., Baig J. A.: *J. Hazard. Mater.* 163, 1157 (2009).
91. Oliveira A., Baccan N., Cadore S.: *J. Brazil. Chem. Soc.* 23, 838 (2012).
92. Oztan S., Doring R. A.: *Talanta* 99, 594 (2012).
93. Czarnecki S., Doring R. A.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 94, 801 (2014).
94. Chand V., Prasad S.: *Microchem. J.* 111, 53 (2013).
95. Krishna M. V. B., Chandrasekaran K., Venkateswarlu G., Karunasagar D.: *Anal. Methods* 4, 3290 (2012).

**I. Hagarová** (*Institute of Laboratory Research of Geomaterials, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic*): **Extractions Complying With the Principles of Green Chemistry Used in Trace Analysis of Metals**

An increasing interest in rapid, cost-effective, and environment-friendly sample preparation techniques leads to the development of extractions which are compatible with the principles of green chemistry. This review provides basic principles and current applications of the extractions useful in (ultra)trace analysis of metals. These techniques include: supercritical fluid extraction, pressurized hot-water extraction, ultrasound-assisted extraction, liquid-liquid microextraction, dispersive liquid-liquid microextraction, cloud point extraction, solid-phase microextraction, and microwave-assisted extraction.