

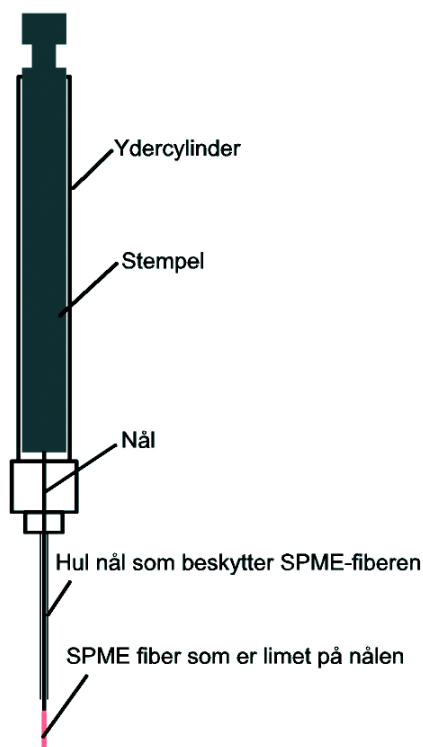
Solventfri ekstraktion med fastfase mikroekstraktion

Fastfase mikroekstraktion er en alternativ ekstraktionsmetode, der kan erstatte mange ekstraktioner med organiske opløsningsmidler

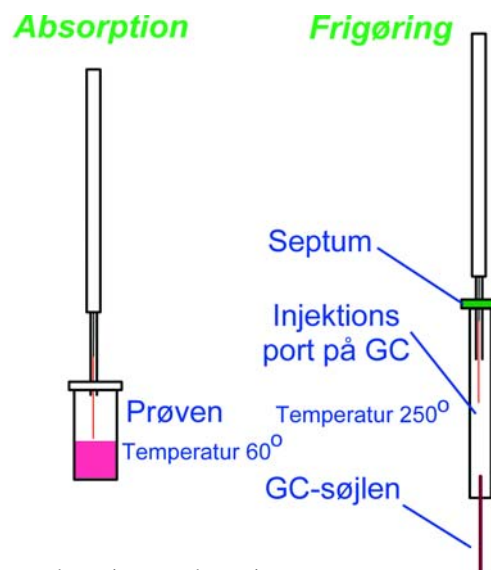
Af **Mogens T. Jensen**, Danmarks JordbrugsForskning, mogenst.jensen@agrsci.dk, **Johnny W. Madsen**, Analycen, joma@analycen.dk og **Lars Petersen**, Aalborg Universitet Esbjerg, lape@ave.au.dk

Fastfase mikroekstraktion (engelsk: Solid Phase Micro-Extraction – SPME) er en relativ ny solventfri ekstraktionsteknik, der er ved at vinde indpas på mange laboratorier. Teknikken blev oprindeligt udviklet til ekstraktion af pesticider fra vand, men har siden vist sig at være velegnet til mange andre stofgrupper.

Ved Afdeling for Animalske Fødevarer, Danmarks JordbrugsForskning, er der arbejdet med teknikken siden 1996, og SPME er anvendt til analyse af aromastoffer i kød og mælk. Derudover er metoden brugt til analyse af flygtige forbindelser i indholdet fra mave-tarmkanalen fra grise, gødning, bakteriekulturremedie, gyllelugt og staldlugt.



Figur 1.
Opgbygning af holder til SPME-fiberen
Holderen består af et stempel, hvorpå en nål er monteret. I spidsen af nålen er SPME-fiberen limet på. Fiberen er beskyttet af en hul nål, som anvendes til gennemboring af septa.



Figur 2.
Arbejdsgang – absorptions- og desorptionsprocessen
Septa på prøvebeholderen gennembøres af den hule nål, og fiberen skydes ud i gasfasen over prøven. Efter en passende absorptionstid trækkes fiberen op i nålen, og nålen trækkes ud af septaet. Ved frigøring af stofferne fra fiberen gennembøres septa på gaschromatografens injektionsport, og fiberen skydes ud. På grund af den høje temperatur frigøres de absorberede forbindelser.

SPME-teknikken

Kernen i SPME er en tynd fiber coatet med et absorberende materiale. Det absorberende materiale varierer efter, hvilke forbindelser man ønsker at analysere. Fiberen er monteret i en beskyttende hul nål (figur 1). Der kan ekstraheres fra gas- eller væskefasen.

Ekstraktionen foregår ved, at nålen føres igennem septa på prøveflasken, fiberen skubbes ud af nålen og frilægges derved i prøven. Efter absorption i f.eks. 1 minut trækkes fiberen op i nålen igen, og nålen overføres til injektionsporten på gaschromatografen, hvorefter fiberen skubbes ud igen (figur 2). Pga. den høje temperatur i injektionsporten, typisk 250°C, frigøres forbindelserne, og resultatet er et ordinært chromatogram dog uden solventtop, som kendes fra væskeinjektion (figur 3, side 30).

Ekstraktionsteknikken kan anvendes til gaschromatografi (GC) eller højtryks-væskechromatografi (HPLC), dog primært til GC. Da ekstraktionen er solventfri undgås injektionstoppen i gaschromatogrammet. Det betyder, at injektionen kan foregå uden split, hvilket øger analysens følsomhed. Samtidig bliver forbindelser, som normalt er sammenfaldende med solventtoppen, detekterbare, hvilket er specielt værdifuldt ved letflygtige forbindelser.

Gratis net-registrering
www.scanlab.dk

Scanlab 2002 + Pharmatech 2002 = Formlen til ny viden

Udstillere - www.scanlab.dk

7. tekniske messe og konference for laboratorieudstyr, måleteknik og processtyring. 1. tekniske messe for leverandører til medicinalindustrien, den medicotekniske branche, helsekostindustrien samt for producenter af medicinsk udstyr.

I alt mere end 120 stande med over 1.000 firmaer, der viser det sidste nye inden for messernes produktområder.

Konference - www.scanlab.dk

Kvalitetsstyring er det overordnede tema for "gratis-konferencen", hvor der ikke er forhåndstilmelding.

Emnerne er delt i

- Miljø og levnedsmiddelteknologi samt proceskontrol og feltmålinger
- Kliniske laboratorier
- Laboratorier i kemi- og medicinalindustrien
- Laboratorieteknik til molekylærbiologi og genetik.

Præ-registrering - www.scanlab.dk

Der er gratis adgang for alle, der præ-registrerer deres besøg via internettet inden 12. august. Fagfolk har gratis adgang m/invitationskort og m/rabatbillet er entreen kr. 25. Øvrige fagfolk: Kr. 100.

Åbningstid: Daglig kl. 8.30 – 16.00.

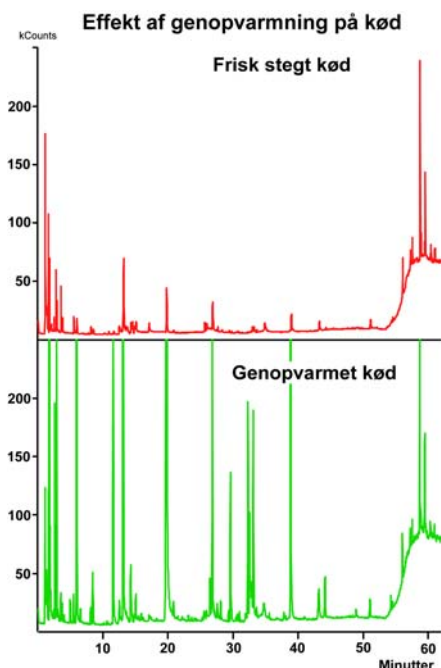
Bella Center A/S · Center Boulevard · 2300 København S

Tlf.: 32 52 88 11 · Fax: 32 51 96 36 · E-mail: info@scanlab.dk · www.scanlab.dk

Scanlab

Pharmatech

2.-5. september 2002 i Bella Center, København



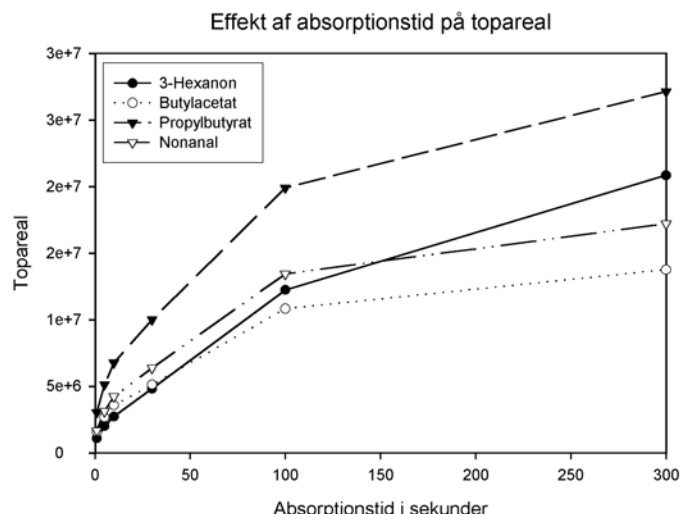
Figur 3.
Eksempel på chromatogrammer af aromaprofiler af henholdsvis friskstegt og genopvarmet kød

Tre gram tilberedt kød i tynde skiver i 10 ml prøveflasker ekvilibres ved 65°C i 5 minutter. SPME-ekstraktion i 1 minut, derefter overførsel af SPME-fiber til gaschromatografens injektionsport for desorption.

Ekstraktion

Selve ekstraktionen bygger på ligevægte mellem væske- og gasfase og mellem gasfase og fiber. Dvs. at analyseoptimeringen bygger på særlig hensyntagen til disse ligevægte. Parametre som omrøring, temperatur, ekvilibreringsstid, ekstraktionstid, fiber-type, pH og saltkoncentration (vandaktivitet) i prøven har betydning for, hvor hurtigt ligevægtene nås.

I mange tilfælde indstilles ligevægtene aldrig i praksis, hvorfor man kan benytte sig af to forskellige teknikker: Korttids- eller langtidsekstraktion/ligevægtsekstraktion. De to metoder kan bedst forklares ved at se på en såkaldt »ekstraktionsstidsprofil« (figur 4).



Figur 4.
Effekt af absorptionsstid på topareal

En standardblanding blev ekstraheret med en SPME-fiber i et variabelt antal minutter og toparealerne plottet som funktion af ekstraktionstiden. Først efter mere end 300 sekunder begynder fibren at komme i ligevægt med forbindelserne i luftfasen.

Det ses af figuren, at man ved kvalitative analyser ofte kan vælge en kort ekstraktionstid (i starten af profilen). Ønsker man at foretage kvantitative analyser, er det en fordel for præcisionen at vælge en lang ekstraktionstid på det flade stykke af profilen, hvor små udsving i ekstraktionstid har lille indflydelse på resultatet. Alternativt kan en kortere ekstraktionstid anvendes, men det kræver en omhyggelig kontrol af ekstraktionstiden, f.eks. vha. en autosampler.

Også frigørelsestid og temperatur i injektionsporten har en vis betydning. Ligger temperaturen af injektionsporten omkring fiberens maksimumtemperatur, er frigørelsestiden mindre vigtig.

Kvantificering

Kvantificering af flygtige forbindelser vha. SPME foregår som ved væskeekstraktion med opsætning af standardkurver. Et specielt problem ved SPME er fiberens følsomhed over for organiske opløsningsmidler. Disse får coatingmaterialet til at svulme op, hvorved det skrælles af, når fibren trækkes op i nålen. Da man som regel anvender organiske opløsningsmidler til opløsning af aromastoffer og andre flygtige forbindelser, kan

Damptryk af udvalgte opløsningsmidler

Solvent	Damptryk mBar
DMSO	0,6
Benzylalkohol	0,02
Propylencarbonat	1,6
Cyclohexanol	1,3
Decan	1,3
Diethylether	588
Hexan	160
Methanol	128
Vand	17,5

Tabel 1.

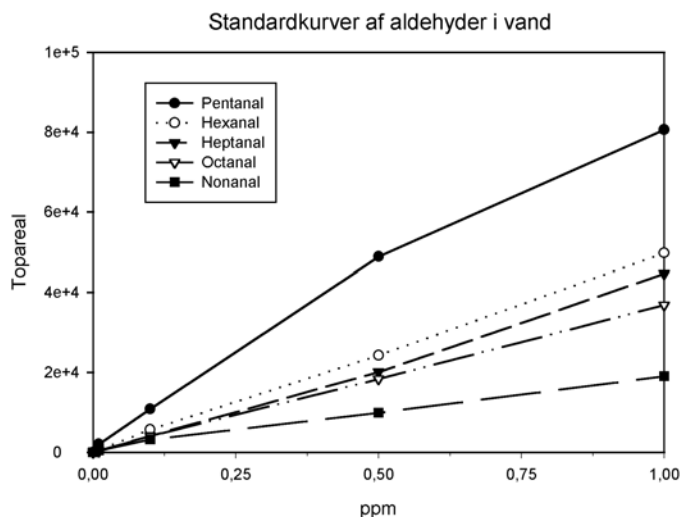
fiberens følsomhed over for disse være et problem, idet det er problematisk at nå tilstrækkelig høj koncentration, når man forsøger at opløse stofferne i vand. Det er især et problem, hvis stofferne forekommer i høj koncentration i prøven.

Problemet kan løses ved at fortynde prøven eller ved at bruge et solvent til opløsning af standarderne, som har et lavt damptryk. Ved at anvende et opløsningsmiddel med et lavt damptryk undgår man at opløsningsmidlet giver en stor top i chromatogrammet. Tabel 1 viser udvalgte solventer med lavt damptryk og sammenligning med almindeligt anvendte solventer.

Kvantificering ved SPME bygger, som ved væskeinjektion, på standardkurver over de stoffer, der ønskes kvantificeret. Ekstraktionen behøver ikke nødvendigvis at være optimeret, så der er opnået ligevægt mellem alle faser. Men det er vigtigt, at ekstraktionsparametrene overholdes nøje ved alle ekstraktionerne, så der anvendes samme betingelser ved standarder og ved analyse af prøverne. Brug af intern standard og autosampler er en god ide.

Måling af oxidationsforløbet i kød

I cateringbranchen, der ofte bruger genopvarmning af tilberedt kød, er der problemer med uønsket dannelse af oxidationsprodukter. Her er aldehyddannelsen fra umættede fedtsyrer særligt markant og kan anvendes som indikatorer for oxidationsprocesserne. Figur 3 viser chromatogrammer af



Figur 5.
Standardkurver af aldehyder i vand
En serie standardblandinger af aldehyder i vand blev ekstraheret med en polydimethylsiloxan/carboxenfiber i 10 sekunder, hvorefter de analyseredes på en gaschromatograf.

henholdsvis friskstegt og genopvarmet kød. Det genopvarmede kød har bl.a. markante toppe af aldehyderne pentanal og hexanal. Kvantificering af aldehyderne er derfor interessant i forbindelse med måling af oxidationsforløbet af fedtsyrerne i tilberedte kødprodukter. Figur 5 viser et eksempel på standard-

kurver af en serie homologe aldehyder i vand i koncentrationssområdet 0 til 1 ppm med følgende ekstraktionsbetingelser: 2 ml væske i en 10 ml prøveflaske tempereret til 40°C og ekstraktion med en polydimethylsiloxan/carboxenfiber i 10 sekunder. Korrelationen mellem koncentration og topareal er lineær, og kvantificering er derfor mulig, undtagen for pentanal, som viser en svag afbøjning ved den højeste koncentration.

Fremtidig brug af SPME

SPME-fibre holder normalt til ca. 100 analyser, hvorefter de må kasseres. Med en pris på omkring 500 kr. pr. fiber er dette overkommeligt, da væskeekstraktionstrin helt kan undgås. SPME er, pga. den simple prøveforberedelse og mulig automatisering af ekstraktion og injektion med autosamplers, særlig velegnet til screening af prøver for tilstedeværelsen af specifikke forbindelser.

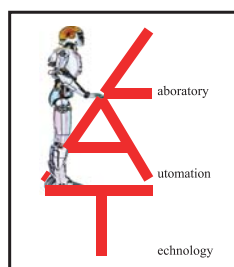
Til indkøring og afprøvning af teknikken kan man for et mindre beløb anskaffe fiberholdere til manuel prøvetagning og injektion.

Kilder

Pawliszyn, J. 1997. Solid Phase Microextraction, Theory and Practice. Wiley, New York. 247 pp.

Pawliszyn, J. (Red.) 1999. Applications of Solid Phase Microextraction. The Royal Society of Chemistry Chromatography Monographs. Cambridge. 655 pp.

Internetadresse med applikationer med SPME
<http://www.agrsci.dk/anf/MTJ/spme-ref.htm>



Skræddersyet laboratorieautomatisering



Automatiske dissolutionudstyr vinder mere og mere frem. Her er et af utallige eksempler fra Laboratory, Automation & Technology A/S.

Systemet kan håndtere op til 8 batch automatisk, med dosering af medier, tabletter, rengøring, on line UV eller HPLC eller off line opsamling til do.

Kom og besøg os på Scanlab 2002, stand nr. H057 eller ring for mere info..



Dissolution

Medie og tablettilsætning

Laboratory, Automation & Technology A/S

Tlf 70237740, fax 70237741, e-mail info@lat-int.com www.lat-int.com