

- Τίτλος μαθήματος και κωδικός μαθήματος:

- Σύγχρονες αναλυτικές τεχνικές, 715

- Εμμανουήλ Χ. Σεμιδαλάς

- emmanous@chem.uoa.gr

- Ημέρα, Ώρα, και Τοποθεσία:

Παρασκευή, 9:00 – 12:00, Μεγάλη Αίθουσα Αναλυτικής Χημείας

- Βαθμός: Γραπτές εξετάσεις

- Σύγγραμμα: Σημειώσεις που βασίζονται κυρίως στο βιβλίο των Skoog, Holler, Nieman, Αρχές της Ενόργανης Ανάλυσης, καθώς επίσης και στις διαλέξεις των καθηγητών του τμήματος Χημείας των προηγούμενων ετών

- Ώρες γραφείου: Διαθέσιμος μέσω email ή τηλ.: 210-7274551

Εισαγωγή: Σύγχρονες αναλυτικές τεχνικές

Η αναλυτική χημεία ασχολείται με τον προσδιορισμό χημικής σύνθεσης ενώσεων

Η χημική ανάλυση γίνεται με:

- α) ποιοτικές μεθόδους → πληροφορίες για ταυτότητα ατομικών/μοριακών ειδών ή των δραστικών ομάδων ενός δείγματος
- β) ποσοτικές μεθόδους → αριθμητικές πληροφορίες ως προς σχετική ποσότητα των χημικών ειδών

Ορισμοί: αναλύτες (analytes) → συστατικό ενός συστήματος προς ανάλυση

Κλασικές μέθοδοι

- Βαρυμετρία
- Τιτλομετρία

Ενόργανες μέθοδοι

- Οπτικές μέθοδοι → εκπομπή/απορρόφηση ακτινοβολίας λόγω μάζας-προς-φορτίο, σκέδαση ακτινοβολίας, ... (φασματοσκοπία, πολωσιμετρία, φασματομετρία μαζών)
- Ηλεκτροαναλυτικές μέθοδοι (Ποτενσιομετρία, Βολταμετρία)

Γενικές ερωτήσεις για την επιλογή κατάλληλης αναλυτικής μεθόδου

Ερωτήσεις
1) Ποιά είναι η επιθυμητή αναλυτική ακρίβεια;
2) Πόσο δείγμα υπάρχει διαθέσιμο;
3) Ποιά η περιοχή συγκεντρώσεως του αναλύτη;
4) Ποιά συστατικά του δείγματος θα προκαλέσουν παρεμποδίσεις;
5) Ποιές οι φυσικοχημικές ιδιότητες της μήτρας του δείγματος;
6) Πόσα δείγματα θα αναλυθούν;

1^η ερώτηση → καθοριστική

2^η και 3^η ερώτηση → ευαισθησία

4^η ερώτηση → εκλεκτικότητα

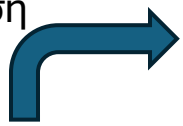
Ταχύτητα > Ευκολία/Καταλληλότητα > Επιδεξιότητα χρήστη > Κόστος οργάνων/
δείγματος

Βασικά στάδια της ανάλυσης ενός δείγματος

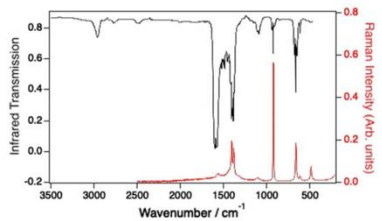
Μεταφορά
+ Αποθήκευση
Δείγματος



Δειγματοληψία



Προκατεργασία +
προετοιμασία
δείγματος

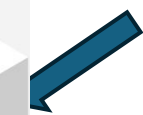


Χημική ανάλυση δείγματος



**1%
MeOH**

Ανάλυση δεδομένων



Παρουσίαση πειραματικών
αποτελεσμάτων και συμπερασμάτων

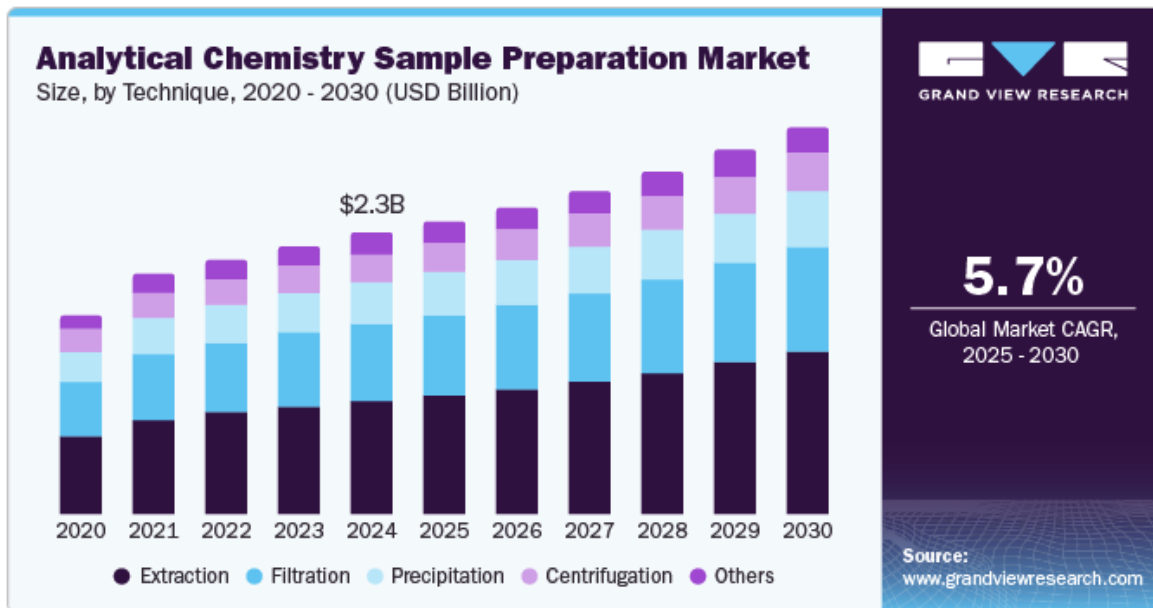
Τι περιλαμβάνει η προκατεργασία του δείγματος;

- Το δείγμα πρέπει να είναι σε μορφή που να επιτρέπει την αποτελεσματικότερη προκατεργασία (π.χ. ξήρανση, κοσκίνισμα, άλεση κ.λ.,π.). Τα πιο λεπτόκοκκα δείγματα είναι ευκολότερο να χρησιμοποιηθούν για τη λήψη αντιπροσωπευτικού δείγματος και να διαλυθούν ή να εκχυλιστούν.
- Ζύγιση ή ογκομετρική αραίωση
Λάβετε τα απαραίτητα προληπτικά μέτρα για δραστικά ή βιολογικά υλικά.
Για την αραίωση, χρησιμοποιήσατε βαθμονομημένα ογκομετρικά υάλινα σκεύη
- Εναλλακτικές μέθοδοι επεξεργασίας δειγμάτων
Αλλαγή διαλύτη, αφαλάτωση, εξάτμιση, λυοφιλίωση κ.λπ.
- Αφαίρεση σωματιδίων
Διήθηση, φυγοκέντρηση, εκχύλιση στερεάς φάσης.
Εκχύλιση δείγματος: Μέθοδος για υγρά δείγματα και στερεά δείγματα



Λυοφιλοποιημένες γαρίδες

Διεθνείς τάσεις στην αγορά προετοιμασίας δειγμάτων



Πηγή
<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/analytical-chemistry-sample-preparation-market-report>

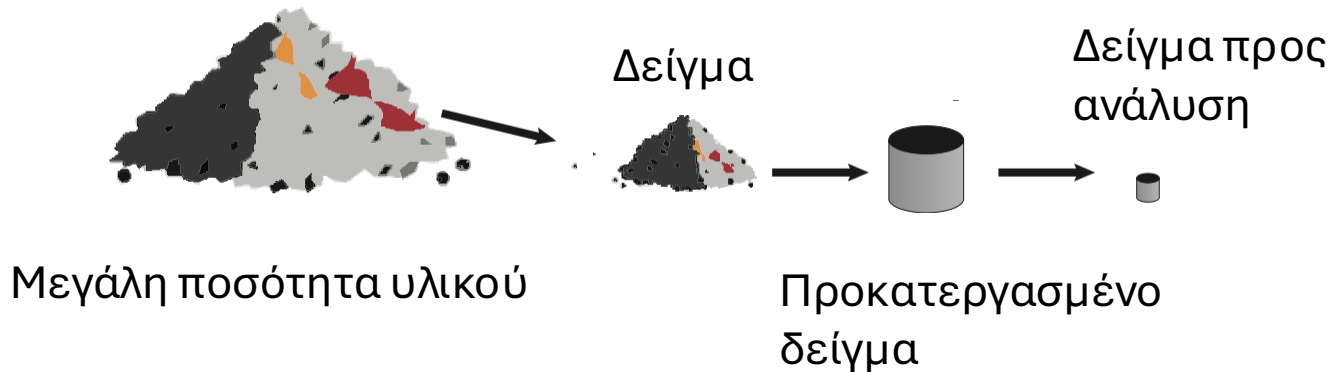
Επίδραση μετά τον COVID: Η πανδημία ανέδειξε την ανάγκη για αποτελεσματική, προσαρμόσιμη και αυτοματοποιημένη προετοιμασία δειγμάτων.

Αυξανόμενη ζήτηση: Ανάπτυξη που οφείλεται στις ανάγκες των φαρμακευτικών, των τροφίμων και χημείας περιβάλλοντος. Αυτοματοποίηση και αποδοτικότητα

Σημαντικές ερωτήσεις για την προετοιμασία δείγματος

Ερώτηση	Παράδειγμα/Σχόλιο
Ποιά αναλυτική τεχνική θα πρέπει να επιλέξω;	LC-UV, LC/MS, GC/MS, ... Τελικό δείγμα να είναι συμβατό με αναλυτική τεχνική
Βέλτιστος χρόνος ανάλυσης;	1 min, 10 min, 5 h, περισσότερο
Πώς θα γίνει η ποσοτικοποίηση;	Εξωτερικό ή εσωτερικό πρότυπο; Υπάρχουν πρότυπα; Χρειάζονται πολλά;
Επιθυμητά επίπεδα συγκεντρώσεων;	Ίχνη; Π.χ., sub-ppb;
Μήτρα του δείγματος;	Οργανική, βιολογική, ανόργανη, στερεά, ημιστερεά, υγρή, gel, αέρια μήτρα
Όγκος/μάζα του δείγματος;	mL vs. L, mg vs. kg, ...
Ποιοί οι παρεμποδιστές;	Πιο κοντά στην φύση της μήτρας ή αναλύτη;
Βήματα προκατεργασίας;	Αραίωση, διήθηση, ρύθμιση pH

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Στερεά δείγματα Ι



- Χρειάζεται αντιπροσωπευτικό δείγμα
- Συχνά λαμβάνεται μεγάλη ποσότητα δείγματος και κατόπιν μειώνεται η μάζα του

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Στερεά δείγματα II

Παραδοσιακές τεχνικές:



Τεχνική	Αρχές τεχνικής	Σχόλιο
Εκχύλιση στερεού-υγρού	Προσθήκη διαλύτη στο δείγμα διήθηση για διαχωρισμό	Κατάλληλο για λεπτά στερεά
Εκχύλιση Soxhlet	Αναρροή διαλύτη μέσω δακτυλίου; συλλογή αναλύτη	Ιδανικό για σκόνες; εξαιρετική ανάκτηση
Ομοιογενοποίηση	Ανάμειξη δείγματος με διαλύτη	Για ιστούς/τρόφιμα Ο ξηρός πάγος χρήσιμος
Υπέρηχοι	Ο υπέρηχος αναδεύει έντονα στην επιφάνεια λεπτόκοκκου στερεού υλικού	Γρήγορη, ασφαλής; η θερμότητα αυξάνει την ταχύτητα; καλή για κόκκους
Διάλυση	Χρήση διαλύτη με ή χωρίς χημική μεταβολή	Χρειάζεται οξύ/βάση Συχνά απαιτείται διήθηση

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Στερεά δείγματα III

Εκχύλιση στερεάς κατάστασης



Βασικά σημεία

- Επιλεκτική προσρόφηση αναλύτη σε στερεό απορροφητικό μέσο
- Υψηλή απόδοση και κατάλληλη για ανάλυση υψηλής απόδοσης
- Χαμηλότερη χρήση διαλύτη → πιο οικολογική και φθηνότερη
- Εύκολη αυτοματοποίηση → αναπαραγώγιμη, χαμηλό σφάλμα
- Κατάλληλη για σύνθετες μήτρες
- Υψηλότερο κόστος (φυσίγγια, απορροφητικά μέσα)
- Περιορισμένη για μεγάλους όγκους δειγμάτων

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Στερεά δείγματα IV

Εκχύλιση Soxhlet



Σκοπός: Αποτελεσματική εκχύλιση ενώσεων από στερεά με επαναλαμβανόμενους κύκλους διαλύτη.

1. Προετοιμασία: Τοποθετήσατε το στερεό δείγμα στο δακτύλιο μέσα στη συσκευή Soxhlet. Προσθέσατε διαλύτη στη φιάλη.
2. Θέρμανση: Θερμάνετε τη φιάλη για να εξατμιστεί ο διαλύτης.
3. Συμπύκνωση: Ο ατμός συμπυκνώνεται στον συμπυκνωτή.
4. Εκχύλιση: Ο συμπυκνωμένος διαλύτης στάζει πάνω στο δείγμα, διαλύοντας τις ενώσεις.
5. Σιφωνισμός: Μόλις γεμίσει ο θάλαμος, το εκχύλισμα επιστρέφει στη φιάλη.
6. Κύκλος: Η διαδικασία επαναλαμβάνεται, εξασφαλίζοντας πλήρη εκχύλιση.

Corning™ PYREX™ Extractor System
with Soxhlet Extractor and Allihn Condenser

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Στερεά δείγματα V

Παράδειγμα

Η τεχνική εκχύλισης Soxhlet με αιθανόλη είναι αποτελεσματική για διαχωρισμό των 9 κοινών ουσιών της κανέλλας.

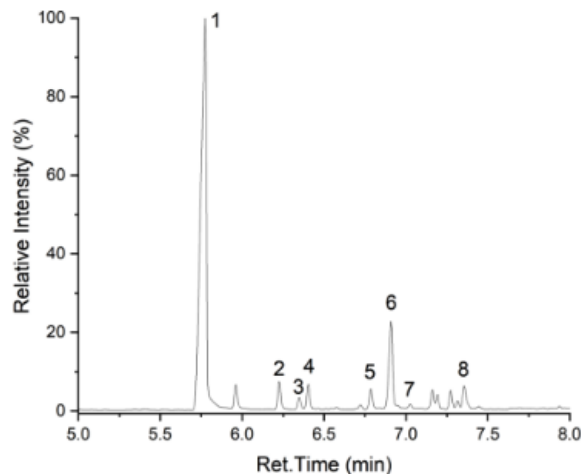
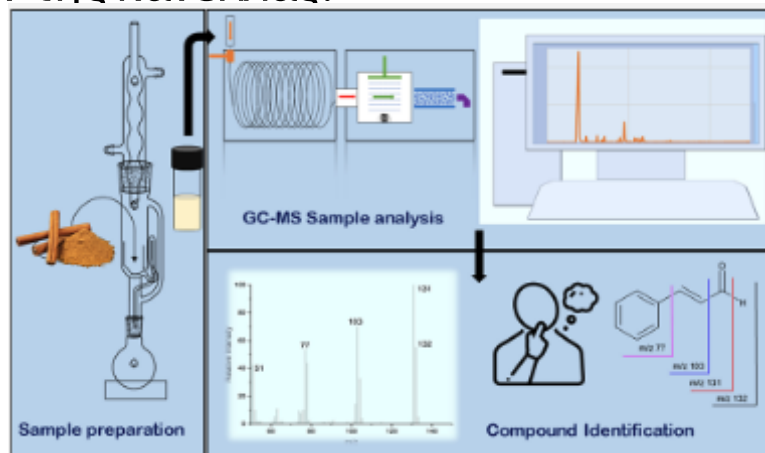


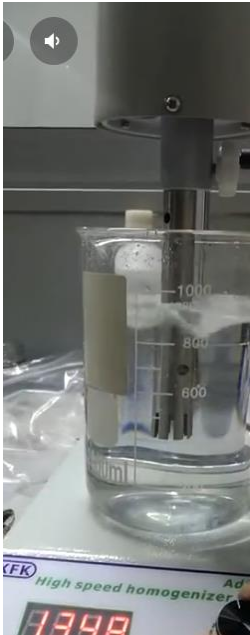
Figure 1. GC of cassia cinnamon (*Cinnamomum aromaticum*) extract: 1, cinnamaldehyde, RT 5.8 min; 2, eugenol, RT 6.2 min; 3, ethyl cinnamate, RT 6.3 min; 4, copaene, RT 6.4 min; 5, cinnamyl acetate, RT 6.8 min; 6, coumarin, RT 6.9 min; 7, cubebene, RT 7.0 min; 8, *o*-methoxy cinnamaldehyde, RT 7.4 min.



Cromwell et al., J. Chem. Educ., 2025, 102, 2042

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Στερεά δείγματα VI

Ομοιογενοποίηση



Ομοιογενοποιητής

- Κοινή μέθοδος προετοιμασίας δειγμάτων
- Μικρό δείγμα (10 mg–1 g)
- Παράγει ημιστερεό ομοιογενοποιημένο μείγμα για περαιτέρω ανάλυση.
- Η παρατεταμένη ανάμειξη ή η φυγοκέντρωση μειώνει τα μεγάλα σωματίδια.
- Ομοιογενοποιητές: συμπαγείς, εύχρηστοι, ελάχιστη εκπαίδευση. Θορυβώδεις
- Καθαρίσατε τον ανιχνευτή μεταξύ των δειγμάτων για να αποφύγετε την επιμόλυνση.

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Στερεά δείγματα VII

Σύγχρονες τεχνικές:



Τεχνική	Αρχές τεχνικής	Σχόλιο
Επιταχυνόμενη εκχύλιση με διαλύτη (ASE)	Ο θερμαινόμενος διαλύτης υπό πίεση εκχυλίζει τον αναλύτη.	Γρήγορη, αυτοματοποιημένη Απαιτεί δοχείο υψηλής πίεσης + συμπύκνωση.
Αυτοματοποιημένη εκχύλιση Soxhlet	Συνδυάζει εκχύλιση με θερμό διαλύτη και εκχύλιση Soxhlet	Ημιαυτοματοποιημένη. Λιγότερο διαλύτη. Ταχύτερη. Ανάκτηση διαλύτη
Εκχύλιση με υπερκρίσιμο υγρό (SF)	Το SF διέρχεται από το δείγμα, συλλέγεται η ανιχνευόμενη ουσία	Αυτοματοποιημένη/ χειροκίνητη; ρυθμιζόμενη πολικότητα
Εκχύλιση με μικροκύματα	Τα μικροκύματα θερμαίνουν το δείγμα	Δυνατή η χρήση υψηλής πίεσης; Γρήγορη, Προσοχή

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Στερεά δείγματα VIII

Επιταχυνόμενη εκχύλιση με διαλύτη (Accelerated Solvent Extraction, ASE)

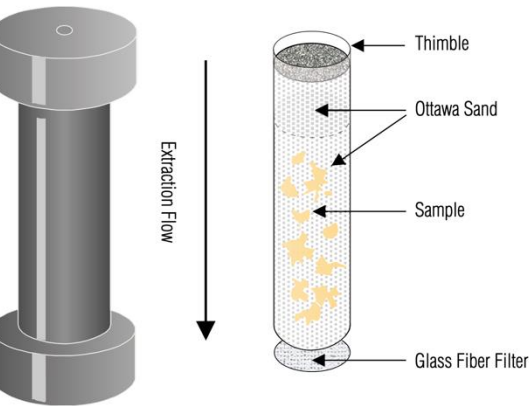


- Η ASE είναι μια τεχνική προετοιμασίας δειγμάτων που βελτιώνει την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης για στερεές/ημιστερεές μήτρες δειγμάτων μέσω της χρήσης αυξημένης θερμοκρασίας και πίεσης με οργανικούς και υδατικούς διαλύτες.
- Η ASE μειώνει τόσο τον χρόνο εκχύλισης όσο και τη χρήση διαλυτών, διότι αυξάνει την διαλυτική ισχύ, οι ρυθμοί διάχυσης είναι ταχύτεροι, το ιξώδες του διαλύτη μειώνεται και οι αλληλεπιδράσεις διαλύτη-μήτρας διαταράσσονται ευκολότερα ώστε να απομακρυνθεί ο αναλυτής
- ASE πιο συνεπής και αξιόπιστη από εκχύλιση Soxhlet

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Στερεά δείγματα ΙΧ

Επιταχυνόμενη εκχύλιση με διαλύτη (Accelerated Solvent Extraction, ASE)

Αρχή Λειτουργίας



Εξάρτημα της συσκευής
για εκχύλιση ASE πλη-
ρωμένο με δείγμα

- Το δείγμα τοποθετείται σε ειδικό δοχείο με διάφορα προσροφητικά υλικά. Κατόπιν, τοποθετείται στη συσκευή όπου θερμαίνεται (50 έως 200 °C). Η υψηλή πίεση που δημιουργείται στο δοχείο, επιτρέπει την θέρμανση σε συνθήκες πάνω από το σημείο ζέσεως και η υψηλή θερμοκρασία επιταχύνει την διάλυση των αναλυτών στο διαλύτη.

Η ASE είναι αποδεκτή για χρήση στην μέθοδο SW-846 3545A της Αμερικανικής Υπηρεσίας Προστασίας Περιβάλλοντος (EPA) για την εκχύλιση ημιπτητικών οργανικών ενώσεων, οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων, οργανοχλωρικών φυτοφαρμάκων, χλωριωμένων ζιζανιοκτόνων, PCB, PAH, διοξινών/φουρανίων

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Στερεά δείγματα ΙΧ
**Επιταχυνόμενη εκχύλιση με διαλύτη (Accelerated Solvent
Extraction, ASE)**
Αρχή Λειτουργίας



Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Στερεά δείγματα Χ

QuEChERS (διαβάζεται ‘catchers’)

Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe

- Εισήχθη το 2003. Χρησιμοποιείται ευρέως για την ανάλυση πολλαπλών καταλοίπων φυτοφαρμάκων σε φρούτα, λαχανικά, κρέας, ψάρια, αίμα και έδαφος.
- Απλή διαδικασία δύο σταδίων:

1. Εκχύλιση με αλάτι

(αρχικά με NaCl, τώρα με μεθόδους ρυθμιστικού διαλύματος για ευαίσθητες ενώσεις)

- Ρυθμιστικό διάλυμα οξικού οξέος/οξικού νατρίου
- Ή ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού νατρίου/κιτρικού οξέος

2. Καθαρισμός με εκχύλιση σε διασκορπισμένη στερεά φάση (dSPE)

- Χρησιμοποιεί απορροφητικά μέσα (C18, PSA, γραφίτη άνθρακα) για την απομάκρυνση των παρεμποδιστών της μήτρας.
- Επιτρέπει την άμεση έγχυση σε συστήματα GC/MS ή LC/MS.
- Απομονώνονται συστηματικά εκατοντάδες υπολείμματα φυτοφαρμάκων.
- Διατίθεται ως προσαρμόσιμο ή προ-συσκευασμένο kit για διάφορους τύπους δειγμάτων.

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Στερεά δείγματα XI

QuEChERS (1^ο στάδιο: Salting out extraction)



Weigh sample



Add water and QC spikes
if needed and spike
with internal standard



Add acetonitrile



Vortex or shake



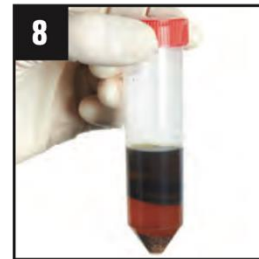
Add salt packet



Shake 1 minute



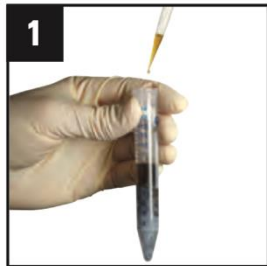
Centrifuge at 4000 rpm
for 5 minutes



Phase separation of acetonitrile
and aqueous layer

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Στερεά δείγματα XII

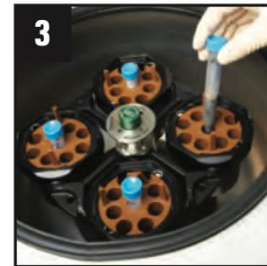
QuEChERS (2^ο στάδιο: Dispersive Solid Phase Extraction)



Choose the dispersive cleanup kit and add acetonitrile extract



Vortex for 1 minute



Centrifuge at 4000 rpm for 5 minutes



Take aliquot of supernatant and dry down or dilute as necessary



Place in autosampler vials for GC or LC analysis

The background of the slide is a close-up photograph of several bees on a golden honeycomb. The bees are yellow and black, and the honeycomb cells are hexagonal and filled with honey. A red horizontal bar is positioned across the top of the image, containing the Thermo Scientific logo.

thermo scientific

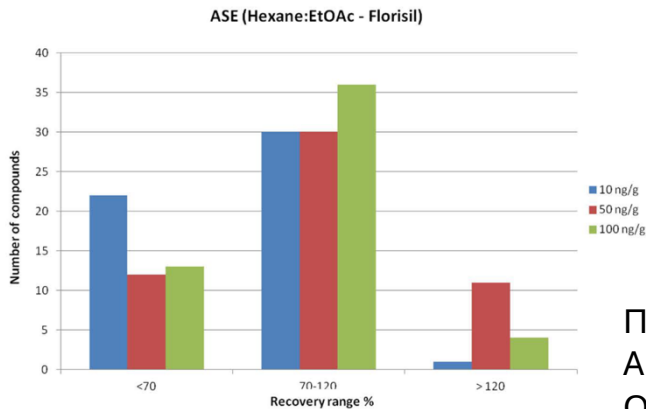
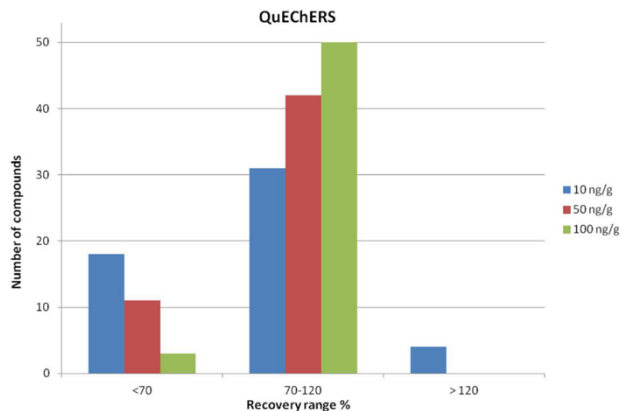
CUSTOMER APPLICATION NOTE 72442

Effectiveness of accelerated solvent extraction
compared to QuEChERS methods for the multiresidue
analysis of pesticides in organic honey by GC-MS/MS

Πηγή: <https://documents.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/CAN-72442-GC-MS-ASE-QuEChERS-Pesticides-Honey-CAN72442-EN.pdf>

Compound	Recovery %					
	QuEChERS			ASE*		
	Fortification Level (ng/g)			Fortification Level (ng/g)		
	Low 10	Medium 50	High 100	Low 10	Medium 50	High 100
Acrinathrin	47	61	96	64	138	113
Bifenthrin	88	88	79	74	76	80
Boscalid	66	80	87	82	140	n.d.
Bromopropylate	76	76	83	111	94	83
Buprofezin	72	83	84	61	75	72
Chlorfenvinphos	68	80	98	n.d.	9	13
Chlorfenvinphos-isomer 1	80	84	88	18	13	12
Chlorfenvinphos-isomer 2	80	84	88	18	13	12
Chlorothalonil	67	95	102	54	86	45
Chlorpyrifos-methyl	45	68	80	58	68	77
Cyfluthrin-isomer 1	58	58	71	72	98	103
Cyfluthrin-isomer 2	91	81	97	46	127	114
Cyfluthrin-isomer 3	64	72	92	21	99	88
Cyfluthrin-isomer 4	71	67	84	68	102	101

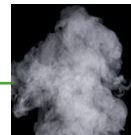
Πηγή: <https://documents.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/CAN-72442-GC-MS-ASE-QuEChERS-Pesticides-Honey-CAN72442-EN.pdf>



Η επιταχυνόμενη εκχύλιση με διαλύτη (ASE) με ενσωματωμένο καθαρισμό (χρησιμοποιώντας PSA ως παράγοντα συγκράτησης παρεμποδιστών) προσφέρει ταχύτερη εκχύλιση, μειωμένη χρήση διαλύτη και συνδυάζει την εκχύλιση και τον καθαρισμό σε ένα βήμα, σε σύγκριση με την κλασική μέθοδο QuEChERS. Σε μελέτες που αξιολόγησαν 53 φυτοφάρμακα στο μέλι, η ASE έδειξε καλύτερες ανακτήσεις, χαμηλότερα όρια ποσοτικοποίησης και υψηλότερη επαναληψιμότητα και γραμμικότητα σε σύγκριση με τη μέθοδο QuEChERS. Και οι δύο μέθοδοι είναι κατάλληλες, αλλά η ASE είναι πιο αποτελεσματική και οικονομικά αποδοτική για σύνθετες μήτρες μελιού.

Πηγή: <https://documents.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/CAN-72442-GC-MS-ASE-QuEChERS-Pesticides-Honey-CAN72442-EN.pdf>

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Αέρια δείγματα I

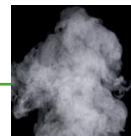


Τεχνική	Αρχές τεχνικής	Σχόλιο
Στιγμιαία δειγματοληψία	Συλλογή σε κενό δοχείο/σύριγγα	Για πτητικές ουσίες.
Παγίδευση σε στερεά φάση	Αέριο διοχετεύεται μέσω σωλήνα προσρόφησης (π.χ. Silica gel)	Για ημι-πτητικές ουσίες. Κρίσιμος ο ρυθμός ροής
Παγίδευση σε υγρή φάση	Αέριο που διοχετεύεται μέσω διαλύτη Αποφυγή αφρού. Δυνατή η προσθήκη συμπλοκοποιητικών παραγόντων	
Καθαρισμός & Παγίδευση	Συνεχής απομάκρυνση ατμών, παγίδευση αναλυτών, θερμική εκρόφηση σε GC	Για χαμηλές συγκεντρώσεις; πιο ευαίσθητο
Πυρόλυση	Θερμική διάσπαση μεγάλων μορίων σε πτητικά για GC	Σημαντικό για δομή και ταυτότητα ουσίας

ABB PGC5000 Series Process Gas Chromatographs PGC5000 Integrated Controller



Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Αέρια δείγματα II



Τεχνική	Αρχές τεχνικής	Σχόλιο
Θερμική εκρόφηση	Η ταχεία θέρμανση του απορροφητικού μέσου μεταφέρει τους αναλύτες στη GC	Επιλογή του απορροφητικού μέσου είναι σημαντική, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ψύξη
Άμεση θερμική εκχύλιση	Το δείγμα θερμαίνεται σε υψηλή θερμοκρασία, τα αναλύσιμα εκχυλίζονται	Για ημι-πτητικές ουσίες, αποφεύγονται οι δραστικές επιφάνειες
Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME)	Η επικαλυμμένη ίνα απορροφά τους αναλύτες από τον ελεύθερο χώρο/υγρό, θερμική εκρόφηση	Χωρίς διαλύτες

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Υγρά δείγματα και αιωρήματα I

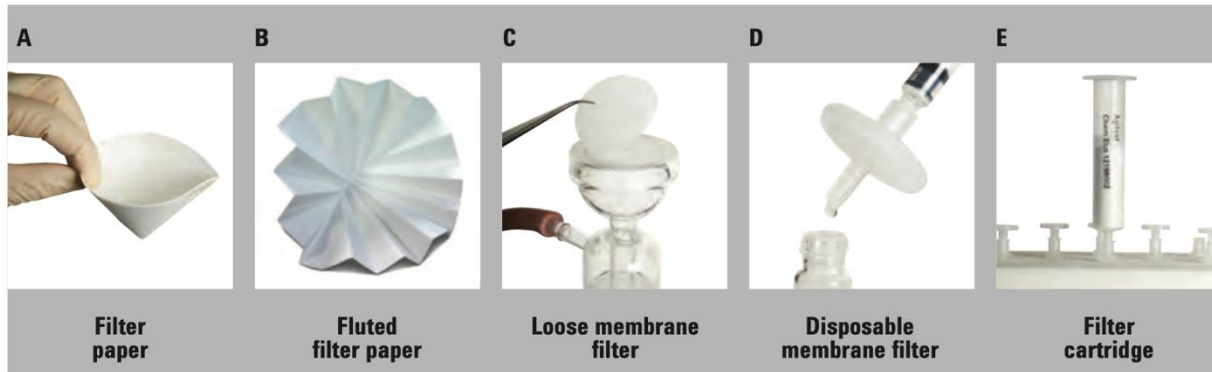
Τεχνική	Αρχές τεχνικής	Σχόλιο
Εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE)	Το δείγμα διέρχεται από στήλη Η ανιχνευόμενη ουσία συγκρατείται/εκχυλίζεται	Χρήσιμο για εκλεκτική εκχύλιση
Εκχύλιση υγρού-υγρού	Διαχωρισμός μεταξύ μη αναμίξιμων διαλυτών	Δυνατότητα δημιουργίας γαλακτωμάτων
Εξάτμιση	Αφαίρεση υγρού με θέρμανση/αέρα/κενού	
Αραίωση	Αραίωση δείγματος για συμβατότητα και εύρος ανιχνευτή	
Μικροδιάλυση	Οι αναλύτες μετακινούνται μέσω ημιπερατής μεμβράνης	Για βιολογικά δείγματα
Λυοφιλίωση	Κατάψυξη και εξάχνωση νερού υπό κενό	Κατάλληλη για μη πτητικές/ασταθείς αναλύσεις

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Υγρά δείγματα και αιωρήματα II

Τεχνική	Αρχές τεχνικής	Σχόλιο
Διήθηση	Αφαίρεση σωματιδίων μέσω φίλτρου ή μεμβράνης	Αποτρέπει προβλήματα στη στήλη. Διατηρεί το όργανο
Φυγοκέντρωση	Περιστροφή για διαχωρισμό σωματιδίων/υπερκείμενου υγρού	Εναλλακτική λύση της διήθησης
Καθίζηση	Τα σωματίδια καθιζάνουν λόγω βαρύτητας	Αργή. Χειροκίνητη ανάκτηση
Μικροεχκύλιση στερεάς φάσης SPME	Δείτε επόμενες διαφάνειες	Υψηλή ευαισθησία. Απαιτείται ειδικός εξοπλισμός

Τεχνικές προετοιμασίας. Υγρά δείγματα και αιωρήματα III

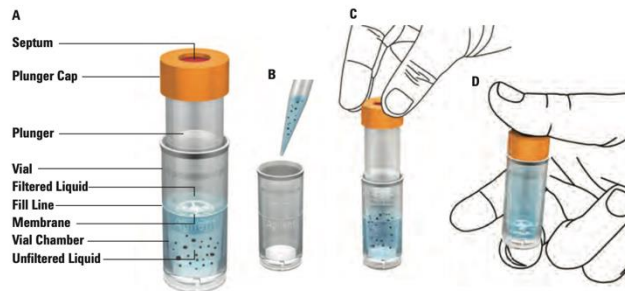
Φιλτράρισμα - Διήθηση



Captiva 96-well filtration plate mounted on vacuum manifold



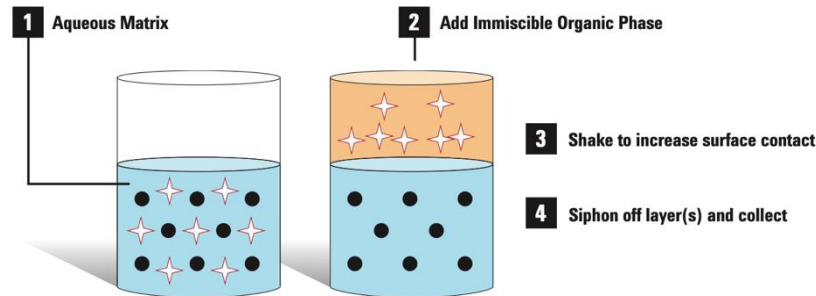
Filter Vial in Use



Τεχνικές προετοιμασίας: Υγρά δείγματα και αιωρήματα IV

Εκχύλιση υγρού-υγρού

Typical Liquid-Liquid Extraction

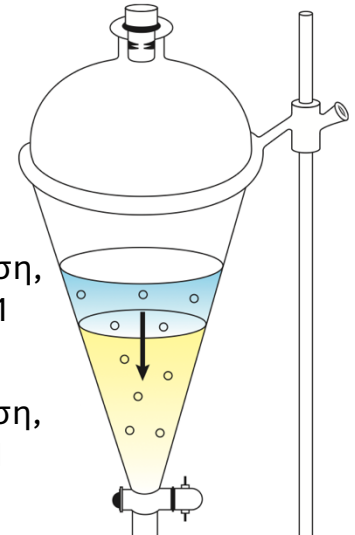


$$\frac{[X]_{\text{υδ},n}}{[X]_{\text{υδ},0}} = \left(\frac{V_{\text{υδ}}}{D V_{\text{οργ}} + V_{\text{υδ}}} \right)^n$$

LLE Performed in Separatory Funnel

Οργανική φάση,
V_{οργ}, [X]_{οργ}, 1

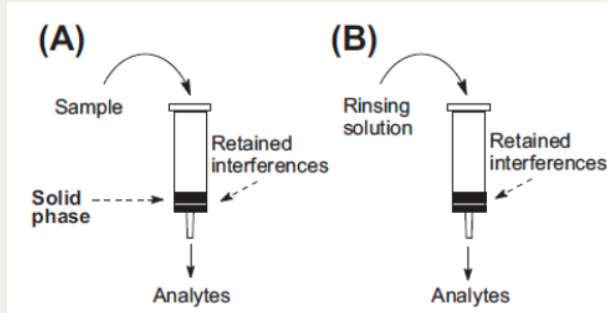
Υδατική φάση,
V_{υδ}, [X]_{υδ}, 1



Τεχνικές προετοιμασίας: Υγρά δείγματα και αιωρήματα V

Εκχύλιση στερεάς φάσης (solid phase extraction, SPE)

Εκχύλιση Στερεάς Φάσης
Υλικό πλήρωσης: C18-silica



Βασικά στάδια εκχύλισης:

1. Προκατεργασία Δείγματος (ρύθμιση pH, αραιώση κλπ)
2. Ενεργοποίηση στερεάς φάσης
3. Φόρτωση Δείγματος
4. Έκλυση κλασμάτων

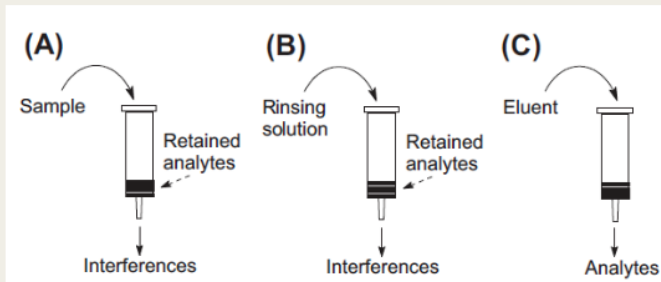
Δύο περιπτώσεις:

I. Απομάκρυνση/παγίδευση:

Ο αναλύτης δεν κατακρατείται, αλλά κατακρατούνται οι παρεμποδιστές.

II. Δέσμευση και έκλυση:

Κατακρατείται ο αναλύτης και εκλύεται με άλλο διαλύτη, ενώ οι παρεμποδιστές δεν κατακρατούνται.



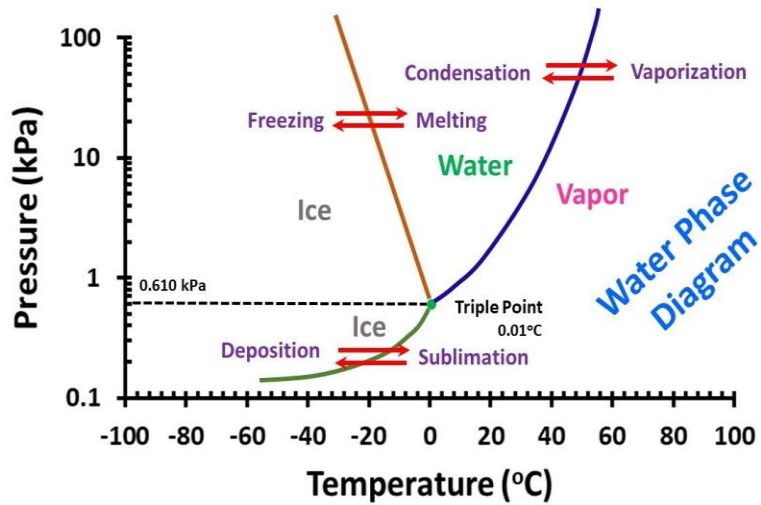
Τεχνικές προετοιμασίας: Υγρά δείγματα και αιωρήματα VI

Μείωση υγρασίας



Λυοφιλιωτής
Freeze dryer

- Βοηθάει χειρισμό δειγμάτων και σταθερότητά τους
- Εξαρτάται από τον αναλύτη
- Οι πτητικές ουσίες ίσως χαθούν λόγω ξήρανσης
- Συχνότερη η θέρμανση σε φούρνο
- Για θερμικώς ασταθή δείγματα και για καλύτερη σταθερότητα, χρησιμοποιείται η λυοφιλίωση
- Πολλές φορές απαιτείται από την μέθοδο ή την νομοθεσία να απομακρυνθεί η υγρασία



Διαστημικό σνακ από την NASA



Προετοιμασία Δείγματος για Κατάψυξη & Λυοφιλίωση Χυμού

•Αρχική Κατάψυξη:

Ο χυμός καταψύχεται γρήγορα στους -40°C έως -80°C για μικρούς κρυστάλλους πάγου και καλύτερη ποιότητα. Θερμοκρασίες κάτω από -40°C αποτρέπουν την ανεπιθύμητη υγρή φάση λόγω σακχάρων.

•Λυοφιλίωση (Αποξήρανση υπό Κενό):

Διατήρηση χαμηλής θερμοκρασίας ($<-40^{\circ}\text{C}$) για προστασία ευαίσθητων συστατικών.

Εξάχνωση πάγου υπό κενό (0.1-0.3 mbar), απομάκρυνση ελεύθερου νερού με θερμότητα εξαχνώσεως (2830 kJ/kg).

Δευτερεύουσα ξήρανση στους $10-20^{\circ}\text{C}$ για απομάκρυνση δεσμευμένου νερού (τελική υγρασία 3-4%).

Τελικό στάδιο: Συσκευασία σε αδρανή ατμόσφαιρα και φύλαξη.

Bonus διαφάνεια: Μερικά προβλήματα στη λυοφιλίωση



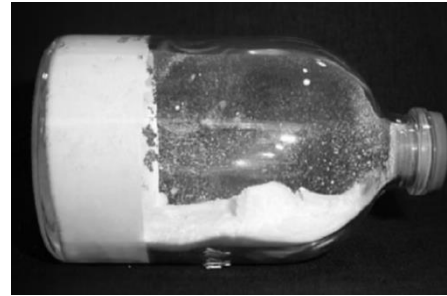
ΚΑΤΑΡΡΕΥΣΗ

Εμφανίζεται σε άμορφα στερεά όταν φτάσει σε θερμοκρασία υψηλότερη από τη θερμοκρασία κατάρρευσης



MELTBACK

Συμβαίνει όταν η φάση της πρωτογενούς ξήρανσης έχει ολοκληρωθεί, αλλά μερικά από τα φιαλίδια εξακολουθούν να έχουν λίγο πάγο στον πυθμένα



ΣΥΡΡΙΚΝΩΣΗ ΤΟΥ ΚΕΪΚ

Εάν ένας κύκλος λυοφιλίωσης έχει ολοκληρωθεί, αλλά το προϊόν εξακολουθεί να έχει υψηλό ποσοστό υπολειμματικής υγρασίας ή εάν τα φιαλίδια είναι σφραγισμένα με υγρό αέρα στο εσωτερικό τους, το κέικ ενδέχεται να υποστεί κάποια συρρίκνωση καθώς απορροφά την ατμόσφαιρα του περιβάλλοντος από το φιαλίδιο.

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Υγρά δείγματα και αιωρήματα VII

Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (solid phase microextraction SPME)

Γενικές πληροφορίες

- Η SMPE (εισήχθη αρχές '90) είναι μια τεχνική χωρίς διαλύτες που συνδυάζει την εκχύλιση και τον εμπλουτισμό του δείγματος σε ένα μόνο βήμα.
- Μια λεπτή ίνα από συντηγμένο πυρίτιο επικαλυμμένη με οργανική φάση εκχυλίζει και συμπυκνώνει τις αναλύσεις μέσω προσρόφησης και εκρόφησης από υγρές, στερεές και αέριες μήτρες. Η ίνα εκροφάται διαδοχικά θερμικά σε έναν εγχυτήρα GC και οι αναλύσεις μεταφέρονται στην αναλυτική στήλη.

Ποσότητα αναλύτη στην στρώση SPME σε ισορροπία:

$$M_{i,SPME} \sim K_{i.SPME} V_{SPME} C_i$$

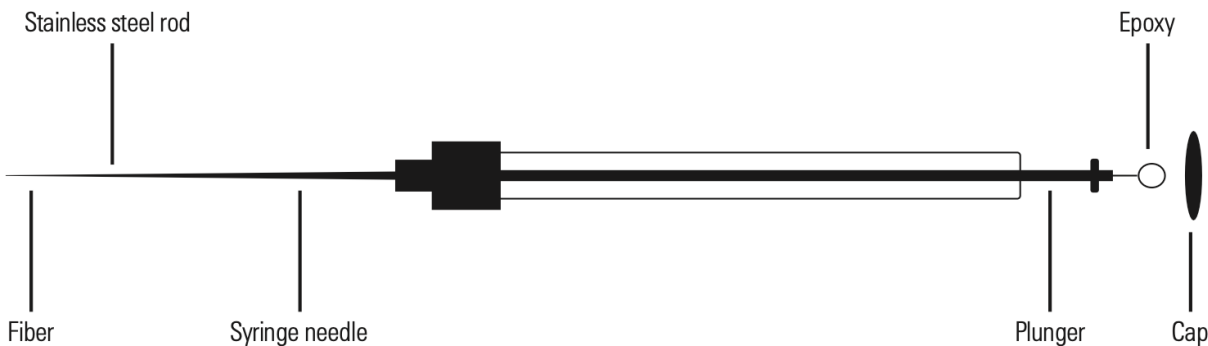
V_{SPME} είναι ο όγκος της στρώσης SPME και C_i είναι η αρχική συγκέντρωση αναλύτη πριν γίνει η δειγματοληψία SPME

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Υγρά δείγματα και αιωρήματα VII

Μικροεχχύλιση στερεάς φάσης (solid phase microextraction SPME)

Γενικές πληροφορίες

SPME Syringe Assembly

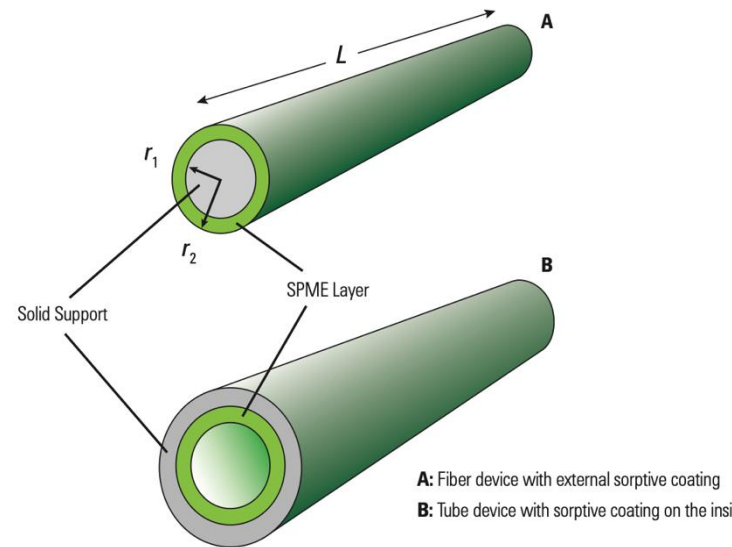


Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Υγρά δείγματα και αιωρήματα VIII

Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (solid phase microextraction SPME)

Αρχές τεχνικής SPME

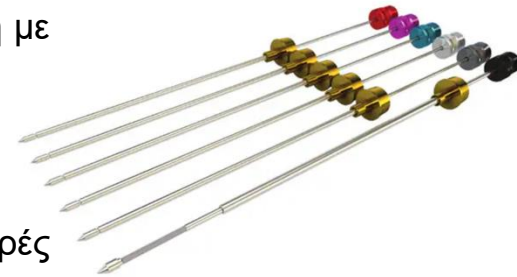
- Οι διαλυμένες ουσίες εξάγονται από τα δείγματα (συντά υδατικά) σε μια ίνα από πυριτικό γυαλί με επικάλυψη πολυμερούς.
- Η εκχύλιση φτάνει σε ισορροπία μετά από ένα καθορισμένο χρονικό διάστημα (συντά 30+ λεπτά), με τη βοήθεια ανάδευσης.
- Η ίνα με τους αναλυτές μεταφέρεται σε μια είσοδο για εκρόφηση σε συστήματα GC ή LC.
- Η επιτυχία εξαρτάται από τις βέλτιστες συνθήκες και την χημεία
- Η εκρόφηση πρέπει να είναι γρήγορη και πλήρης. Μερικές φορές απαιτείται δευτερεύουσα παγίδευση για απότομες κορυφές.
- Οι ίνες SPME διατίθενται σε συγκροτήματα σύριγγας για χειροκίνητη ή αυτοματοποιημένη χρήση. Οι ίνες μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν μετά τον καθαρισμό.



Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Υγρά δείγματα και αιωρήματα IX

Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (solid phase microextraction SPME)

- Υψηλότερη ευαισθησία — ο μεγαλύτερος όγκος απορρόφησης επιτυγχάνει έως και 10 φορές υψηλότερη ευαισθησία σε σύγκριση με τις κλασικές ίνες SPME
- Ταχύτερη εκχύλιση — η μεγαλύτερη επιφάνεια απορρόφησης επιτρέπει την εκχύλιση της ίδιας ποσότητας αναλυτών, αλλά 2 φορές ταχύτερα από τις κλασικές ίνες SPME
- Βελτιωμένη ανθεκτικότητα — η βελτιστοποιημένη γεωμετρία και το υλικό των ινών αυξάνουν την ανθεκτικότητα και μειώνουν τη διάτρηση των διαφραγμάτων χάρη στο σχήμα βελόνας με βέλος

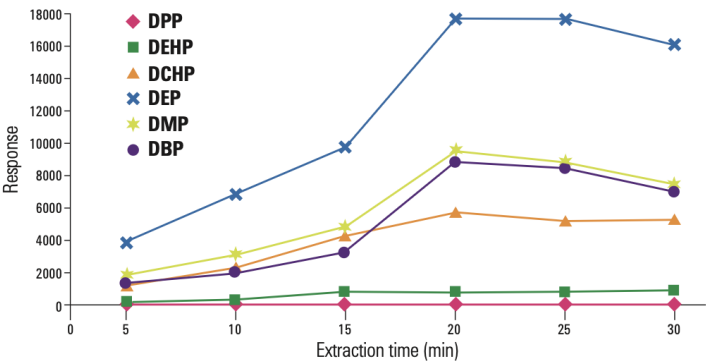


SPME Arrow and SPME Fibers for Solid Phase Micro Extraction, Thermofisher

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος. Υγρά δείγματα και αιωρήματα Χ

Μικροεχκύλιση στερεάς φάσης (solid phase microextraction SPME)

SPME Extraction Time Versus MS Response



Compound Name	Abbreviation	Retention time (min)
Phthalic acid, bis-n-pentyl ester	DPP	10.179
Phthalic acid, bis-isononyl ester	DEHP	11.862
Di-cyclohexyl phthalate	DCHP	16.749
Diethyl phthalate	DEP	17.517
Dimethyl phthalate	DMP	20.666
Dibutyl phthalate	DBP	20.836

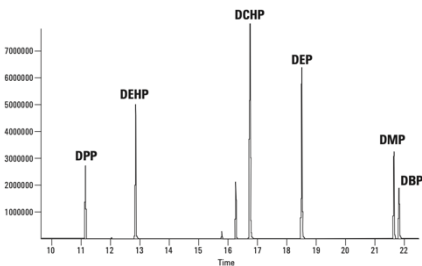
CombiPAL

Pre-incubation time: 60 s
Incubation temperature: 40 °C
Pre-inc. agitator speed: 500 rpm
Agitator on time: 5 s
Agitator off time: 2 s
Vial penetration: 25 mm
Extraction time: 1200 s
Desorb to: GC Inj 1
Injection penetration: 54 mm
Desorption time: 120 s
Post fiber condition time: 300 s

SPME

Fiber type: PDMS/DVB
Coating: 65 µm

SIM Chromatogram of Phthalates at the Optimized Extraction Condition



6890 GC	5975 MS
Inlet temperature: 270 °C	Acquisition mode: Synchronous SIM/scan
Gas type: Helium	Mass range: 40-300
Oven condition: 50 °C ramps 10.00 °C/min to 260 °C (3.00 min)	Sample: 3
Column: DB-5ms 30 m x 250 µm, 0.25 µm	Dwell time: 30 ms
Mode: Constant flow	MS source: 230 °C
Flow rate: 1.3 mL/min	MS quad: 150 °C

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος για στοιχειακή ανάλυση I

Οι κυριότεροι σκοποί της προκατεργασίας του δείγματος στην στοιχειακή ανάλυση είναι οι εξής:

1. Η διάσπαση και η διαλυτοποίηση της μήτρας για την απελευθέρωση όλων των μετάλλων
2. Εκχύλιση των μετάλλων από την μήτρα σε ένα διαλύτη κατάλληλο για την αναλυτική τεχνική που ακολουθεί.
3. Προσυγκέντρωση του μετάλλου, γιατί βρίσκεται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις
4. Να διαχωριστεί ένα αναλύτης από μια ομάδα αναλυτών ή από κάποια είδη που μπορεί να παρεμποδίζουν την ανάλυση.
5. Αραίωση της μήτρας κατάλληλα ώστε να περιοριστούν τα φαινόμενα επίδρασης μήτρας
6. Να διαχωριστούν τα διαφορετικά χημικά είδη για να προσδιοριστούν.

Διαφάνεια Μ. Κωστάκη

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος για στοιχειακή ανάλυση II

Προκατεργασία στην στοιχειακή ανάλυση

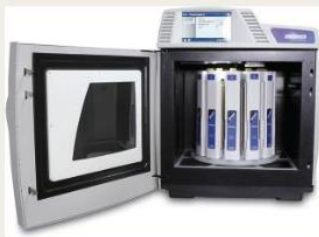
Βασικά στάδια προκατεργασίας δειγμάτων για στοιχειακή ανάλυση

- Προετοιμασία του αρχικού δείγματος
- Διάλυση ή εκχύλισης του αναλύτη (συνήθως χώνευση)
- Προσυγκέντρωση, αν είναι πολύ αραιό ή αραίωση για να είναι κατάλληλο για ανάλυση
- Μέτρηση στην αναλυτική τεχνική (FAAS, GFAAS, ICP, ICP-MS κλπ)

Διαφάνεια Μ. Κωστάκη

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος για στοιχειακή ανάλυση III

Προκατεργασία στην στοιχειακή ανάλυση



Χώνευση σε φούρνο μικροκυμάτων

- Το δείγμα ζυγίζεται σε δοχείο Teflon
- Προστίθενται τα οξέα (κυρίως HNO_3 , HCl , H_2O_2)
- Το δείγμα πωματίζεται και τοποθετείτε στη συσκευή.
- Ρυθμίζονται οι συνθήκες, πίεσης, θερμοκρασίας, έντασης μικροκυμάτων, και πραγματοποιείται η χώνευση.
- Μετά το τέλος της χώνευσης, το διάλυμα αραιώνεται (συνήθως με νερό)
- Μέτρηση στην αναλυτική τεχνική

Διαφάνεια Μ. Κωστάκη

Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος για στοιχειακή ανάλυση IV

Προκατεργασία στην στοιχειακή ανάλυση

Υγρή χώνευση σε ανοικτά δοχεία



Άμεσα διαθέσιμη

Δεν απαιτεί εξειδικευμένο εξοπλισμό

Απλό στη χρήση



Χρονοβόρα

Απώλειες επειδή είναι ανοικτά τα δοχεία

Χώνευση σε μικροκύματα



Αποδοτικότερη μεταφορά της ενέργειας στο δείγμα.

Ρύθμιση των συνθηκών χώνευσης αυτόματα

Αναπαραγώγιμες συνθήκες

Μείωση του χρόνου προκατεργασίας

Μείωση της κατανάλωσης αντιδραστηρίων

Μικρές απώλειες λόγω πτητικότητας των αναλυτών



Ακριβός εξοπλισμός

Απαιτεί χώρο και εκπαίδευση

Διαφάνεια Μ. Κωστάκη