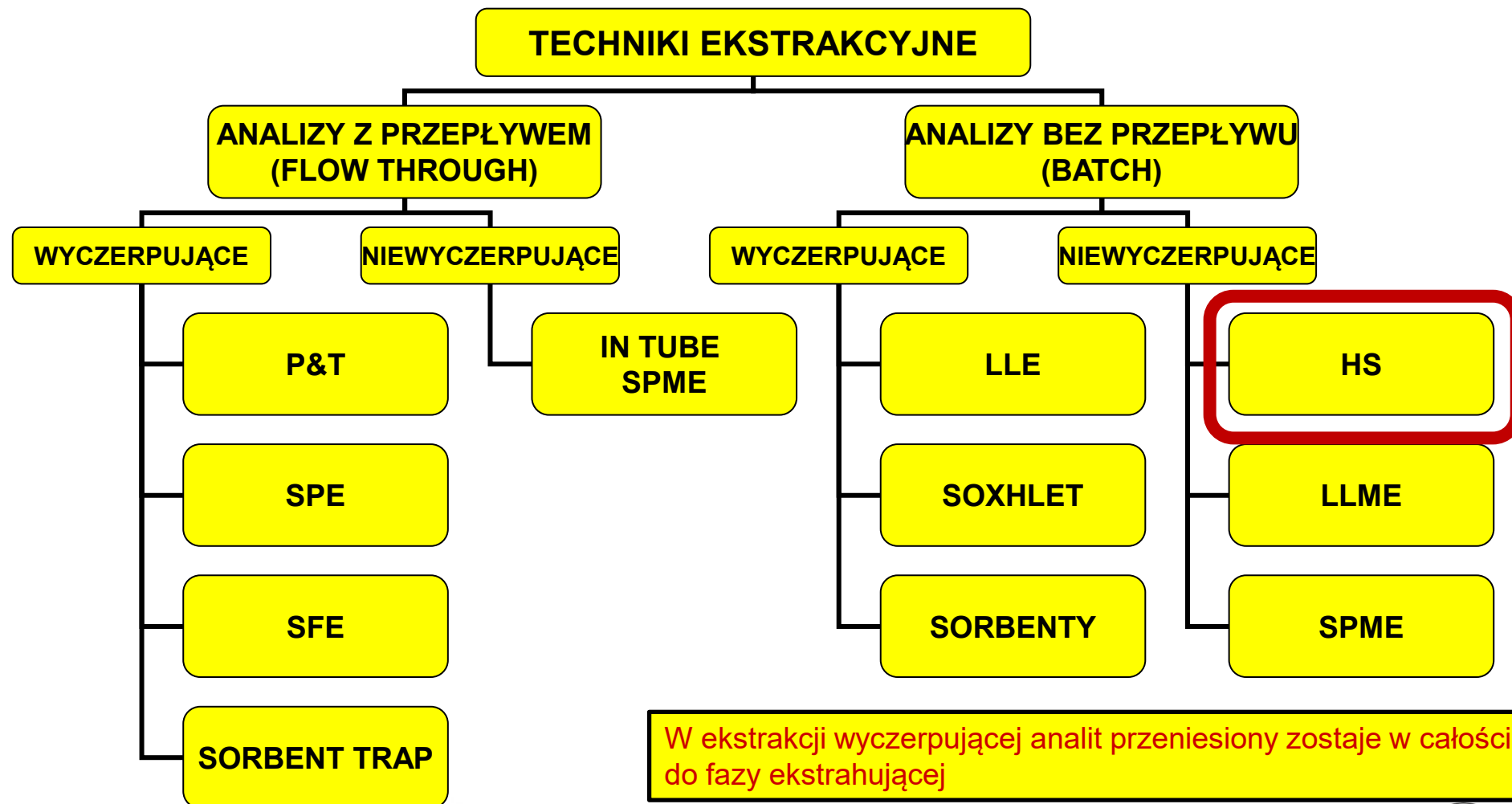


Kurs: Techniki przygotowania próbek w analizie żywności
metodami chromatografii gazowej i spektrometrii mas

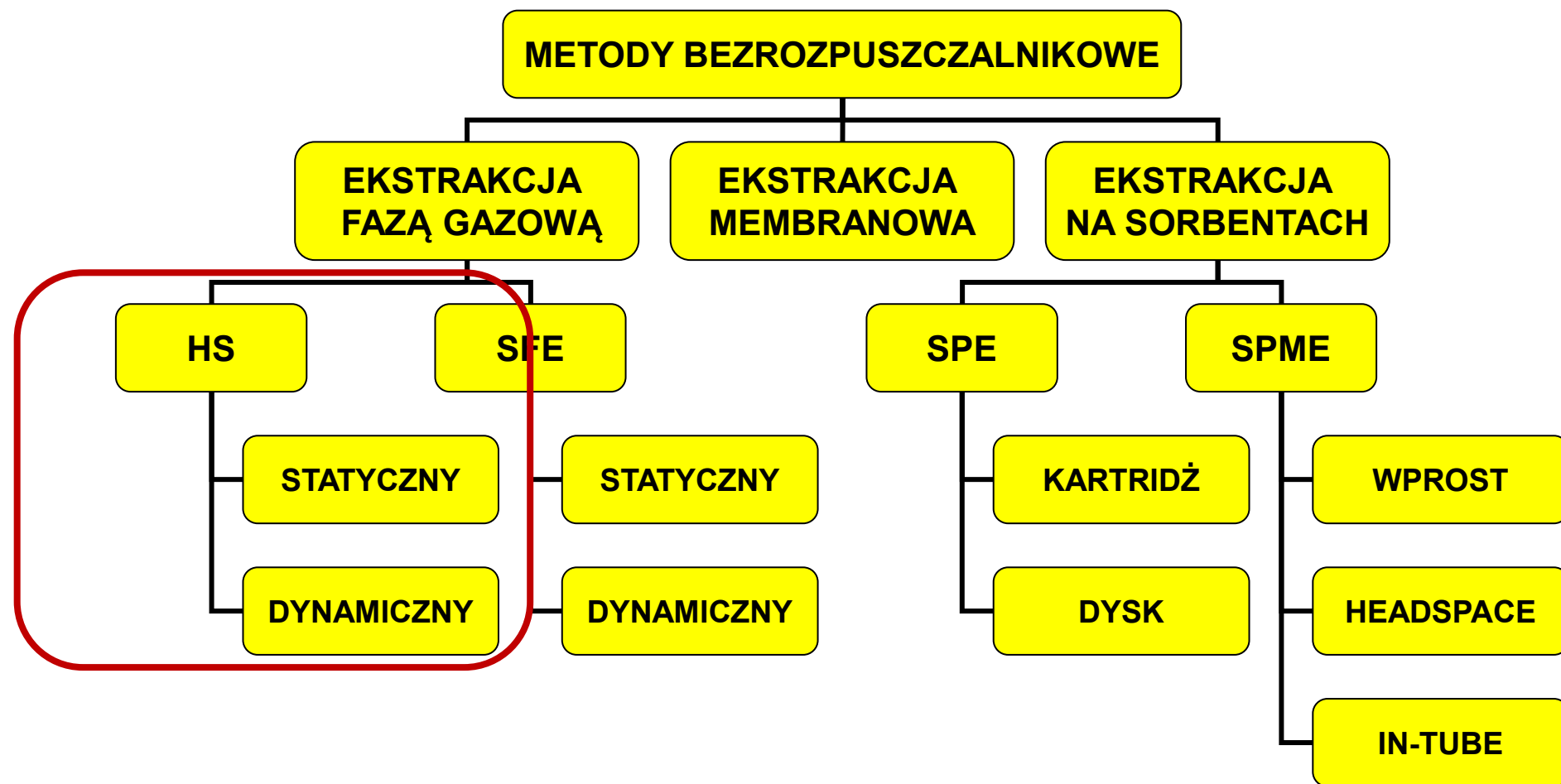
Analiza fazy nadpowierzchniowej (headspace)

Henryk Jeleń

Podział technik ekstrakcyjnych



Bezrozpuszczalnikowe metody ekstrakcji



Historia analizy fazy nadpowierzchniowej

- 1939 – wskazania możliwości oznaczenia etanolu w parach nad roztworem (Harger i in..)
- 1958 – oznaczanie wodoru rozpuszczonego w wodzie techniką statycznego headspace i GC
- 1959 – oznaczenie produktów oksydacji lipidów w chipsach ziemniaczanych techniką statycznego headspace (Etre)
- 1960 – po raz pierwszy użyto terminu headspace (Stahl i in.)
- 1967 – pierwszy automatyczny podajnik próbek do analiz headspace (Perkin Elmer, F-40)
- 1972-73 – opracowanie techniki dynamicznego headspace (Teranishi i in., Zlatkis i in.)
- 1989-90 – teoretyczne podstawy i opracowanie urządzenia do SPME (Pawliszyn i in.)

Headspace statyczny – podstawy

- Zmiany współczynnika podziału mogą być manipulowane poprzez zmiany parametrów analizy. Prawa na których opiera się headspace to:
- **Prawo Daltona**: całkowite ciśnienie mieszaniny gazów jest równe sumie cisnień cząstkowych gazów obecnych w mieszaninie – zawartość analitu w fazie nadpowierzchniowej jest proporcjonalne do jego ciśnienia cząstkowego
- **Prawo Raulta**: ciśnienie par (cząstkowe) rozpuszczonej substancji nad roztworem jest proporcjonalne do ułamka molowego substancji w roztworze
- ($p_i = p_i^0 \cdot x_{s(i)}$). Stałą jest ciśnienie par czystego analitu (gdy $x_{s(i)} = 1$), Odstępstwa od stanu idealnego kompensuje współczynnik aktywności związku γ_i ($p_i = p_i^0 \cdot \gamma_i \cdot x_{s(i)}$).
- **Prawo Henryego**: W roztworach idealnie rozcieńczonych istnieje zależność liniowa pomiędzy ciśnieniem cząstkowym a stężeniem molowym analitu:
- $p_i = H \cdot x_i$ - postawa chromatografii i analizy fazy nadpowierzchniowej

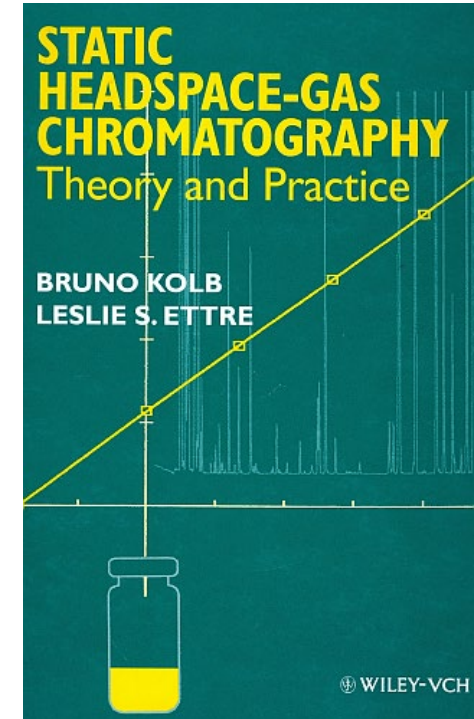
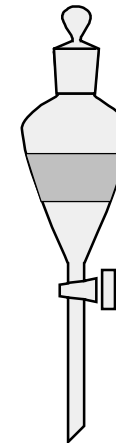
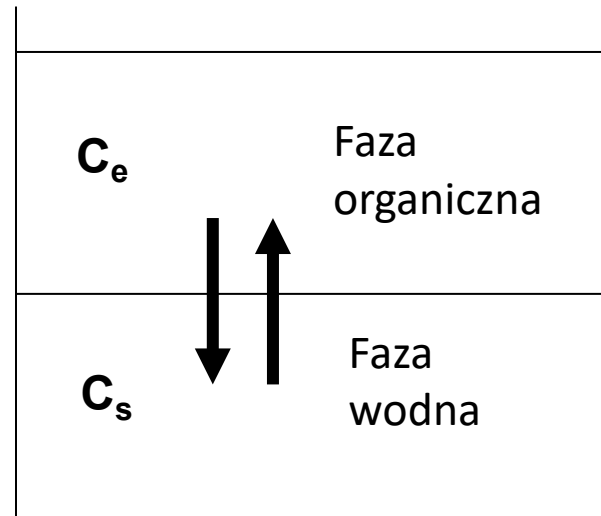
Headspace statyczny – podstawy

Wspólne podstawy teoretyczne:
(we wszystkich technikach ekstrahent pozostaje w kontakcie z matrycą a analit przenoszony jest pomiędzy fazami)

Termodynamika:

Podział pomiędzy matrycę a fazę ekstrahującą

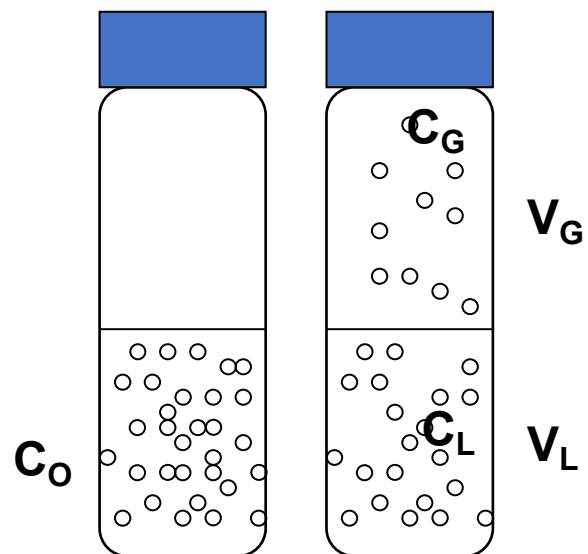
$$K_{es} = a_e/a_s = C_e/C_s$$



Headspace statyczny – podstawy

Współczynnik (stała) podziału K

$$K = C_L / C_G$$



$$C_O V_L = C_L V_L + C_G V_G$$

- Współczynnik podziału obrazuje rozkład masy analitu w systemie dwufazowym
- Zależy on od rozpuszczalności analitu w fazie stałej (ciekłej).
- Związki o dobrej rozpuszczalności w fazie stałej (ciekłej) będą miały w fazie skondensowanej znacznie większe stężenie niż w fazie gazowej ($C_L \gg C_G$). Stąd będą miały bardzo duże wartości K
- Dla związków o małej rozpuszczalności w fazie skondensowanej C_L będzie bliskie C_G
- Wartość K wtedy będzie niska

Headspace statyczny – podstawy

Współczynnik (stała) podziału K

$$K = C_L / C_G$$

Stosunek faz β

$$\beta = V_G / V_L$$

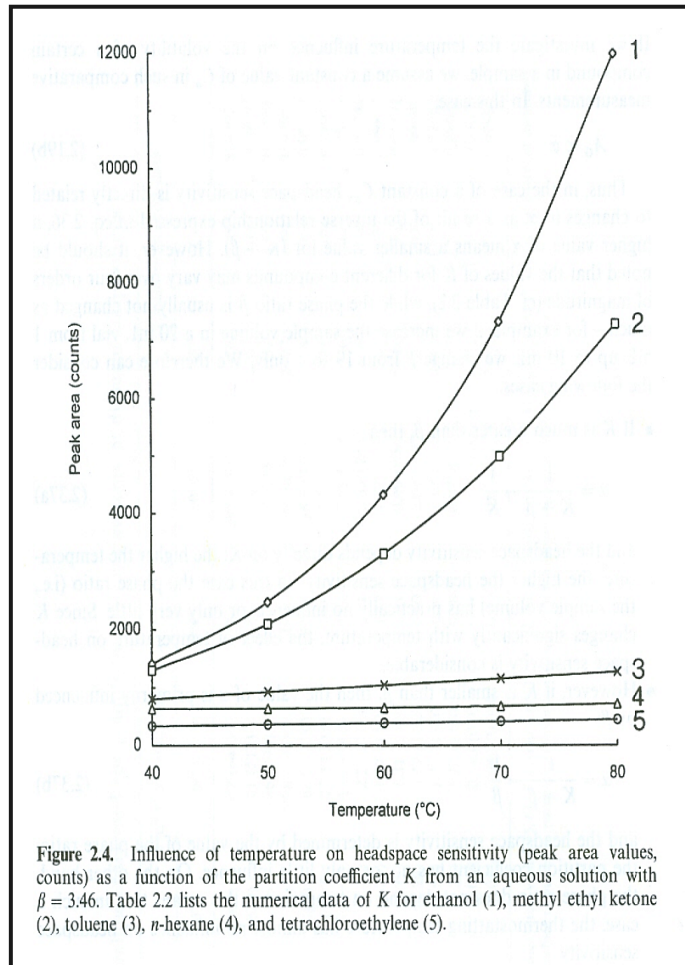
Stężenie analitu w fazie gazowej :

Czułość metody – **zależy of K i β – parametry te możemy zmieniać!!!**

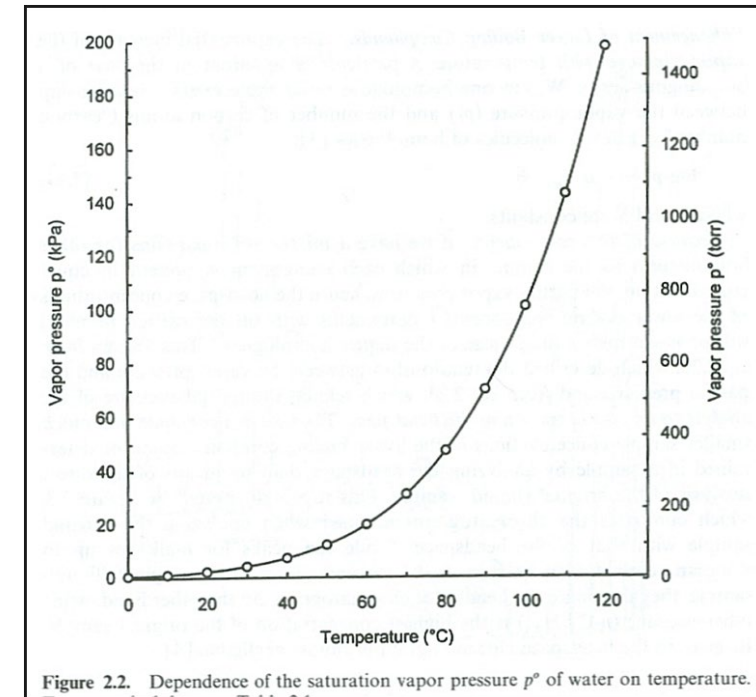
$$C_G = C_O / (K + \beta)$$

$(K + \beta)$ – stałe w danych warunkach **$C_G = \text{const} * C_O$**

Temperatura a czułość metody



Związek	K@ 40C	K@80C
etanol	1355	216
Metyloetyloketon	139	35
Toluen	2.82	1.27
Heksan	0.14	0.008
tetrachloroetylen	1.48	9,87



Objętość próbki a czułość metody HS

- Ułamek fazowy $\Phi_s = V_s/V_v$
- (V_s – objętość próbki, V_v – objętość viali)
- $\Phi_s = 1/(1+\beta)$
- Jeśli fiolka napełniona jest w 50% to $\Phi_s = 0.5$, 20% - 0.2 i 80% - 0.8

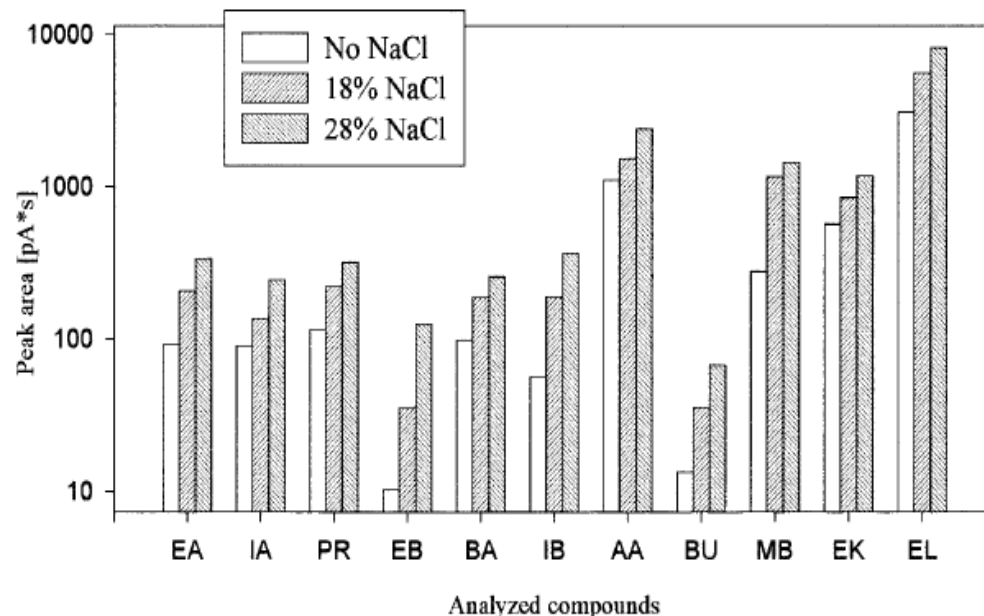
K	Φ_s	$\alpha = 1/(K+\beta)$	
0.20	0.2	0.238	
	0.8	2.222	Wzrost czułości ok. 10x w porównaniu do 0.2
1.0	0.2	0.2	
	0.8	0.8	Wzrost czułości ok. 4x w porównaniu do 0.2
20	0.2	0.041	
	0.8	0.049	Wzrost czułości o około 18% w stosunku do 0.2
250	0.2	0.0039	
	0.8	0.004	Wzrost czułości o 1.5%

Wysalanie

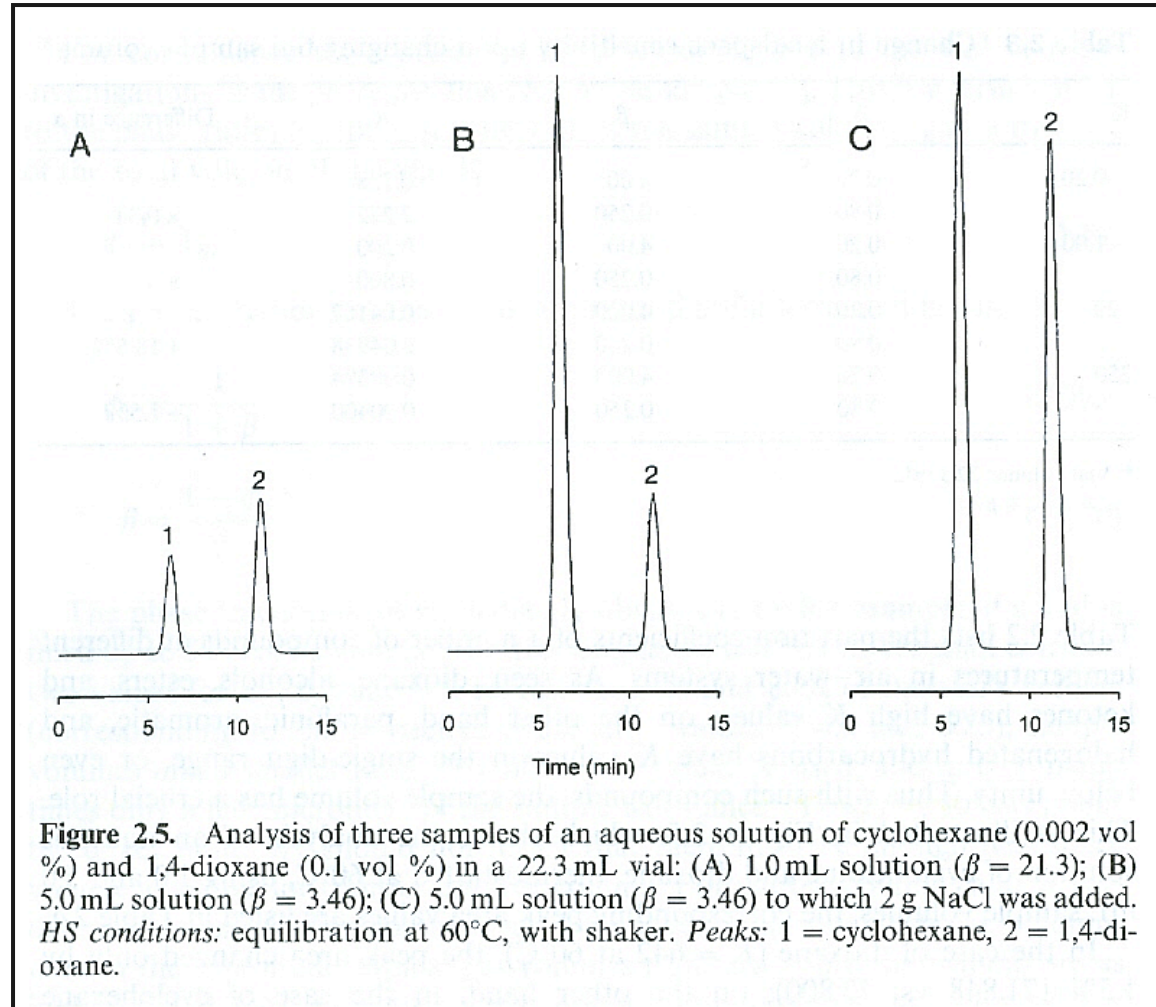
- Wysalanie poprawia czułość ale,
 - głównie dla związków polarnych,
 - muszą być stosowane wysokie stężenia soli,
 - dodatek soli wpływa różnie na różne związki i
 - może wpływać na liniowość w oznaczeniach ilościowych
- Podobny efekt można uzyskać dodając wody do roztworu w rozpuszczalniku organicznym, mieszającym się z wodą (zmniejsza się wtedy rozpuszczalność związku w takiej fazie)

SPME for Alcohols and Esters in Beer

J. Agric. Food Chem., Vol. 46, No. 4, 1998



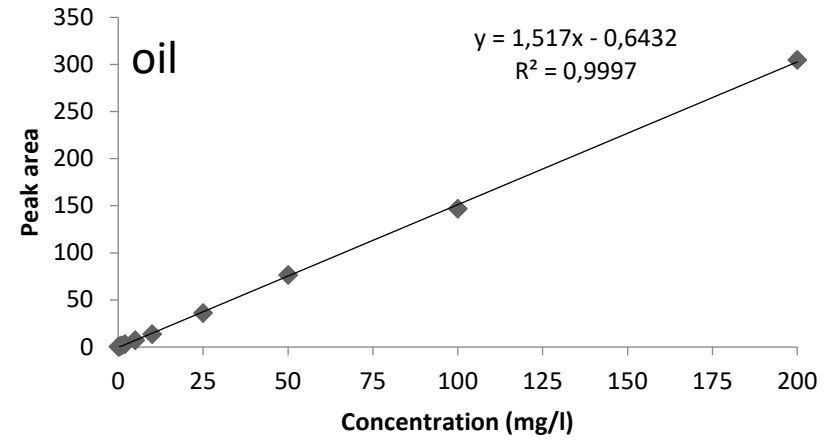
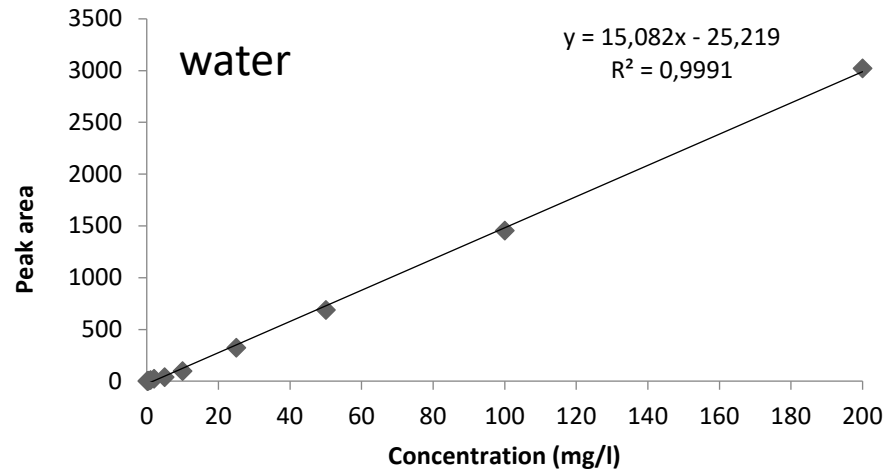
Rozpuszczalność analitu w matrycy



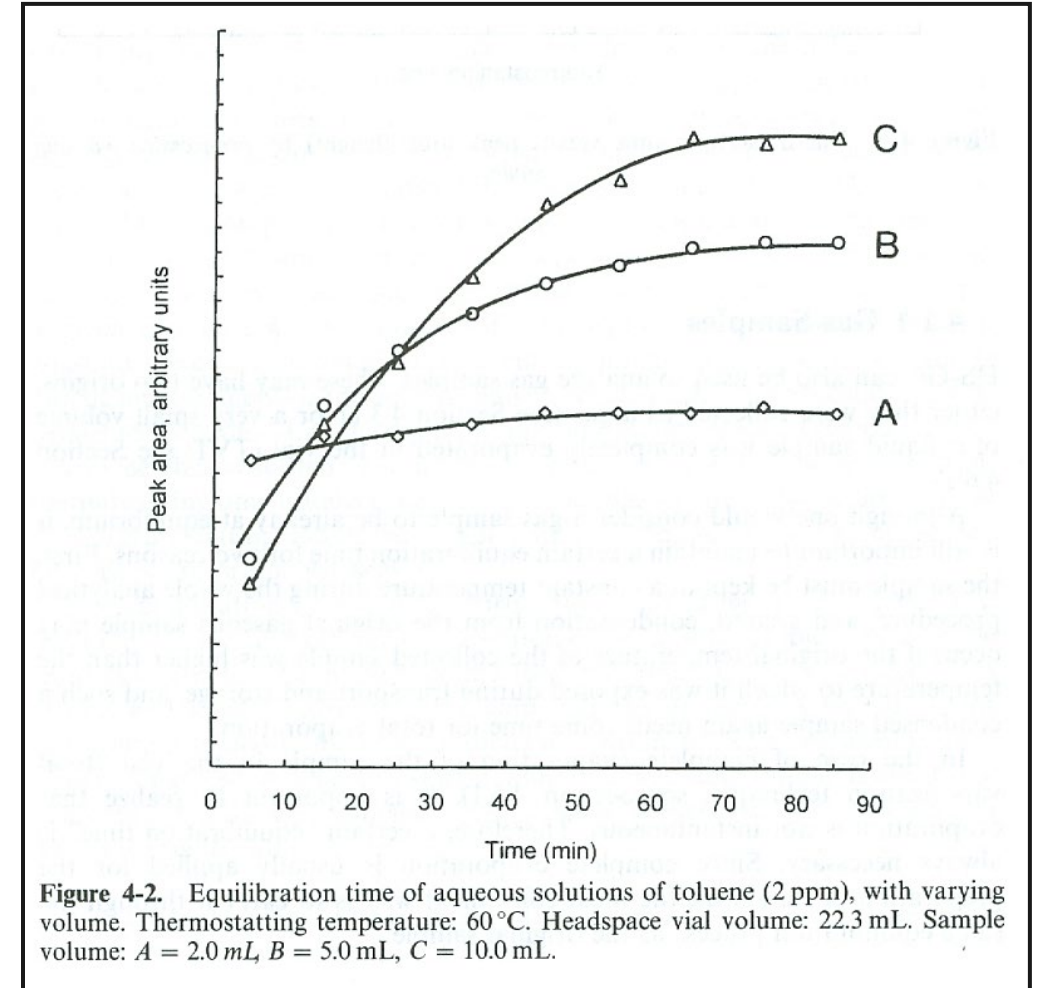
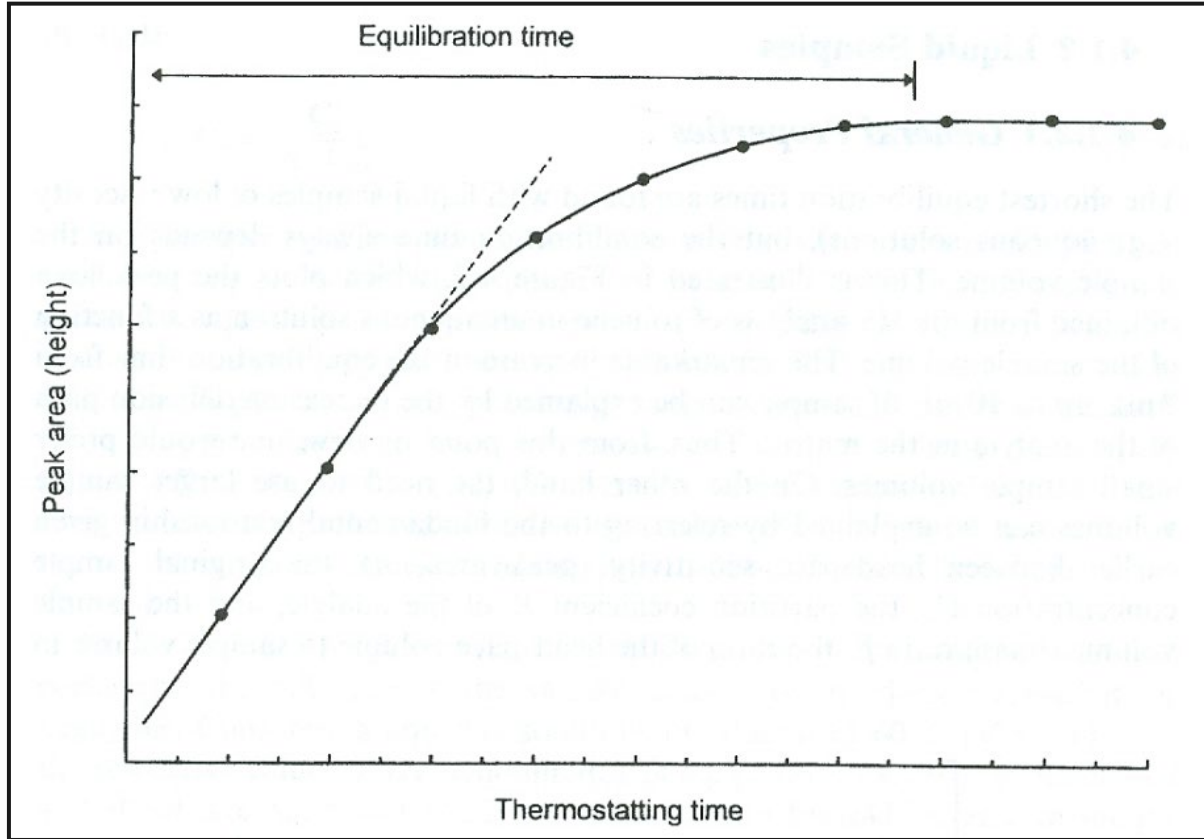
Czułość metody headspace

- **Zmniejszenie współczynnika podziału analitu w matrycy**
- Zmniejszenie K najłatwiej osiągnąć podwyższając temperaturę próbki (uwaga: temp. wrzenia rozpuszczalnika, ciśnienie, rozkład analitu)
- **Zmiana pH matrycy**
- Obniżenie pH przeprowadza lotne kwasy w formę cząsteczkową, podwyższone pH poprawia ekstraktywność amin.
- **Mieszanie**
- Mieszanie zmniejsza czas potrzebny do osiągnięcia równowagi
- **Objętość nastrzyku**
- **Objętość naczynia headspace**
- Reprezentatywność próbki
- **Wielokrotna ekstrakcja**

Calibration for hexanal in different matrices



Ustalanie stanu równowagi



Dozowanie przez pętlę

- Objętość nastrzykiwanej próbki – 1ml/3ml – wymiana pętli
- Ciśnienie prezuryzacji
- Czas prezuryzacji
- Czas wypełniania pętli
- Czas nastrzyku
- Split
- Przepływ (carrier)

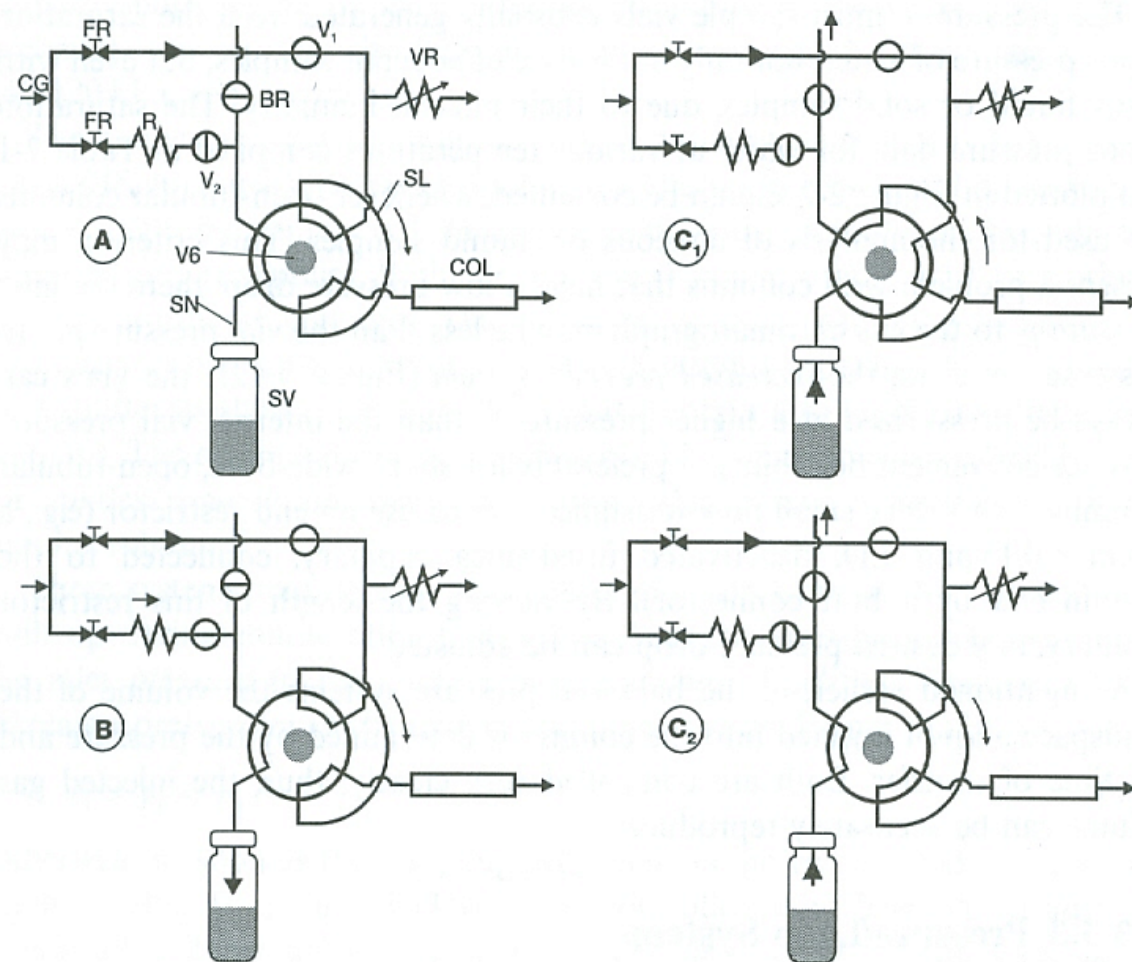
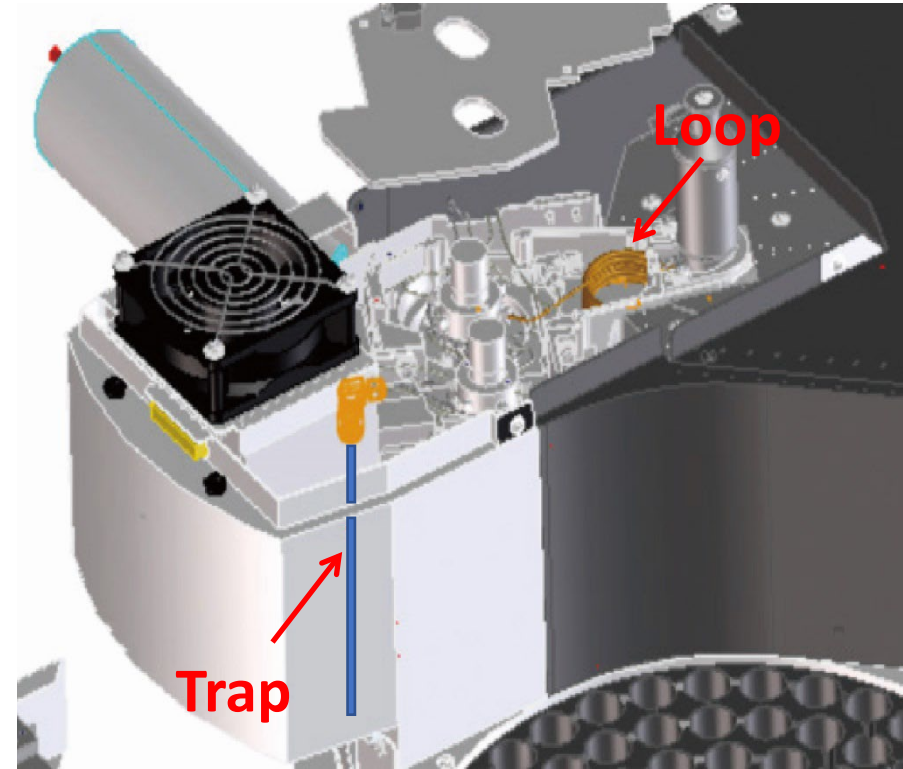
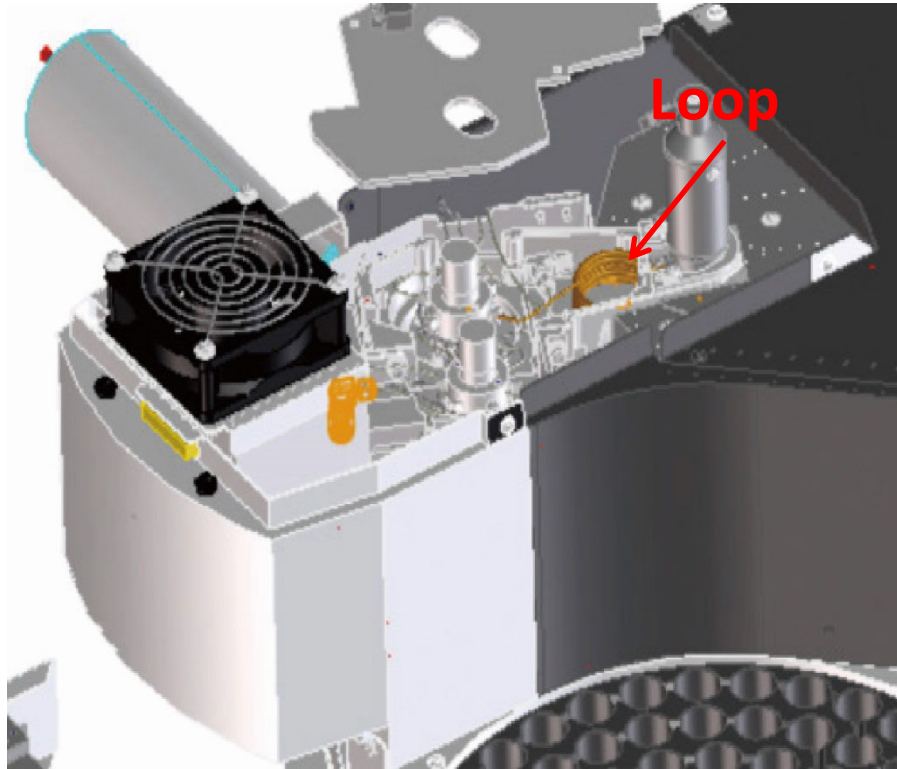
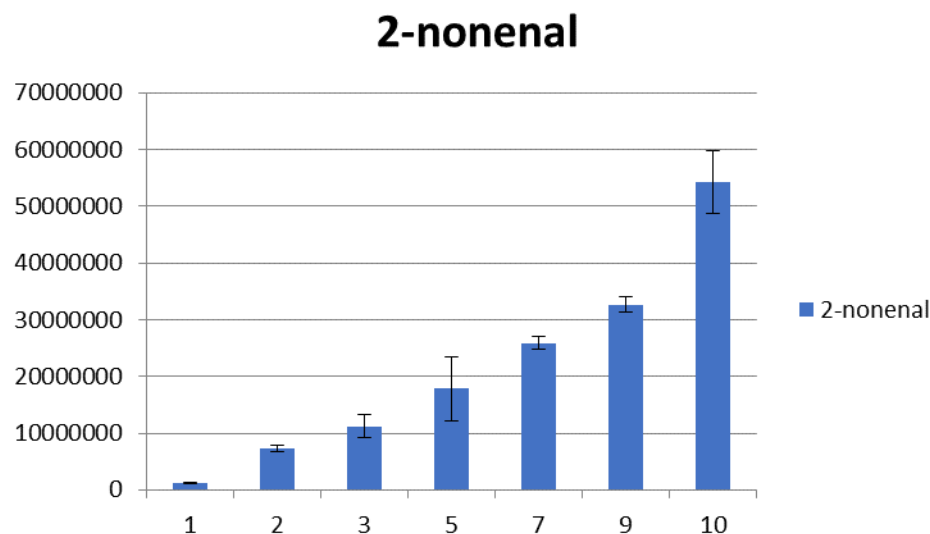


Figure 3-13. Principles of the pressure/loop system for headspace introduction into the gas chromatograph [13]: (A) equilibration (standby), (B) pressurization, (C₁) sampling (loop filling), (C₂) injection. CG = carrier gas, FR = flow/pressure regulator, R = restrictor, V = solenoid on/off valves, BR = backpressure regulator, VR = variable restrictor, V₆ = six-port valve, SL = sample loop, SN = sampling needle, SV = sample vial, COL = column.

Headspace statyczny z sorbentem



Headspace statyczny z sorbentem

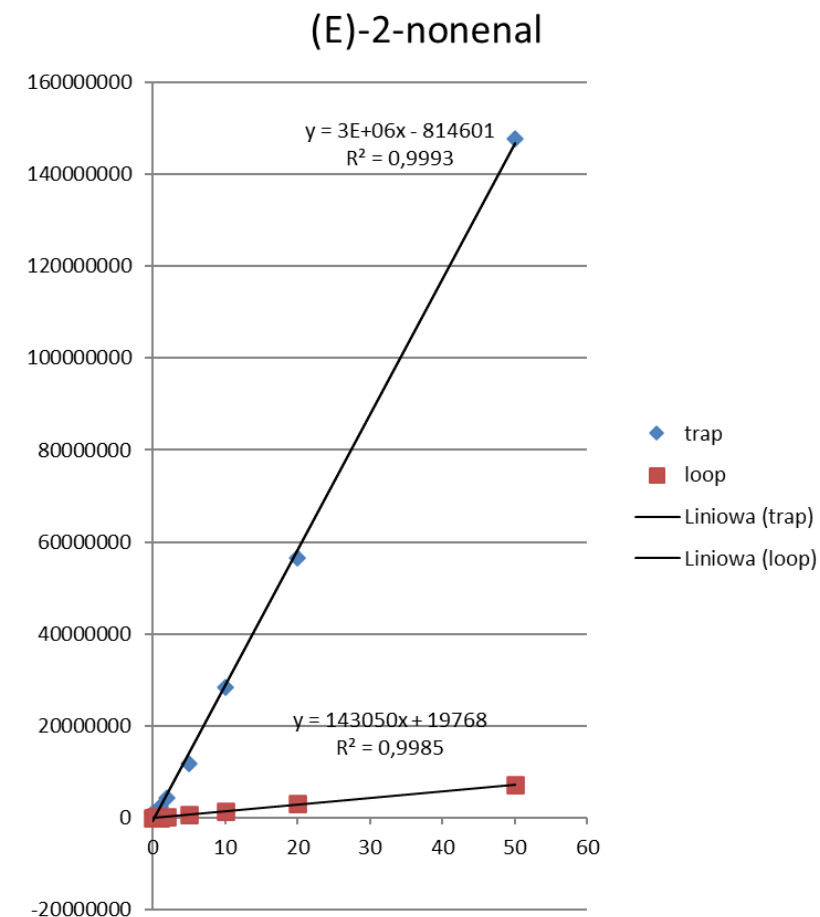


Food Anal. Methods (2017) 10:2729–2734
DOI 10.1007/s12161-017-0838-x

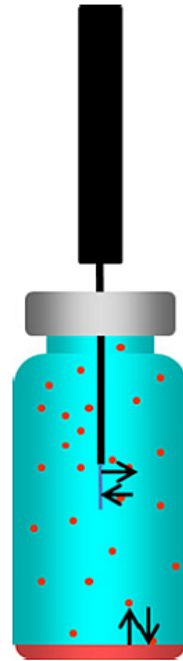


Static Headspace Extraction with Compounds Trapping for the Analysis of Volatile Lipid Oxidation Products

Henryk Jeleń¹ • Anna Gracka¹ • Barbara Myśków¹



Analiza fazy nadpowierzchniowej z sorbentem



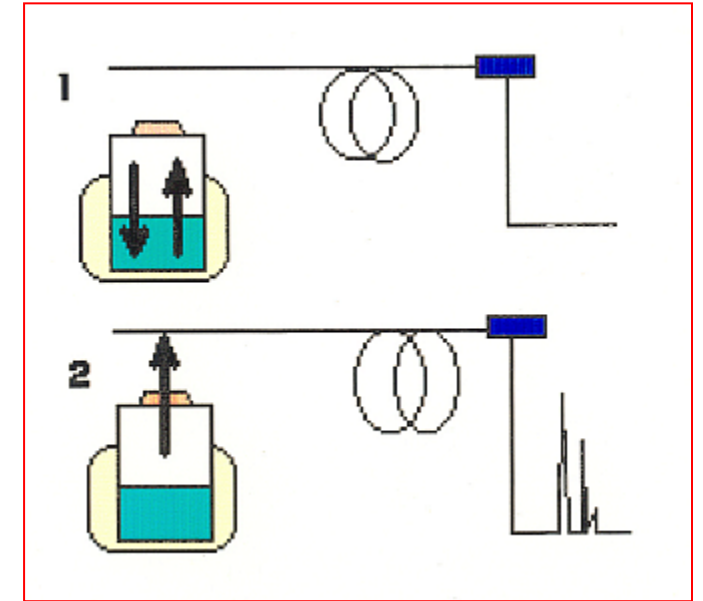
$$K_{FG} = \frac{[Analyte]_{fiber}}{[Analyte]_{headspace}}$$

$$K_{SG} = \frac{[Analyte]_{headspace}}{[Analyte]_{sample}}$$

FIGURE 9.2 Schematic of the system for static headspace extraction inside a sealed vial with a sorbent, an SPME fiber in this example, collecting analyte vapors from the headspace. Note the presence of two equilibria.

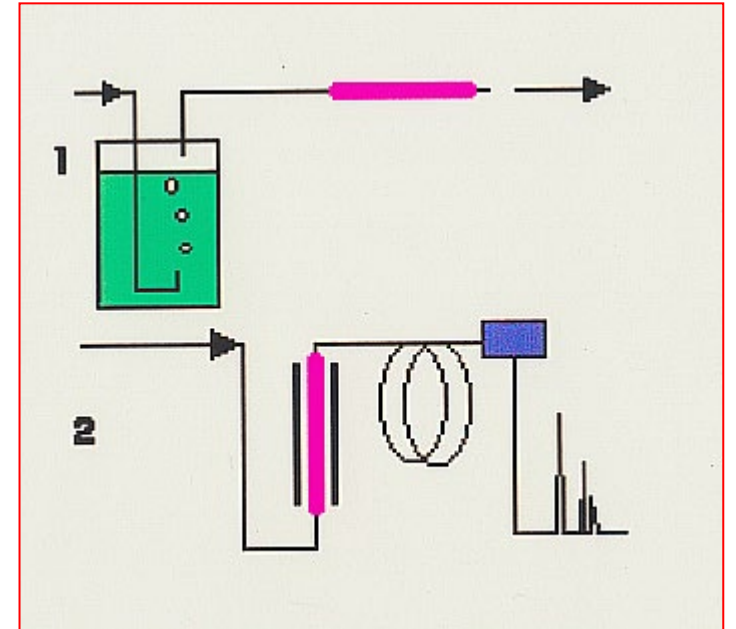
Headspace statyczny

- **ZALETY:**
 - Łatwość automatyzacji, standaryzacji, dobra powtarzalność
 - Brak nielotnych zanieczyszczeń
 - Nadaje się do analizy związków o dużej i średniej lotności
- **WADY:**
 - Wymaga osiągnięcia stanu równowagi
 - Działanie wysokiej temperatury na termostatowane próby
 - Adsorpcja związków na membranie



Headspace dynamiczny (P&T)

- **ZALETY:**
- Nie jest wymagane osiągnięcie stanu równowagi
- Wysoka czułość (ppt)
- **WADY:**
- Specyfika adsorbenta
- Artefakty powstające w czasie desorpcji termicznej
- Konieczność stosowania krioogniskowania
- Maskowanie związków niskowrzących przy elucji rozpuszczalnikiem

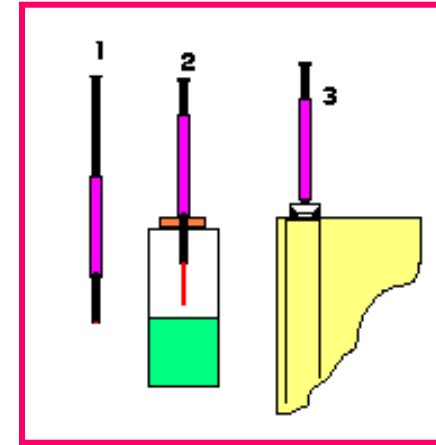
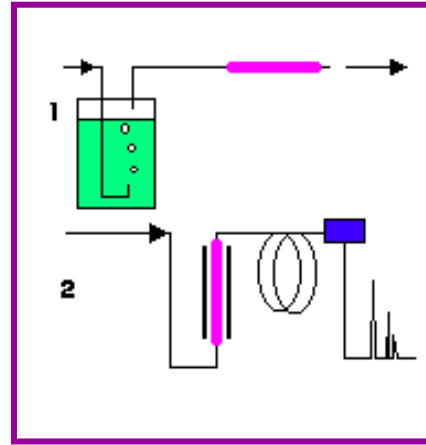
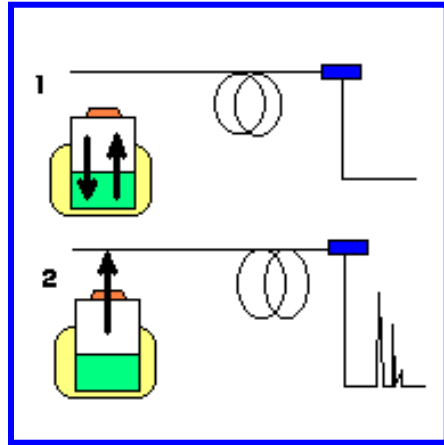


Headspace dynamiczny (P&T)

- Efektywność ekstrakcji gazem zależy od:
 - Rozpuszczalności związku w wodzie
 - Temperatury
 - Siły jonowej
 - Objętości gazu
- Typowo: 5-25ml wody, gaz 40ml/min, czas ekstrakcji 11 min.

		Procent pozostający w fazie wodnej			
Azot [ml/min]	Objętość [ml]	CH ₃ Cl	CHCl ₃	C ₆ H ₆	2-butanon
13	0	100	100	100	100
13	6.5	67	94	71	100
13	85	30	29	6	86
13	143	6	0	0	74
Rozpuszczalność w wodzie [%]		2	1	0.08	35
Temperatura wrzenia [°C]		40.1	61.3	80.1	79.6

Porównanie metod analizy nadpowierzchniowej



Parameter	Static headspace	Dynamic headspace	SPME
Sensitivity	ppm	ppb-ppt	ppb-ppt
Precision [%RSD]	1-50	1-30	1-15
Speed [min.]	30-60	30-120	1-30
Simplicity	No	No	Yes
Equilibrium required	Yes	No	No
Expense	High	High	Low



UNIwersytet
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



DZIĘKUJĘ ZA UWAGĘ!

Materiał powstał w ramach projektu „Najlepsi z natury! Podnoszenie kompetencji osób dorosłych przez UPP”, współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego Plus, w ramach programu Fundusze Europejskie dla Rozwoju Społecznego 2021-2027, na podstawie umowy nr FERS.01.05-IP.08-0469/23



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską

