

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

Derywatyzacja – jak ulotnić to co jest nielotne?

Dr Natalia Drabińska

Derywatyzacja

Derywatyzacja polega na przeprowadzeniu analitów, za pomocą reakcji chemicznej, w odpowiednie pochodne o właściwościach umożliwiających ich oznaczenie. W wyniku reakcji derywatyzacji substancje, które są przedmiotem analizy uzyskują właściwości odpowiednie dla danej metody analitycznej.

Derywatyzacja w HPLC

Zwiększenie czułości detekcji

Poprawa rozdzielczości

Stabilizacja analitów

Zwiększenie lotności (dla HPLC-MS)

Identyfikacja grup funkcyjnych

Derywatyzacja w HPLC - typy

- **Przed kolumną (pre-column)** – reakcja zachodzi przed wprowadzeniem próbki do kolumny.
- **Na kolumnie (on-column)** – rzadziej stosowana, reakcja zachodzi w trakcie rozdziału.
- **Po kolumnie (post-column)** – reakcja zachodzi po rozdziale, przed detekcją.

Derywatyzacja w HPLC – jak wybrać?

- Reagent musi być stabilny
- Środek derywatyzujący i produkty uboczne powstające podczas derywatyzacji nie powinny być wykrywalne lub muszą być oddzielone od analitu
- Analit musi być reaktywny z odczynnikiem derywatyzującym w dogodnych warunkach
- Odczynniki powinny być nietoksyczne, jeśli to możliwe
- Procedura powinna być dostosowana do automatyzacji

Derywatyzacja w GC

W GC głównym celem derywatyzacji jest zwiększenie lotności analitu. Częsteczki, które mają dużą masę cząsteczkową i/lub zawierają polarne grupy funkcyjne, są niestabilne termicznie w temperaturach wymaganych do ich rozdzielenia przez GC.

Główny typ derywatyzacji obejmuje reakcję funkcjonalności w termicznie stabilne, bardziej lotne, niepolarne grupy funkcyjne. Oprócz poprawy stabilności termicznej, derywatyzacja poprawia kształt piku poprzez minimalizację oddziaływań ściennych i innych, które mogłyby skutkować ogonowaniem i/lub nieodwracalną adsorpcją.

Typy derywatyzacji

SILYLACJA

Cel: Zwiększenie lotności i stabilności termicznej związków zawierających grupy hydroksylowe (-OH), karboksylowe (-COOH), aminowe (-NH₂) i tiolowe (-SH).

Reagenty: Najczęściej stosowane to BSTFA (N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide), MSTFA, TMCS.

Produkt: Powstają pochodne trimetylosilowe (TMS), np. $\text{-OH} \rightarrow \text{-O-Si(CH}_3\text{)}_3$.

Zalety: Bardzo popularna, daje trwałe i lotne pochodne.

Typy derywatyzacji

ALKILOWANIE

Cel: Zmniejszenie polarności i poprawa lotności związków zawierających grupy kwasowe lub fenolowe.

Reagenty: Alkilohalogenki (np. diazometan, jodek metylu), dimetylosiarczan.

Produkt: Powstają estry alkilowe, np. $\text{--COOH} \rightarrow \text{--COOCH}_3$.

Zalety: Prosta metoda, szczególnie przydatna dla kwasów tłuszczowych.

Typy derywatyzacji

ACYLOWANIE

Cel: Zmniejszenie polarności i poprawa wykrywalności związków zawierających --OH , --NH_2 .

Reagenty: Bezwodniki kwasowe (np. bezwodnik octowy), chlorki kwasowe (np. chlorek benzoilu), chloromrówczany.

Produkt: Powstają estry lub amidy, np. $\text{--OH} \rightarrow \text{--O--COCH}_3$.

Zalety: Dobre dla amin i alkoholi, poprawia rozdzielczość.

Typy derywatyzacji

ESTRYFIKACJA

Cel: Zmiana grup kwasowych w estry, co zwiększa lotność.

Reagenty: Alkohole (np. metanol, etanol) w obecności katalizatora (np. HCl, H₂SO₄).

Produkt: Estry, np. $\text{--COOH} \rightarrow \text{--COOR}$.

Zalety: Często stosowane w analizie kwasów tłuszczowych (np. FAME – metylowe estry kwasów tłuszczowych) ze względu na prostotę.

Typy derywatyzacji

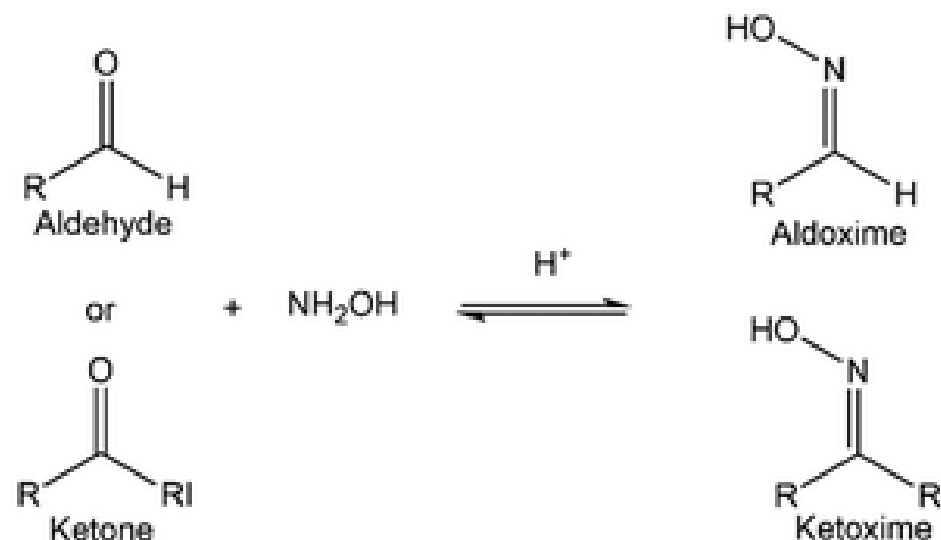
OKSYMOWANIE

Cel: Stabilizacja grup karbonylowych (aldehydów i ketonów), które mogą być niestabilne termicznie.

Reagenty: Hydroksyloamina, O-metyloksylamina.

Produkt: Oksymy, np. $R-C=O \rightarrow R-C=NOH$.

Zalety: Zwiększa trwałość i selektywność detekcji.



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

