

ANALÝZA TĚŽKÝCH KOVŮ POMOCÍ ITP S FOKUSAČNÍ PŘEDKONCENTRACÍ

*JAN POSPÍCHAL a ELIŠKA GLOVINOVÁ

Ústav chemie a biochemie, Mendelova univerzita, Zemědělská 1, 61300 Brno, Česká republika
posp@mendelu.cz

ÚVOD

Jednou z možností, jak dosáhnout větší citlivosti v analytické chemii je použití vhodné předkoncentrační metody před následnou analýzou. Pro elektroforetické metody především CZE jsou vhodnými předkoncentračními metodami izotachoforéza nebo různé způsoby fokusace.

Pro možnost citlivější analýzy jsme vyvinuli vhodnou předkoncentrační metodu založenou na principu stojícího neutralizačního reakčního rozhraní kombinovaného on-line s analytickou izotachoforézou. Princip je založen na faktu, že při průchodu proudy neutralizačním rozhraním se skokovou změnou pH dochází k fokusaci amfolytů a zakoncentrování slabých kyselin či bází. Zakoncentrování látek závisí na vlastnostech rozhraní (pH skoku elektrolytů přilehlých k rozhraní) a disociačních konstantách analytů nebo jejich pI.

Tento typ stojícího neutralizačního rozhraní je ideální pro fokusační předkoncentraci amfolytů, kdy při použití kontinuálního dávkování je množství zakoncentrovaného analytu funkcí dávkovacího času. Amfolyt je na rozhraní fokusován do stabilní zóny o $pH=pI$ a z této zóny díky oboustranně zaostřujícímu efektu nemůže uniknout.

Pro fokusaci kovů jsme vyvinuli nový druh rozhraní - ligand step gradient, kdy přidavkem vhodného komplexačního činidla do elektrolytu je možno dosáhnout fokusace kovů ve formě nabitých a neutrálních komplexů.

Princip fokusace kovů ve formě komplexů je podobný klasické IEF. V kyselém prostředí je převažující forma kovu tvořena kladně nabitými kationty volných kovů či komplexů, které migrují ve směru k rozhraní. Ve vlastní fokusované zóně je kov přítomen ve formě nenabitých komplexů a v alkalickém prostředí se kov vyskytuje ve formě aniontového komplexu, opět migrujícího směrem k rozhraní.

EXPERIMENTÁLNÍ USPOŘÁDÁNÍ

Přístroj: Pro experimenty byl použit komerčně vyráběný IPT přístroj (CS Isotachophoretic Analyzer, Villa Labeco, Slovenská republika) ve dvoukolonovém upořádání vybavený konduktivní detekcí.

ELEKTROLYTY

Alkalický primární (fokusační) elektrolyt: LE/PE: 0.01M NH_4Ac + 0.01M NH_4OH + 0.002M ammonium citrát + 1% polyethyleneglykol, pH=9.24

Kyselý dávkovací (fokusační) elektrolyt: DE: 0.01M HAc + 0.01M NH_4Ac + 0.1% Triton X100+vzorky kovů. pH=4.75

ITP analytický elektrolyt: LE: 0.02M NH_4Ac + 0.1M HAc + 0.002M ammonium citrát, 0.1% Triton X100, pH=4.00, TE: 0.03M HAc

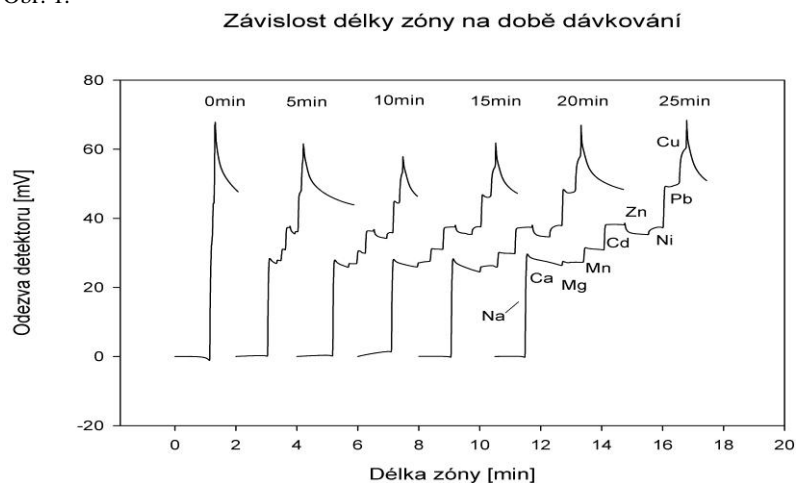
POSTUP ANALÝZY

Kolona byla naplněna příslušnými elektrolyty, horní terminátorová-anodická komůrka byla naplněna kyselým dávkovacím elektrolytem - DE, obsahujícím kovy. Separační kolona a spodní katodická elektrolytová komůrka byla naplněna alkalickým primárním-fokusačním elektrolytem- PE. Analytická kapilára s příslušnou komůrkou byla naplněna vedoucím elektrolytem-LE. Průchodem elektrického proudu se na rozhraní elektrolytů (kyselého a zásaditého fokusačního) vytvoří ostré skokové rozhraní o rozdílném pH s rozdílnými chelatačními vlastnostmi díky přítomnosti vhodného komplexačního činidla. Kationty kovů a kladně nabitých komplexů, v našem případě citrátové komplexy, jsou nepřetržitě dávkovány do rozhraní, kde se zadržují. Prostoupí-li kovy přes rozhraní do zásadité části elektrolytu, vytvoří se zde záporně nabitě komplexy, které migrují zpět do vlastní fokusované zóny. Po určitém čase a naakumulování dostatečného množství kovů vyměníme kyselý dávkovací elektrolyt za terminační elektrolyt (HAc). Okyselením fokusovaných zón dojde k rozpadu neutrálních komplexů na kationty kovů, tímto dojde k mobilizaci nadávkovaných zón, které takto domigrují do analytické kolony, kde jsou analyzovány běžnou ITP.

Experimentální ověření metody jsme provedli fokusací ekvimolární směsi devíti kovů Na^+ , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} (koncentrace $2 \times 10^{-6}M$, t.j. ca 20% nad cLOD).

Časová závislost množství nadávkovaných kovů je lineární, výjimkou je sodík, který se na rozhraní nefokusuje, viz.Obr.1. (Ca b[0]4,9 b[1]4,56 r2 0,9989; Mg b[0] 0,8 b[1] 2,82 r2 0,9999; Mn b[0] 1,1 b[1] 2,74 r2 0,9989; Cd b[0] 1 b[1]2,82 r2 0,9931; Zn b[0] 0,7 b[1] 2,8 r2 0,9894; Ni b[0]1,7 b[1] 1,94 r2 0,9958; Pb b[0]1,4 b[1] 2,1 r2 0,9993; Cu b[0] 0,6 b[1] 0,78 r2 0,9825)

Obr. 1.



Závěr

Kovové komplexy byly předkoncentrovány, fokusovány a analyzovány pomocí kombinace metody fokusace ve skokovém gradientu ligandu s následnou mobilizací a on-line detekcí ITP analýzou. Použitá kontinuální dávkovací technika umožnila snížit detekční limit cca o dva řády oproti běžně používané ITP analýze. Použitý dávkovací čas byl 25 min. Použité komplexační činidlo (citrát) umožnilo selektivní zafokusování kovů, ze směsi devíti kovů byly odstraněny sodné ionty.

Poděkování:

Tato práce byla podpořena OPVK CZ.1.07/2.2.00/28.0302

LITERATURA:

- [1] E. Šišperova, E.Glovinová, J.Budilová and J.Pospíchal, J. Chromatogr.A. 1281 (2011) p. 3105.
- [2] E.Glovinová and J.Pospíchal, Chromatographia 76 (2013) p. 313.