



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

ÚLOHA: EXTRAKCE SILIC KMÍNU POMOCÍ SUPERKRITICKÉ FLUIDNÍ EXTRAKCE (SFE)

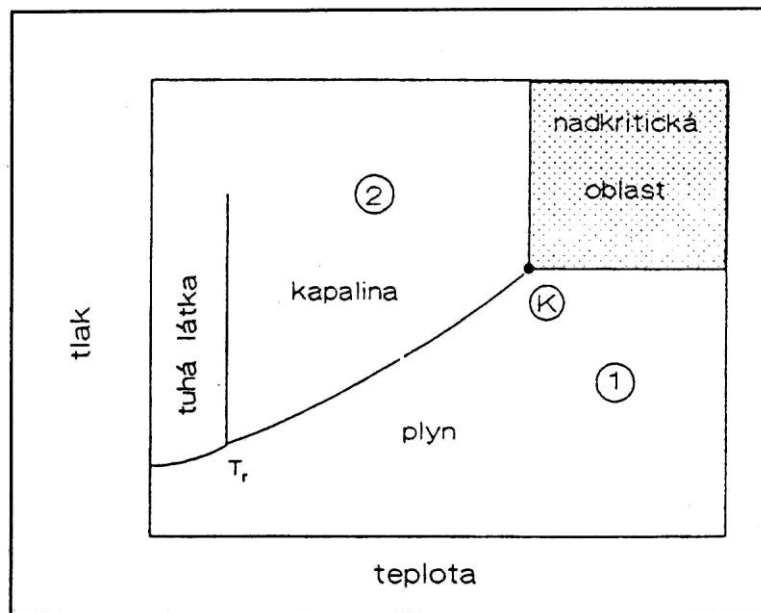
ÚVOD A CHARAKTERISTIKA METODY: Superkritická fluidní extrakce (SFE)

Superkritická fluidní extrakce (z anglického supercritical fluid extraction, zkráceně SFE) je extrakce látky ze vzorku (tuhého nebo kapalného) tekutinou v nadkritickém (superkritickém) stavu. Pro tekutinu v nadkritickém stavu se používají, v českém jazyce, různá označení např. superkritická tekutina, superkritické fluidum nebo superkritické medium.

Charakteristika tekutiny v nadkritickém stavu

Nadkritický stav odpovídá stavu tekutiny, kdy tlak i teplota kapaliny jsou vyšší než kritické hodnoty (p_K , T_K). Výstižněji je označovat kapalinu termínem tekutina, protože chování kapaliny je zde téměř shodné s chováním plynu. Viz. obr. 2. fázový diagram. Výhodou převedení kapalin do nadkritického stavu je také fakt, že se zde kapalina nemůže odpařovat ani kondenzovat, její vlastnosti se mění s rostoucím tlakem a teplotou. Z plynné fáze (1) do kapalné (2) se dostaneme vhodnou změnou teploty a tlaku průchodem přes nadkritickou oblast. Na křivce $T_r - K$ se kapalná a plynná fáze nachází v rovnováze. Kapalná fáze přechází do oblasti s nižší hustotou vlivem teplotní expanze a plynná fáze přechází do oblasti s vyšší hustotou vlivem rostoucího tlaku. Kritický bod K je charakterizován kritickým tlakem a kritickou teplotou (p_K , T_K) a kapalina v tomto bodě přechází v tzv. nadkritickou tekutinu. V tomto bodě mizí rozdíly ve vlastnostech kapalné a plynné fáze. Nadkritická oblast (obr. 2 vyšrafovaná část) je pracovní oblastí při extrakci tekutinou v nadkritickém stavu.

Obr. 2: Fázový diagram v p-T souřadnicích s vyznačením oblasti nadkritické tekutiny



Vlastnosti nadkritické tekutiny:

Nadkritická tekutina má dualistickou povahu, což znamená, že některé její vlastnosti se blíží vlastnostem kapalin (solvatační schopnosti) a jiné se blíží vlastnostem plynů (viskozita, difuzivita). Nadkritická tekutina je velmi účinné extrakční činidlo, neboť má nízkou viskozitu, vyšší difúzní koeficient a nulové povrchové napětí, což umožňuje vyšší rychlost transportních dějů než u běžných extrakčních kapalin. Nadkritické tekutiny mají vyšší hustotu než plyny, z tohoto důvodu má také nadkritická tekutina větší solvatační sílu. Běžné extrakční kapaliny mají hustotu až o řád vyšší než superkritická media. Viskozita nadkritické tekutiny s tlakem (hustotou) roste. Při tlaku 20 MPa a teplotě 50 °C pro CO₂ dosahuje hodnot okolo 0,1 cP, což je asi o řád méně než běžné hodnoty viskozit kapalných organických rozpouštědel. Povrchové napětí může při extrakci výrazně omezit penetraci rozpouštědla do matrice. Nadkritické tekutiny s nulovým povrchovým napětím pronikají do matrice lépe než kapalná rozpouštědla, což zvyšuje rychlost extrakce. Transportní vlastnosti nadkritických tekutin jsou příznivé z hlediska přestupu hmoty ve srovnání s kapalnými rozpouštědly a závisí na charakteru extrahované matrice a nejsou obecné. Jedná-li se např. o extrakci z povrchu tuhé látky, bude rozhodujícím krokem určujícím rychlost extrakce přenos analytu z povrchu do extrahující fáze. V tomto případě zvýšená difuzivita příznivě ovlivní účinnost extrakce. Naopak při extrakci z kapalně matrice bude rozhodujícím krokem difuzivita analytu v kapalně fázi. V tomto případě nelze očekávat příznivý vliv zvýšení difuzivity na celkovou rychlost přestupu hmoty. Rozpustnost látky v nadkritické tekutině závisí na tlaku a hustotě dané tekutiny. Protože hustota je závislá na teplotě, můžeme říci, že rozpustnost látky v nadkritické tekutině závisí na tlaku a teplotě. Solvatační síla nadkritické tekutiny je dána její hustotou, složením a teplotou

Výběr nadkritické tekutiny

Základem pro volbu nadkritické tekutiny jsou tři základní faktory (rozpustnost, difúze a vzorek - matrice). Tyto základní faktory musí splňovat následující podmínky:

- 1) rozpustnost - extrahovaná látka musí být v daném rozpouštědle dostatečně rozpustná (rozpustnost může ovlivňovat tlak, teplota a modifikátor),
- 2) difúze - stanovovaná látka musí být ze vzorku matrice transportována dostatečně rychle (časový průběh difúze je závislý na typu a množství matrice),
- 3) matrice - na extrakci vzorku mohou negativně ovlivnit následující skutečnosti:
 - a) adsorpce analytu na povrchu tuhé matrice
 - b) záchyt molekul analytu ve složitých organických molekulách matrice
 - c) snaha molekul analytu pronikat skrz buněčné stěny biomatrice. [in6]

Poznámka:

Pro stanovení silic kmínu byl jako nevhodnější nadkritická tekutina vybrán oxid uhličitý, použitý v čisté formě. Oxid uhličitý má nízkou kritickou teplotu (31 °C) a tlak (7,38 MPa). Je netoxický, nehořlavý, málo reaktivní, snadno dostupný a cenově přijatelný a tyto vlastnosti ho předurčují k obecně častému používání jako superkritickou tekutina.

Vlivy matrice

Extrahovaná matrice (její fyzikální stav, chemické složení, struktura, pórovitost atd.) může mít v některých případech zcela nepředvídatelný vliv i na extrakci známých analytů ze snadno extrahovatelných matic. Bohužel nejde vždy předpovědět efektivitu SFE, proto mají prvořadý význam experimentální výsledky.

Transport analytů probíhá ve čtyřech krocích:

- 1) difúze analytů z vnitřního objemu matrice,
- 2) povrchová desorpce analytu do nadkritické tekutiny,
- 3) difúze analytů přes povrchovou hraniční vrstvu do nadkritické tekutiny,
- 4) difúze a transport v objemu nadkritické tekutiny.

Pokud má extrakce analytu v nadkritické tekutině i přes svoji dobrou rozpustnost malý výtěžek, může být příčinou nedostatečná difúze z matrice.

Difúze analytu z matrice je ovlivňována velikostí částecek matrice. Je možné ji zvýšit např. rozemletím vzorku. Druhou příčinou může být malá desorpce analytu z povrchové vrstvy. Tu lze zvětšit použitím vyšší teploty, hustoty nebo použitím modifikátoru.

Rychlost desorpce je ovlivněna rostoucí teplotou, hustotou, difúzí atd. Dále je desorpce ovlivněna vytěsňovacím efektem, který spočívá v nahrazování molekul analytu v matici molekulami CO₂ popř. modifikátoru.

Kinetika transportu přes povrchový film bude záviset na tloušťce filmu a na celkovém povrchu matrice.

Posledním krokem je transport analytů v objemu nadkritické fáze, který je určován jeho difúzním koeficientem v nadkritické tekutině. Tento faktor je závislý na matici. [in7]

Typy SFE

Z hlediska provedení lze extrakci rozdělit na statickou a dynamickou.

Při statické extrakci je extrakční cela naplněna nadkritickou tekutinou a systém je ponechán v klidu. Nastane přestup analytu z matrice do extrakčního média a po určitém čase dojde k ustavení rovnováhy. Po určité době je extrakt vypuštěn do sběrné nádoby a celý postup je v případě potřeby opakován.

Při dynamické extrakci je nadkritická tekutina čerpána přes extrakční celu se vzorkem. Výhodou dynamické SFE je, že vzorek je neustále v kontaktu s čerstvou nadkritickou tekutinou. Tento způsob provedení je častější. [in8]

Vlastní pracovní postup pro stanovení silic kmínu

Pracovní postup:

- 1. Mletí** na analytickém mlýnku: cca 2 - 3 g vzorku se semelou na analytickém mlýnku, který zaručuje velikost částic menší než 100 mesh.
- 2. Příprava extrakční patrony.** Spodní část extrakční patrony z nerezové oceli o vnitřním objemu 7ml uzavřeme fritou a šroubovací koncovkou. Položíme na analytické váhy, vynulujeme.
- 3. Navážka:** odvážíme cca 0.500 g vzorku (v rozmezí 0.500 - 0.550 g).
- 4. Uzavření patrony.** Horní část extrakční patrony uzavřeme fritou a šroubovací koncovkou. Uzavřenou patronu vložíme do temperačního bloku. Uzavřeme temperační blok a ventil pro odtlakování.
- 5. Příprava záchytné nádobky.** Do chladicího bloku vložíme předem zváženou vialku se záchytným rozpouštědlem (n-hexan) tak, aby konec restriktoru zasahoval pod okraj hladiny rozpouštědla.
- 6. Kontrola nastavení technických plynů.** Nastavíme přívod technických plynů, zapneme přístroj a spustíme extrakční program. Optimální podmínky extrakce jsou $T = 120\text{ }^{\circ}\text{C}$, $P = 40\text{ MPa}$, $t = 30\text{ min}$, restriktor: křemenná kapilára 12 cm x 30 μm i.d., průtok 300 ml $\text{CO}_2(\text{g})/\text{min}$, záchyt do min. 2 ml hexanu.
- 7. Doplnování záchytného rozpouštědla.** V průběhu extrakce se nastavené parametry regulují automaticky, ale záchytné rozpouštědlo je třeba doplňovat manuálně.
- 8. Konec extrakce.** Po skončení extrakce odebereme ze zařízení záchytnou vialku, rychle ji zvážíme, uzavřeme a umístíme do mrazničky, aby byla ztráta těkavých analytů co nejmenší. Objem rozpouštědla vypočteme z hmotnosti rozpouštědla na základě hmotnostního rozdílu plné a prázdné vialky. Povolíme odtlakovací ventil, otevřeme temperační blok, vyjmeme extrakční patronu a vyčistíme ji od vzorku.

Použité chemikálie: Methanol, aceton, dichlormetan, chloroform, toluen, ethanol, oxid uhličitý, plynný dusík, n-hexan

Tato publikace je spolufinancována z Evropského sociálního fondu a státního rozpočtu České republiky. **4**

Byla vydána za podpory projektu OP VK CZ.1.07/2.2.00/28.0302 Inovace studijních programů AF a ZF MENDELU směřující k vytvoření mezioborové integrace.

Obrázky demonstrující části postupu.

Obr. 3: Mlýnek yellow line, extrakční patrona se vzorkem,

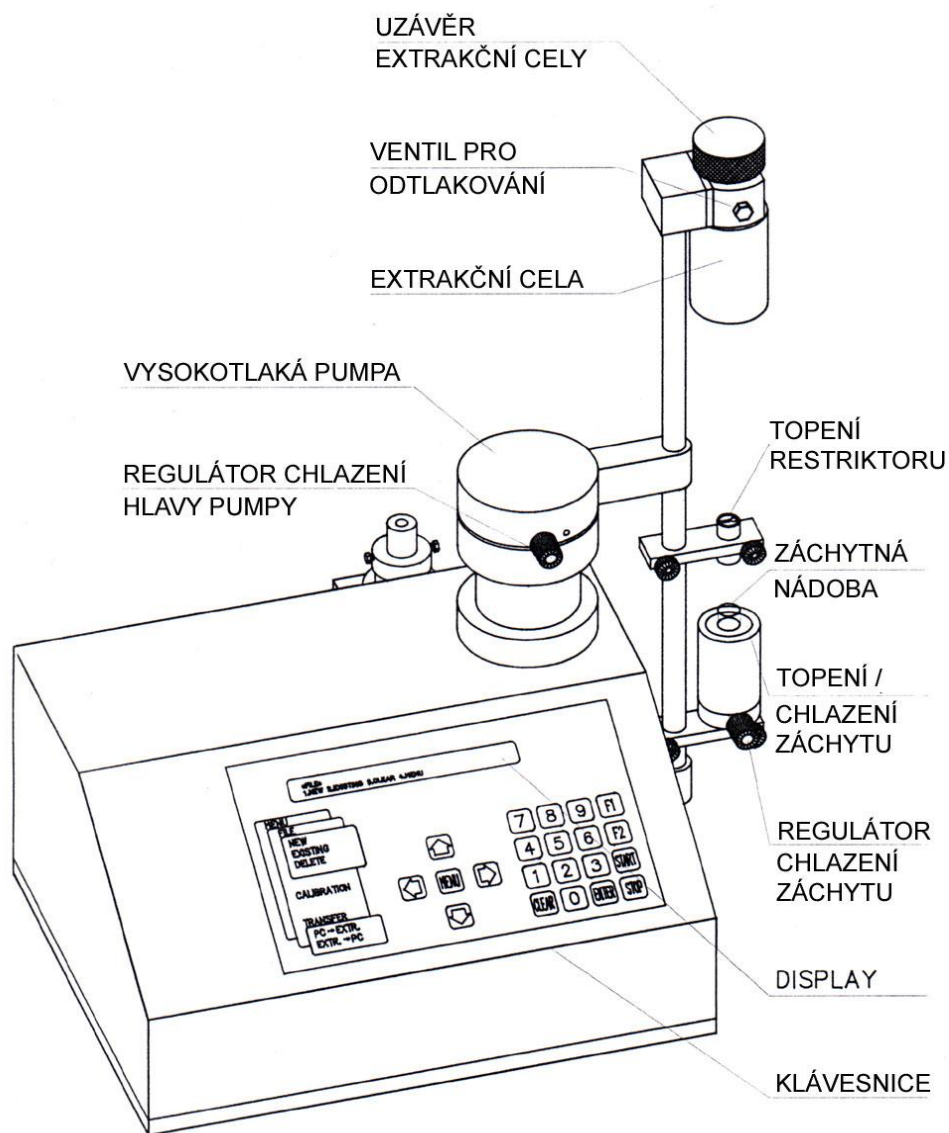
analytická váha



Otázky a úkoly:

- 1)
Najděte na internetu další možnosti využití nadkritických kapalin a napište, v kterých odvětvích lidské činnosti se nadkritické kapaliny využívají.
- 2)
Co je SFE?
- 3)
Vyjmenujte alespoň tři vlastnosti nadkritických kapalin.
- 4)
Vyjmenujte některé faktory, které ovlivňují výběr nadkritických kapalin.
- 5)
Nakreslete a popište fázový diagram s vyznačením oblasti s nadkritickou kapalinou.

Obr.4 : Schéma extraktoru SFE





Obr. 5. Zařízení pro SFE.

Literatura:.

Ing. Jitka Sedláková, Vliv vnějších faktorů na obsah silic v rostlinách, Doktorská disertační práce. Mendelu, Brno 2004.

GC/MS of terpenes in walnut-tree leaves after accelerated solvent extraction.

Jitka Fojtová, Lea Lojková, Vlastimil Kubán

Journal of Separation Science 02/2008; 31(1):162-8.

A two-step supercritical fluid extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from roadside soil samples.

Lea Lojková, Jitka Sedláková, Vlastimil Kubán

Journal of Separation Science 12/2005; 28(16):2067-75.

Article: A solvent recirculation trapping device for supercritical fluid extraction of polyaromatic hydrocarbons.

Lea Lojková, Jitka Sedláková, Vlastimil Kubán

Journal of Separation Science 08/2005; 28(11):1188-94.