

## ĆWICZENIE nr 5

### Ekstrakcja i oznaczanie fenolu metodą in-situ dyspersyjnej mikroekstrakcji ciecz-ciecz z zastosowaniem cieczy jonowej z detekcją UV-Vis

Ćwiczenie jest przykładem zastosowania in-situ dyspersyjnej mikroekstrakcji ciecz-ciecz z użyciem cieczy jonowej do ekstrakcji i analizy ilościowej wybranych mikrozanieczyszczeń organicznych z grupy fenoli. Celem ćwiczenia jest zapoznanie się z metodyką wskazanej techniki mikroekstrakcyjnej oraz ilościowe oznaczenie fenolu metodą krzywej kalibracyjnej przy użyciu analizy UV-Vis.

#### **Wprowadzenie:**

##### **1. Ciecze jonowe**

Ciecze jonowe (ang. Ionic Liquids, ILs) uważane powszechnie za rozpuszczalniki nowej generacji, to związki chemiczne, składające się najczęściej z dużego, organicznego kationu i na ogół nieorganicznego anionu. Charakteryzują się temperaturą topnienia poniżej temperatury wrzenia wody tj. 100°C, natomiast niskotemperaturowe ciecze jonowe (ang. Room Temperature Ionic Liquids, RTILs) są cieczami w temperaturze pokojowej. Właściwości fizykochemiczne cieczy jonowych są w znacznym stopniu uzależnione od budowy jonowej tych związków, rozmiaru, rozmieszczenia oraz natury obojga jonów. Perspektywa dowolnego projektowania struktur cieczy jonowych, poprzez odpowiedni dobór kationu i anionu, umożliwia tworzenie związków o ściśle określonych właściwościach fizykochemicznych, „szytych na miarę” potrzeb. Nieprzeciętne właściwości, takie jak bardzo mała prężność par, wysoka stabilność termiczna, szeroki zakres występowania w stanie ciekłym, stosunkowo duża lepkość oraz zdolność rozpuszczania szerokiej i różnorodnej gamy związków, umożliwiają stosowanie cieczy jonowych w wielu obszarach chemii analitycznej. Co więcej, dzięki swym właściwościom takim jak niska prężność par, stosunkowo niska toksyczność, ciecze jonowe spełniają założenia „zielonej chemii” i są powszechnie uznawane za zielone rozpuszczalniki. Stosowana w ćwiczeniu ciecz jonowa to chlorek didecyldimetyloamoniowy (DDAC), która należy do czwartorzędowych soli amoniowych.

Ciecze jonowe ciekłe w temperaturze pokojowej są bardzo interesującymi rozpuszczalnikami ekstrahującymi. Znanych jest ponad dwieście RTIL a liczba dostępnych komercyjnie związków wciąż wzrasta. Głównymi typami ciekłych w temperaturze pokojowej cieczy są sole zawierające w swej strukturze kationy takie jak: alkilimidazoliowe, alkiloamoniowe, alkilofosfoniowych, alkilopirydyniowe oraz alkilopirolidyniowe. Z kolei najczęściej stosowane aniony to słabe nukleofile takie jak: bis(trifluorometanosulfonylo)imidek, heksafluorofosforan, tetrafluoroboran, perfluoroalkilosulfonian i in. Niska temperatura topnienia cieczy jonowych tłumaczona jest małą symetrią cząsteczki i delokalizacją ładunku, przesłanianiem jednego lub obu jonów oraz słabym wiązaniem wodorowym między jonami. Mała symetria cząsteczki i delokalizacja ładunku dają dużą swobodę drgań, które zwiększają odległości międzyladunkowe i obniżają w ten sposób stabilność sieci krystalicznej i

temperaturę topnienia. Temperatury parowania cieczy jonowych są wysokie, gdyż przed przejściem do fazy gazowej chronią, działające na znaczne odległości, oddziaływania kulombowskie.

Niska prężność par cieczy jonowych występuje w szerokim zakresie temperatur. Pomijalna prężność par minimalizuje zanieczyszczenie środowiska naturalnego poprzez odparowanie, co jest głównym problemem w przypadku stosowania konwencjonalnych rozpuszczalników organicznych oraz pozwala na stosowanie układów próżniowych bez istotnych strat. W technikach separacyjnych największe zastosowanie ciekłe w temperaturze pokojowej cieczy jonowe znalazły w ekstrakcji próbek wodnych, do izolacji zarówno związków organicznych jak i nieorganicznych.

Termiczną trwałość cieczy jonowej najczęściej określa się przez temperaturę początku rozpadu. Ciecze jonowe ze słabo zasadowymi anionami wykazują wyjątkową termiczną stabilność w obojętnej atmosferze, pozwalającą na stosowanie w temperaturze powyżej 250°C (np. w chromatografii gazowej). Gęstość cieczy jonowych RTIL jest przeważnie większa od gęstości wody (dla najczęściej stosowanych wynosi od 0,964 do 1,470 g/mL, w 25°C) i zwykle zmniejsza się wraz ze wzrostem rozmiaru jonów. Ciekłe w temperaturze pokojowej cieczy jonowe mają relatywnie niską lepkość, większość z nich ma lepkość powyżej 30 cP (lepkość wody w temp. 25°C wynosi 0,8937 cP). Lepkość cieczy jonowych związana jest z rozmiarem anionu, małe aniony z rozmytym ładunkiem ujemnym i ograniczoną zdolnością do wiązania wodoru obniżają lepkość. Ciecze jonowe są ogólnie trudnopalne, a temperatury zapłonu są przynajmniej o 100°C wyższe niż temperatury zapłonu konwencjonalnych rozpuszczalników organicznych. Zdolność do solwatacji oraz właściwości fizyczne ciekłych w temperaturze pokojowej cieczy jonowych, takie jak: niska prężność par i wysoka gęstość, są korzystne w procesie ekstrakcji. Zdolność do solwatacji jest ogólnie charakteryzowana przez polarność rozpuszczalnika, czyli zdolność rozpuszczalnika do oddziaływań międzycząsteczkowych ze składnikami rozpuszczonymi, ale nieskutkująca reakcjami chemicznymi. Wszystkie ciecze jonowe są dipolarne/polaryzowalne i posiadają właściwości tworzenia wiązań wodorowych, co powoduje ich dobre właściwości solwatacyjne i dobrą rozpuszczalność szerokiego zakresu związków organicznych i nieorganicznych a także różnych biomolekuł w tym enzymów i biopolimerów, takich jak np. celuloza.

Gęstość ciekłych w temperaturze pokojowej cieczy jonowych, które tworzą układy dwufazowe z wodą lub rozpuszczalnikami organicznymi, umożliwia szybkie rozdzielenie faz, co jest korzystne w przypadku ich stosowania w metodach ekstrakcyjnych. Niepożądaną cechą w porównaniu z konwencjonalnymi rozpuszczalnikami jest wysoka lepkość. Procedury przygotowania próbek, polegające na pompowaniu cieczy jonowej wymagają dla normalnej pracy aparatu lepkości poniżej 5 cP. Lepkość RTIL może być obniżana do pożądanego zakresu przez podwyższenie temperatury lub przez rozcieńczenie z mieszającym się rozpuszczalnikiem organicznym.

W większości zastosowań ciekłych w temperaturze pokojowej cieczy jonowych w technikach separacyjnych, dwie właściwości odróżniają je na korzyść od konwencjonalnych

rozpuszczalników: wysoka termiczna trwałość i niska prężność par w szerokim zakresie temperatur. Zdolność do solwatacji oraz właściwości fizyczne ciekłych w temperaturze pokojowej cieczy jonowych, takie jak: niska prężność par i wysoka gęstość, są korzystne w procesie ekstrakcji. Poprzez odpowiedni dobór kationu i anionu cieczy jonowej można z powodzeniem manipulować takimi cechami fizykochemicznymi jak lepkość, gęstość, rozpuszczalność z odpowiednimi rozpuszczalnikami i In. Większość z dostępnych współcześnie cieczy jonowych może całkowicie lub częściowo mieszać się z polarnymi rozpuszczalnikami organicznymi (np. metanolem, acetonitrylem, tetrahydrofuranem, dichlorometanem, acetonem, i in.). Ciecze mogą też tworzyć wydajne dwufazowe układy z organicznymi rozpuszczalnikami o niskiej polarności (np. heksanem, toluenem, eterami alkilowymi) lub z wodą. Rozpuszczalność w wodzie zależy bardziej od rodzaju anionu niż kationu. Sole alkiloimidazoliowe z anionami halogenkowymi, etanolanowym, azotanowym i trifluorooctowym całkowicie mieszą się z wodą. Sole z anionami heksafluorofosforanowymi oraz bis(trifluorometanosulfonylo)imidkowymi ogólnie nie mieszą się z wodą, natomiast sole anionów tetrafluoroboranowych i trifluorosulfonianowych mieszą się całkowicie lub wcale, w zależności od długości łańcucha alkilowego w strukturze kationu.

Jeśli analiza właściwa analitu jest przeprowadzana techniką uniemożliwiającą bezpośrednio zastosowanie cieczy jonowej (np. za pomocą chromatografii gazowej) konieczna jest zamiana tego medium na inną matrycę. Odzyskanie ekstrahowanych substancji można przeprowadzić przez destylację, sublimację lub ekstrakcję rozpuszczalnikiem organicznym (ewentualnie po derywatywacji). RTIL nie można wprowadzać bezpośrednio do chromatografu gazowego z powodu ich niskiej lotności, co może powodować ich kumulację w dozowniku i na kolumnie chromatograficznej, obniżając sprawność separacji.

Cieczami jonowymi można ekstrahować związki występujące w formie obojętnej lub jonowej. Jeśli związek jest w formie jonowej, np. fenol - jako anion fenolanowy, ekstrakcja zachodzi wg mechanizmu wymiany jonowej, czyli taka sama ilość anionów cieczy jonowej musi przejść do fazy wodnej, ile anionów fenolanowych przechodzi do cieczy jonowej. Fenole mogą być ekstrahowane w formie obojętnej i formie anionowej, a wydajność ekstrakcji zależy od rodzaju cieczy jonowej. Dla niektórych fenoli ekstrakcja była wydajniejsza w warunkach, gdy fenol był w formie zjonizowanej. Wydajność ekstrakcji fenoli z wody za pomocą RTIL może być 10 razy większa niż dla dichlorometanu.

Zastosowanie cieczy ciekłych w temperaturze pokojowej w technikach mikroekstrakcji, jak ekstrakcja do pojedynczej kropli w fazie nadpowierzchniowej (HS-SDME) i ciekłej (DI-SDME), mikroekstrakcja poprzez membranę do fazy ciekłej (HF-LPME) oraz mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME), wynikają głównie z ich właściwości fizycznych. Stosowane w SDME ciecze jonowe dają większe i stabilniejsze krople, co umożliwia szybsze mieszanie próbki i dłuższy czas ekstrakcji. Technika SDME czy HF-LPME przy użyciu cieczy jonowych ciekłych w temperaturze pokojowej może być bezpośrednio łączona z chromatografią cieczą w układzie odwróconych faz z wodnymi fazami ruchomymi. Najkorzystniejsze cechy do zastosowania w technice dwufazowych układów wodnych mają sole kationów 1,3-dialkiloimidazoliowych, których zdolność do tworzenia dwóch faz jest w przybliżeniu

## 2. Dyspersyjna mikroekstrakcja w układzie ciecz-ciecz, DLLME

W ostatnich latach dyspersyjna mikroekstrakcja w układzie ciecz-ciecz (ang. Dispersive Liquid-Liquid Microextraction, DLLME) jawi się jako jedna z wiodących procedur analitycznych stosowanych do izolacji i zateżania śladowych ilości analitów z matryc środowiskowych, zarówno tych o niskiej złożoności składu jak i tych bardziej skomplikowanych. Zaproponowana w 2006 roku przez Razaee i wsp. metoda DLLME jest szeroko stosowana i rozwijana w laboratoriach analitycznych, dzięki czemu doczekała się wielu modyfikacji.

DLLME w skrócie opiera się na kilku nieskomplikowanych krokach analitycznych. Na początek wprowadza się niewielką ilość próbki wodnej, zawierającej analit, do małej objętości rozpuszczalnika ekstrakcyjnego niemieszającego się z wodą (najczęściej rzędu kilku mikrolitrów). Następnie, z pomocą rozpuszczalnika dyspergującego (zwykle 0,5 do 1 ml), mieszającego się z kolei zarówno z wodą jak i z rozpuszczalnikiem ekstrakcyjnym wspomaga się proces roztworzenia próbki. W ten sposób zmieszanie trzech komponentów prowadzi do powstania mikrokropel zawieszonych w rozpuszczalniku, w którym zachodzi rozdział analitu. Na tej drodze, niewielka objętość rozpuszczalnika ekstrakcyjnego, wcześniej rozproszonego w dużej objętościowo próbce wodnej, zostaje wzbogacona o analit i oddzielona poprzez odwirowywanie.

Powodzenie techniki DLLME wynika z faktu, iż niewielkie krople analitu i rozpuszczalnika ekstrakcyjnego posiadają dużą powierzchnię, co ułatwia ich wzajemny kontakt i przyspiesza przeniesienie molekuł analitu. Technika DLLME w tym przypadku, opiera się na cloud-point extraction (ekstrakcji w punkcie zmętnienia), chociaż niektóre odmiany DLLME przypominają także homogeniczną ciecz-ciecz mikroekstrakcję.

Jak wynika z przeglądu literatury, przez ostatnie blisko dziesięć lat DLLME uległa wielu modyfikacjom. Ze szczególnym naciskiem na usprawnienie procedur podnoszących wydajność przeniesienia analitu do rozpuszczalnika ekstrakcyjnego. Wśród nich można wymienić m.in.: ekstrakcję wspomaganą zmianą temperatury (temperature assisted extraction), ekstrakcję wspomaganą wytrząsaniem (vortex assisted extraction) i ekstrakcję wspomaganą ultradźwiękami (ultrasound assisted extraction), gdy rozpuszczalnik ekstrakcyjny charakteryzuje się niższą gęstością niż matryca wodna. Doskonalenie techniki DLLME w kierunku mniejszego zużycia rozpuszczalników, ograniczenia kosztów procesu analitycznego czy wreszcie sprostania wymaganiom „zielonej chemii” doprowadziło do opracowania wariantu IL-DLLME polegającego na zastosowaniu jako ekstrahentów związków powierzchniowo czynnych których produkty biodegradacji są nieszkodliwe dla organizmów żywych i nie zagrażają ekosystemom wodnym. W ten sposób wyodrębniona została grupa technik w skrócie określanych mianem IL- DLLME. W literaturze proponuje się następujący podział na główne warianty IL-DLLME (Schemat 1):

- (1) klasyczna metoda DLLME, oparta na czterech składowych: matryca wodna, analit rozpuszczony w matrycy, ekstrahent i rozpuszczalnik dyspersyjny. Wyodrębnianie oraz zateżanie analitów odbywa się w tym przypadku bez udziału dodatkowych czynników zewnętrznych,

- (2) kontrolowana temperaturowo IL-DLLME,
- (3) wspomagana ultradźwiękami, mikrofalami, przepływem powietrza lub wytrząsaniem IL-DLLME,
- (4) oraz *in-situ* IL-DLLME.



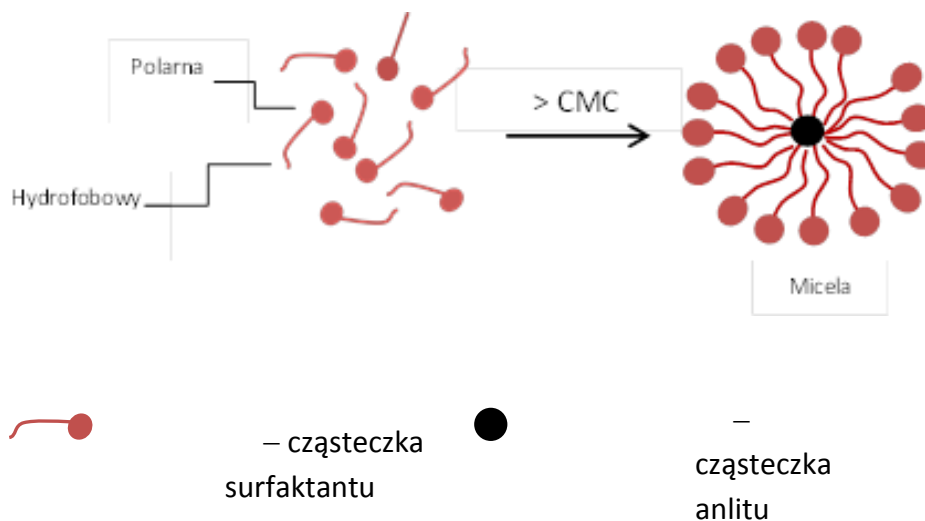
**Schemat 1.** Podział metod opartych na IL-DLLME.

Zastosowanie cieczy jonowych w technice DLLME po raz pierwszy zostało zaproponowane przez Zhou i wsp. oraz Baghdadi i Shemirani. Zhou zaproponował użycie cieczy jonowej w celu wyodrębniania fosforoorganicznych pestycydów z próbek środowiskowych z zastosowaniem wariantu wspomaganego temperaturą. Podgrzewanie, a następnie chłodzenie układu ekstrakcyjnego pozwalało na zaniechanie użycia rozpuszczalnika dyspersyjnego. Z kolei Baghdadi and Shemirani użyli metody IL-DLLME do oznaczania Hg(II) w roztworach solankowych. Nazwali oni tę technikę mikroekstrakcją “in situ solvent - formation microextraction” (ISFME) opartą na ILs. Także w tym przypadku prowadzono manipulacje temperaturowe w celu podniesienia skuteczności ekstrakcji. Od 2008 roku metoda *in-situ* IL-DLLME doczekała się wielu zastosowań zarówno do izolacji związków organicznych, nieorganicznych jak i separacji jonów metali różnego pochodzenia.

### **2.1. Dyspersyjna mikroekstrakcja w układzie ciecz-ciecz z zastosowaniem cieczy jonowych, IL-DLLME.**

Klasyczna metoda IL-DLLME, nazywana również ekstrakcją micelną, opiera się na użyciu hydrofilowej cieczy jonowej jako rozpuszczalnika ekstrakcyjnego do ekstrakcji analitów zawartych w próbkach wodnych. Cząsteczki cieczy jonowej przy niskich stężeniach występują w roztworach wodnych w postaci monomerów, rzadziej dimerów bądź trimerów. Wraz ze wzrostem stężenia cieczy jonowej monomery związków powierzchniowo czynnych (ZPC), powyżej granicy zwanej krytycznym stężeniem micelizacji (CMC) tworzą skupiska koloidalnych rozmiarów zwane micelami. Zjawisko to prowadzi do zmętnienia układu, przez co uzyskuje się rozdział dwóch faz (wodnej oraz micelarnej). Powstające agregaty charakteryzują się zdolnością solubilizacji analitów, w szczególności analitów hydrofobowych obecnych w złożonych matrycach wodnych. Anality obecne w próbce

migrują z fazy wodnej w kierunku niepolarnego rdzenia miceli utworzonego przez skupiające się ze sobą monomery surfaktantów (Schemat 2).



**Schemat 2.** Tworzenie się micel cieczy jonowej w wodnym roztworze analitu.

Wielką zaletą użycia IL w metodzie DLLME jest często stukrotne zateżnienie analitu: np. redukcja objętości matrycy próbki wynoszącej 10 mL do objętości 100  $\mu$ L fazy ekstrakcyjnej. Bezpośredni rozdział cieczy jonowej od fazy wodnej odbywa się w procesie wirowania, który poprzedzany jest kilkuminutowym schłodzeniem układu ekstrakcyjnego w łaźni lodowo-wodnej. Obniżenie temperatury układu powoduje zwiększenie lepkości cieczy jonowej, co z kolei sprzyja jej przyleganiu do ścianek naczynia. Po usunięciu fazy wodnej, poprzez prostą dekantację, badana warstwa organiczna rozpuszczana jest w niewielkiej ilości rozpuszczalnika (niskocząsteczkowy alkohol alifatyczny, acetonitryl) i poddawana dalszej analizie analitycznej.

Pierwszy opis zastosowania klasycznej IL-DLLME datuje się na 2009 rok. W tej pracy Liu i wsp. zastosowali IL do oznaczania heterocyklicznych związków owadobójczych w wodzie. W pracy użyto metanolu jako rozpuszczalnika dyspersyjnego oraz cieczy jonową  $C_6Mim-PF_6$  jako rozpuszczalnika ekstrakcyjnego. W literaturze wiele jest prac dotyczących zastosowania cieczy jonowych w technice IL-DLLME. W większości tych publikacji jako rozpuszczalnik ekstrakcyjny stosowano heksafluorofosforany. Warto także zwrócić uwagę na konieczność użycia niewielkich objętości rozpuszczalnika organicznego na etapie przygotowania fazy organicznej (IL z roztworzonym w niej analitem) do dalszych oznaczeń analitycznych. Zastosowanie bowiem np. metanolu zmniejsza lepkość cieczy jonowej zapewniając możliwość pomiarów analitycznych z zastosowaniem różnej aparatury badawczej. We wspomnianych przypadkach do oznaczeń ilościowych oraz jakościowych stosowano najczęściej wysokosprawną chromatografię ciekłą (HPLC) w połączeniu z różnymi metodami detekcji: UV-Vis, DAD, FD, MS oraz CE.

W 2011 roku Zhao i jego zespół wprowadzili modyfikację klasycznej metody IL-DLLME, polegającą na użyciu, w miejsce rozpuszczalnika dyspersyjnego w postaci związku

organicznego, hydrofilowej cieczy jonowej. Najczęściej używaną cieczą jonową była w tym przypadku pochodna imidazoliowa C<sub>4</sub>Mim-BF<sub>4</sub>.

Obok matryc wodnych, metodą IL-DLLME badano także próbki stałe. W tym przypadku proces ekstrakcji IL-DLLME poprzedzany jest rozpuszczeniem próbki stałej w wodzie z dodatkiem metanolu lub acetonitrylu lub ekstrakcją za pomocą rozpuszczalnika organicznego, po której następuje odparowanie rozpuszczalnika organicznego i ponowne roztworzenie analitu w wodzie z dodatkiem metanolu bądź acetonitrylu. W ten sposób badano złożone matryce takie jak: banany, winogrona, śliwki, naleśniki, kosmetyki, korzenie roślin.

Konwencjonalna metoda IL-DLLME znalazła także zastosowanie do oznaczania kationów metali zawartych w próbkach wodnych. Zastosowanie IL-DLLME wymaga w tym przypadku użycia dodatkowo czynnika chelatującego, przenoszącego kation metalu ze środowiska wodnego do otoczenia organicznego. W tych przypadkach końcowe oznaczenia analityczne odbywały się z zastosowaniem technik ETAAS, FAAS, GFAAS oraz ICP.

### **2.1.1. IL-DLLME kontrolowana temperaturowo**

Metoda IL-DLLME wspomagana temperaturowo proponuje włączenie manipulacji temperaturowych w celu zwiększenia wydajności ekstrakcji. Prowadzi się w tym przypadku podgrzewanie matrycy próbki oraz cieczy jonowej jako fazy ekstrakcyjnej, w celu wydajnego utworzenia mikrokropel surfaktantu. W ten sposób poprawia się rozpuszczalność cieczy jonowej w fazie wodnej co znacząco zwiększa dyspersję IL. W dalszych etapach metoda wymaga schłodzenia układu ekstrakcyjnego w celu wydzielenia cieczy jonowej wraz z zawartymi w niej molekułami analitu. Technika stosowana jest zarówno do oznaczeń związków organicznych jak i kationów metali (Tabela 1.).

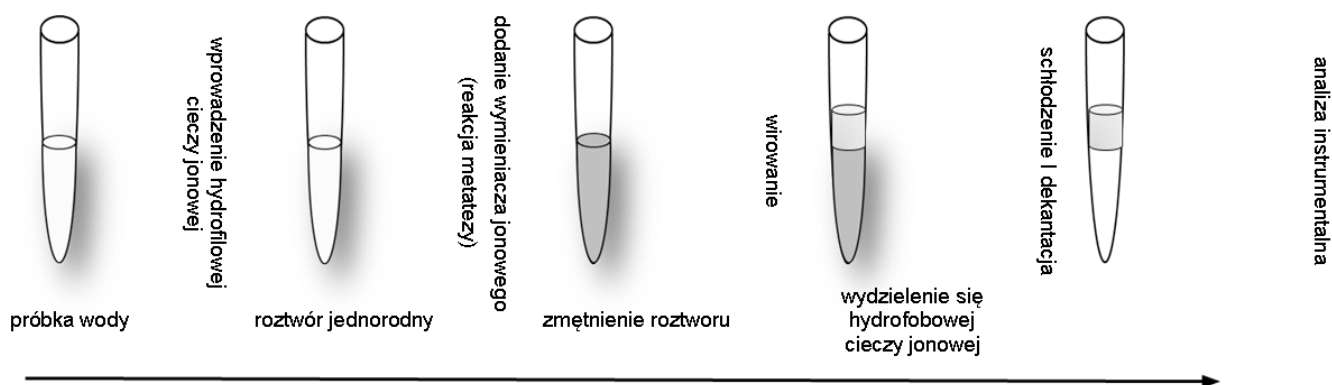
### **2.1.2. IL-DLLME wspomagana ultradźwiękami, mikrofalami, przepływem powietrza lub wytrząsaniem**

Użycie w procesie ekstrakcji metodą IL-DLLME ultradźwięków, mikrofal czy też wytrząsania służy zapewnieniu optymalnej dyspersji hydrofobowej cieczy jonowej w roztworze wodnym w celu wytworzenia właściwej ilości i jakości mikrokropel IL. Metoda IL-DLLME wspomagana ultradźwiękami została po raz pierwszy zaproponowana w 2009 przez dwa zespoły badawcze: Zhou i wsp. do oznaczania amin aromatycznych w wodzie oraz przez Li i wsp. do oznaczania kadmu w próbkach wodnych. Z kolei, pierwsze prace na temat zastosowania wytrząsania do celów ekstrakcyjnych metodą IL-DLLME datują się na rok 2011. Asensio-Ramos użył IL-DLLME wspomaganej wytrząsaniem do oznaczania pestycydów w glebie, a grupa badawcza Ye badała tą metodą filtry UV zawarte w próbkach wodnych. Wśród innych prac dotyczących IL-DLLME wspomaganej wytrząsaniem wymienić należy. Użycie ultradźwięków do celów ekstrakcyjnych po raz pierwszy opisali Xu i wsp. Oznaczali oni tą metodą formaldehydy zawarte w napojach. Metodę tę zastosowano także w poniższych pracach w których badano złożone matryce takie jak gleba, mleko czy osocze krwi zwierząt.

### 2.1.3. *In-situ* IL-DLLME

W wariancie *in-situ* IL-DLLME wprowadzono modyfikację polegającą na zastosowaniu w pierwszej fazie ekstrakcji hydrofilowej cieczy jonowej (Rysunek 1.), a następnie do układu dodawany jest reagent w postaci wymiennicza jonowego, najczęściej w postaci soli nieorganicznej, którego zadanie polega na sprzyjaniu reakcji podwójnej wymiany. W ten sposób powstaje *in-situ* hydrofobowa ciecz jonowa (Schemat 3.), w której „umiejscawiają” się zateżone anality. Metoda ta niekiedy wymaga wspomagania przez wytrząsanie, zastosowanie mikrodźwięków, mikrofal lub przepuszczania powietrza w celu polepszenia kinetyki reakcji metatezy.

Po raz pierwszy metodę *in-situ* IL-DLLME opisali Baghdadi i Shemirani. Zastosowali oni z sukcesem ekstrakcję *in-situ* do oznaczeń Hg(II) w zasolonych matrycach wodnych. Z kolei pionierskie prace dotyczące oznaczania aromatycznych związków organicznych w matrycach wodnych tą metodą obejmują badania Yao i Andersena.



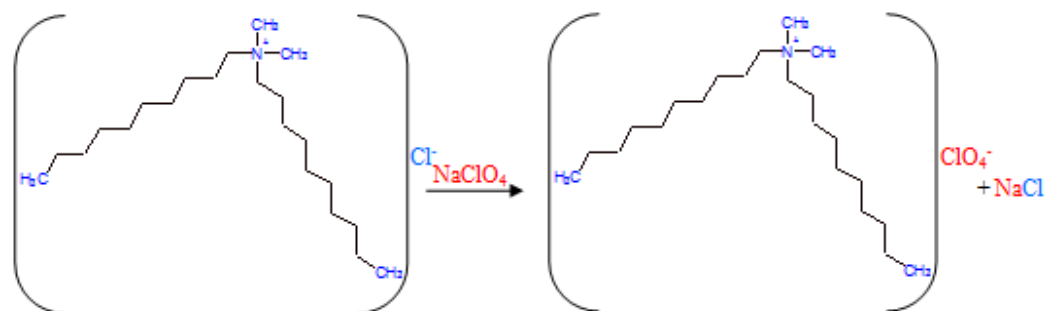
Rysunek 1. *In-situ* dyspersyjna mikroekstrakcja w układzie ciecz-ciecz oparta na cieczech jonowych

Tabela 1. Przykłady oznaczeń związków organicznych oraz metali metodą *in situ* IL-DLLME.

| Analit                     | Rodzaj matrycy                                | Technika analityczna |
|----------------------------|---|----------------------|
| Związki aromatyczne        | woda  | HPLC-UV              |
| herbicydy                  | woda  | HPLC-UV              |
| Fenole endokrynnie aktywne | Woda morską i ścieki przemysłowe              | HPLC-DAD             |
| Produkty medyczne          | Wodny ekstrakt z ziół w hydrofilowej IL/ NaCl | HPLC-UV              |



|                                      |  |                   |
|--------------------------------------|--|-------------------|
|                                      | (15,0% w/v)                                      |                   |
| Środki owadobójcze                   | woda   | HPLC-VWD          |
| Zanieczyszczenia różnego pochodzenia | Woda/ pH=3                                       | HPLC-UV           |
| DNA                                  | Wodny roztwór DNA                                | HPLC-UV           |
| WWA, alkilofenole, parabenyl         | Osady morskie                                    | HPLC-DAD          |
| WWA                                  | Wodny ekstrakt z płatków zbożowych               | HPLC-UV-FD        |
| Hg(II)                               | woda   | spektrofotometria |
| Cd(II)                               | Wodny roztwór solankowy                          | FAAS              |
| Pd(II)                               | Woda morska, żywność, ekstrakty herbaciane, krew | spektrofotometria |
| Ag(I)                                | Odpady z zakładów fotograficznych                | spektrofotometria |



**Schemat 3.** Schemat reakcji tworzenia in-situ hydrofobowej cieczy jonowej [DDA][ClO<sub>4</sub>].

### **Odczynniki:**

- Wodny roztwór cieczy jonowej DDAC, 0,15 [g/ml];
- Wodny roztwór NaClO<sub>4</sub>, 0,23 [g/ml] – wymienniacz jonowy;
- Wodny roztwór fenolu 1 [mg/ml]– roztwór podstawowy;
- Woda dejonizowana;
- Metanol – rozpuszczalnik;
- Woda, lód, NaCl, – łaźnia lodowa.

### **Aparatura:**

- Spektrofotometr UV-Vis CAMSPEC LTD model M501;
- Wirówka.

### **Wykonanie ćwiczenia:**

#### 1. PRZYGOTOWANIE ROZTWORÓW WZORCOWYCH FENOLU

Do 5 kolbek miarowych o poj. 10 ml przenieść kolejno: 100μl, 200μl, 300μl, 400μl, 500μl. roztworu podstawowego fenolu o stężeniu 1 mg/ml, starannie uzupełnić metanolem do kreski i wymieszać. Stężenia otrzymanych roztworów wynoszą odpowiednio: 10 μg/ml, 20 μg/ml, 30 μg/ml, 40 μg/ml. 50 μg/ml.

#### 2. PRZYGOTOWANIE PRÓBKII

Do próbek otrzymanych do analizy ( 0 – tło, A, B, C, D) dodawać kolejno: 700μl wodnego roztworu cieczy jonowej, 0,5 ml wody dejonizowanej i energicznie wymieszać. Dodać wymienniacz jonowy 350 μl wodnego roztworu NaClO<sub>4</sub> i dopełnić wodą dejonizowaną do objętości 2 ml, wymieszać. Wirować przez 5 min w warunkach 2000 obr/min. Umieścić próbki w łaźni lodowej<sup>1</sup> do widocznego oddzielenia faz. Zdekantować roztwór wodny, odrzucić. Pozostałość rozpuścić w 10 ml metanolu (porcjami po 2 ml), do kolby miarowej obj. 10 ml.

<sup>1</sup> Łaźnia lodowa – mieszanina woda/lód/NaCl.

#### 3. OZNACZENIE FENOLU

Zmierzyć absorbancję roztworów wzorcowych przy  $\lambda_{\max}=270$  nm, jako odnośnik stosować metanol. Wykreślić krzywą kalibracyjną  $A=f(c)$ . Zmierzyć absorbancję roztworów przygotowanych w punkcie nr.2, jako odnośnik stosować roztwór 0 – tło.

### **Opracowanie wyników:**

- 1) Wykreślić krzywą kalibracyjną  $A = f(c)$  dla roztworów wzorcowych fenolu.
- 2) Z wyznaczonej krzywej kalibracyjnej odczytać stężenia fenolu w analizowanych próbkach (μg/ml).

3) Znając rzeczywiste stężenie fenolu w próbce, obliczyć wydajność procesu ekstrakcji,  
$$R\% = \frac{C_x}{C_{wz}} \cdot 100\%$$
, gdzie R% - odzysk [%], C<sub>x</sub>- oznaczone stężenie analitu w badanej próbce,  
C<sub>wz</sub>- rzeczywiste stężenie analitu w badanej próbce.

### Instrukcja obsługi spektrofotometru

Po włączeniu spektrofotometru (główny przycisk z tyłu, po prawej stronie) następuje jego kalibracja, która trwa około 15 minut. Należy przez ten czas pozostawić aparat do rozgrzania. Po upływie tego czasu, gdy na dole wyświetlacza pojawi się komunikat z zapytaniem czy przejść do długości fali 656,1 nm, należy wcisnąć przycisk ENTER. Przechodzimy w ten sposób do głównego menu aparatu.

#### ANALIZA ILOŚCIOWA

- z głównego menu aparatu wybrać polecenie **WL scan**, wciskając przycisk **3**,
- wcisnąć przycisk **F1**,
- wpisać długość fali dla punktu początkowego **400 nm** i końcowego **200 nm**, w obu przypadkach zakończyć wpisywanie przyciskiem **ENTER**,
- wybrać krok skanowania **1 nm** i wcisnąć **ENTER**,
- wybrać szybkość skanowania (**MEDIUM**) przy użyciu przycisków: <, > i zatwierdzić przyciskiem **ENTER**,
- wcisnąć przyciski **F2** w celu wyboru trybu pomiaru **Abs ENTER**,
- przyciskami ^ zmienić skale absorbancji (oś Y) na wartość min. 0.000 oraz max. 1.000,
- do komory pomiarowej włożyć kuwetę z odnośnikiem (metanol) w pierwszą pozycję, zamknąć pokrywę pomiarową,
- wcisnąć przycisk **0Abs/T%** w celu skanowania linii podstawowej (zerowej),
- następnie kuwetę z roztworem wzorcowym umieścić w komorze pomiarowej w drugą pozycję, zamknąć pokrywę i wcisnąć przycisk **START**,
- po wykonaniu skanu wcisnąć przycisk **F3** i przy pomocy przycisków < i > wyszukać  $\lambda_{max}=270$  nm, spisać wartość absorbancji (lewy górny róg wyświetlacza), **ESC**.
- po zmianie roztworu w kuvecie po raz kolejny uruchomić skanowanie widma przyciskiem **START**, wykonać dla wszystkich roztworów wzorcowych.

#### ANALIZA ROZTWORÓW BADANYCH

- w celu analizy roztworów po ekstrakcji cieczą jonową, do komory pomiarowej włożyć kuwetę z odnośnikiem (tło-0) w pierwszą pozycję, zamknąć pokrywę pomiarową, wcisnąć przycisk **CLEAR** w celu wyczyszczenia obrazu,
- wcisnąć przycisk **0Abs/T%** w celu skanowania linii podstawowej (zerowej),
- następnie kuwetę z roztworem badanym umieścić w komorze pomiarowej w drugą pozycję, zamknąć pokrywę i wcisnąć przycisk **START**,

- po wykonaniu skanu wcisnąć przycisk **F3** i przy pomocy przycisków < i > wyszukać  $\lambda_{\max}=270$  nm, spisać wartość absorbancji (lewy górny róg wyświetlacza), **ESC**.
- po zmianie roztworu w kuwecie po raz kolejny uruchomić skanowanie widma przyciskiem **START**, wykonać dla wszystkich roztworów badanych (A, B, C).

### **Literatura:**

- [1] Nowak I., Rykowska I., Wasiak W., Gospodarka odpadami komunalnymi, red. K. Szymański, Koszalin 2013, 81-102.
- [2] Ziemblińska J., Nowak I., Rykowska I., Laboratorium 11-12 (2014) 65-69.
- [3] Nowak I., Ziemblińska J., Rykowska I., Wasiak W., Ekstrakcja zanieczyszczeń organicznych za środowiskowych próbek wodnych z zastosowaniem cieczy jonowych, w Gospodarka odpadami komunalnymi, 2015, tom XI, str. 161-188
- [4] Stepnowski P., Synak E., Szafrank B., Kaczyński Z., Techniki Separacyjne, wyd. Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk 2010, 70 – 79.
- [5] Pernak J., Przemysł Chemiczny 82 (2003) 521.
- [6] Zabielska-Matejuk J., Instytut Technologii Drewna, Poznań (2012) 25–34.
- [7] Bittner B., Szczecin (2012) 12–18.

Opracowała: Justyna Ziemblińska-Bernart