

EXTRAKCIA PODPORENÁ MIKROVLNOVÝM ŽIARENÍM A JEJ VYUŽITIE PRI ANALÝZE PEVNÝCH VZORIEK

RADOSLAV HALKO A MILAN HUTTA

Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Mlynská dolina, CH-2, 842 15 Bratislava, Slovensko
halko@fns.uniba.sk, hutta@fns.uniba.sk

Došlo 21.8.06, prepracované 28.11.06, prijaté 18.1.07.

Kľúčové slová: chemická analýza, extrakcia, mikrovlnové žiarenie, pevné vzorky

Obsah

1. Úvod
2. Princíp ohrievania látok mikrovlnovým žiarením
3. Inštrumentácia
4. Faktory ovplyvňujúce extrakciu podporenú mikrovlnovým žiarením
 - 4.1. Výber a objem rozpúšťadla
 - 4.2. Teplota pri extrakcii a trvanie extrakcie
 - 4.3. Charakter matrice a obsah vody v nej
 - 4.4. Ďalšie parametre
5. Čistiaci krok
6. Príklady použitia extrakcie podporenej mikrovlnovým žiarením
7. Záver

1. Úvod

Úprava vzorky je v súčasnosti základom každej úspešnej kvalitatívnej a kvantitatívnej analýzy. Stále väčší dôraz sa kladie na potrebu čistenia reálnych vzoriek pred ich samotnou analýzou za účelom zvyšovania správnosti analytických výsledkov, znižovania medze detekcie a medze stanovenia. V neposlednom rade, cieľom týchto úprav je aj predĺžovanie životnosti analytickej inštrumentácie. Jedným z najpoužívanejších krokov úpravy vzoriek je využitie rôznych extrakčných techník, ktoré by mali mať schopnosť izolácie analytov s výťažnosťami blížiacimi sa k 100 % a zároveň by mali dosahovať vysoké koncentrácie s minimalizáciou množstva koextrahovaných látok z matrice (vysoké obohacovacie koeficienty)¹.

Pre pevné vzorky sú bežne používané tieto extrakčné techniky: extrakcia v Soxhletovom extraktore², extrakcia podporená ultrazvukom (ultrasound-assisted extraction)³, extrakcia nadkritickými tekutinami (supercritical fluid extraction – SFE)⁴, urýchlená rozpúšťadlová extrakcia (pressurised liquid extraction – PLE)⁵ a extrakcia podpore-

ná mikrovlnovým žiarením (microwave-assisted extraction – MAE)⁶. Porovnanie výhod a nevýhod použitia jednotlivých extrakčných techník je uvedené v tabuľke I.

Využitie mikrovlnového žiarenia na úpravu vzorky pred analýzou našlo veľké uplatnenie najskôr v oblasti rozkladov anorganických vzoriek⁷. Prvá aplikácia mikrovlnového žiarenia s cieľom jej využitia v laboratórnej praxi na rýchly kyselinový rozklad biologického materiálu bola publikovaná v roku 1975 Abu-Samrom⁸. V posledných rokoch sa dané žiarenie čoraz viac používa aj na extrakciu širokej škály analytov z rôznych matric⁹. Jednou z hlavných výhod MAE oproti klasickým extrakčným technikám je skrátenie trvania extrakcie, čo je dôsledkom odlišného princípu ohrievania vzorky. Navyše MAE umožňuje výrazné zníženie spotreby organických rozpúšťadiel. Dané vlastnosti robia z MAE stále používanjšiu techniku na úpravu pevných vzoriek.

Tento prehľadový článok stručne popisuje metódu MAE, hlavne z pohľadu možností jej využitia v chemickej analýze, pričom sú v ňom uvedené vybrané príklady použitia extrakcie tohto typu na izoláciu analytov z rôznych typov pevných vzoriek aplikácie pokrývajúce hlavne obdobie od roku 2000.

2. Princíp ohrievania látok mikrovlnovým žiarením

Princíp MAE spočíva vo využití mikrovlnového žiarenia pri ohrievaní vzorky a extraktantu (najčastejšie kvapalného organického rozpúšťadla) počas extrakcie. Mikrovlnové žiarenie je vysokofrekvenčné neionizujúce elektromagnetické žiarenie, ktoré vyvoláva pohyb polárnych molekúl a iónov kvapalín. Jeho frekvenčný rozsah leží medzi rádiovými vlnami a infračervenou oblasťou elektromagnetického spektra, čo zodpovedá frekvencii od 0,3 do 300 GHz resp. vlnovým dĺžkam od 100 do 1 cm.

Ohrievanie látok mikrovlnovým žiarením je založené na priamom vplyve mikrovln na molekuly a ióny cez také ich fyzikálne vlastnosti, ako sú iónová vodivosť a orientačná polarizácia. Oproti konvenčnému zahrievaniu, kde teplo preniká z vonkajšej do vnútornej časti objektu, v MAE sa uskutočňuje ohrievanie vo vnútri extrakčnej nádoby a vzniknuté teplo preniká z vnútornej do vonkajšej časti nádoby¹⁰.

Iónová vodivosť je elektroforetická migrácia iónov v roztoku, ktorá vzniká po aplikovaní elektromagnetického poľa, kde pohyb iónov predstavuje určitú hodnotu elektrického prúdu. Teplo, ktoré sa generuje pri mikrovlnovom ohrievaní roztokov elektrolytov, vzniká v dôsledku odporu ich iónov voči vnucovanému pohybu, ktorý je zapríčinený pôsobením mikrovlnovej energie. Na stratách, v dôsledku ktorých vzniká teplo, sa podieľajú všetky ióny prítomné

Tabuľka I
Porovnanie extrakčných techník používaných pre pevné vzorky

Technika	Trvanie extrakcie	Použitie rozpúšťadla	Výhody	Nevýhody
Sox ^a	6–24 h	organické 150–500 ml	– lacná inštrumentácia, – jednoduchá manipulácia, – vysoká maticová kapacita, – nie je nutná filtrácia.	– veľká spotreba vysoko čistého rozpúšťadla, – dlhý čas extrakcie, – po extrakcii je nutné odpariť rozpúšťadlo, – skoncentrovanie aj nečistôt.
UAE ^b	10–60 min	organické 50–200 ml	– rýchla extrakcia, – jednoduchá manipulácia, – finančne nenákladná.	– vysoká spotreba rozpúšťadla, – nutný filtračný krok.
SFE	10–60 min	oxid uhličitý čistý alebo modifikovaný vhodným polárnym rozpúšťadlom 2–5 ml resp. 30–60 ml	– rýchla extrakcia, – nízka spotreba rozpúšťadla, – skoncentrovanie analytov, – možnosť on-line prepojenia, – nie je nutná filtrácia.	– vysoká cena inštrumentácie, – problém s maticou, – možný rozklad analytu počas extrakcie.
PLE	10–20 min	organické 15–60 ml	– rýchla extrakcia, – nízka spotreba rozpúšťadla, – skoncentrovanie analytov, – nie je nutná filtrácia.	– veľká závislosť od typu matrice, – vysoká cena inštrumentácie, – možná degradácia tepelne-nestabilných analytov.
MAE	10–30 min	organické 10–40 ml	– rýchla extrakcia, – nízka spotreba rozpúšťadla, – jednoduchá manipulácia.	– nutný čistiaci krok, – extrakčný systém musí absorbovať mikrovlnové žiarenie.

^a Extrakcia v Soxhletovom extraktore; ^b extrakcia podporená ultrazvukom

v roztoku a ich veľkosť závisí od veľkosti náboja iónov, ich mernej vodivosti, ale aj vzájomného pôsobenia iónov a molekúl rozpúšťadla. Iónová vodivosť závisí tiež od koncentrácie iónov, ich pohyblivosti a teploty.

Druhý zdroj mikrovlnového ohrievania látok spočíva v schopnosti elektrického poľa polarizovaním molekúl generovať náboje v látke a v neschopnosti takto vytvorených nábojov látky sledovať rýchle zmeny elektrického poľa¹¹. Celková polarizovateľnosť látky α_c je daná sumou počtu jednotlivých príspevkov k jej hodnote:

$$\alpha_c = \alpha_e + \alpha_a + \alpha_r + \alpha_o$$

kde α_e – elektrónová polarizovateľnosť, pochádzajúca z pohybu elektrónov okolo jadier, α_a – atómová polarizovateľnosť, pochádzajúca z posunu jadier a elektrónových obalov pri nevykompenzovaní náboja vo vnútri molekuly, α_r – polarizovateľnosť rozhrania, alebo Maxwellov-Wagnerov efekt, ktorý sa vyskytuje v prípade náboja na rozhraní tuhých látok a kvapalín, α_o – orientačná polarizovateľnosť, pochádzajúca z orientácie permanentných dipólov v elektrickom poli.

Na mikrovlnovom ohreve sa podieľajú len tie členy α_r a α_o , ktorých časové priebehy sú kompatibilné s časovou osou mikrovlnného žiarenia.

Orientačná polarizácia vzniká v dôsledku orientácie permanentných dipólov látok v elektromagnetickom poli mikrovlnového žiarenia. Pri 2450 MHz, čo je frekvencia bežne používaná v komerčných systémoch, dochádza k zmene polarizácie poľa $4,9 \cdot 10^9$ krát za sekundu. Na zodpovedajúcej časovej úrovni nanosekúnd dochádza k absorpcii mikrovlnovej energie a jej konverzii na teplo, ktoré vzniká následkom návratu molekúl do chaotického stavu (pri nulovej polarizácii poľa).

Schopnosť rozpúšťadla absorbovať mikrovlnové žiarenie a následne ho premieňať na teplo ďalších molekúl čiastočne závisí na jeho stratovom činiteli dielektrika (dissipation factor) $\text{tg } \delta$, ktorý je vyjadrený vzťahom¹²:

$$\text{tg } \delta = \epsilon'' / \epsilon'$$

kde ϵ'' – stratový faktor (dielectric loss), definuje schopnosť látky konvertovať elektromagnetické žiarenie na teplo a ϵ' – relatívna permitivita (dielectric constant), udáva

Tabuľka II
Fyzikálne vlastnosti niektorých rozpúšťadiel používaných v MAE (cit. ⁶²)

Rozpúšťadlo	Relatívna permitivita ϵ'	Dipólový moment $\times 10^{-30}$ [C m]	Stratový činiteľ dielektrika ^a $\text{tg } \sigma; \times 10^{-4}$	Teplota varu [°C]	Teplota ^{a,b} [°C]
Acetón	20,7	9,60		56	164
Acetonitril	36,6	13,08		81	194
Etanol	24,3	5,63	2500	78	164
n-Hexán	2,02	– ^c	– ^c	69	– ^c
Metanol	33	5,67	6400	68	151
n-Propanol	20,1	5,60	6700	97	145
Voda	80	6,17	1570	100	
DMF ^d	38,3	12,73		153	

^aPrevzaté z literatúry¹⁰; ^b teplota v MAE systéme s uzatvorenými nádobami stanovená pri 1207 kPa; ^c nevykazuje mikrovlnové ohrievanie; ^d *N,N*-dimetylformamid

schopnosť látky polarizovať sa elektrickým poľom.

Mechanizmus interakcií mikrovlnovej energie s látkou závisí od jej skupenstva a jej typu. V tuhom skupenstve dochádza k pohlteniu žiarenia voľnými atómami, resp. atómami molekúl. Polárne molekuly a ióny látok v kvapalnom skupenstve silno absorbujú mikrovlnové žiarenie, pretože majú stály dipólový moment. Nepochopiteľne rozpúšťadla (n-hexán) sa po aplikovaní mikrovlnového žiarenia nebudú zahrievať. V tabuľke II sú uvedené vybrané fyzikálne parametre rozpúšťadiel súvisiacich s MAE. Porovnanie napr. metanolu a vody ukazuje, že metanol má nižšiu relatívnu permitivitu, ale vyššiu hodnotu $\text{tg } \delta$ ako voda. To určuje, že metanol v porovnaní s vodou má nižšiu schopnosť pohlcovať mikrovlny a tak blokovať ich prenos prostredím, ale vyššiu schopnosť meniť mikrovlnovú energiu na teplo. Zlepšenie účinnosti a rýchlosti extrakcie môže byť dosiahnuté v uzatvorených tlakových nádobách, kde sú pre rozpúšťadla zvýšené hodnoty teplôt varu (tab. II).

Faktom je, že rozdielne chemické zlúčeniny absorbujú mikrovlnovú energiu na rôznej úrovni, čo naznačuje, že ohrievanie mikrovlnami je nezávislé na okolitom prostredí a je závislé len od ohrievanej látky. Preto pre vzorky s nehomogénnou štruktúrou, alebo s obsahom rôznych chemických špecií s rozdielnymi dielektrickými vlastnosťami rozptýlenými v homogénnom prostredí je možné uskutočňovať selektívne zahrievanie niektorých oblastí, alebo zložiek vzorky.

V dôsledku rozdielnych fyzikálno-chemických vlastností látok a z hľadiska konverzie mikrovlnového žiarenia na teplo je pre každý druh látky optimálna iná hodnota frekvencie mikrovlnového žiarenia.

Extrakčné ohrievanie sa môže uskutočňovať niekoľkými spôsobmi s ohľadom na voľbu extraktantu¹⁰.

I. vzorka môže byť ponorená do jedného rozpúšťadla resp. do zmesi viacerých rozpúšťadiel, ktoré silno absorbujú mikrovlnové žiarenie,

II. vzorka môže byť extrahovaná zmesou rozpúšťadiel v rôznych pomeroch obsahujúcou rozpúšťadla s vysokými ako aj s nízkymi hodnotami stratových faktorov,

III. vzorka s vysokou hodnotou stratového faktora môže byť extrahovaná rozpúšťadlom prepúšťajúcim mikrovlny.

Dané mechanizmy sa potom môžu navzájom medzi sebou aj kombinovať.

3. Inštrumentácia

Prvé aplikácie MAE boli vykonané v mikrovlnových peciach vyrobených pre použitie v domácnostiach¹³. V súčasnej dobe sa kvôli zvýšenej bezpečnosti práce vyrábajú komerčné zariadenia, ktoré sa z hľadiska konštrukcie rozdeľujú na dva základné typy¹⁴:

1. pece s rozptýleným mikrovlnovým žiarením (multi mode system), v ktorých mikrovlnové žiarenie je náhodne dispergované vo vnútornom priestore pece, v ktorom je vzorka ožiarená rovnomerne,
2. pece s usmerneným (fokusaným) mikrovlnovým žiarením (single mode system), v ktorých je mikrovlnové žiarenie fokusované na vyhradenú zónu, kde je vzorka vystavená oveľa silnejšiemu elektromagnetickému poľu ako v prvom prípade.

Dané dva typy konštrukcie jednotlivých zariadení sa môžu vzájomne líšiť, ale hlavné konštrukčné prvky sú prakticky totožné¹⁴:

- mikrovlnový generátor (magnetron); produkuje mikrovlnové žiarenie o frekvencii 2450 MHz, ktoré je z magnetronu vysielať anténou,
- vlnovod; vedie vygenerované mikrovlnové žiarenie do vysokofrekvenčného rezonátora (vnútorný priestor pece),
- aplikátor; miesto kde sa nachádza vzorka a

Tabuľka III

Porovnanie výhod a nevýhod systémov MAE s uzatvorenými a otvorenými nádobami

Nádoby	Výhody	Nevýhody
Uzatvorené	<ul style="list-style-type: none"> – možnosť dosiahnutia vyšších teplôt ako v systémoch s otvorenými nádobami, čím sa skraca trvanie extrakcie, – zabránenie stratám prchavých látok počas extrakcie a kontaminácie vzorky, – nízka spotreba rozpúšťadla, – možnosť extrahovať viacero vzoriek v jednom extrakčnom kroku. 	<ul style="list-style-type: none"> – zvýšené riziko explózie v dôsledku vysokých tlakov, – limitovaná hmotnosť vzorky, – nehomogénne mikrovlnové pole, – obtiažnosť automatizácie, – nemožnosť pridávania ďalších extrakčných činidiel počas extrakcie, – extrakčné nádoby musia byť pred ich otvorením ochladené, čo má za následok predĺženie času extrakcie.
Otvorené	<ul style="list-style-type: none"> – možnosť automatizácie, – možnosť pracovať okrem iných, aj so sklenenými nádobami, – prakticky neohraničená hmotnosť navážky, – nižšie finančné náklady na inštrumentáciu, – odparenie zvyšku extrakčného činidla po extrakcii priamo v tej istej nádobe. 	<ul style="list-style-type: none"> – vyššia spotreba extrakčných roztokov, – vyžadujú dlhší čas trvania extrakcie ako v systémoch s uzatvorenými nádobami, – zvýšené riziko kontaminácie vzorky, – možnosť strát prchavých analytov.

- cirkulátor; zaisťuje ochranu magnetrónu pred odrazeným mikrovlnovým žiarením.

Mikrovlnové zariadenia s rozptýleným žiarením sa zvyčajne označujú aj ako systémy s uzatvorenými nádobami (closed-vessel system) a mikrovlnové zariadenia s fokusovaným žiarením ako systémy s otvorenými nádobami (open-vessel system). Táto kvalifikácia však tiež nie je úplne správna, pretože niektoré komerčné zariadenia s usmerneným žiarením pracujú pri vysokých tlakoch¹⁵ a na druhej strane mikrovlnové pece vyrobené do domácnosti s použitým rozptýleným žiarením pracujú pri atmosférickom tlaku¹⁶. Dané dva typy systémov sú používané pre extrakciu analytov z pevných vzoriek a ich niektoré výhody a nevýhody sú porovnané v tabuľke III.

4. Faktory ovplyvňujúce extrakciu podporenú mikrovlnovým žiarením

Optimalizácia MAE bola študovaná viacerými autormi vyhodnotením zmien extrakčných podmienok. Najviac študovanými parametrami sú výber rozpúšťadla, objem rozpúšťadla, teplota extrakcie, čas extrakcie a charakter matrice. Na vyhodnotenie optimálnych podmienok boli väčšinou použité operácie plánovaním pokusov na základe experimentálnych dizajnov¹⁷.

4.1. Výber a objem rozpúšťadla

Pri výbere rozpúšťadla v metóde MAE zvažujeme jeho schopnosť absorbovať mikrovlnové žiarenie, možné interakcie s matricou a dobrú rozpustnosť analytu vo zvo-

lenom rozpúšťadla. Preferované rozpúšťadlá by mali mať vysokú selektivitu extrakcie k analytu bez matricového efektu. Ďalším aspektom je kompatibilita použitého extrakčného činidla s analytickou metódou vo finálnom kroku analýzy.

Odvolačiac sa na tri možné spôsoby ohrevu pri extrakcii (kapitola 2.), môžeme za účelom čo najlepšej extrakcie analytov zo vzorky použiť rozpúšťadla, ktoré silno alebo slabo absorbujú mikrovlnové žiarenie resp. kombináciu daných dvoch typov rozpúšťadiel. Jednou z najpoužívanejších zmesí je n-hexán–acetón 1:1 (v/v)^{18–21}, ktorá je kombináciou rozpúšťadiel s vysokými a nízkymi hodnotami stratových koeficientov (spôsob ohrevu II). Samotný n-hexán nie je možné zahriať mikrovlnovým žiarením, ale v kombinácii s acetónom sa ohreje v priebehu niekoľkých sekúnd. Ďalšími zmesami charakteristickými pre daný typ spôsobu ohrevu extraktantu sú napríklad, toulén–acetón²² a n-pentán–dichlormetán (DCM) (cit.²³), n-hexán–DCM (cit.²⁴). Pridaním malého objemu vody ku rozpúšťadlu neabsorbujúcemu mikrovlny (n-hexán, toluén) v pomeroch objemov 2 ku 100 až 20 ku 100 môžeme tiež urýchliť zahrievanie a zároveň zvýšiť polaritu zmesi^{25–27}. V takto vzniknutom viacfázovom systéme napr. pôda–voda–toluén dochádza na jednej strane ku preferenčnej solvatacii polárnych funkčných skupín zložiek pôdy vodou a ľahšiemu uvoľneniu analytov z pôdnej matrice. Na druhej strane dochádza ku zlepšeniu zahrievania tohto systému²⁶. V prípade spôsobu ohrevu I sú používanými rozpúšťadlami metanol^{28–30}, voda^{31,32}, etanol³³, acetón³⁴ a DCM (cit.³⁵). Využitie solubilizačnej schopnosti vodných roztokov tenzidov v MAE, ako náhradu za klasické vodnoorganické rozpúšťadla prezentovali autori v kompilačnej

práci³⁶. Keď vzorka obsahuje vysoký podiel vody (éterické oleje z rastlinného materiálu), t. j. má vysokú hodnotu stratového koeficientu, extrakcia môže byť robená použitím rozpúšťadla prepúšťajúceho mikrovlnové žiarenie (spôsob ohrevu III). V tomto prípade mikrovlny reagujú s voľnými molekulami vody nachádzajúcimi sa vo vzorke.

Objem rozpúšťadla v systémoch s uzatvorenými nádobami potrebného pre jednu vzorku sa často pohybuje v rozmedzí objemov 10–30 ml. V niektorých prípadoch objem rozpúšťadla môže byť dôležitým parametrom ovplyvňujúcim účinnosť extrakcie. Objem rozpúšťadla musí byť dostatočný pre zaistenie kompletného ponorenia vzorky, špeciálne v prípade, keď matrica počas extrakcie zväčšuje svoj objem. Napríklad polyaromatické uhľovodíky (PAH) boli extrahované zo vzoriek sedimentov (hmotnosť 1–15 g) objemom rozpúšťadla medzi 10 až 30 ml (cit.³⁷). Dané štúdium viedlo k záveru, že pomer hmotnosti vzorky k objemu rozpúšťadla by nemal presahovať hodnotu okolo 0,3. Všeobecne v konvenčných extrakčných technikách väčší objem rozpúšťadla zvyšuje účinnosť extrakcie, ale v MAE zvyšovanie objemu rozpúšťadla môže viesť aj k nižším výťažnostiam¹⁹, napr. v dôsledku nehomogenity mikrovlnového poľa.

4.2. Teplota pri extrakcii a trvanie extrakcie

Najviac skúmaným parametrom v MAE je teplota počas extrakcie. Tento dôležitý faktor prispieva k zvyšovaniu výťažnosti extrakcie nielen v prípade MAE, ale tiež v iných extrakčných technikách. Vyššie teploty vedú k zlepšeniu účinnosti extrakcie vzhľadom na to, že dochádza k zlepšeniu desorpcie analytov z aktívnych miest v matrici. Teplo produkované interakciou mikrovlnového žiarenia s molekulami rozpúšťadla následne zvyšuje ich difuzivitu a tiež difuzivitu ďalších molekúl v systéme (napr. analytu), čo zrýchľuje kinetiku extrakcie. Okrem toho, pri vyšších teplotách majú rozpúšťadlá zvýšenú schopnosť napučiavať matricu a solubilizovať analyty, pretože so stúpajúcou teplotou klesá povrchové napätie, viskozita rozpúšťadla, čo má za následok lepšie zmáčanie povrchov súčastí vzorky resp. lepši prienik rozpúšťadla do matrice.

Z hľadiska použitia vyšších teplôt počas extrakcie je výhodnejšie uskutočniť MAE v systémoch s uzatvorenými nádobami⁹. Nie vždy sa však zvyšovaním teploty počas MAE dosiahnu lepšie účinnosti extrakcie. Optimálna teplota závisí od polarita analytu ako aj typu matrice, z ktorej sú analyty extrahované. Pri extrakcii tepelne nestabilných látok môžu vyššie teploty spôsobovať rozklad analytov. Otázky tepelnej degradácie boli diskutované viacerými autormi^{9,20,35,36}. V žiadnej z uvedených prác však nie je diskutovaný degradáciu potláčajúci účinok vyšších tlakov pri aplikácii MAE v systémoch s uzatvorenými nádobami. V takom prípade je lepšie použiť systém s otvorenými nádobami³⁸.

K rozkladu tepelne nestabilných analytov môže dôjsť aj pri dlhom trvaní extrakcie. Čas extrakcie je výrazne

kratší ako pri konvenčných extrakčných technikách a pre úspešnú MAE sa bežne pohybuje v rozmedzí od 5 do 15 min (cit.^{18,27,39}). V niektorých prípadoch bolo postačujúce trvanie extrakcie do 2 min (cit.¹⁹) resp. len do 30 s (cit.^{30,40}).

4.3. Charakter matrice a obsah vody v nej

Charakter matrice, v ktorej sú analyty viazané, môže mať silný vplyv na výťažnosti zlúčenín pri MAE. Porovnaním extrakčných výťažkov kontaminovaných pôdných vzoriek s rôznou dobou státia kontaminovanej vzorky pri rovnakých extrakčných podmienkach sa došlo k záveru, že vo väčšine prípadov boli pozorované vyššie výťažky pre vzorky s kratším trvaním kontaminácie. Tento jav môže byť spôsobený silnejším viazaním analytov v dlhšie kontaminovaných vzorkách pôd, ktoré lepšie modelujú reálne správanie sa analytu v matrici^{18,26,41}. Vplyv silných interakcií analyt–matrica na účinnosť MAE potvrdzujú aj vypočítané výťažnosti pre fenoly z pôdných vzoriek s rôznym obsahom organického uhlíka, ktoré sa jeho zvyšovaním znižujú^{34,39}. Navyše, na MAE rušivo vplyvajú látky prítomné vo vzorke (kovové častice a drevné uhlie) absorbujúce mikrovlnové žiarenie, ktoré môžu spôsobovať iskenie.

Z hľadiska obsahu vody v matrici je dôležitý fakt, že molekuly vody silno absorbujú mikrovlnové žiarenie, čo vedie k účinnejšiemu zahrievaniu vzorky, a tým veľa krát k účinnejšej extrakcii. Vplyv tohto parametra (moisture effect) samozrejme závisí od použitého extrakčného roztoku a typu extrahovaného analytu. Napríklad pri použití DCM ako extrakčného rozpúšťadla sa zo vzorky pôdy v prítomnosti vody (20 %) znížila účinnosť extrakcie PAH a PCB, čoho príčinou by mohlo byť obmedzené zmáčanie vzorky. Pritom, pri rovnakých podmienkach MAE bol pozorovaný opačný vplyv na účinnosť pre triazínové herbicidy³⁵. Daný jav môže byť vysvetlený vyššou rozpustnosťou triazínov vo vode a dobrou schopnosťou vody absorbovať mikrovlnové žiarenie.

4.4. Ďalšie parametre

Výkon mikrovlnovej pece musí byť správne nastavený, aby sa vyhol neprímeraným teplotám, ktoré môžu viesť k degradácii rozpustenej látky. Výkon pece s usmerným mikrovlnovým žiarením môže byť plynulo regulovaný resp. využíva sa len časť pulzu žiarenia³⁸. V systémoch s uzatvorenými nádobami závisí nastavenie výkonu mikrovlnovej pece od počtu extrahovaných vzoriek (t.j. od celkového objemu ohrievaného rozpúšťadla) počas jedného extrakčného kroku s čo najkratším časom potrebným k dosiahnutiu vhodnej teploty extrakcie⁹. Vyššie tlaky sú použité v systémoch s uzatvorenými nádobami hlavne za účelom udržať rozpúšťadla v kvapalnom stave a tak zabezpečiť extrakciu do kvapaliny, ktorá je účinnejšia ako extrakcia do plynnej fázy. Zlepšená extrakcia môže byť dosiahnutá pre analyty uväznené v póroch matrice použitím také-

Tabuľka IV

Vybrané aplikácie MAE na extrakciu rôznych typov analytov z pevných vzoriek od roku 2000

Analyty	Matrica	Rozpúšťadlo	MAE podmienky	Výtťažnosti [%] ^a	Lit.
PAH ^b	vzorky pôdy	n-hexán–acetón (1:1) v/v	otvorené nádoby; 90W; 10 min	63–137	18
PAH	splaškový kal	n-hexán–acetón (1:1) v/v	uzatvorené nádoby; 150 W; 2 min	52–110	19
PCB a CB ^c	popolček zo spaľovne	toulén–voda (15 ml/5 ml)	uzatvorené nádoby; 120°C; 15 min	86–102 a 64–113	25
PCB a OCP ^d	morské sedimenty	n-hexán–acetón (1:1) v/v	uzatvorené nádoby; 130°C; 10 min	73–93 a 63–107	20
Herbicídy	vzorky pôdy	5% (v/v) POLE ^e	uzatvorené nádoby; 800 W; 8 min	71–105	41
Monofenoly	poľnohospodárska pôda	n-hexán–acetón (95:5) v/v	otvorené nádoby; 500 W; 10 min	40–103	39
PBDE ^f	biologické tkanivá	n-pentán–DCM ^g (1:1) v/v	uzatvorené nádoby; 115°C; 10min	89–97	23
Formy arzénu	tkanivo ustrice	metanol–voda (9:1) v/v	uzatvorené nádoby; 450 W; 15 min	≈100	56
Zearalenone	múka a kukurica	metanol–ACN ^h (1:1) v/v	uzatvorené nádoby; 80°C; 5 min	93	57
BioAL ^{ch}	rastlinný materiál	metanol–voda (2:8) v/v	otvorené nádoby; 350 W; 30 s	76–83	40

^a Výtťažnosti extrakcie; ^b polyaromatické uhľovodíky; ^c chlórované benzény; ^d organochlórové pesticídy; ^e polyoxyetylén-10-lauryl éter; ^f polybromové difenyl étery; ^g dichlórmetán; ^h acetonitril; ^{ch} biologicky aktívne látky

ho organického rozpúšťadla, ktoré pri vyšších tlakoch lepšie preniká do pórov. Existujúca korelácia medzi teplotou a tlakom v extrakčných nádobách sa využíva pri optimalizovaní MAE uskutočnenej v mikrovlnových peciach bez možnosti kontroly teploty⁴².

V niektorých prípadoch bol pozorovaný vplyv hmotnosti vzorky (koncentrácie analytu) na výtťažnosť extrakcie⁴³. Tento parameter je závislý na koncentrácii cieľových zlúčenín, citlivosti detekcie a medziach stanovenia vo finálnom kroku analýzy.

5. Čistiaci krok

Vo väčšine aplikácií MAE je potrebné zaradiť pred samotnou analýzou čistiaci krok. Tento pridaný krok predstavuje aj jednu z hlavných nevýhod techniky MAE. Jednoduché čistiace kroky môžu byť realizované filtráciou extraktu na sklenej vate, na sklenených mikrofiltroch resp. na membránových injekčných filtroch^{18,21,22}. Ďalšou možnosťou je zaradenie centrifugačného kroku bez chladenia alebo s chladením^{35,44}. V prípade sedimentov bohatých na organickú hmotu je pred analýzou nutný centrifugačný krok^{41,42}. Rozsiahlejšia úprava extraktu zameraná na elimi-

náciu vplyvu interferujúcich zlúčenín môže byť uskutočnená napr. použitím mikroextrakcie na tuhej fáze (SPME)³⁰, mikroextrakcie jednou kvapkou (SDME)²⁹ alebo použitím jednorazových kolóniek pre extrakciu na tuhej fáze naplnených rôznymi typmi sorbentov (napr. silikagél, oktacylsilikagél, iónovo-výmenné živice)^{19,24,28,45}.

6. Príklady použitia extrakcie podporenej mikrovlnným žiarením

Využitie metódy MAE na izoláciu analytov z rôznych typov pevných vzoriek je atraktívne hlavne pre jej jednoduchosť a rýchlosť⁴⁶. Vzhľadom na väčší počet aplikácií týkajúcej sa danej témy, v prezentovanej práci sme vybrali charakteristické príklady použitia metódy MAE od roku 2000, z toho časť sa nachádza v tab. IV.

Najväčší počet aplikácií MAE je zameraných na vzorky pôd a sedimentov. V nich sa stanovovali hlavne organické polutanty ako PAH (cit.^{18,19,28,35,47}), alifatické uhľovodíky²⁷, PCB (cit.^{20,31,35,47}), fenoly^{39,48} a chlórované fenoly^{34,49}. Do tejto skupiny spadajú aj pesticídy rôznych typov ako organofosforové (OPP)⁴² a organochlórové (OCP)⁵⁰, insekticídy zo skupiny pyretroidov²⁶ alebo benzi-

midazolové herbicidy⁴¹. Plne automatizovanú on-line metódu, pri ktorej bola využitá kombinácia MAE s prietokovou injekčnou analýzou s fotometrickou detekciou, prezentovali autori vo svojej práci na stanovenie Cr(VI) v sedimentoch a pôdach⁵¹. Pomocou MAE boli úspešne extrahované PCB (cit.^{21,25,52}) a chlorobenzény²⁵ zo vzoriek popola alebo PAH zo vzorky prachových častíc²².

MAE je vhodná aj pri úprave rastlinných vzoriek na extrakciu a následne stanovenie biologicky aktívnych zlúčenín využívaných hlavne vo farmaceutickom a kozmetickom priemysle^{29,30,33,40,53}. Ďalšími zaujímavými aplikáciami techniky MAE z oblasti analýzy biologických vzoriek je jej využitie pri stanovení organických polutantov ako PAH (cit.⁵⁴), polybromovaných difenyl éterov (PBDE)^{23,24} a OCP (cit.⁴⁵) v rôznych biologických tkanivách (ľudské tkanivá a tkanivá morských živočíchov). MAE bola úspešne použitá aj na špeciáciu anorganických a organických foriem ortuti vo vzorkách rýb^{44,55}. V tkanivách ustríc boli jej pomocou stanovené kationové a aniónové formy arzénu⁵⁶.

V oblasti analýzy potravinárskych výrobkov sa MAE využila na izoláciu zearalenonu zo vzoriek múky a kukurice⁵⁷, OPP z plodov paradajok⁵⁸ a mastných kyselín z pekárenských výrobkov⁵⁹.

Nakoniec z ďalších aplikácií možno spomenúť napr. stanovenie fenolov v papieri³² alebo PBDE a polychlórovaných naftalénov z semipermeabilných membrán⁶⁰.

7. Záver

MAE je atraktívnou a stále sa rozvíjajúcou technikou na úpravu širokej škály pevných vzoriek. Jej najväčšie výhody oproti tradičným extrakčným technikám sú krátky čas extrakcie, malý objem použitého rozpúšťadla, lepšie výťažky prchavých látok, lepšia reprodukovateľnosť a jednoduchá manipulácia.

V poslednej dobe sú čoraz viac publikované kombinácie MAE s ďalšími extrakčnými technikami ako s mikroextrakciou na tuhej fáze resp. v systéme kvapalina–kvapalina. Atraktívne sú aj automatizované on-line kombinácie systémov MAE s otvorenými nádobami s koncovými analytickými technikami, ako sú napríklad MAE-GC-MS (cit.³⁹), MAE-SPME-GC-MS (cit.³²) resp. MAE-SPE-HPLC (cit.²⁸).

Táto práca vznikla za finančnej podpory grantu MŠ SR VEGA 1/3563/06.

LITERATÚRA

- Smith R. M.: *J. Chromatogr.*, A 1000, 3 (2003).
- Luque de Castro M. D., García-Ayuso L. E.: *Anal. Chim. Acta* 369, 1 (1998).
- Junior D. S., Krug F. J., Pereira M. D., Korn M.: *Appl. Spectrosc. Rev.* 41, 305 (2006).
- Turner C., Eskilsson C. S., Björklund E.: *J. Chromatogr.*, A 947, 1 (2002).
- Giergielewicz-Mozajska H., Dabrowski L., Namieśnik J.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* 31, 149 (2001).
- Lopez-Avila V., v knihe: *Encyclopedia of Separation Science* (Wilson I., ed.) sv. III str. 1389. Academic Press, San Diego 2000.
- Krakovská E., Kuss H.-M.: *Rozklady v analytickej chémii*. Viena, Košice 2001.
- Abu-Samra A., Morris J. S., Koirtiyohann S. R.: *Anal. Chem.* 47, 1475 (1975).
- Eskilsson C. S., Björklund E.: *J. Chromatogr.*, A 902, 227 (2000).
- Jasie L., Revesz R., Kierstead T., Hasty E., Metz., v knihe: *Microwaves-Enhanced Chemistry* (Kingston H. M., Haswell S. J., ed.) str. 569. American Chemical Society, Washington 1997.
- Baghurst D. R., Mingos D. M. P.: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1992, 674.
- Kingston H. M., Jassie L. B. (ed.): *Introduction to Microwave Sample Preparation*. American Chemical Society, Washington 1988.
- Ganzler K., Szinai I., Salgó A.: *J. Chromatogr.* 520, 257 (1990).
- Luque-García J. L., Luque de Castro M. D.: *Trends Anal. Chem.* 22, 90 (2003).
- Matusiewicz H., Sturgeon R. E., Berman S. S.: *J. Anal. At. Spectrom.* 6, 283 (1991).
- Cuesta A., Todolí J. L., Mora J., Canals A.: *Anal. Chim. Acta* 372, 399 (1998).
- Vazquez M. J., Carro A. M., Lorenzo R. A., Cela R.: *Anal. Chem.* 69, 221 (1997).
- Shu Y. Y., Lai T. L., Lin H.-S., Yang T. C., Chang C.-P.: *Chemosphere* 52, 1667 (2003).
- Villar P., Callejón M., Alonso E., Jiménez J. C., Guiraúm.: *Anal. Chim. Acta* 524, 295 (2004).
- Numata M., Yarita T., Aoaygi Y., Takatsu A.: *Anal. Sci.* 20, 793 (2004).
- Ramil Criado M., Rodríguez Pereiro I., Cela Torrijos R.: *J. Chromatogr.*, A 985, 137 (2003).
- Shu Y. Y., Tey S. Y., Wu D. K. S.: *Anal. Chim. Acta* 495, 99 (2003).
- Bayen S., Lee H. K., Obbard J. P.: *J. Chromatogr.*, A 1035, 291 (2004).
- Li Q. Q., Loganath A., Chong Y. S., Obbard J. P.: *J. Chromatogr.*, A 819, 253 (2005).
- Sun Y., Takaoka M., Takeda N., Matsumoto T., Oshita K.: *J. Sep. Sci.* 28, 585 (2005).
- Esteve-Turillas F. A., Aman C. S., Pastor A., de la Guardia M.: *Anal. Chim. Acta* 522, 73 (2004).
- Serrano A., Gallego M.: *J. Chromatogr.*, A 1104, 323 (2006).
- Ericsson M., Colmsjö A.: *J. Chromatogr.*, A 964, 11 (2002).
- Deng C., Yao N., Wang B., Zhang X.: *J. Chromatogr.*, A 1103, 15 (2006).
- Bieri S., Ilias Y., Bicchi C., Veuthey J.-L., Christen P.: *J. Chromatogr.*, A 1112, 127 (2006).
- Basheer C., Obbard J. P., Lee H. K.: *J. Chromatogr.*,

- A 1068, 221(2005).
32. Latorre A., Lacorte S., Barceló D., Montury M.: *J. Chromatogr., A* 1065, 251 (2005).
 33. Hao J., Han W., Huang S., Xue B., Deng X.: *Separ. Pur. Technol.* 28, 191 (2002).
 34. Wei M.-C., Jen J.-F.: *J. Chromatogr., A* 1012, 111 (2003).
 35. Sun L., Lee H. K.: *J. Sep. Sci.* 25, 67 (2002).
 36. Sosa-Ferrera Z., Padrón-Sanz C., Mahugo-Santana C., Santana-Rodríguez J. J.: *Trends Anal. Chem.* 23, 469 (2004).
 37. Vázquez Blanco E., López Mahía P., Muniategui Lorenzo S., Prada Rodríguez D., Fernández Fernández E.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 366, 283 (2000).
 38. Luque-García J. L., Luque de Castro M. D.: *Talanta* 64, 571 (2004).
 39. Crespín M. A., Gallego M., Valcárcel M.: *J. Chromatogr., A* 897, 279 (2000).
 40. Li H., Chen B., Zhang Z., Yao S.: *Talanta* 63, 659 (2004).
 41. Halko R., Padrón-Sanz C., Sosa-Ferrera Z., Santana-Rodríguez J. J.: *J. AOAC Int.* 89, 1403 (2006).
 42. Padrón-Sanz C., Halko R., Sosa-Ferrera Z., Santana-Rodríguez J. J.: *J. Chromatogr., A* 1078, 13 (2005).
 43. Mattina M. J. J., Berger W. A. I., Denson C. L.: *J. Agric. Food Chem.* 45, 4691 (1997).
 44. Chiou C.-S., Jiang S.-J., Danadurai K. S. K.: *Spectrochim. Acta, Part B* 56, 1133 (2001).
 45. Carro N., García I., Ignacio M. C., Llompert M., Yebra M. C., Mousteira A.: *Anal. Bioanal. Chem.* 374, 547 (2002).
 46. Camel V.: *Trends Anal. Chem.* 19, 229 (2000).
 47. Bartolomé L., Cortazar E., Raposo J. C., Usobiaga A., Zuloaga O., Etxebarria N., Fernández L. A.: *J. Chromatogr., A* 1068, 229 (2005).
 48. Fountoulakis M., Drillia P., Pakou C., Kampioti A., Stamatelatos K., Lyberatos G.: *J. Chromatogr., A* 1089, 45 (2005).
 49. Mahugo-Santana C., Sosa-Ferrera Z., Santana-Rodríguez J. J.: *Anal. Chim. Acta* 524, 133 (2004).
 50. Barriada-Pereira M., Concha-Graña E., González-Castro M. J., Muniategui-Lorenzo S., López-Mahía P., Prada-Rodríguez D., Fernández-Fernández E.: *J. Chromatogr., A* 1008, 115 (2003).
 51. Morales-Muñoz S., Luque-García J. L., Luque de Castro M. D.: *Anal. Chim. Acta* 515, 343 (2004).
 52. Ramil Criado M., Rodríguez Pereiro I., Cela Torrijos R.: *Talanta* 63, 533 (2004).
 53. Gao S., Han W., Deng X.: *Flavour Fragr. J.* 19, 244 (2004).
 54. Pena T., Pensado L., Casias C., Mejuto C., Phan-Tan-Luu R., Cela R.: *J. Chromatogr., A* 1121, 163 (2006).
 55. Berzas Nevado J. J., Rodríguez Martín-Doimeadios R. C., Guzmán Bernardo F. J., Jiménez Moreno M.: *J. Chromatogr., A* 1093, 21 (2005).
 56. Chatterjee A.: *Talanta* 51, 303 (2000).
 57. Pallaroni L., von Holst C., Sparr Eskilsson C., Björklund E.: *Anal. Bioanal. Chem.* 374, 161 (2002).
 58. Padrón-Sanz C., Sosa-Ferrera Z., Santana-Rodríguez J. J.: *J. AOAC Int.* 88, 1485 (2005).
 59. Preigo-Capote F., Ruiz-Jimenez J., Garcia-Olmo J., De Castro M. D. L.: *Anal. Chim. Acta* 517, 13 (2004).
 60. Yusa V., Pastor A., de la Gurdia M.: *Anal. Chim. Acta* 565, 103 (2006).
 61. http://www.usm.maine.edu/~newton/Chy251_253/Lectures/Solvents/Solvents.html, stiahnuté 01.08.2006.

R. Halko and M. Hutta (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Natural Science, Comenius University, Bratislava, Slovakia*): **Microwave-Assisted Extraction and Its Application in Analysis of Solid Samples**

This article reviews advances in microwave-assisted extraction (MAE) in solid sample pretreatment (e.g., of soil, sediments, biological materials, food) achieved since 2000. Microwave energy is used for fast and controlled heating of solvents for selective extraction of various substances, such as organic compounds and metal ions, from solid matrices. Two types of MAE, in closed- and open-vessel systems, are presented and compared. Advantages and drawbacks of MAE are discussed.