VILNIAUS UNIVERSITETAS
CHEMIJOS IR GEOMOKSLŲ FAKULTETAS
CHEMIJOS INSTITUTAS
ANALIZINĖS IR APLINKOS CHEMIJOS KATEDRA

Aušra Radžiūnaitė
Chemija
Bakalauro baigiamasis darbas

HIDROFOBINIAI EUTEKTINIAI TIRPIKLIAI: SINTEZĖ, CHARAKTERIZAVIMAS IR EKSTRAKCINIŲ SAVYBIŲ ĮVERTINIMAS

Darbo vadovas
prof. habil dr. Audrius Padarauskas

_____
(leidimas ginti, data, parašas)

Darbo įteikimo data _____
Registracijos Nr. _____

Vilnius 2020

VILNIUS UNIVERSITY
FACULTY OF CHEMISTRY AND GEOSCIENCES
INSTITUTE OF CHEMISTRY
DEPARTMENT OF ANALYTICAL AND ENVIRONMENTAL CHEMISTRY

Aušra Radžiūnaitė
Chemistry
Bachelor thesis

HYDROPHOBIC DEEP EUTECTIC SOLVENTS: SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND EVALUATION OF EXTRACTION PROPERTIES

Scientific adviser
prof. dr. Audrius Padarauskas

_____
(permission to defend, date, signature)

Date of submission _____
Registration No. _____

Vilnius 2020

TURINYS

ĮVADAS 4

1. LITERATŪROS APŽVALGA 5

1.1. Gilūs eutektiniai tirpikliai 5

1.2. Hidrofobinių eutektinių tirpiklių sintezė ir savybės 6

1.3. Hidrofobinių eutektinių tirpiklių panaudojimas ekstrakcijai 10

2. EKSPERIMENTO METODIKA 12

2.1. Aparatūra 12

2.2. Reagentai ir tirpalai 12

2.3. Procedūros 12

3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS 13

3.1. Modelinių analičių atskyrimo sąlygų parinkimas 13

3.2. Hidrofobinių eutektinių tirpiklių sintezė ir charakterizavimas 15

3.3. Ekstrakcinių savybių tyrimas 17

IŠVADOS 22

SANTRAUKA 23

SUMMARY 24

LITERATŪROS SĄRAŠAS 25

ĮVADAS

Ekstrakcija – neabejotinai dominuojantis medžiagų išskyrimo iš mėginio ir jų sukoncentravimo metodas šiuolaikinėje analizėje. Vienas iš populiariausių medžiagų ekstrakcijos iš vandeninių mėginių būdų – skysčių-skysčių ekstrakcija. Šiame metode ypač svarbus vaidmuo, lemiantis ekstrakcijos efektyvumą, tenka ekstrahentu naudojamam hidrofobiniam tirpikliui. Deja, tradicinių organinių tirpiklių pasirinkimas nėra labai didelis, be to jie yra lakūs ir toksiški. Todėl pastaraisiais metais ypač daug dėmesio skiriama naujų, mažiau toksiškų, efektyvesnių, atrankesnių tirpiklių paieškai.

Pastaraisiais metais vis didesnį populiarumą įgauna naujos klasės junginiai – hidrofobiniai gilūs eutektiniai tirpikliai. Jie pasižymi labai paprasta sinteze bei ypač plačiomis galimybėmis konstruoti įvairiausių savybių tirpiklius.

Bakalauro baigiamojo darbo tikslas – susintetinti ir ištirti naujus hidrofobinius gilius eutektinius tirpiklius, fluorintų junginių pagrindu.

Darbo uždaviniai:

1. Susintetinti ir charakterizuoti šešis hidrofobinius eutektinius tirpiklius sudarytus trifluoracto rūgšties ir heksafluor-2-propanolio pagrindu.

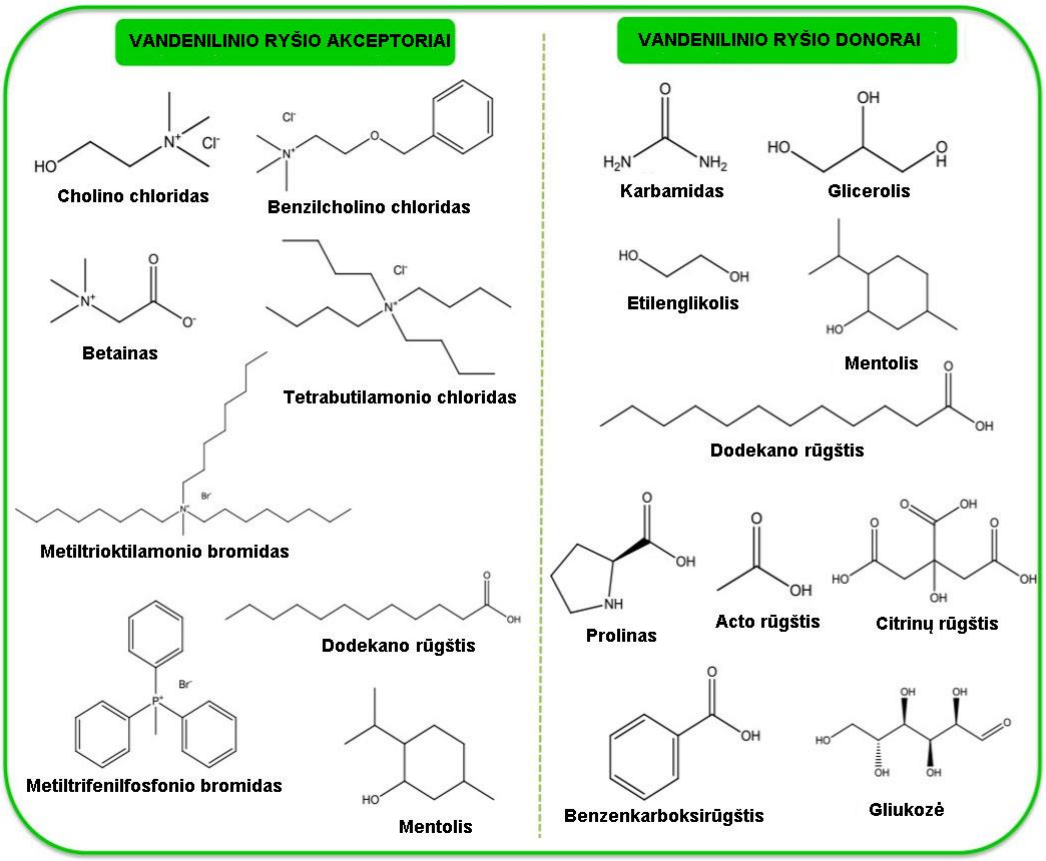
2. Įvertinti tirpiklių ekstrakcines savybes ir suderinamumą su skysčių chromatografine analize.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Gilūs eutektiniai tirpikliai

Pirmasis hidrofilinis gilus eutektinis tirpiklis buvo susintetintas iš cholino chlorido ir karbamido 2003 m. [1]. Terminas „eutektinis“ yra kilęs iš graikų kalbos ir reiškia gerai besilydantis. Autoriai šiuos tirpiklius apibūdino kaip skysčius, sudarytus iš dviejų ar daugiau kietų medžiagų, kurių lydymosi temperatūros yra ne mažiau kaip 100°C didesnės už gauto tirpiklio lydymosi temperatūrą. Šiuo metu toks eutektinių tirpiklių apibūdinimas nėra tikslus, kadangi šio tipo tirpiklių sintezei jau yra naudojamos ir skystos medžiagos (pvz. alkoholiai), o susintetinto tirpiklio lydymosi temperatūra kartais būna netgi didesnė už gryno skystojo jo komponento lydymosi temperatūrą. Todėl pastaruoju metu jie apibūdinami kaip tirpikliai, sudaryti iš dviejų ar daugiau medžiagų, galinčių asocijuotis tarpusavyje vandenilinio ryšio pagalba susidarant homogeniškam skysčiui [2].

Ilgą laiką buvo sintetinami, tiriami ir taikomi tik hidrofiliniai (t.y. besimaišantys su vandeniu) gilūs eutektiniai tirpikliai. 1.1 pav. pateiktos populiariausių akceptorių ir donorų šių tirpiklių sintezei struktūros.



1.1 pav. Junginių hidrofilinių eutektinių tirpiklių sintezei struktūros [3].

Ir tiktai 2015 m. olandų mokslininkai publikavo darbą [4], kuriame iš skirtingų ketvirtinio amonio druskų ir dekano rūgšties pirmą kartą buvo susintetinti keli hidrofobiniai eutektiniai tirpikliai. Šis darbas inicijavo plataus masto tyrimus, skirtus tokių tirpiklių sintezei, jų savybių tyrimui bei praktiniam taikymui [3]. Lyginant su hidrofiliniais, hidrofobinių tirpiklių sintezei tinkamų junginių spektras yra gerokai siauresnis. Pagal šių tirpiklių sintezei naudojamų

vandenilinio ryšio akceptorių prigimtį, hidrofobiniai eutektiniai tirpikliai skiriami į joninius ir nejoninius.

Joninių tirpiklių vandenilinio ryšio akceptoriumi įprastai naudojami ilgagrandžiai ketvirtinio amonio (cholino, tetrabutilamonio, tetraheksilamonio, ir pan.) junginiai, o vandenilinio ryšio donoru – pakankamai hidrofobinės sočiosios bei nesočiosios karboksirūgštys (pvz. oktano, dekano, oleino ir pan.) arba alkoholiai (pvz. heksilo, decilo, dodecilo ir pan.) [5].

Nejoniniuose tirpikliuose akceptoriumi buvo naudojami mentolis arba timolis kombinacijoje su ilgagrandėmis karboksirūgštimis (pvz. heksano, oktano, dekano, palmitino ir pan.) kaip vandenilinio ryšio donorais [6, 7]. Taip pat akceptoriumi buvo naudota dekano rūgštis su lidokaino donoru [8].

Kai kurie junginiai (pvz. mentolis, dekano rūgštis), priklausomai nuo antrojo komponento prigimties, gali būti arba akceptoriumi, arba donoru. Dažniausiai hidrofobiniai eutektiniai tirpikliai sintetinami iš dviejų junginių – akceptoriaus ir donoro. Tačiau buvo pastebėta, kad sintezei galima naudoti ir tris junginius, pavyzdžiui, metiltrioktilamonio chlorido akceptorių ir du vandenilio ryšio donorus – oktanolį ir oktano rūgštį, sumaišant juos moliniu santykiu 1: 2: 3 [9].

Toliau šiame darbe bus aptariami tik hidrofobiniai gilūs eutektiniai tirpikliai.

1.2. Hidrofobinių eutektinių tirpiklių sintezė ir savybės

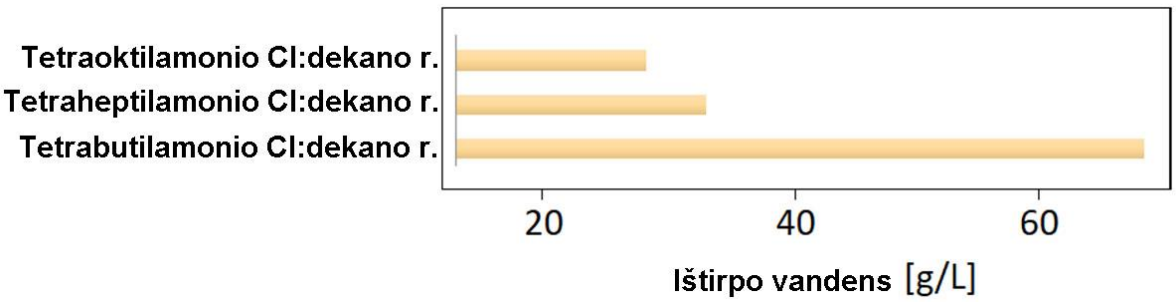
Sintezė. Vienas iš esminių gilių eutektinių tirpiklių privalumų – labai paprasta ir greita jų sintezė. Tirpiklio komponentai sumaišomi reikiamu moliniu santykiu ir intensyviai maišomi 50-100°C temperatūroje, kol susidaro skaidrus homogeniškas skystis [3]. Dažniausiai sintezės trukmė neviršija 1 h. Tokiai sintezei nereikalingi tirpikliai, sintezės metu nesusidaro šalutiniai produktai, todėl nereikalingas papildomas susintetinto tirpiklio gryninimas. Populiariausias akceptoriaus/donoro molinis santykis 1:2, žymiai rečiau sintetinami tirpikliai moliniu santykiu 2:1, 1:1, 1:3, 1:4.

Kitas tik labai retai taikomas sintezės būdas, kuriame akceptoriaus ir donoro mišinys grūstuvėje yra trinamas iki homogeniško skysčio susidarymo [2].

Toliau trumpai aptarsime ekstrakcijai svarbias hidrofobinių eutektinių tirpiklių savybes.

Hidrofobiškumas. Didžioji dauguma analizei svarbių skystų objektų yra vandeniniai tirpalai. Todėl analičių išskyrimui iš tokių mėginių ir jų sukoncentravimui skysčių-skysčių ekstrakcijos pagalba yra būtini nesimaišantys su vandeniu tirpikliai. Įdomu pažymėti, kad dažniausiai tirpiklių hidrofobiškumas vertinamas matuojant ištirpusio vandens kiekį tirpiklyje, o ne atvirkščiai. Tuo tarpu ekstrakcijai ir ypač mikroekstrakcijai, kurioje naudojami hidrofobinio tirpiklio mikrokiekiai, žymiai svarbiau įvertinti tirpiklio tirpumą vandenyje.

Eutektinių tirpiklių hidrofobiškumą didele dalimi nulemia tirpiklį sudarančių komponentų struktūra. Bendru atveju dažniausiai galioja principas: kuo ilgesnes alkilo grandines turi kiekvienas tirpiklio komponentas, tuo mažesniu vandens tirpinimu pasižymi toks eutektinis tirpiklis. Pavyzdžiui, nustatyta, kad tirpikliuose, sudarytuose iš tetrabutilamonio, tetraheptilamonio ir tetraoktilamonio chloridų akceptoriaus bei dekano rūgšties donoro, vandens tirpumas mažėja, ilgėjant akceptoriaus alkilo grandinei (1.2 pav.). Analogiškai, trimetilbutilamonio chlorido tirpikliuose su butano, heksano ir oktano rūgščių donorais, vandens tirpumas mažėja ilgėjant rūgšties alkilo grandinei [10].

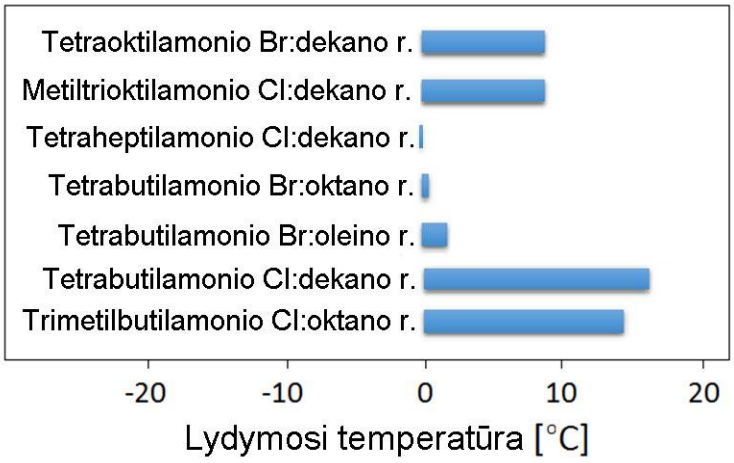


1.2 pav. Vandens tirpumo hidrofobiniuose eutektiniuose tirpikliuose (molinis santykis 1:2) palyginimas [11].

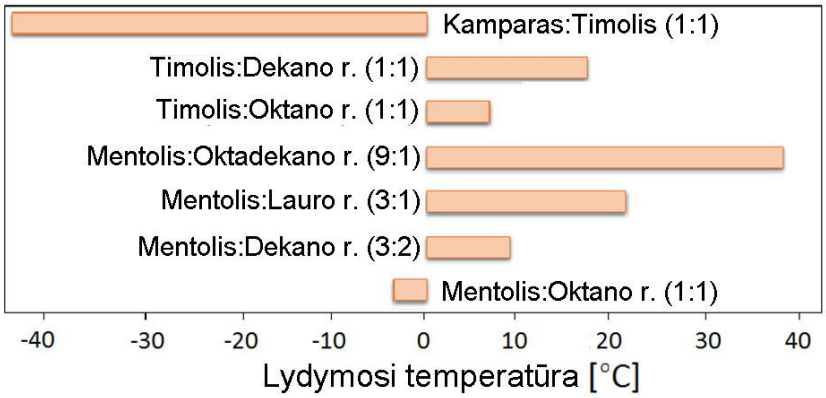
Priešjonio tipas ketvirtinio amonio druskoje (Cl^- arba Br^-) turi nedidelę įtaką eutektinių tirpiklių hidrofobiškumui. Pavyzdžiui, tetraoktilamonio chlorido ir tetraoktilamonio bromido tirpikliuose su dekano rūgštimi vandens tirpumas skiriasi tik 2,2 g/L [4]. Be to, dažniausiai tirpiklis, sudarytas iš abiejų hidrofobinių komponentų, pasižymi blogesniu vandens tirpinimu nei hidrofobinis tirpiklis, sudarytas iš hidrofobinio ir hidrofilinio junginių. Tarp iki šiol literatūroje aprašytų hidrofobinių eutektinių tirpiklių, geriausiu vandens tirpinimu (mažiausiu hidrofobiškumu) pasižymėjo tetrabutilamonio/dekano rūgšties (molinis santykis 1:2) tirpiklis. Ištirpusio vandens kiekis jame siekė 7% (m/m) [12].

Vandens kiekiui tirpikliuose nustatyti gali būti naudojamas Karl‘o Fišerio titravimas. Išsamiems hidrofobinių eutektinių tirpiklių stabilumo vandenyje tyrimams tinkama BMR analizė, galinti įvertinti vandeninės fazės afiniškumą tirpikliui [13].

Lydymosi temperatūra. Pagal pirminį apibrėžimą daugelio eutektinių tirpiklių lydymosi temperatūra yra daug mažesnė už jį sudarančių grynų komponentų lydymosi temperatūras. Lydymosi temperatūros sumažėjimas yra siejamas su specifinių sąveikų tarp vandenilinio ryšio akceptoriaus ir vandenilinio ryšio donoro atsiradimu, t. y. vandenilinio ryšio susidarymu ir Van der Valso sąveikos [14]. 1.3 ir 1.4 pav. palygintos joninių ir nejoninių tirpiklių lydymosi temperatūros. Deja, literatūros duomenų šiuo klausimu dar per mažai, kad būtų galima daryti kokius nors apibendrinimus. Galima pažymėti tik tai, kad daugumos hidrofobinių tirpiklių lydymosi temperatūra yra mažesnė nei 20°C. Tokie tirpikliai yra skysti kambario temperatūroje, kas labai svarbu naudojant juos ekstrakcijai.

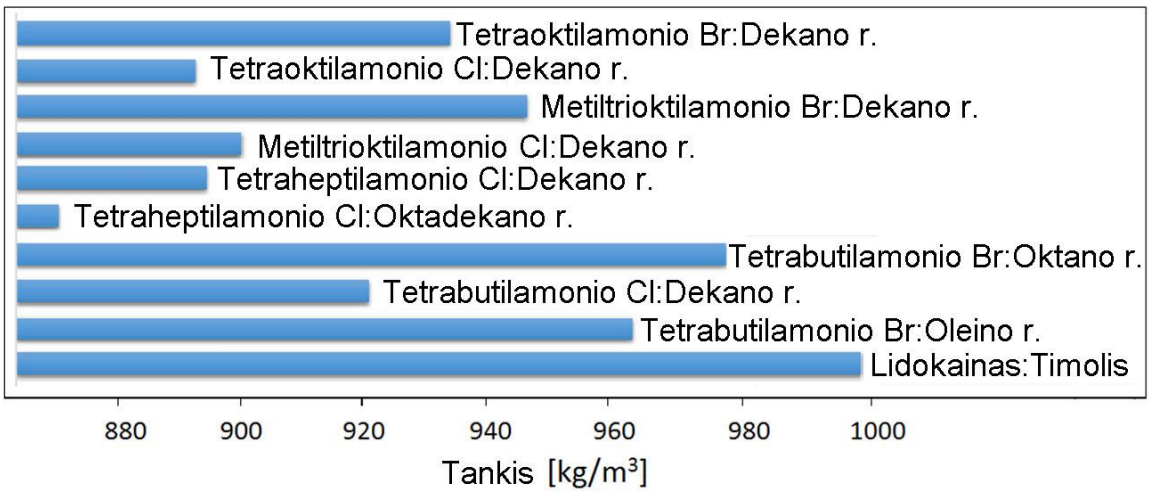


1.3 pav. Joninių hidrofobinių eutektinių tirpiklių (molinis santykis 1:2) lydymosi temperatūrų palyginimas [11].



1.4 pav. Nejoninių hidrofobinių eutektinių tirpiklių lydymosi temperatūrų palyginimas [11].

Tankis. Tirpiklio tankis yra labai svarbus parametras ekstrakciniuose metoduose. Norint sėkmingai tirpiklį panaudoti ekstrakcijai, jo tankis turėtų būti arba pakankamai didesnis, arba mažesnis už vandens tankį. Naudojant ekstrakcijai tirpiklius, kurių tankis yra artimas vandens tankiui, labai sunku po ekstrakcijos atskirti fazes. 1.5 pav. palyginti dešimties hidrofobinių tirpiklių tankiai.



1.5 pav. Hidrofobinių tirpiklių (molinis santykis 1:2) tankiai [11].

Tankis labai priklauso nuo vandenilinio ryšio donorinio ir vandenilinio ryšio akceptorinio junginių struktūrų [15]. Kambario temperatūroje joninių hidrofobinių eutektinių tipiklių tankio vertės svyruoja nuo 850 iki 980 kg/m^3. Nejoninių tirpiklių tankių intervalas - nuo 870 iki 1091,8 kg/m^3. Visuose joniniuose tirpikliuose, naudojant tą patį tetraalkilamonio donorą, tirpiklio tankis mažėja, ilgėjant akceptoriaus (organinės rūgšties) alkilo grandinei. Didžiausios tankio vertės (1091,8 kg/m^3) buvo nustatytos nejoniniuose tirpikliuose, sudarytuose iš kumarino ir timolio (moliniu santykiu 1: 2) [11].

Deja, daugelio iki šiol aprašytų hidrofobinių tirpiklių tankis yra mažesnis už vandens tankį ir tai apsunkina tokių tirpiklių taikymą kai kuriuose mikroekstrakcijos metoduose (pvz. dispersinėje mikroekstrakcijoje). Todėl labai aktuali naujų, sunkesnių už vandenį, hidrofobinių tirpiklių paieška.

Klampa. Klampa yra dar vienas svarbus parametras, darantis didelę įtaką ekstrakcijos procesui. Ekstrakcijai tinkamesni mažesnės klampos tirpikliai, užtikrinantys geresnį kontaktą su mėginiu bei greitesnį pusiausvyros nusistovėjimą dėl greitesnės analičių difuzijos ekstrahente. Be

to, mažesnės klampos tirpiklius lengviau tiksliai dozuoti, ypač naudojant automatines mėginių įleidimo sistemas.

Daugelio hidrofobinių eutektinių tirpiklių klampa kambario temperatūroje yra gana didelė (> 100 mPa·s). Palyginti didelės klampos vertės yra dėl to, jog tarp vandenilinio ryšio akceptoriaus ir donoro susidaro platus vandenilio jungčių tinklas, dėl kurio sumažėja laisvų dalelių judrumas tirpiklio viduje [2]. Kitos sąveikos, tokios kaip elektrostatinė arba Van der Valso, turi mažesnį poveikį hidrofobinių eutektinių tirpiklių klampai. Šių tirpiklių klampa yra susijusi ir su vandens tirpumu juose. Į hidrofobinį eutektinį tirpiklį įpylus nedidelį kiekį vandens, tirpiklio klampa sumažėja, kadangi jame ištirpsta kažkoks kiekis mažesne klampa pasižyminčio vandens. Šis pastebėjimas galioja daugeliui hidrofobinių eutektinių tirpiklių, išskyrus mentolio:dekano rūgšties (molinis santykis 1:1) tirpiklį, kuriam kontakte su vandeniu nustatytas klampos padidėjimas [15].

Taip pat klampa labai priklauso nuo tirpiklio komponentų struktūros. Joninių tirpiklių klampa didėja, ilgėjant ketvirtinio amonio alkilo grandinei. Tiek joninių, tiek ir nejoninių tirpiklių klampa didėja, ilgėjant donoro (karboksirūgšties) alkilo grandinei. Mažiausios klampos (<10 mPa·s) nustatytos nejoniniams hidrofobiniams eutektiniams tirpikliams, susintetintiems donoru naudojant mentolį arba timolį su riebiųjų rūgščių akceptoriais [11].

Rūgštingumas. Duomenų apie hidrofobinių eutektinių tirpiklių rūgštines savybes yra labai nedaug, kadangi mėginio paruošimo analizei metoduose vandeninio mėginio pH yra žymiai svarbesnis veiksnys nei ektrahuojančio tirpiklio pH. Tiriamoms analičių grupėms parenkama tokia vandeninio mėginio pH vertė, kurioje jos egzistuoja nejoninėje formoje.

Hidrofobinių eutektinių tirpiklių rūgštingumas gali būti nustatomas išmatuojant pH arba Hammeto rūgštingumo funkciją [16, 17]. Tirpiklio rūgštingumą galima įtakoti pasirenkant tinkamą vandenilinio ryšio donorinį junginį. Tai buvo patvirtinta atliekant tirpiklio, sudaryto iš benziltrimetilamonio chlorido ir įvairių karboksirūgščių, tyrimus [18]. Ištirtų karboksirūgščių pK_a vertės buvo -2,80, 1,25 ir 4,14, o gautų tirpiklių rūgštingumas gerai koreliavo su jų sudėtyje esančių rūgščių pK_a vertėmis. Be to, tirpiklio rūgštingumas gali kisti jam kontaktuojant su vandeniu dėl donoro disociacijos arba akceptoriaus išsiplovimo [19].

Lakumas. Didžioji dalis hidrofobinių eutektinių tirpiklių yra joninės struktūros, todėl jie nėra lakūs. Tai ypač neparanku atliekant ekstraktų analizę dujų chromatografijos metodu, kadangi nelakieji joniniai komponentai kaupiasi inžektoriuje bei chromatografinėje kolonėlėje. Tačiau naudojant specialų įdėklą su dezaktyvuota ir silanizuota stiklo vata, gali būti iki minimumo sumažinta chromatografinės kolonėlės užteršimo rizika [20]. Pastaruoju metu vis daugiau dėmesio skiriama didesniu lakumu pasižyminčių nejoninių hidrofobinių eutektinių tirpiklių naudojimui [19].

Paviršiaus įtempis. Tirpiklio paviršiaus įtempis lemia jo tinkamumą tarpfaziniams procesams, kuriuose vyksta masių pernešimas. Hidrofobinių tirpiklių paviršiaus įtempio vertės įprastai yra didesnės nei tradicinių organinių tirpiklių, kadangi vandenilinio ryšio sąveika padidina įtempio vertę. Tai yra naudinga ekstrakcijai, nes didesnės paviršiaus įtempių vertės užtikrina didesnį ekstrakcijos efektyvumą. Tačiau tik keliuose straipsniuose ir tik gana paviršutiniškai buvo tiriamas tirpiklių paviršiaus įtempis. Francisco ir bendraautorių [21] darbe ištirtas eutektinio tirpiklio, sudaryto iš cholino chlorido ir pieno rūgšties, paviršiaus įtempis. Tyrimų metu paviršiaus įtempis buvo sumažintas padidinus tirpiklio temperatūrą. Autorių teigimu, linijinį paviršiaus įtempio sumažėjimą aukštesnėje temperatūroje greičiausiai sukelia eutektinio tirpiklio vandenilinių jungčių nutrūkimas. Kitame darbe [19] buvo tiriama tirpiklio donoro ir akceptoriaus alkilo grandinės ilgio įtaka jo paviršiaus įtempio vertei. Nustatyta, kad mažiausiu paviršiaus įtempiu pasižymi tirpiklis, sudarytas iš donoro ir akceptoriaus su trumpiausiomis alkilo grandinėmis.

1.3. Hidrofobinių eutektinių tirpiklių panaudojimas ekstrakcijai

Klasikinė skysčių-skysčių ekstrakcija. Kadangi, lyginant su tradiciniais tirpikliais, eutektiniai tirpikliai yra brangūs, jų panaudojimas klasikinei skysčių-skysčių ekstrakcijai, kur sunaudojami nemaži tirpiklio kiekiai, yra nepopuliarus. Publikuoti tik keli straipsniai, kuriuose hidrofobiniai eutektiniai tirpikliai panaudoti alkoholių [22], aromatinių angliavandenilių [23], flavanoidų [9], fenolių [24] ekstrakcijai iš vandens mėginių. Metodas reikalauja daug laiko ir darbo sąnaudų, sunaudojami dideli kiekiai tiriamų mėginių ir brangių tirpiklių, todėl pagrindinis dėmesys yra skiriamas hidrofobinių eutektinių tirpiklių panaudojimui miniatiūrizuotose ekstrakcijos sistemose [11].

Mikroekstrakciniai metodai. Iki šiol dažniausiai hidrofobiniai gilūs eutektiniai tirpikliai buvo taikomi dispersinėje skysčių-skysčių mikroekstrakcijoje [25]. Šiame metode į 5-20 mL vandeninio mėginio porciją švirkštu įleidžiamas nedidelis ekstrahuojančio tirpalo tūris (0,5-1,0 mL). Ekstrahuojantis tirpalas sudarytas iš 50-100 µL nesimaišančio su vandeniu hidrofobinio tirpiklio, ištirpinto 0,5-1,0 mL polinio organinio tirpiklio (dažniausiai metanolio arba acetonitrilo). Sušvirkštus tokį mišinį į vandeninį mėginį, mėginyje susidaro hidrofobinio tirpiklio emulsija – tirpiklis tolygiai pasiskirsto mėginyje labai mažų lašelių pavidalu. Tokioje sistemoje analičių ekstrakcija į hidrofobinį tirpiklį įvyksta akimirksniu. Po centrifugavimo švirkštu paimama hidrofobinio tirpiklio fazė ir analizuojama chromatografiniais arba spektroskopiniais metodais. Šiame metode labai svarbu, kad hidrofobinio tirpiklio tankis pakankamai skirtųsi nuo vandens tankio. Žymiai pranašesni yra sunkesni už vandenį tirpikliai, kadangi tokiu atveju po centrifugavimo lengviau atskirti fazes. Yra kelios šio metodo modifikacijos, kurių šioje apžvalgoje neaptarsime.

Pirmą kartą dispersinei skysčių-skysčių mikroekstrakcijai hidrofobinis eutektinis tirpiklis buvo panaudotas 2016 m. pesticidų išskyrimui ir koncentravimui iš vaisių sulčių ir daržovių kombinacijoje su dujų chromatografine analize [26]. Darbe ekstrahentu buvo naudotas cholino chlorido:4-chlorfenolio (1:2) eutektinis tirpiklis. Nors pesticidų aptikimo ribos buvo 0,46-3,1 ng/mL koncentracijų intervale, o analizės rezultatų glaudumas neviršijo 8%, tačiau dėl mažo eutektinio tirpiklio lakumo ši mikroekstrakcinė sistema nėra tinkamas pasirinkimas dujų chromatografinei analizei.

Piretroidų mikroekstrakcijai iš arbatos ir vaisių sulčių buvo palyginti karnitino:heksafluorizopropanolio bei betaino:heksafluorizopropanolio hidrofobiniai eutektiniai tirpikliai [27]. Ekstraktų analizė buvo atliekama skysčių chromatografijos metodu. Buvo nustatyta, kad efektyviau piretroidai išekstrahuojami tirpikliu, sudarytu karnitino pagrindu. Autorių teigimu, taip yra todėl, kad šis tirpiklis turi daugiau –OH grupių, todėl pasižymi stipresne sąveika su analitėmis. Nustatytos aptikimo ribos buvo 0,06-0,17 ng/mL koncentracijų intervale, o piretroidų išgavos siekė 87-109%.

Kituose darbuose hidrofobiniai eutektiniai tirpikliai iš ketvirtinio amonio druskų ir karboksirūgščių buvo panaudoti β-agonistų [28], chlorfenolių [29] bei Th^{4+} [30] ekstrakcijai iš vandens mėginių.

Keliuose darbuose hidrofobiniai eutektiniai tirpikliai buvo panaudoti modifikuotose dispersinės skysčių-skysčių ekstrakcijos sistemose [31, 32]. Pavyzdžiui, darbe [31] eutektinis tirpiklis tarp mentolio ir analičių (ketoprofeno ir diklofenako) buvo generuojamas tiesiogiai mėginio tirpale. Į vandeninį mėginio tirpalą pridedama mentolio ir maišant šildoma, kol tarp mentolio ir analičių susidaro hidrofobinio tirpiklio fazė. Tada mišinys šaldomas, kol eutektinis tirpiklis

sukietėja, tirpalas nupilamas, o tirpiklis tirpinamas metanolyje ir analizuojamas. Deja, tokia sistema negali būti naudojama realių mėginių ekstrakcijai, kadangi tokiuose mėginiuose paminėtų analičių koncentracijos labai mažos, todėl eutektinis jų tirpiklis su mentoliu nesusidarys.

Kitame darbe [32] 17-β-estradiolio ekstrakcijai iš vandeninės fazės, tetrabutilamonio bromido:1-heptanolio eutektinis tirpiklis buvo suskaidytas mėginio tirpale į atskirus komponentus. Po suskaidymo, 1-heptanolis veikė kaip ekstrahentas, tuo tarpu ketvirtinio amonio druska atliko disperguojančio tirpiklio funkciją.

Pagrindinė hidrofobinių eutektinių tirpiklių taikymo dispersinėje skysčių-skysčių mikroekstrakcijoje ir modifikuotose šio metodo sistemose problemą – didžioji dauguma iki šiol susintetintų hidrofobinių tirpiklių yra lengvesni už vandenį bei pasižymi nemaža klampa. Šios savybės apsunkina fazių atskyrimą po centrifugavimo bei ekstraktų dozavimą.

Taip pat publikuoti keli darbai [33, 34], kuriuose hidrofobiniai eutektiniai tirpikliai buvo panaudoti mikroekstrakcijai tirpiklio lašu, tačiau didelė tokių tirpiklių klampa labai apsunkina manipuliavimą jais mikrošvirkštu.

2. EKSPERIMENTO METODIKA

2.1. Aparatūra

Tyrimai buvo atliekami ultraefektyviosios skysčių chromatografijos prietaisu Waters Acquity UPLC, sukomplektuotu iš aukšto slėgio 2 kanalų gradientinio siurblio su judrios fazės nudujinimu, automatinės mėginių įleidimo sistemos ir skenuojančio (200-500 nm) fotodiodinės matricos (PDA) detektoriaus.

Atskyrimai buvo atliekami Acquity UPLC BEH C8 (2,1×100 mm, 1,7 μm) kolonėlėje (Waters). Judrios fazės srauto greitis - 0,25 mL/min. Kolonėlės temperatūra - 25 ºC, mėginio tūris - 2 μL. Atskyrimams naudotų judrių fazių sudėtys, gradientinės eliucijos bei detektavimo sąlygos pateiktos skyriuje „Rezultatai ir jų aptarimas“.

2.2. Reagentai ir tirpalai

Darbe naudoti šie reagentai:
Mentolis (≥98% grynumo, Sigma-Aldrich);
Tetrabutilamonio chloridas (≥97% grynumo, Sigma-Aldrich);
Tetraheksilamonio chloridas (≥98% grynumo, Sigma-Aldrich);
Trifluoracto rūgštis (LC-MS grynumo, Sigma-Aldrich);
Heksafluor-2-propanolis (LC-MS grynumo, Sigma-Aldrich);
Metano (skruzdžių) rūgštis (LC-MS grynumo, Sigma-Aldrich);
Metanolis (MeOH) (gradientinės HPLC grynumo, ROTH, Vokietija);
Acetonitrilas (ACN) (LC-MS grynumo, ThermoFisher)
Du kartus distiliuotas ir per 0,2 μm membraninį filtrą filtruotas vanduo.
Modelinėmis analitėmis naudoti ftalatai, parabenai ir dažikliai buvo ≥98% grynumo (Sigma-Aldrich).

Pirminiai standartiniai 100 mg/L analičių tirpalai buvo ruošiami pasveriant reikiamą junginio kiekį ir ištirpinant metanolyje. Mažesnių koncentracijų tirpalai buvo ruošiami atitinkamai skiedžiant pirminius standartus judria faze (chromatografijai) arba vandeniu (ekstrakcijai).

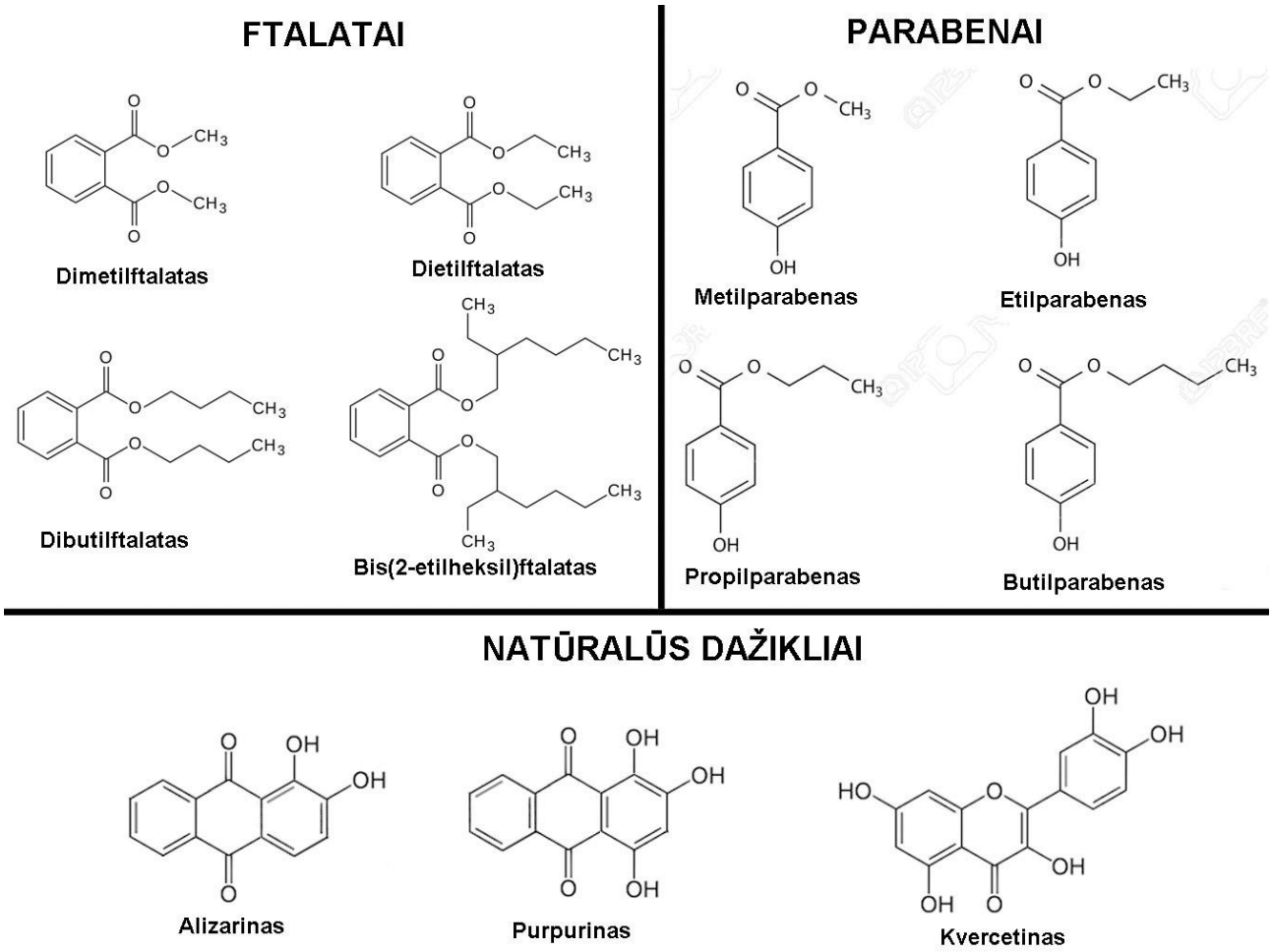
2.3. Procedūros

Hidrofobinių eutektinių tirpiklių sintezės procedūra aprašyta skyriuje „Rezultatai ir jų aptarimas“. Tankis buvo matuojamas tiksliai pasveriant 5 mL tirpiklio 5 mL talpos matavimo kolbutėje. Apytiksliam tirpiklių tirpumui vandenyje išmatuoti 5 mL tirpiklio graduotame centrifuginiame mėgintuvėlyje buvo 10 min intensyviai purtoma su 10 mL distiliuoto vandens, gautas mišinys centrifuguojamas ir vizualiai išmatuojamas likusio eutektinio tirpiklio tūris.

3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

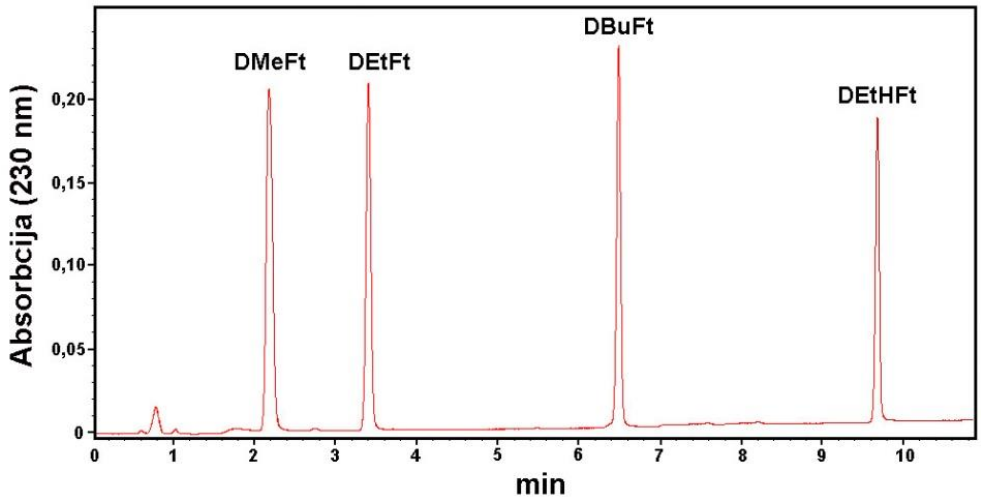
3.1. Modelinių analičių atskyrimo sąlygų parinkimas

Hidrofobinių eutektinių tirpiklių ekstrakcinėms savybėms tirti modelinėmis analitėmis pasirinkome tris aktualias analizei hidrofobinių junginių grupes: ftalatus, parabenus ir natūralius dažiklius. 3.1 paveiksle pateiktos pasirinktų junginių struktūros.

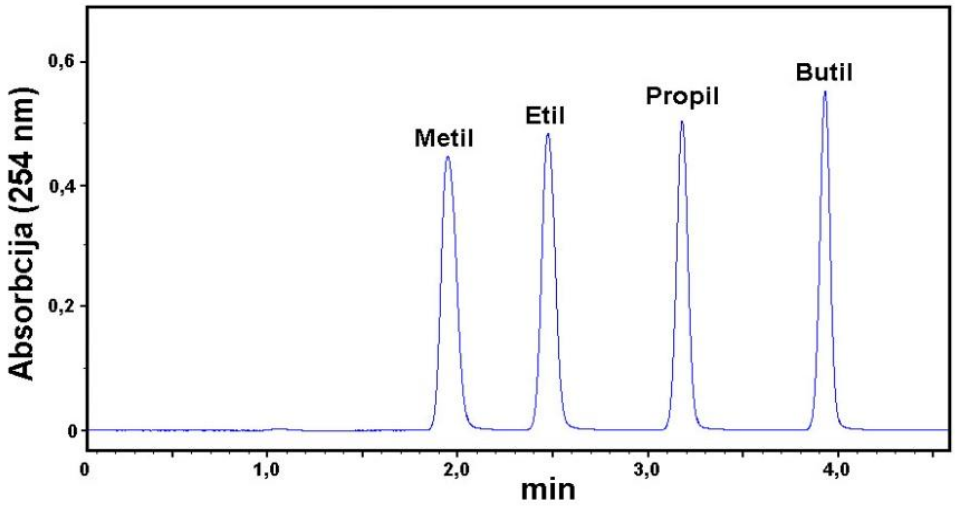


3.1 pav. Tyrimui pasirinktų modelinių analičių struktūros.

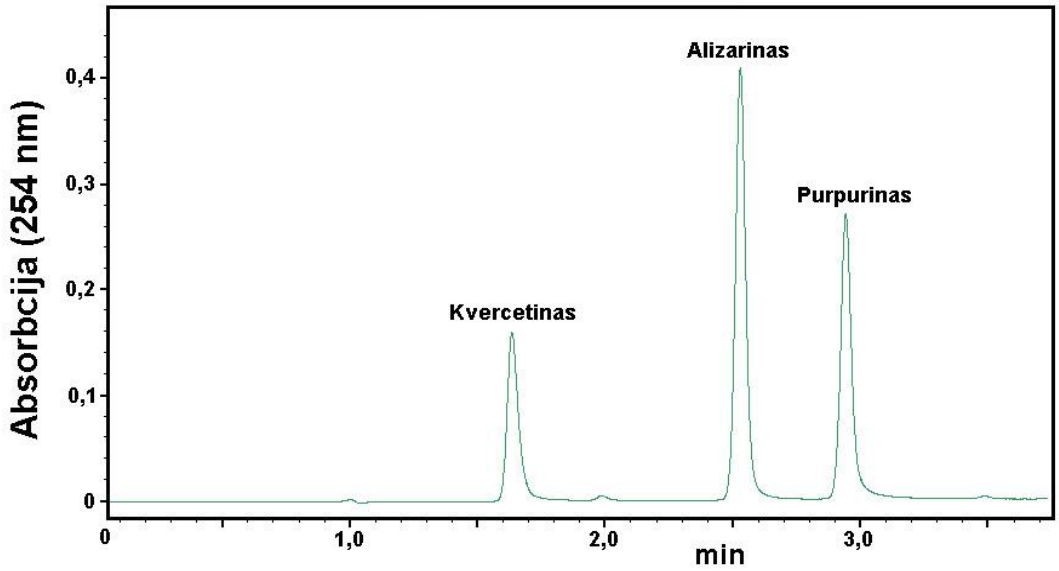
Kadangi visi junginiai pasižymi nemenku hidrofobiškumu, tinkamiausias metodas jų atskyrimui – atvirkščių fazių chromatografija. Atskyrimui pasirinkome kolonėlę su hibridiniu silikagelio sorbentu, padengtu oktilo (C8) ligandais. Kiekvienai junginių grupei buvo optimizuota judrios fazės sudėtis ir judrios fazės gradiento programa bei parinktas tinkamiausias UV detektavimo bangos ilgis. Optimizuotose sąlygose išmatuotos chromatogramos pavaizduotos 3.2-3.4 paveiksluose.



3.2 pav. Ftalatų standartinio mišinio (25 mg/L) atskyrimas. Kolonėlė: UPLC BEH C8. Judri fazė: H_2O/MeOH, 0,25 mL/min. Gradientas: 50%→100% MeOH nuo 0 iki 10 min. UV detektavimas 230 nm.



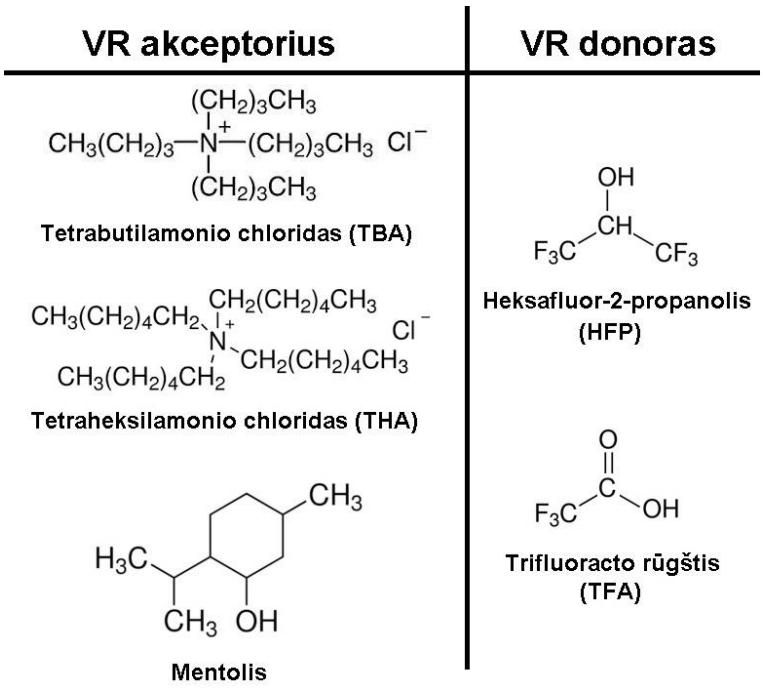
3.3 pav. Parabenų standartinio mišinio (25 mg/L) atskyrimas. Kolonėlė: UPLC BEH C8. Judri fazė: H_2O/MeOH, 0,25 mL/min. Gradientas: 50%→80% MeOH nuo 0 iki 5 min. Detektavimas 254 nm.



3.4 pav. Dažiklių standartinio mišinio (10 mg/L) atskyrimas. Kolonėlė: UPLC BEH C8. Judri fazė: A – 0,1% skruzdžių rūgšties vandenyje; B - 0,1% skruzdžių rūgšties acetonitrile, 0,25 mL/min. Gradientas: 40%→80% B nuo 0 iki 5 min. UV detektavimas 254 nm.

3.2. Hidrofobinių eutektinių tirpiklių sintezė ir charakterizavimas

Vienas iš svarbiausių reikalavimų dispersinei mikroekstrakcijai naudojamiems tirpikliams – tirpiklio tankis turi būti didesnis už vandens tankį. Priešingu atveju po ekstrakcijos sunku atskirti organinę fazę. Kaip jau buvo minėta literatūros apžvalgoje, eutektinio tirpiklio tankį didele dalimi lemia jo komponentų tankis. Kadangi fluorinti junginiai (pvz., karboksirūgštys bei alkoholiai) pasižymi dideliu tankiu, sintezei pasirinkome du fluorintus vandenilinio ryšio donorus - heksafluor-2-propanolį ir trifluoracto rūgštį. Tuo tarpu vandenilinio ryšio akceptoriais pasirinkome tris dažnai naudojamus hidrofilinių ir hidrofobinių eutektinių tirpiklių sintezei junginius – tetrabutilamonio ir tetraheksilamonio chloridus bei mentolį. Nors mentolis gali būti ir vandenilinio ryšio donoru, tačiau iš literatūros yra žinoma, kad jo, kaip donoro pagrindu susintetinti hidrofobiniai eutektiniai tirpikliai yra lengvesni už vandenį.



3.5 pav. Hidrofobinių eutektinių tirpiklių sintezei naudotų junginių struktūros.

Sintezės procedūra. Preliminariems tyrimams eutektiniai tirpikliai buvo sintetinti akceptorius/donoras moliniu santykiu 1:2. Į stiklinį indą su hermetišku dangteliu pridedami reikiami abiejų junginių kiekiai, įdedamas magnetinės maišyklės strypelis ir mišinys intensyviai maišomas vandens vonioje 65-70°C temperatūroje, kol susidarys homogeniškas skystis (3.6 pav.). Sintezės trukmė ~30-60 min.



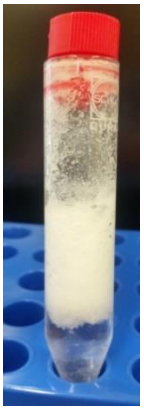
3.6 pav. Pradinis TBACl ir TFA mišinys ir susintetintas eutektinis tirpiklis.

Be jau paminėto tirpiklio tankio, mikroekstrakcijai svarbu ir tirpiklio hidrofobiškumas (tirpumas vandenyje) bei jo klampa. Todėl buvo planuota išmatuoti tris susintetintų tirpiklių charakteristikas: klampą, tankį ir tirpumą vandenyje. Deja, dėl karantino klampos matavimų bei tikslių tirpumo vandenyje tyrimų negalėjome atlikti, todėl tirpiklių klampa buvo įvertinta tik vizualiai, o tirpumas vandenyje išmatuotas tik labai apytiksliai. Tankis buvo išmatuotas svėrimo būdu (trijų matavimų vidurkis). Tyrimų rezultatai pateikti 3.1 lentelėje. Visų tirpiklių tankis viršija vandens tankį, todėl pagal šią charakteristiką visi jie yra tinkami mikroekstrakcijai. Visi tirpikliai, išskyrus TBA:TFA, yra hidrofobiniai: tirpiausio iš jų TBA:HFP tirpumas vandenyje siekia tik ~2,5% (v/v). Tuo tarpu TBA:TFA tirpiklis maišant jį su vandeniu iškrenta į purias lengvesnes už vandenį nuosėdas (3.7 pav.).

3.1 lentelė. Hidrofobinių eutektinių tirpiklių chrarakteristikos.

Eutektinis tirpiklis (molinis santykis 1:2)	Klampa	Tankis (20°C), g/mL	Tirpumas H_2O, % (v/v)
Mentolis:TFA	+	1,136	~2
TBA:TFA	++	1,153	Maišant su vandeniu krenta nuosėdos.
THA:TFA	+++	1,084	< 1
Mentolis:HFP	+	1,218	< 1
TBA:HFP	++	1,227	~2,5
THA:HFP	+++	1,158	< 1

+ - mažiausia klampa; ++ - didesnė klampa; +++ - didžiausia klampa



3.7 pav. TBA:TFA tirpiklio mišinys su vandeniu.

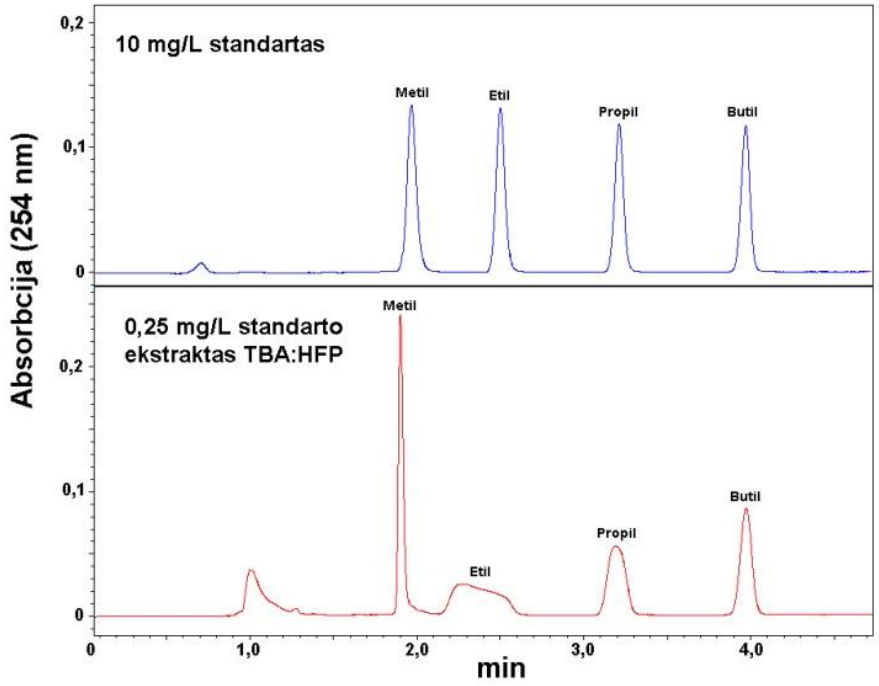
3.3. Ekstrakcinių savybių tyrimas

Šiame darbe nebuvo keliamas uždavinys nuodugniai ištirti susintetintų tirpiklių ekstrakcines savybes, tam reikėtų žymiai daugiau laiko nei jo skiriama bakalauro baigiamajam darbui. Buvo atliekamas tik pirminis penkių susintetintų hidrofobinių eutektinių tirpiklių tinkamumo mikroekstrakcijai zondavimas. Šiam tikslui buvo naudojama tokia procedūra:

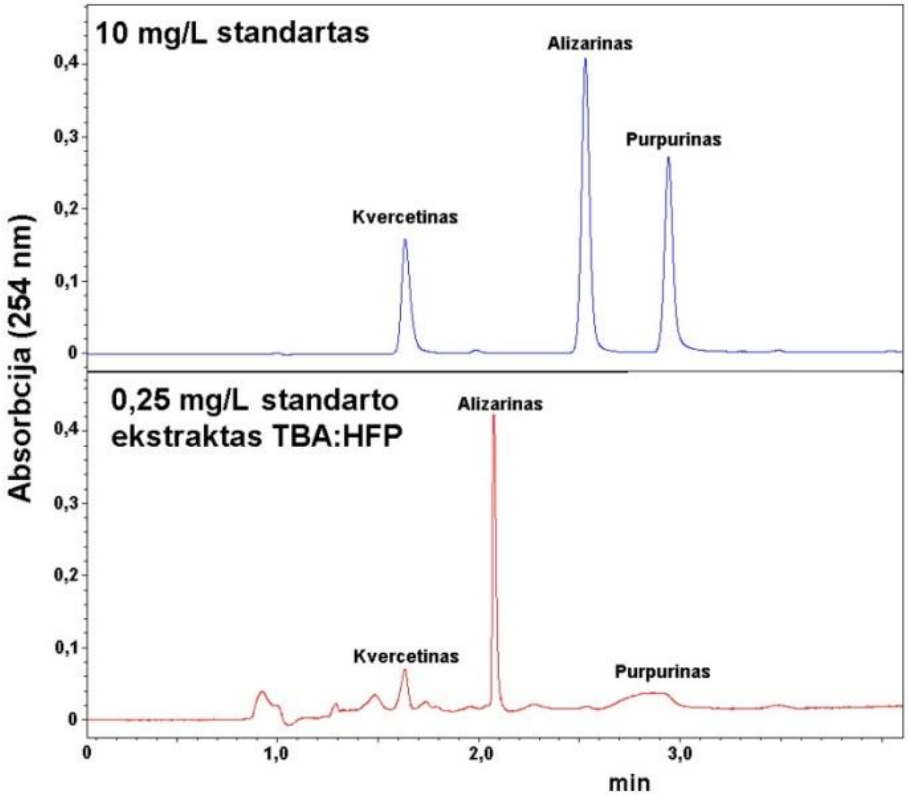
Į 10 mL talpos centrifuginį mėgintuvėlį pridedami 0,25 mL eutektinio tirpiklio ir 5 mL 0,25 arba 0,5 mg/L koncentracijos analičių vandeninio tirpalo. Mėgintuvėlis užkemšamas ir stipriai 2-3 kartus supurtomas. Tirpale susidaro eutektinio tirpiklio emulsija, todėl ekstrakcija vyksta akimirksniu. Gauta emulsija centrifuguojama (3 min; 3000 rpm), viršutinis vandens sluoksnis švirkštu ištraukiamas, 0,1 mL ekstrakto pipete dozuojamas į chromatografinį mikroindelį, pridedamas 0,1 mL metanolio, išmaišoma ir analizuojama.

Tirpikliai heksafluor-2-propanolio pagrindu. 3.8 ir 3.9 paveiksluose palygintos parabenų ir dažiklių standartinių tirpalų bei 40 kartų praskiestų šių tirpalų ekstraktų TBA:HFP eutektiniu tirpikliu chromatogramos. Iš pateiktų rezultatų matyti, kad ekstraktų chromatogramose kai kurių analičių smailės išplinta, deformuojasi, pasikeičia jų sulaikymo trukmės. Kai kurių analičių (pvz. metilparabeno, alizarino) smailės, priešingai, smarkiai susiaurėja. Panaši tendencija buvo nustatyta visų trijų grupių analitėms ekstrahuojant jas trimis eutektiniais tirpikliais su HFP donoru. Atvirkščių fazių skysčių chromatografijoje analičių smailės įprastai deformuojasi, kai mėginio tirpiklis yra

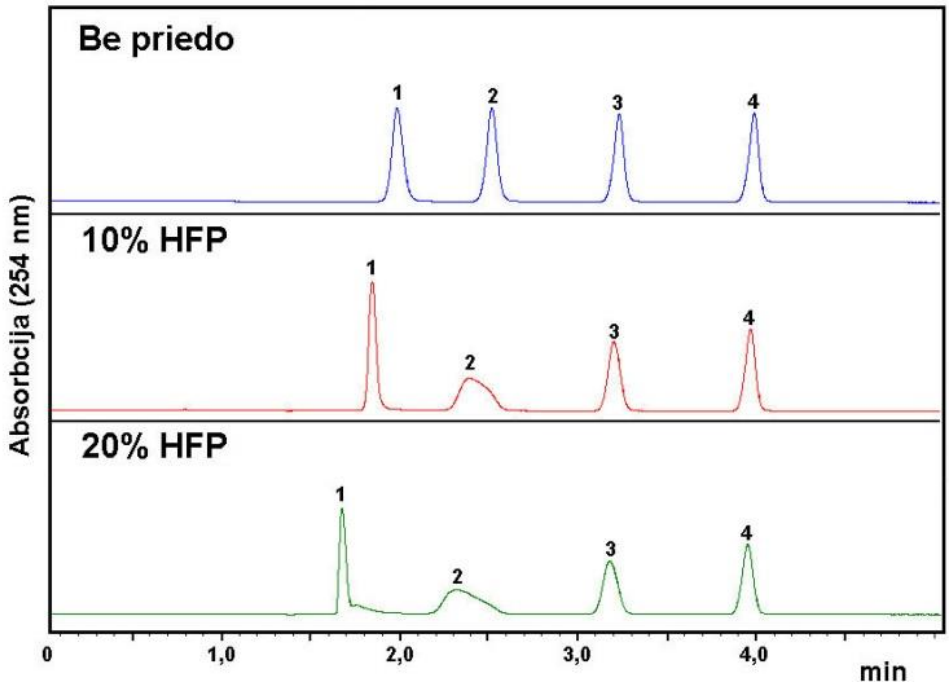
hidrofobiškesnis už judrią fazę. Tačiau eutektiniai tirpikliai daug organikos turinčioje judrioje fazėje yra suardomi į atskirus komponentus. Kadangi smailių deformacija pasireiškė ekstrahuojant visais tirpikliais su HFP, greičiausiai būtent šis junginys ir yra atsakingas už smailių deformaciją. Tai patvirtino ir papildomas eksperimentas, kuriame buvo palygintos parabenų standarto, praskiesto metanoliu ir metanolio/HFP mišiniu, chromatogramos (3.10 pav.).



3.8 pav. Parabenų standarto ir 40 kartų praskiesto šio standarto ekstrakto TBA:HFP tirpikliu chromatogramos.



3.9 pav. Dažiklių standarto ir 40 kartų praskiesto šio standarto ekstrakto TBA:HFP tirpikliu chromatogramos.



3.10 pav. Parabenų standartinio tirpalo metanolyje ir metanolio/HFP mišinyje chromatogramos.

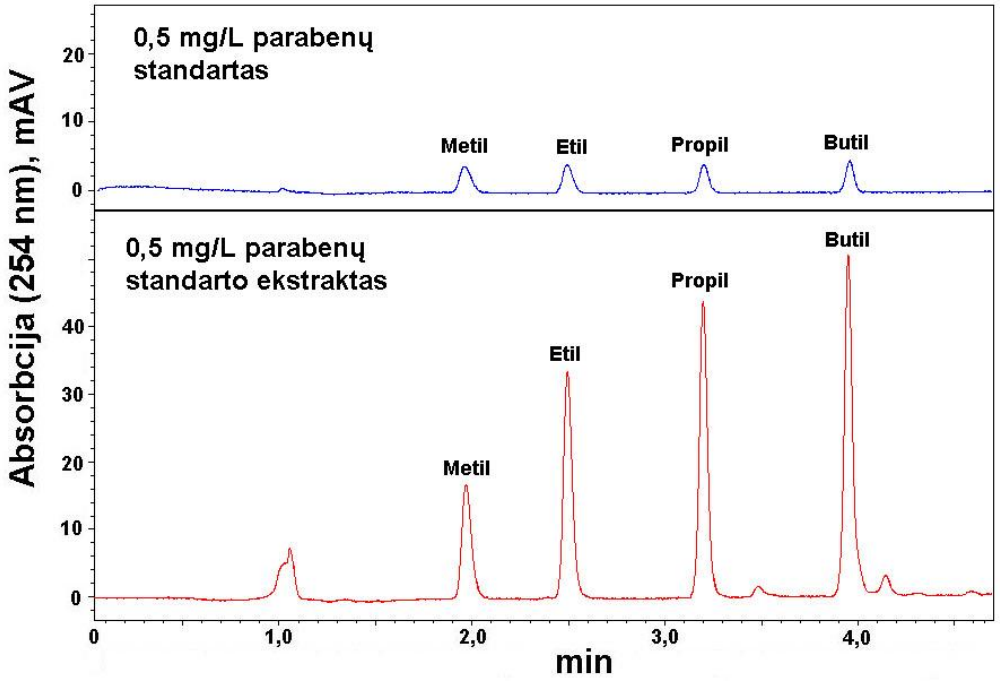
Būtina pažymėti, kad nepaisant nesuderinamumo su skysčių chromatografija, visi trys eutektiniai tirpikliai pasižymi geromis ekstrakcinėmis savybėmis. Kadangi dažiklių tirpalas spalvotas, buvo matyti, kad po ekstrakcijos ir centrifugavimo dažiklių vandeninio tirpalo spalva išblunka, o eutektinio tirpiklio fazė nusidažo intensyvia raudona spalva (3.11 pav.). Detaliam šių tirpiklių ekstrakcinių savybių įvertinimui būtini papildomi kiekybiniai tyrimai kitais analizės metodais.



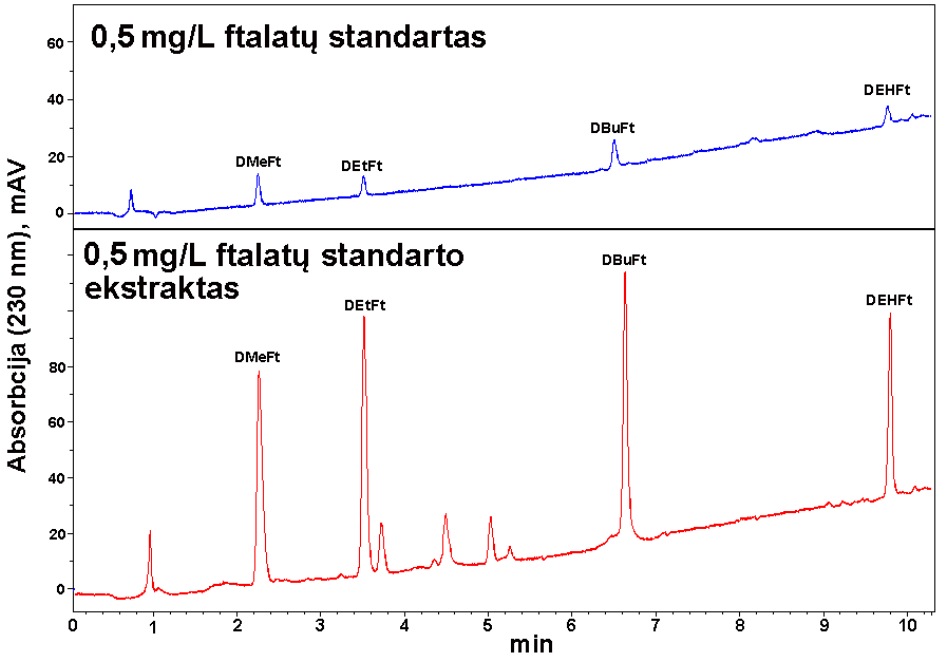
3.11 pav. Dažiklių tirpalas prieš ekstrakcija ir po ekstrakcijos TBA:HFP tirpikliu ir centrifugavimo.

Tirpikliai TFA pagrindu. 3.12-3.14 pav. pavaizduotos tiriamų junginių standartinių tirpalų ir tų tirpalų ekstraktų mentolio:TFA tirpikliu chromatogramos. Mentolio:TFA tirpiklis puikiai suderinamas su skysčių chromatografija – ekstraktų chromatogramose visoms analitėms registruojamos neišplitusios ir nedeformuotos smailės. Palyginus standartų ir tų pačių standartų ekstraktų chromatogramose gautų smailių plotus matyti, kad parabenų ekstrahuojamumas gerėja, ilgėjant parabeno alkilo grandinei, t.y. stiprėjant junginio hidrofobiškumui. Ftalatams ši tendencija ne tokia ryški: tiktai poliškiausio dimetilftalato išekstrahuojama santykinai mažiau. Tuo tarpu išekstrahuojami dažiklių santykiniai kiekiai yra labai panašūs.

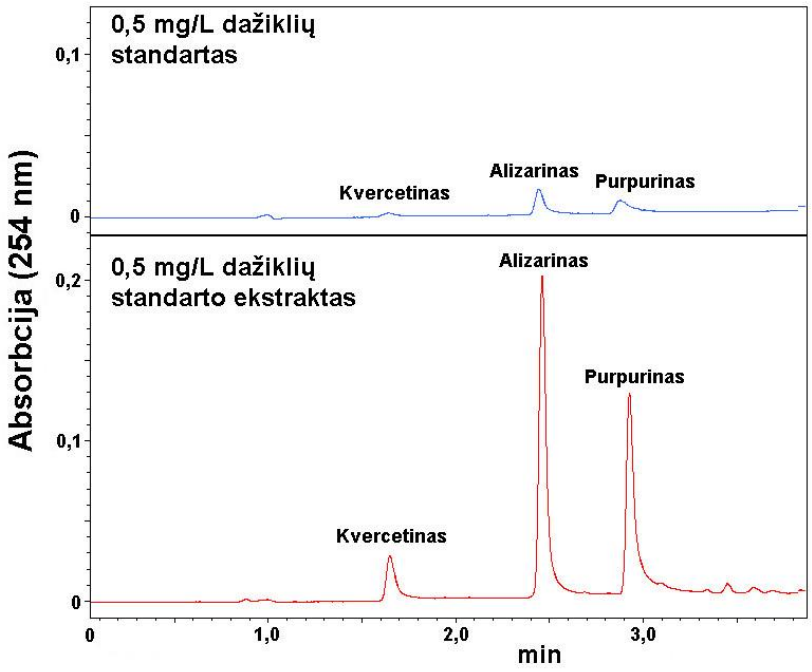
Beveik identiški rezultatai buvo gauti ir ekstrahuojant THA:TFA eutektiniu tirpikliu. Apibendrinant galima konstatuoti, kad abu hidrofobiniai eutektiniai tirpikliai TFA, pagrindu pasižymi geromis ekstrakcinėmis savybėmis bei yra suderinami su skysčių chromatografine analize.



3.12 pav. Parabenų standarto ir šio standarto ekstrakto mentolio:TFA eutektiniu tirpikliu chromatogramos.



3.13 pav. Ftalatų standarto ir šio standarto ekstrakto mentolio:TFA eutektiniu tirpikliu chromatogramos.



3.14 pav. Dažiklių standarto ir šio standarto ekstrakto mentolio:TFA eutektiniu tirpikliu chromatogramos.

IŠVADOS

1. Iš tetrabutilamonio, tetraheksilamonio ir mentolio vandenilinio ryšio akceptorių bei heksafluor-2-propanolio ir trifluoracto rūgšties vandenilinio ryšio donorų susintetinti šeši sunkesni už vandenį hidrofobiniai eutektiniai tirpikliai. Tetrabutilamonio:trifluoracto rūgšties tirpiklis maišant jį su vandeniu iškrenta į nuosėdas. Kiti penki tirpikliai mažai tirpūs vandenyje (tirpumas neviršija ~2,5% v/v) ir yra tinkami mikroekstrakcijai.

2. Susintetinti hidrofobiniai eutektiniai tirpikliai pasižymi geromis ekstrakcinėmis savybėmis hidrofobiniams junginiams (parabenams, ftalatams, natūraliems dažikliams). Tačiau tirpikliai, sudaryti heksafluor-2-propanolio pagrindu, nesuderinami su skysčių chromatografija, kadangi heksafluor-2-propanolis deformuoja daugelio analičių smailes.

3. Pagrindiniai hidrofobinių gilių eutektinių tirpiklių privalumai – labai paprasta sintezė ir plačios galimybės konstruoti įvairių savybių tirpiklius.

SANTRAUKA

VILNIAUS UNIVERSITETAS
CHEMIJOS IR GEOMOKSLŲ FAKULTETAS

Aušra Radžiūnaitė

HIDROFOBINIAI EUTEKTINIAI TIRPIKLIAI: SINTEZĖ, CHARAKTERIZAVIMAS IR EKSTRAKCINIŲ SAVYBIŲ ĮVERTINIMAS

Susintetinti šeši hidrofobiniai gilūs eutektiniai tirpikliai, naudojant mentolį, tetrabutilamonio ir tetraheksilammonio chloridus kaip vandenilio jungčių akceptorius, o trifluoracto rūgštį ir heksafluor-2-propanolį naudojant kaip vandenilio jungčių donorus. Bei įvertintos pagrindinės fizikinės savybės: klampumas, tankis ir tirpumas vandenyje, kurios yra svarbios atliekant mikroekstrakciją. Visi susintetini gilūs eutektiniai tirpikliai yra skysčiai kambario temperatūroje ir turi didesnį tankį nei vanduo. Penki iš jų mažai tirpsta (mažiau kaip ~ 2,5 % (v/v)) vandenyje, tuo tarpu tirpiklis, kuriame yra tetrabutilammonio-trifluoracto rūgšties, maišant su vandeniu susidaro nuosėdos.

Taip pat buvo įvertintos tirpiklių ekstrahavimo savybės. Modelio analitės buvo keturi ftalatai, keturi parabenai ir trys natūralūs dažai. Visi penki hidrofobiniai eutektiniai tirpikliai parodė gerą analizuojamų modelių ekstrahuojamumą. Tačiau tirpikliai, kurių pagrindą sudaro heksafluor-2-propanolis, kai kurioms analitėms smarkiai padidino ar net iškreipė smailes. Taigi šie tirpikliai yra nesuderinami su skysčių chromatografija. Priešingai, trifluoracto rūgšties pagrindu sukurti hidrofobiniai eutektiniai gilūs tirpikliai parodė gerą hidrofobinių junginių mikroekstrahavimo efektyvumą ir puikų suderinamumą su skysčių chromatografija.

SUMMARY

HYDROPHOBIC DEEP EUTECTIC SOLVENTS: SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND EVALUATION OF EXTRACTION PROPERTIES

Aušra Radžiūnaitė

GRADUATION THESIS CARRIED OUT IN DEPARTMENT OF ANALYTICAL AND ENVIRONMENTAL CHEMISTRY OF VILNIUS UNIVERSITY

Research adviser: prof. A. Padarauskas

Six hydrophobic deep eutectic solvents (HDES) were synthesized using menthol, tetrabutylammonium and tetrahexylammonium chlorides as hydrogen-bond acceptors and trifluoroacetic acid and hexafluoro-2-propanol as hydrogen-bond donors. The main physical properties (viscosity, density and water solubility) important in microextraction were evaluated. All HDESs are liquids at room temperature and have a higher density than water. Five of these are only slightly soluble (less than ~2.5% v/v) in water, whereas tetrabutylammonium-trifluoroacetic acid based solvent by mixing with water forms precipitates.

Finally, the extraction properties of the solvents were briefly evaluated. The model analytes were four phthalates, four parabens and three natural dyes. All five HDESs showed good extractability of the model analytes. However, the solvents based on hexafluoro-2-propanol caused significant peak broadening or even peak distortion for some analytes. Thus, these HDESs are not compatible with liquid chromatography. In contrast, the trifluoroacetic acid based hydrophobic HDESs showed good performance for microextraction of hydrophobic compounds and excellent compatibility with liquid chromatography.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. V. Abbott, A.P. Capper, G. Davies, D.L. Rasheed, R.K. Tambyrajah, Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures, *Chem. Commun*., (2003) 70–71.
2. Q. Zhang, K. De Oliveira Vigier, S. Royer, F. Jérôme, Deep eutectic solvents:syntheses, properties and applications, *Chem. Soc. Rev*., 41 (2012) 7108–7146.
3. C. Florindo, L.C. Branco, I.M. Marrucho, Quest for green-solvent design:from hydrophilic to hydrophobic (deep) eutectic solvents, *ChemSusChem*, 12 (2019) 1549–1559.
4. D.J.G.P. Van Osch, L.F. Zubeir, A. Van Den Bruinhorst, M.A.A. Rocha, M.C. Kroon, Hydrophobic deep eutectic solvents as water-immiscible extractants, *Green Chem*., 17 (2015) 4518–4521.
5. C. Florindo, F.S. Oliveira, L.P.N. Rebelo, A.M. Fernandes, I.M. Marrucho, Insights into the synthesis and properties of deep eutectic solvents based on cholinium chloride and carboxylic acids, *Sustain. Chem. Eng*. 2 (2014) 2416–2425.
6. B.D. Ribeiro, C. Florindo, L.C. Iff, M.A.Z. Coelho, I.M. Marrucho, Menthol-based eutectic mixtures: hydrophobic low viscosity solvents, *Sustain. Chem. Eng*., 3 (2015) 2469–2477.
7. N. Schaeffer, M.A.R. Martins, C.M.S.S. Neves, S.P. Pinho, J.A.P. Coutinho, Sustainable hydrophobic terpene-based eutectic solvents for the extraction and separation of metals, *Chem. Commun*., 54 (2018) 8104–8107.
8. E.L. Smith, A.P. Abbott, K.S. Ryder, Deep eutectic solvents (DESs) and their applications, *Chem. Rev*., 114 (2014) 11060–11082.
9. J. Cao, L. Chen, M. Li, F. Cao, L. Zhao, E. Su, Two-phase systems developed with hydrophilic and hydrophobic deep eutectic solvents for simultaneously extracting various bioactive compounds with different polarities, *Green Chem*., (2018) 1879–1886.
10. A.K. Dwamena, Investigating anions and hydrophobicity of deep eutectic solvents by experiment and computational software, Electronic Theses and Dissertations (2019).
11. P. Makoś, E. Słupek, J. Gębicki, Hydrophobic deep eutectic solvents in microextraction techniques, *Microchemical J*., 152 (2020) 1-10.
12. C. Florindo, L.G. Celia-Silva, L.F.G. Martins, L.C. Branco, I.M. Marrucho, Supramolecular hydrogel based on a sodium deep eutectic solvent, *Chem. Commun*.,54 (2018) 7527–7530.
13. C. Florindo, L.C. Branco, I.M. Marrucho, Development of hydrophobic deep eutectic solvents for extraction of pesticides from aqueous environments, *Fluid Phase Equilib*., 448 (2017) 135–142.
14. C. Florindo, L. Romero, I. Rintoul, L.C. Branco, I.M. Marrucho, From phase change materials to green solvents: hydrophobic low viscous fatty acid-based deep eutectic solvents, *Sustain. Chem. Eng*., 6 (2018) 3888–3895.
15. D.J.G.P. Van Osch, C.H.J.T. Dietz, J. Van Spronsen, M.C. Kroon, F. Gallucci, M. Van Sint Annaland, R.Tuinier, A search for natural hydrophobic deep eutectic solvents based on natural components, *Sustain. Chem. Eng*., 7 (2019) 2933–2942.
16. Y.L. Yang, Y. Kou, Determination of the Lewis acidity of ionic liquids by means of an IR spectroscopic probe, *Chem.Commun*., 4 (2004) 226–227.
17. W.N. Sanders, J.E. Berger, Measurement and significance of the Hammett acidity function in non-hydroxylic solvents, *Anal. Chem*., 39 (1967) 1473–1476.

18. M.B. Taysun, E. Sert, F.S. Atalay, Physical properties of benzyl-tri-methylammonium chloride based deep eutectic solvents and employment as catalyst, *J. Mol. Liq*., 223 (2016) 845–852.

19. S. Zhu, J. Zhou, H. Jia, H. Zhang, Liquid–liquid microextraction of synthetic pigments in beverages using a hydrophobic deep eutectic solvent, *Food Chem*., 243 (2018) 351–356.

20. P. Makoś, A. Fernandes, G. Boczkaj, Method for the determination of carboxylic acids in industrial effluents using dispersive liquid-liquid microextraction with injection port derivatization gas chromatography–mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*., 1517 (2017) 26–34.

21. M. Francisco, A. van den Bruinhorst, L.F. Zubeir, C.J. Peters, M.C. Kroon, A new low transition temperature mixture (LTTM) formed by choline chloride+lactic acid: characterization as solvent for CO_2 capture, *Fluid Phase Equilib*., 340 (2013) 77–84.

22. R. Verma, T. Banerjee, Liquid-liquid extraction of lower alcohols using menthol based hydrophobic deep eutectic solvent: experiments and COSMO-SAC predictions, *Ind. Eng. Chem. Res*., 57 (2018) 3371–3381.

23. P. Makoś, A. Przyjazny, G. Boczkaj, Hydrophobic deep eutectic solvents as "green" extraction media for polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples, *J. Chromatogr.A*., 1570 (2018) 28–37.

24. D. Yang, Y. Wang, J. Peng, C. Xun, Y. Yang, A green deep eutectic solvents microextraction coupled with acid-base induction for extraction of trace phenolic compounds in large volume water samples, *Ecotoxicol. Environ. Saf*., 178 (2019) 130–136.

25. G. Li, H. Row, Utilization of deep eutectic solvents in dispersive liquid-liquid microextraction, *Trends Anal. Chem*., 120 (2019) 115651.

26. M.A. Farajzadeh, M.R. Afshar Mogaddam, M. Aghanassab, Deep eutectic solvent based dispersive liquid-liquid microextraction, *Anal. Methods*, 8 (2016) 2576–2583.

27. W. Deng, L. Yu, X. Li, J. Chen, X. Wang, Z. Deng, Y. Xiao, Hexafluoroisopropanol based hydrophobic deep eutectic solvents for dispersive liquid-liquid microextraction of pyrethroids in tea beverages and fruit juices, *Food Chem*., 274 (2019) 891–899.

28. Y. Liu, W. Xu, H. Zhang, W. Xu, Hydrophobic deep eutectic solvent-based dispersive liquid-liquid microextraction for the simultaneous enantiomeric analysis of five β-agonists in the environmental samples, *Electrophoresis*, 40 (2019) 2828–2836.

29. Y. An, W. Ma, K.H. Row, Preconcentration and determination of chlorophenols in waste water with dispersive liquid–liquid microextraction using hydrophobic deep eutectic solvents, *Anal. Lett*., 53 (2019) 262–272.

30. S. Sadeghi, A. Davami, A rapid dispersive liquid-liquid microextraction based on hydrophobic deep eutectic solvent for selective and sensitive preconcentration of thorium in water and rock samples: a multivariate study, *J. Mol. Liq*., 291 (2019) 111242.

31. A.Y. Shishov, M.V. Chislov, D.V. Nechaeva, L.N. Moskvin, A.V. Bulatov, A new approach for microextraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs from human urine samples based on in-situ deep eutectic mixture formation, *J. Mol. Liq*., 272 (2018) 738–745.

32. A. Shishov, R. Chromá, C. Vakh, J. Kuchár, A. Simon, V. Andruch, A. Bulatov, In situ decomposition of deep eutectic solvent as a novel approach in liquid-liquid microextraction, *Anal. Chim. Acta*., 1065 (2019) 49–55.

33. A.R. Zarei, M. Nedaei, S.A. Ghorbanian, Ferro fluid of magnetic clay and menthol based deep eutectic solvent: application in directly suspended droplet microextraction for enrichment of some emerging contaminant explosives in water and soil samples, *J. Chromatogr. A*, 1553 (2018) 32–42.

34. S.M. Yousefi, F. Shemirani, S.A. Ghorbanian, Enhanced head space single drop microextraction method using deep eutectic solvent based magnetic bucky gels: application to the determination of volatile aromatic hydrocarbons in water and urine samples, *J. Sep. Sci*., 41 (2018) 966–974.