

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Ina Razmislevičienė

**DISPERSINĖ SKYSTAFAZĖ MIKROEKSTRAKCIJA
METALAMS NUSTATYTI**

Daktaro disertacija
Fiziniai mokslai, chemija (03 P)

Vilnius, 2013

Disertacija rengta 2007-2012 metais Vilniaus universitete.

Mokslinis vadovas:

prof. habil. dr. Audrius Padarauskas (Vilniaus universitetas, fiziniai mokslai,
chemija – 03 P)

TURINYS

SANTRUMPOS	5
ĮVADAS	6
I. LITERATŪROS APŽVALGA	9
1.1. Dispersinė skystafazė mikroekstrakcija	9
1.1.1. Metodo principas ir teoriniai pagrindai	9
1.1.2. DSME apjungimas su analizės metodais ir taikymas	13
1.1.2.1. Dujų chromatografija	13
1.1.2.2. Efektyvioji skysčių chromatografija	15
1.1.2.3. Atominė absorbcinė spektrometrija	17
1.2. Joniniai skysčiai ir jų panaudojimas	19
1.3. Dispersinė skystafazė mikroekstrakcija joniniais skysčiais	23
1.4. Lazerinio išgarinimo induktyviai sužadintos plazmos masių spektrometrija	26
1.5. Ultraefektyvioji skysčių chromatografija	38
II. EKSPERIMENTO METODIKA	44
2.1. Aparatūra	44
2.2. Reagentai ir tirpalai	46
2.3. Procedūros	47
III. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	49
3.1. Cr(VI) mikroekstrakcijos sąlygų optimizavimas	49
3.1.1. Ekstrahento ir dispergento parinkimas	49
3.1.2. Mikroekstrakcijos sąlygų tyrimas	52
3.2. DSME apjungimas su LA-ICP-MS metodu	55
3.2.1. Ekstraktų išgarinimo ir signalo atsikartojamumo sąlygų optimizavimas	56
3.2.2. Lazerinio išgarinimo sąlygų optimizavimas	61
3.2.3. Analizinės charakteristikos ir metodo taikymas	64
3.3. Metalų kompleksų mikroekstrakcija joniniais skysčiais	68

3.3.1. Detektavimo ir chromatografinio atskyrimo sąlygų optimizavimas	69
3.3.2. Kompleksavimo sąlygų tyrimas	73
3.3.3. Ekstrahento ir dispergento parinkimas	75
3.3.4. Ekstrakcijos sąlygų tyrimas	77
3.3.5. [HMIM][FAP] ir CCl ₄ ekstrahuojančių savybių palyginimas	80
3.3.6. Metodo atrankumo tyrimas	81
3.3.7. Analizinės charakteristikos ir taikymas	84
3.4. Mikroekstrakcijos joniniais skysčiais būdų palyginimas	86
IŠVADOS	88
Mokslinių publikacijų, apibendrintų daktaro disertacijoje, sąrašas	90
LITERATŪROS SĄRAŠAS	92

SANTRUMPOS

ACN – acetonitrilas

APDC – amonio pirolidinditiokarbamatas

DCh – dujų chromatografija

DSME – dispersinė skystafazė mikroekstrakcija

ESCh – efektyvioji skysčių chromatografija

ETAAS – elektroterminės atomizacijos atominė absorbcinė spektrometrija

[HMIM][FAP] – 1-heksil-3-metilimidazolio tris(pentafluoretil)trifluorfosfatas

[HMIM][PF₆] – 1-heksil-3-metilimidazolio heksafluorfosfatas

[HMIM][NTf₂] – 1-heksil-3-metilimidazolio bis(trifluormetilsulfonyl)imidas

8-HQ – 8-hidroksichinolinas

LA-ICP-MS – lazerinio išgarinimo induktyviai sužadintos plazmos masių spektrometrija

LAAS – liepsnos atominė absorbcinė spektrometrija

MeOH – metanolis

MS – masių spektrometrija

NaDDTC – natrio dietilditiokarbamatas

PAN – 1-(2-piridilazo)-2-naftolas

PDA – fotodiodinės matricos detektorius

UESCh – ultraefektyvioji skysčių chromatografija

ĮVADAS

Tobulėjant analizės aparatūrai mėginio paruošimas tampa ilgiausia ir sudėtingiausia šiuolaikinės analizės stadija, užimančia didžiąją dalį analizės trukmės ir sąlygojančia didžiąją dalį analizės paklaidos. Todėl viena iš pagrindinių pastarojo dešimtmečio analizinės chemijos vystymosi krypčių – naujų, efektyvių mėginio paruošimo analizei metodų paieška ir tyrimas, jų apjungimas su moderniais analizės metodais bei taikymas siekiant padidinti analizės atrankumą ir jautrį, pagreitinti, palengvinti ir atpiginti analizę. Neabejotinai populiariausiu mėginio paruošimo metodu yra ekstrakcija, kurios pagalba analitės yra išskiriamos iš mėginio matricos ir sukonzentruojamos. Tačiau įprastiniai ekstrakcijos metodai (ekstrakcija skysčiais, Soksleto ekstrakcija, kietafazė ekstrakcija) reikalauja daug laiko bei darbo sąnaudų, juose sunaudojama daug brangių ir toksiškų organinių tirpiklių ir/arba sorbentų. Todėl pastaraisiais metais didelis dėmesys skiriamas ekstrakcijos metodų miniatiūrizacijai.

Vienas iš naujausių ir sparčiai populiarėjančių miniatiūrizuotų ekstrakcijos metodų – dispersinė skystafazė mikroekstrakcija (DSME). Šiame metode į vandeninį mėginio tirpalą sušvirškščiamas su vandeniu nesimaišančio (ekstrahentas) ir gerai besimaišančio tiek su vandeniu, tiek ir su ekstrahentu (dispergentas) tirpiklių mišinys. Tokioje sistemoje ekstrahentas mėginyje išskaidomas į daugybę smulkių lašelių - susidaro stabili emulsija. Labai didelio sąlyčio tarp fazių paviršiaus ploto dėka ekstrakcija vyksta akimirksniu. Nors DSME metodas labai paprastas, greitas ir pigus, iki šiol jis dažniausiai buvo taikomas organinių junginių ekstrakcijai ir jų nustatymui dujų arba skysčių chromatografijos metodais. Keletas darbų, kuriuose DSME metodas buvo taikytas metalų kompleksų ekstrakcijai apjungiant jį su elektroterminio išgarinimo atominės absorbcinės spektroskopijos metodu greičiau tik išimtis iš taisyklės. Metodo taikymą platesniam analizių bei analizės metodų spektrui riboja dvi pagrindinės priežastys. Labai maži (~10-50 μL) ekstrakto tūriai nesuderinami su daugeliu analizės metodų. Pavyzdžiui, neabejotinai populiariausio ir sparčiausiai pastarąjį dešimtmetį besivystančio elementų

nustatymo metodo - induktyviai sužadintos plazmos masių spektrometrijos (ICP-MS) - apjungimas su DSME dėl labai mažų ekstrakto tūrių ir organinių tirpiklių trukdžių yra neįmanomas. Šiame kontekste labai patrauklus yra ICP-MS su lazeriniu mėginio išgarinimu metodas (LA-ICP-MS), kuriuo galima analizuoti ypač mažus kietų mėginių kiekius. Tačiau dėl labai menko rezultatų atsikartojamumo LA-ICP-MS metodas iki šiol beveik išimtinai taikomas tik kietų mėginių kokybinei arba pusiau-kiekybinei analizei.

Kita DSME metodo problema – labai menkas ekstrahentų pasirinkimas. Ekstrahentu tinka tik sunkesni už vandenį, labai hidrofobiniai ir suderinami su ekstrakto analizei naudojamu metodu tirpikliai. Dujų chromatografijoje šiam tikslui puikiai tinka halogeninti angliavandeniliai, tačiau jie nesuderinami (t.y. išplečia ir deformuoja smailes) su skysčių chromatografijoje naudojamomis judriomis fazėmis. Apjungiant DSME metodą su skysčių chromatografija, puikia alternatyva tradiciniams ekstrahentams yra hidrofobiniai joniniai skysčiai. Jie yra sunkesni už vandenį, o savo joninės prigimties dėka puikiai suderinami su skysčių chromatografijos judriomis fazėmis.

Šioje daktaro disertacijoje apibendrintų mokslinių tyrimų tikslas – ištirti ir pritaikyti naujus Cr(VI), Co(II), Cu(II) ir Ni(II) koncentravimo ir nustatymo metodus apjungiant dispersinę skystafazę mikroekstrakciją su lazerinio išgarinimo induktyviai sužadintos plazmos masių spektrometrijos bei ultraefektyviosios skysčių chromatografijos metodais.

Darbo uždaviniai:

1. Ištirti Cr(VI) komplekso su amonio pirolidinditiokarbamatu dispersinės skystafazės mikroekstrakcijos anglies tetrachloridu sąlygas.
2. Įvertinti lazerinio išgarinimo parametrų įtaką ^{52}Cr ir ^{53}Cr izotopų nustatymui ekstraktuose „išdžiovinto lašo“ LA-ICP-MS metodu.
3. Ištirti Cr(VI), Co(II), Cu(II) ir Ni(II) kompleksų su amonio pirolidinditiokarbamatu dispersinės skystafazės mikroekstrakcijos joniniu skysčiu ir jų nustatymo ultraefektyviosios skysčių chromatografijos metodu sąlygas.

4. Palyginti skirtingų dispersinės fazės inicijavimo būdų įtaką dispersinės skystafazės mikroekstrakcijos joniniu skysčiu efektyvumui.

Darbo mokslinis naujumas:

Šiame darbe panaudojus „išdžiovinto lašo“ principą dispersinė skystafazė mikroekstrakcija apjungta su lazerinio išgarinimo induktyviai sužadintos plazmos masių spektrometrijos metodu. Nauja sistema praplečia DSME metodo taikymo galimybes elementams ir jų formoms koncentruoti ir nustatyti.

Ekstrahentu metalams koncentruoti DSME metodu pasiūlytas joninis skystis – 1-heksil-3-metilimidazolio tris(pentafluoretil)trifluorfosfatas. Jis yra sunkesnis už vandenį, pasižymi nedidele klampa, o savo joninės prigimties dėka puikiai suderinamas su skysčių chromatografija.

Pirmą kartą įvertinta skirtingų dispersinės fazės inicijavimo būdų įtaka dispersinės skystafazės mikroekstrakcijos joniniu skysčiu efektyvumui.

Ginamieji disertacijos teiginiai:

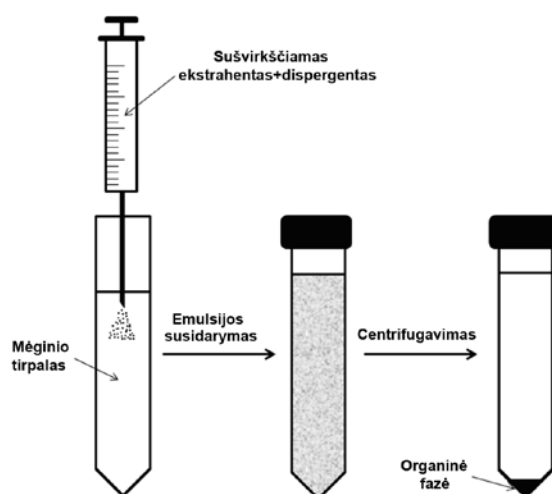
1. Dispersinės skystafazės mikroekstrakcijos apjungimas su LA-ICP-MS metodu reikšmingai praplečia mikroekstrakcijos metodų taikymo galimybes.
2. 1-Heksil-3-metilimidazolio tris(pentafluoretil)trifluorfosfatas - efektyvesnis ekstrahentas už įprastai naudojamus chlorintus angliavandenilius.
3. Dispersinės fazės inicijavimo būdas neįtakoja metalų kompleksų mikroekstrakcijos joniniu skysčiu efektyvumo.

I. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Dispersinė skystafazė mikroekstrakcija

1.1.1. Metodo principas ir teoriniai pagrindai

Dispersinė skystafazė mikroekstrakcija (DSME) - naujausias mikroekstrakcijos metodas, 2006 m. pasiūlytas Assadi ir jo vadovaujamos grupės mokslininkų [1]. Lyginant su kitais mikroekstrakcijos metodais DSME pasižymi paprastumu, ypatingu spartumu, geru rezultatų atsikartojamumu bei dideliais sukonzentravimo laipsniais [2, 3]. Šiame metode ekstrakcija remiasi trikomponente tirpiklių sistema – vandeniniu mėginio tirpalu, nesimaišančiu su vandeniu organiniu tirpikliu (ekstrahentas) ir poliniu tirpikliu (disperguojantis tirpiklis arba dispergentas), kuris gerai maišosi tiek su vandeniu, tiek su ekstrahentu. DSME metodo principas iliustruojamas 1.1 pav. Į vandeninio mėginio tirpalą (5-10 mL) švirkštu greitai sušvirkščiamas ekstrahento ir disperguojančiojo tirpiklio mišinys. Įprastiniai ekstrahento tūriai – 50-100 μ L, disperguojančiojo tirpiklio – 0,5-1,0 mL. Sušvirkštus tokį mišinį į vandeninį mėginio tirpalą, ekstrahentas išsiskaido į daugybę smulkių lašelių, t.y. susidaro stabili emulsija. Tokiu būdu tarp ekstrahento ir vandeninio mėginio gaunamas labai didelis paviršiaus plotas, todėl ekstrakcinė pusiausvyra pasiekama greitai ir ekstrakcija įvyksta akimirksniu. Tai bene svarbiausias DSME metodo privalumas.



1.1 pav. DSME metodo principinė schema.

Ekstrakcija yra atliekama kūgio formos centrifuginiuose mėgintuvėliuose. Po ekstrakcijos emulsija centrifuguojama ir mėgintuvėlio dugne nusėda keliolikos-keliasdešimties μL tūrio ekstrahento fazė su išekstrahuotais junginiais. Tolimesnė eiga priklauso nuo taikomo analizės metodo. Jei naudojamas dujų chromatografijos metodas – visas ekstraktas arba jo dalis paimama mikrošvirkštu ir tiesiogiai įleidžiama į dujų chromatografą [4]. Jei išekstrahuotų junginių nustatymui dujų chromatografijos metodas netinka, tuomet ekstraktas išgarinamas iki sausos liekanos, o likutis tirpinamas pasirinktame tirpiklyje ir analizuojamas efektyviosios skysčių chromatografijos (ESCh) metodu [5].

DSME procesą įtakoja eilė veiksnių: ekstrahuojančio bei disperguojančio tirpiklių prigimtis, ekstrakcijai naudojami jų tūriai, temperatūra bei mėginio joninė jėga. Ekstrakcijos efektyvumas įvertinamas analičių sukonzentravimo laipsniais ir/arba jų ekstrakcijos išgavomis. Sukonzentravimo laipsnis (SL) - tai analitės koncentracijos ekstrahente (c_E) santykis su jos koncentracija pradiniam mėginyje (c_0):

$$SL = c_E/c_0 \quad (1.1)$$

Išgava (η) apibrėžiama kaip išekstrahuoto analitės kiekio (n_E) procentinė dalis nuo bendro jos kiekio pradiniam mėginyje (n_0):

$$\eta\% = n_E/n_0 \times 100 \quad (1.2)$$

$$\eta\% = (V_E/V_0) \times SL \times 100 \quad (1.3)$$

V_E ir V_0 – atitinkamai ekstrakto ir ekstrakcijai paimto mėginio tūriai.

Efektyvi ekstrakcija (geros analičių išgavos, dideli sukonzentravimo laipsniai) gali būti pasiekiami tik kruopščiai optimizavus pagrindinius ekstrakciją įtakojančius veiksnius.

DSME metodui labai svarbu parinkti tinkamą ekstrahentą. Ekstrahentu naudojamas organinis tirpiklis turi tenkinti kelis reikalavimus: jo tankis turi būti didesnis už vandeninio mėginio tankį, jis turi pasižymėti mažu tirpumu vandenyje, disperguojančio tirpiklio pagalba turi sudaryti mėginyje stabilią emulsiją bei gerai ekstrahuoti analites [1]. Be to, parenkant ekstrahentą būtina

atsižvelgti ir į ekstrakto analizei naudojamą metodą – tirpiklis neturi trukdyti analizei. DSME metode ekstrahentais dažniausiai naudojami chlorinti angliavandeniliai (anglies tetrachloridas, tetrachloretilenas, chlorbenzenas, 1,2-dichlorbenzenas ir pan.), kurie geriausiai tenkina aukščiau paminėtus reikalavimus. Vėliau ekstrahentais buvo pradėti naudoti hidrofobiniai joniniai skysčiai.

Didinant ekstrahuojančio tirpiklio tūrį, atitinkamai padidėja po centrifugavimo nusėdusios organinės fazės tūris. Kadangi, priešingai nei kitais mikroekstrakciniais metodais, dispersinės skystafazės mikroekstrakcijos metu dažniausiai pasiekiamas kiekybiškas analičių išskyrimas, todėl didinant ekstrahuojančio tirpiklio tūrį ekstrakcijos išgavos reikšmingai nekinta. Be to, didinant ekstrahento tūrį, sumažėja sukonzentravimo laipsniai dėl sumažėjančio mėginys/ekstrahentas tūrių santykio. Vadinasi, norint pasiekti maksimalų ekstrakcijos efektyvumą, reikėtų naudoti kiek galima mažesnį ekstrahuojančio tirpiklio tūrį. Tačiau būtina atsižvelgti ir į tai, kad esant labai mažam ekstrahento tūriui, labai apsunkinami tolimesni veiksmai su juo ir sumažėja analizės tikslumas.

Svarbiausia disperguojančio tirpiklio savybė - tirpumas tiek vandeniniame mėginyje, tiek ir organiniame ekstrahente. Be to, dispergentas turi efektyviai disperguoti ekstrahentą mėginyje į stabilią emulsiją. Tokiais tirpikliais įprastai yra naudojamos keturios medžiagos: acetonas, acetonitrilas, metanolis ir etanolis [6]. Galutinį disperguojančio tirpiklio pasirinkimą apsprendžia ekstrakcijos efektyvumas, atrankumas, maža kaina ir toksiškumas.

Disperguojančio tirpiklio tūris įtakoja po centrifugavimo nusėdusios organinės fazės tūrį. Taigi, norint įvertinti šio tirpiklio tūrio įtaką ekstrakcijos efektyvumui, tikslinga keisti tiek ekstrahento, tiek ir dispergento tūrį, tai yra išlaikyti pastovų jų santykį. Nustatyta, kad didinant disperguojančio tirpiklio tūrį, iš pradžių ekstrakcijos efektyvumas auga arba nekinta, po to pradeda mažėti [1]. Kai naudojamas per mažas šio tirpiklio tūris, ekstrahentas blogai disperguojamas vandeniniame mėginyje, todėl ekstrakcijos efektyvumas blogėja. Naudojant per didelį dispergento tūrį, paprastai padidėja analičių

tirpumas vandenyje, todėl sumažėja ekstrakcijos efektyvumas. Konkrečiam atvejui būtina eksperimentiškai pasirinkti optimalų disperguojančio tirpiklio tūrį.

DSME metodo pagrindinis privalumas - ypatingai maža ekstrakcijos trukmė [5]. Kadangi tarp ekstrahento ir vandeninio mėginio gaunamas labai didelis sąlyčio paviršiaus plotas, analitės labai greitai pereina iš vandeninės į organinę fazę, todėl ekstrakcinė pusiausvyra pasiekama akimirksniu. DSME procese daugiausia laiko reikalaujanti procedūra – mėginio centrifugavimas, kuris trunka apie 3-5 minutes.

Dar vienas faktorius, įtakojantis ekstrakcijos efektyvumą - temperatūra. Ekstrahuojant aukštesnėje temperatūroje, dėl padidėjusio ekstrahento tirpumo mėginyje sumažėja ekstrahento tūris [5]. Remiantis negausių publikacijų duomenimis, galima teigti, kad optimali temperatūra šio tipo ekstrakcijai yra 25 ± 5 °C, kadangi keliant temperatūrą nuo 20 iki 30°C, ekstrakcijos išgavos reikšmingai nesikeičia, tačiau akceptorinės fazės tūris mažėja, todėl atitinkamai padidėja ir sukonzentravimo laipsniai. Ekstrahuojant dar aukštesnėse temperatūrose smarkiai sumažėja ekstrakcijos išgavos, o tuo pačiu ir sukonzentravimo laipsniai [6].

Pridedant druskų į vandeninį mėginį, padidėja tirpalo joninė jėga. Druskų koncentracijos didinimas įtakoja ekstrakciją dėl vienu metu vykstančių dviejų procesų [6]. Dėl išdruskinimo efekto ekstrakcijos efektyvumas didėja (analitės labiau sukonzentruojamos). Vandens molekulės hidratuoja druskos jonus, todėl sumažėja „laisvo“ vandens kiekis ir analitės lengviau pereina į organinę fazę. Antra vertus, didinant joninę jėgą mėginyje, organinės fazės tūris taip pat padidėja dėl sumažėjančio jos tirpumo druskingame vandenyje. Rezultate sumažėja ir analičių sukonzentravimo laipsniai. Taigi, druskų koncentracijos mėginyje įtaka dėl minėtų dviejų paraleliai ir priešingai veikiančių procesų nėra vienareikšmė ir priklauso nuo konkrečios DSME sistemos. Joninės jėgos didinimas gali pagerinti, pabloginti arba beveik neįtakoti ekstrakcijos efektyvumo [1-5].

1.1.2. DSME apjungimas su analizės metodais ir taikymas

1.1.2.1. Dujų chromatografija

Dujų chromatografija (DCh) – pats palankiausias apjungimui su DSME ir todėl dažniausiai šiam tikslui taikomas analizės metodas. Puikų DCh metodo tinkamumą lemia tai, kad DSME ekstrahentaais naudojami tirpikliai yra pakankamai lakūs ir puikiai atskiriami nuo daugelio analizių, todėl ekstraktas gali būti tiesiogiai įleidžiamas į dujų chromatografą. Tad nenuostabu, kad pirmajame DSME metodui skirtame darbe išekstrahuoti policikliniai aromatiniai angliavandeniliai buvo nustatomi būtent DCh su liepsnos jonizacijos detektoriumi metodu [1].

Sarafraz-Yazdi su bendraautoriais [7] DSME ir DCh su liepsnos jonizaciniu detektoriumi pritaikė triciklių antidepresantų nustatymui vandens mėginiuose. Autoriai palygino DSME su kitais mikroekstrakciniais metodais (mikroekstrakcija tirpiklio lašu ir mikroekstrakcija kapiliare) ir nustatė, kad DSME metodu gaunamos didžiausios ekstrakcijos išgavos. Taip pat buvo nustatyta, kad, nepaisant DSME privalumų, ji sunkiai pritaikoma biologiniams mėginiams, tokiems kaip šlapimas, kraujo plazma ir kt., kadangi tokiose sistemose padidėja ekstrahento tirpumas mėginyje ir sunkiai arba visiškai nesudaro emulsija.

Fosforo organinių pesticidų nustatymui vandens mėginiuose DSME buvo apjungta su DCh ir liepsnos fotometriniu detektoriumi [5]. Palyginus šį metodą su kietafaze mikroekstrakcija ir mikroekstrakcija tirpiklio lašu buvo parodyta, kad DSME – greitesnis, paprastesnis ir tikslesnis metodas.

Zhao ir bendraautoriai [8] pasiūlė DSME-DCh su liepsnos fotometriniu detektoriumi metodą fosforo pesticidų nustatymui agurkuose ir arbūzuose. Pesticidai iš susmulkintų mėginių buvo tradiciškai ekstrahuojami acetoneitrilu. Gautas acetoneitrilo ekstraktas (1 mL) buvo naudojamas disperguojančiu tirpikliu mišinyje su 27 µL ekstrahento – chlorbenzeno. Suleidus šį mišinį į 5 mL gryno vandens, pesticidai sukonzentruojami disperguotoje chlorbenzeno

fazėje. Tai buvo pirmas atvejis, kai DSME metodas taikomas nustatymui kietame mėginyje.

Kitame darbe [9] sieros pesticidų koncentravimui iš vandens mėginių buvo palyginti DSME ir mikroekstrakcijos kapiliare metodai. Abiem atvejais ekstraktai buvo analizuojami DCh su liepsnos fotometriniu detektoriumi metodu. DSME privalumai - ekstrakcijos greitis, 2-5 kartus didesni sukonzentravimo laipsniai ir atitinkamai mažesnės aptikimo ribos, galimybė ruošti keletą mėginių vienu metu. Be to nustatyta, kad analizuojant paprastesnės matricos mėginius, tokius kaip vanduo, didesnės ekstrakcijos išgavos buvo gautos naudojant DSME. Tačiau be mėginio praskiedimo analizuojant sudėtingesnės matricos gėrimus, mikroekstrakcijos kapiliare metodu gauti rezultatai tikslesni ir geriau atsikartojantys.

Poliškesni ir/arba mažiau lakūs junginiai prieš ekstrakciją arba ekstrakcijos metu derivatizuojami, t.y. cheminių reakcijų pagalba pervedami į mažiau polinius ir/arba lakesnius junginius. 2007 m. chlorfenolių koncentravimui bei nustatymui vandenyse Fattahi ir bendraautoriai [10] apjungė DSME ir DCh su elektronų gaudymo detektoriumi. Chlorfenolių pervedimas į esterius buvo atliekamas DSME metu. Šiam tikslui į ekstrakcinį mišinį (0,5 mL acetono+10 µL chlorbenzeno) buvo papildomai pridedama 50 µL acto rūgšties anhidrido.

Panašus principas buvo panaudotas anilino darinių koncentravimui DSME metodu ir nustatymui DCh su masių spektrometriniu (MS) detektavimu [11]. Anilinai buvo ekstrahuojami acetono/chlorbenzeno mišiniu su derivatizacijos reagento – pentafluorbenzaldehido - priedu. Priešingai nei aukščiau paminėtu atveju, kur derivatizacijos reakcija vyksta akimirksniu, šiame metode derivatizacijos reakcijos trukmė - 20 min. Tokiu būdu yra prarandamas vienas iš svarbiausių DSME metodo privalumų – greitis.

Pusvaškienė su kolegomis [12] riebiųjų rūgščių išskyrimui ir nustatymui DCh metodu apjungė DSME ir analičių derivatizaciją etilo chlormetanoatu. Naudojant pasiūlytą metodą riebiąsias rūgštis galima nustatyti geriamame, ežero, upių ir jūros vandenyse.

Per pastaruosius kelis metus publikuota dar bent kelios dešimtys darbų, skirtų DSME ir dujų chromatografijos apjungimui bei taikymui organiniams junginiams koncentruoti ir nustatyti. Visi darbai apibendrinti neseniai publikuotame apžvalginiame straipsnyje [13].

Apibendrinus literatūroje pateikiamus duomenis galima konstatuoti, kad apjungus DSME su DCh analizę pasiekiamos maždaug 1 µg/L aptikimo ribos, analičių sukonzentravimo laipsniai svyruoja nuo keliasdešimties iki kelių šimtų, o analizės rezultatų atsikartojamumas siekia 8-15%.

1.1.2.2. Efektyvioji skysčių chromatografija

Efektyvioji skysčių chromatografija (ESCh) - antras pagal populiarumą analizės metodas, naudojamas su DSME. Pagrindinis šio metodo privalumas lyginant su DCh – žymiai platesnis nustatomų junginių spektras, kadangi ESCh metodo neriboja analičių lakumas. Deja, dažniausiai ekstrahentais DSME metode naudojami halogeninti angliavandeniliai, tokie kaip chlorbenzenas, anglies tetrachloridas, chloroformas, tetrachloretilenas ir kt., nėra tinkami atvirkščių fazių skysčių chromatografijai dėl nepakankamo jų tirpumo polinėse judriose fazėse ir/arba dėl labai stiprios jų sorbcijos, apsunkinančios analičių chromatografinį atskyrimą ir detektavimą. Todėl prieš ekstraktų analizę būtina ekstrahentą išgarinti, o sausą likutį ištirpinti tinkamame tirpiklyje. Ši papildoma operacija pablogina rezultatų atsikartojamumą, padidina analizės trukmę bei sumažina nustatymo jautrį, kadangi sausas likutis tirpinamas jau didesniame (0,1-0,5 mL) tirpiklio tūryje, nei buvęs pirminio ekstrakto tūris.

2007 m. Farajzadeh ir bendraautorai [4] publikavo pirmą darbą, kuriame antioksidantų koncentravimui ir nustatymui apjungė DSME ir ESCh su diodų matricos detektoriumi. Ekstrahentu ir disperguojančiu tirpikliu buvo naudoti atitinkamai anglies tetrachloridas ir acetonitrilas. Antioksidantų aptikimo ribos siekė 3-7 µg/L, tačiau jų išgavos (78-86%) iš geriamo vandens mėginių nebuvo labai geros.

Wei su kolegomis [14] metomilo nustatymui vandens mėginiuose panaudojo DSME ir ESCh su fotometriniu detektoriumi. Ekstrahentu buvo naudojamas tetrachloretanas, o disperguojančiu tirpikliu – metanolis. Optimizuotose sąlygose metomilas buvo sukonzentruojamas 71 kartą, o jo aptikimo riba – 1 µg/L.

Guo su bendraautorais [15] panaudojo DSME ir ESCh su UV detektoriumi triklozaną, triklokarbaną ir metiltriklozaną vandeniniuose mėginiuose sukonzentruoti ir nustatyti. Naudota DSME sistema: vandens mėginys - dichlorbenzenas (ekstrahentas) - tetrahidrofuranas (dispergentas). Aptikimo ribos siekė 5-23 µg/L, tačiau analizių išgavos iš vandens mėginių nebuvo labai geros ir svyravo intervale 64-121%. Panaši DSME-ESCh-UV sistema buvo pasiūlyta bifenolį A vandenyje nustatyti [16].

Farajzadeh su bendraautorais [17] dviejų antioksidantų - Irganox 1010 ir Irgafos 168 - išskyrimui iš poliolefinų polimerų ir jų nustatymui pasiūlė netradicinę DSME sistemą. Pasiūlytame metode antioksidantai iš kieto polimero buvo ekstrahuojami acetonitrilo (dispergentas) ir anglies tetrachlorido (ekstrahentas) mišiniu uždareme inde 3 val. šildant mėginį vandens vonioje 100 °C temperatūroje. Ataušinus mišinį, jis buvo filtruojamas ir į gautą filtratą sušvirksčiama 5 mL vandens porcija. Susidariusi emulsija centrifuguojama, nusėdusi organinė fazė nugarinama, likutis tirpinamas metanolyje ir analizuojamas ESCh-UV metodu.

Farhadi ir kiti [18] panaudojo DSME ir ESCh su fluorimetriniu detektoriumi karbamoto fungicidui benomilui iš vandeninių mėginių sukonzentruoti ir nustatyti. Benomilas buvo ekstrahuojamas iš parūgštintų vandens mėginių prieš ekstrakciją solvolizės dimetilformamidu pagalba pervedus jį į fluorescuojantį karbendazimą. Nors fluorimetrinis detektorius pasižymi labai dideliu jautriu, aptikimo riba nebuvo labai maža ir siekė tik 3,3 µg/L.

DSME metodas apjungus jį su ESCh-UV metodu buvo taikytas etilendiaminotetraacto rūgšties ekstrakcijai ir nustatymui nuosėdose bei vandens mėginiuose [19]. Kituose darbuose DSME-ESCh-UV metodas buvo pritaikytas cholesteroliui piene, kiaušinio trynyje ir alyvuogių aliejuje [20],

chloramfenikoliui ir tiamfenikoliui medaus mėginiuose [21], steroidiniams hormonams vandenyse [22] nustatyti.

Vėlesniuose darbuose DSME buvo apjungiamas su ESCh-MS/MS metodu ir panaudotas ochratoksinui A vyne [23], fungicidams [24] bei alkilfenoliams [25] vandenyse nustatyti. Tandeminio masių spektrometrinio detektoriaus panaudojimas įgalino padidinti analizės jautrį bei atrankumą. Aptikimo ribos siekė 0,05- 0,1 μg/L, o deuteruotų analičių analogų panaudojimas vidiniais standartais ženkliai pagerina analizės rezultatų atsikartojamumą [25].

Užbaigiant būtina pažymėti, kad be išimties visuose publikuotuose darbuose DSME ekstraktų analizė buvo atliekama atvirkščių fazių ESCh metodu. DSME-ESCh metodų jautris ir analizės rezultatų atsikartojamumas yra tos pačios eilės kaip ir DSME-DCh metoduose. Išimtis – DSME-ESCh-MS/MS metodas, pasižymintis vidutiniškai 10-50 kartų mažesnėmis aptikimo ribomis.

1.1.2.3. Atominė absorbcinė spektrometrija

Chromatografiniai analizės metodai labiau tinkami ir dažniausiai taikomi organiniams junginiams atskirti ir nustatyti. Tuo tarpu elementų nustatymas įprastai atliekamas spektrinės analizės metodais. Tačiau dėl labai mažų ekstrakto tūrių miniatiūrizuoti ekstrakciniai metodai sunkiai suderinami su daugeliu spektrinės analizės metodų. Iki šiol vienintelis spektrinės analizės metodas tiesiogiai apjungiamas su DSME – elektroterminės atomizacijos atominė absorbcinė spektrometrija (ETAAS) [3, 26-31]. Tuo tarpu norint šiam tikslui panaudoti liepsnos atominę absorbcinę spektrometriją (LAAS) būtina arba papildomai skiesti ekstraktą ir taip padidinti mėginio tūrį (sumažėja analizės jautris) [32], arba panaudoti papildomą, labai mažų mėginio tūrių įleidimui skirtą įrangą [6].

Siekiant skystafazės ekstrakcijos būdu sukonzentruoti metalų jonus, būtina juos pervesti į nepoliniuose tirpikliuose tirpius hidrofobinius junginius. Šiam tikslui įprastai naudojami chelatiniai ligandai, tokie kaip amonio pirolidinditiokarbamatas (APDC) [3, 27, 28], natrio dietilditiokarbamatas

(NaDDTC) [29, 30], 1-(2-piridilazo)-2-naftolas (PAN) [31], 8-hidroksichinolinas (8-HQ) [34] ir pan.

Pirmas darbas šia tema publikuotas 2007 m. [3] ir buvo skirtas Cd^{2+} jonams iš vandens mėginių koncentruoti ir nustatyti ETAAS metodu. Ligandu panaudotas APDC, o ekstrahuojančiu ir disperguojančiu tirpikliais, atitinkamai, anglies tetrachloridas ir metanolis. Ekstrahuojant iš 5 mL tūrio mėginių Cd^{2+} jonus pavyko sukcentruoti tik 25 kartus ir pasiekti 0,6 $\mu\text{g/L}$ aptikimo ribą.

Liang ir Sang [26] DSME-ETAAS metodu sukcentravo ir nustatė švino pėdsakus biologiniame ir vandeniniame mėginiuose. Kompleksavimui buvo pasirinktas 1-fenil-3-metil-4-benzoil-5-pirazolonas, sudarantis kompleksus su daugiau kaip keturiasdešimties metalų jonais ir plačiai naudojamas elementų pėdsakams atskirti ir sukcentruoti tradiciniuose ekstrakcijos metoduose. Švino aptikimo riba pasiūlytam metodui - 39 ng/L. Metodas pritaikytas švino jonus žmogaus šlapime ir vandentiekio vandenyje nustatyti.

Rivas su kolegomis [27] apjungė DSME su ETAAS labai mažiems arseno ir stibio kiekiams vandens mėginiuose (kompleksuojantis ligandas – APDC, aptikimo riba atitinkamai 0,01 ir 0,05 $\mu\text{g/L}$) nustatyti. Be to, DSME-ETAAS buvo panaudotas As(III) ir As(V) formoms (ligandas – APDC) [28], paladžiui (ligandas – NaDDTC) [29], švinui (ligandas – NaDDTC) [30] vandens mėginiuose nustatyti, kobaltui ir nikeliui (ligandas – PAN) aplinkos vandenyse ir ryžiuose [31] nustatyti.

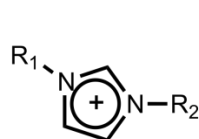
DSME su LAAS metodu pirmą kartą panaudota darbe [6] švinui (ligandas – NaDDTC) koncentruoti ir nustatyti. 20 μL tūrio organinio ekstrakto kiekio įleidimas į oro-etino liepsną buvo atliekamas panaudojus specialią mikromėginiams skirtą įleidimo sistemą. Be to, DSME su LAAS buvo taikytas paladžiui (ligandas – tioridazinas) [33], variui (ligandas – 8-HQ) [34], sidabruui [35] vandenyse nustatyti.

Metalų aptikimo ribos DSME-ETAAS ir DSME-LAAS metoduose svyruoja vidutiniškai nuo 0,01 iki 1,0 $\mu\text{g/L}$, o rezultatų atsikartojamumas - nuo 5 iki 20%.

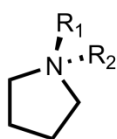
1.2. Joniniai skysčiai ir jų panaudojimas

Joniniai skysčiai – tai skystos organinės druskos, sudarytos iš anijono ir katijono. Nuo tradicinių neorganinių druskų jie skiriasi žema lydymosi temperatūra (<100 °C). Joniniai skysčiai, kurie kambario temperatūroje yra skystame būvyje, dar vadinami „kambario temperatūros joniniais skysčiais“ [36]. Žemą šių junginių lydymosi temperatūrą nulemia tai, kad joniniai skysčiai sudaryti iš santykinai didelio, azotą ar fosforą turinčio, asimetriško organinio katijono ir silpnai koordinuoto neorganinio ar organinio anijono. Skirtingos anijono ir katijono kombinacijos sudaro labai didelę šių junginių klasę. Populiariausių joninių skysčių katijonų ir anijonų struktūros pavaizduotos 1.2 pav.

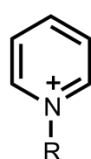
Katijonai:



imidazolio



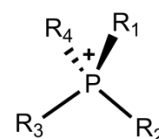
pirolidinio



piridinio

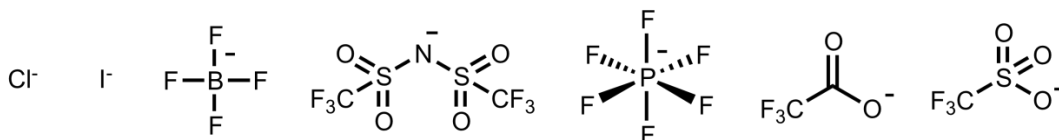


amonio



fosfonio

Anijonai:



1.2 pav. Kai kurių joninių skysčių katijonų ir anijonų struktūros.

Pirmuoju joniniu skysčiu pripažįstamas 1888 metais Gabriel ir Weiner susintetintas etanolamonio nitratas, kurio lydymosi temperatūra 52-55 °C [37]. 1914 m. Walden susintetino etilamonio nitrataž (C₂H₅)NH₃⁺•NO₃⁻, kurio lydymosi temperatūra buvo 12 °C [38]. Tai buvo pirmasis joninis skystis, pasižymintis žemesne už kambario lydymosi temperatūra. Deja, po to beveik visą šimtmetį joniniai skysčiai buvo nepelnytai užmiršti ir didesnio mokslininkų susidomėjimo nesulaukė iki 1992 m., kai Wilkes ir Zavorotko

susintetino pirmuosius orui ir drėgmei atsparius joninius skysčius imidazolio pagrindu [39]. Šis darbas inicijavo audringą įvairiausių sričių mokslininkų susidomėjimą joniniais skysčiais. Pagrindinė tokio susidomėjimo priežastis - unikalios joninių skysčių savybės [40]. Jie pasižymi dideliu cheminiu ir elektrocheminiu stabilumu, nevienoda klampa, universaliomis tirpinančiomis savybėmis (tiek polinių, tiek nepolinių junginių tirpinimu), yra laidūs elektrai, nedegūs, nelakūs kambario temperatūroje, stabilūs plačiame temperatūrų intervale, chemiškai atsparūs drėgmei ir orui. Ypač svarbi joninių skysčių savybė yra tai, kad manipuluojant joninio skysčio katijono ir/arba anijono prigimtimi, lengvai galima modeliuoti jo fizines ir chemines savybes. Pavyzdžiui, 1-alkil-3-metilimidazolio heksafluorofosfate padidinus alkilo grupės ilgį nuo metilo iki nonilo, iš puikiai vandenyje tirpaus junginio gausime visiškai vandenyje netirpų joninį skystį. Heksafluorofosfato anijono pakeitimas tetrafluorborato anijonu padidina joninio skysčio tirpumą vandenyje bei sumažina jo klampą, o jo pakeitimas $(\text{CF}_3\text{SO}_2)_3\text{C}^-$ anijonu, tirpumą vandenyje dar labiau sumažina. Taigi, joninių skysčių tirpumas vandenyje priklauso ir nuo alkilo grandinės ilgio, ir anijonų prigimties (su Cl^- , Br^- , I^- , NO_3^- , CH_3COO^- ir CF_3COO^- anijonais tirpsta vandenyje, o su PF_6^- ir Tf_2N^- - netirpsta vandenyje) [41].

Priklausomai nuo katijono prigimties, dydžio ir jo asimetriškumo kinta joninio skysčio lydymosi temperatūra. Didinant patį katijoną ir jo asimetriškumo laipsnį, joninio skysčio lydymosi temperatūra mažėja, tačiau tik iki tam tikros ribos. Toliau ilginant šakotą alkilo grandinę, lydymosi temperatūra pradeda didėti [42, 43]. Dėl joninių skysčių savybės keisti savo fizikines ir chemines savybes pakitus vienam iš joninių skystį sudarančių komponentų, joniniai skysčiai buvo praminti “konstruojamaisiais tirpikliais“. Tai reiškia, kad galima teoriškai sumodeliuoti reikiamomis savybėmis pasižymintį tirpiklį ir jį susintetinti.

Pirmiausiai joniniais skysčiais pradėti taikyti alternatyviais tirpikliais ir katalizatoriais organinėje sintezėje. Buvo nustatyta, kad tradicinius organinius tirpiklius pakeitus joniniais skysčiais pagerėja sintezės efektyvumas, gaunamos

geresnės išeigos ir atrankumas, sumažinamas sunaudojamų toksiškų reagentų kiekis [44, 45].

Joniniai skysčiai pasižymi elektriniu laidumu, todėl yra panaudojami elektrolitais įvairuose elektrocheminiuose procesuose - metalams nusodinti, valyti ir poliruoti, elektrochemiškai nustatyti įvairius organinius ir neorganinius junginius, baterijose, akumuliatoriuose, kuro elementuose [46].

Pastarąjį dešimtmetį joniniai skysčiai ypač plačiai pradėti taikyti įvairiose analizinės chemijos srityse – dujų chromatografijoje, skysčių chromatografijoje, kapiliarinėje elektroforezėje, ekstrakcijoje ir kt. Terminis stabilumas ir mažas lakumas - tai dvi pagrindinės savybės, kuriomis turėtų pasižymėti stacionari fazė dujų chromatografijoje. Būtent šiomis savybėmis ir pasižymi joniniai skysčiai. Armstrong su kolegomis [47] pirmieji panaudojo kambario temperatūros joninius skysčius stacionaria faze dujų chromatografijoje. Mokslininkai padengė kvarco kapiliaro sienelės skirtingomis 1-butil-3-metilimidazolio druskomis, ištyrė jų elgseną ir konstatavo, kad dėl savo savybių (klampos ir gebėjimo drėkinti) joninis skystis yra puiki stacionari fazė dujų chromatografijoje. Buvo nustatyta, kad kambario temperatūros joninis skystis veikia kaip mažo poliškumo stacionari fazė, puikiai tinkama nepoliniams junginiams atskirti. Kitas įdomus faktas – pakeitus joninio skysčio anijoną, pasikeičia ir stacionarios fazės atrankumas. Vėliau ta pati grupė [48] panaudojo chiralinius joninius skysčius stacionariomis fazėmis enantiomerų atskyrimui DCh metodu.

Nuo 2005 m. termiškai stabiliomis stacionariomis fazėmis naudojamos polimeriniai joniniai skysčiai [49]. Reikėtų paminėti, kad remiantis atliktais Armstrong grupės darbais, Supelco firma imidazolio joninių skysčių pagrindu pagamino ir komercializavo DCh stacionarią fazę [50].

ESCh metoduose joniniai skysčiai naudojami judrios fazės priedais siekiant inicijuoti antrines jonų porų sąveikas judrioje fazėje bei susilpninti bazinių analičių sąveiką su silanolinėmis sorbento grupėmis ir, tokiu būdu, pagerinti atskyrimo atrankumą ir efektyvumą [51-53].

Kapiliarinėje elektroforezėje joniniai skysčiai naudojami elektroosmosinio srauto modifikatoriais [54, 55] bei detergentais micelinės fazės suformavimui elektrolite [56].

Hidrofobiniai joniniai skysčiai puikiai tinkami ekstrahentais ne tik mažų (pvz., aromatinių ir alifatinių angliavandenilių, rūgščių, fenolių ir aminių) ir didelių organinių molekulių (pvz., baltymų), bet ir metalų jonų ekstrakcijai iš vandeninių tirpalų [57-60]. Siekiant pasirinkti tinkamą ekstrahentą, būtina atkreipti dėmesį į tai, kad ekstrakcija joniniais skysčiais gali vykti dviem mechanizmais: pasiskirstymo (neutraliems junginiams ir joniniams junginiams) ir jonų mainų (joniniams junginiams).

Rogers grupė [57] imidazolio joninius skysčius panaudojo benzeno darinių ekstrakcijai iš vandens. Autoriai nustatė, kad joniniai skysčiai pasižymi tokiomis pat ekstrakcinėmis savybėmis kaip ir tradicinis ekstrahentas oktanolis. Tačiau dėl mažo lakumo ir nedidelio toksiškumo jie yra patrauklesni už organinius tirpiklius.

Dai ir bendraautoriai [58] imidazolio joninį skystį panaudojo stroncio jonų ekstrakcijai iš vandens. Papildomai pridėjus į joninį skystį kraun eterio pasiekta žymiai efektyvesnė Sr^{2+} jonų ekstrakcija.

Visser ir kt. [59] panaudojo alkil-3-metil imidazolio katijoną su skirtingais priešjoniais metalų kompleksų su ditizonu ekstrakcijai (Cd^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} ir Hg^{2+}) iš vandeninių mėginių. Buvo nustatyta, kad kompleksų pasiskirstymo koeficientai didėja ilgėjant joninio skysčio alkilo grandinei. Plačiau su joninių skysčių taikymo skysčių-skysčių ekstrakcijoje ypatumais galima susipažinti apžvalginiam straipsnyje [60].

Ypač sėkminga joninių skysčių taikymo sritis – mikroekstrakiniai metodai, tokie kaip kietafazė mikroekstrakcija, skysčių-skysčių mikroekstrakcija ir dispersinė skystafazė mikroekstrakcija [61]. Žemiau yra aptariamasis tik šiame darbe taikytas DSME joniniais skysčiais metodas.

1.3. Dispersinė skystafazė mikroekstrakcija joniniais skysčiais

Vienas iš esminių tradicinės DSME metodo trūkumų – labai ribotas efektyvių ekstrahentų pasirinkimas. Dažniausiai šiame metode (su labai retomis išimtimis) ekstrahentais naudojami halogeninti angliavandeniliai. Dėl unikalių savo savybių, tokių kaip keičiamas hidrofobiškumas, didelis tankis, mažas lakumas bei geros tiek organinius junginius, tiek ir metalų kompleksus ekstrahuojančios savybės, joniniai skysčiai yra puiki alternatyva tradiciniams tirpikliams.

Joninis skystis DSME metode pirmą kartą buvo panaudotas 2009 m. heterociklinių insekticidų ekstrakcijai iš vandens mėginių ir jų nustatymui ESCh metodu [62]. Ekstrakcijai naudotas 1-heksil-3-metil imidazolio heksafluorofosfatas, o disperguojančiu tirpikliu – metanolis. Deja, dėl didelės joninio skysčio klampos nebuvo įmanoma tiesiogiai įleisti ekstrakto į skysčių chromatografą, todėl jis buvo skiedžiamas metanolio. Optimizuotose sąlygose insekticidai buvo sukonzentruojami 200-270 kartų, o jų aptikimo ribos siekė 0,53-1,28 $\mu\text{g/L}$. Panašios sistemos buvo panaudotos poliaromatinių angliavandenilių ekstrakcijai ir nustatymui ESCh su fluorescenciniu detektoriumi metodu [63], Pb^{2+} ir Cd^{2+} kompleksų su natrio dietilditiokarbamatu ekstrakcijai iš druskingo vandens mėginių ir nustatymui LAAS metodu [64], Mo(VI) komplekso su pirogalolu raudonuojų ekstrakcijai ir nustatymui mikrospektrofotometriniu metodu [65].

Dar vienas DSME joniniais skysčiais privalumas – galimybė nenaudoti disperguojančiojo tirpiklio. Darbe [66] buvo pasiūlytas DSME joniniu skysčiu metodas, kuriame pesticidų ekstrakcijai iš vandens dispersinės fazės susidarymas buvo inicijuojamas temperatūra. Pridėjus į vandens mėginį joninio skysčio (45 μL 1-heksil-3-metil imidazolio heksafluorofosfato), mėginys šildomas vandens vonioje 70°C temperatūroje, kol joninis skystis visiškai ištirpsta. Tuomet indas su mėginiu šaldomas ledo vonioje. Šaldymo metu joninio skysčio tirpumas sumažėja ir jis išsiskaido mėginio tirpale mažų lašelių (emulsijos) pavidalu. Tolimesnė analizės eiga identiška tradicinei DSME.

Apjungus šį ekstrakcijos būdą su ESCh metodu pasiektos 0,3-0,6 µg/L pesticidų aptikimo ribos. Tačiau metodas nepasižymėjo geromis analičių išgavomis iš realių mėginių (77-136%). Panašios ekstrakcinės sistemos buvo optimizuotos vanadžiui (V) [67], triklozanui ir triklokarbanui [68], organinio fosforo pesticidams [69] iš vandens mėginių ekstrahuoti.

Kitas DSME joniniais skysčiais nenaudojant disperguojančiojo tirpiklio būdas – dispersinės fazės inicijavimas ultragarsu ir temperatūra. Šiame metode joninis skystis ištirpinamas mėginyje veikiant 5 min ultragarsu, o po to mėginys atšaldomas, susidariusi emulsija centrifuguojama, skiedžiama ir analizuojama. Šis būdas pirmą kartą panaudotas aromatinių aminių ekstrakcijai ir nustatymui ESCh-UV metodu [70]. Ekstrahentu buvo naudotas jau ne kartą minėtas 1-heksil-3-metil imidazolio heksafluorfosfatas. Vėliau panašios sistemos buvo panaudotos biogeninių aminių ekstrakcijai iš alaus mėginių ir nustatymui ESCh metodu [71] bei Cd komplekso su dietilditiokarbamatu ekstrakcijai ir nustatymui ETAAS metodu [72].

Paminėtų darbų autoriai teigia, kad esminis DSME nenaudojant disperguojančio tirpiklio metodo privalumas – pasiekiami didesni analičių sukonzentravimo laipsniai. Tačiau nei viename iš publikuotų darbų nebuvo atlikti tyrimai, palyginantys DSME efektyvumą ekstrahuojant tas pačias analites iš tų pačių matricių DSME metodu su disperguojančiu tirpikliu ir be jo. Be to, DSME joniniais skysčiais nenaudojant disperguojančiojo tirpiklio yra žymiai ilgesnė, kadangi šildymo arba veikimo ultragarsu bei šaldymo stadijos prailgina procesą vidutiniškai 20-30 min.

Didžiojoje daugumoje šia tema publikuotų darbų ekstrahentu buvo naudojamas 1-alkil-3-metilimidazolio heksafluorfosfatas (alkil = butil, heksil arba oktil). Toks šio joninio skysčio populiarumas susijęs su paprasta jo sinteze, komerciniu prieinamumu, santykinai nedidele kaina, dideliu tankiu bei pakankamu hidrofobiškumu. Deja, didelė jo klampa apsunkina ekstrakto surinkimą mikrošvirkštu, todėl gautus ekstraktus prieš analizę papildomai reikia skiesti atitinkamu tirpikliu (acetonitrilu arba metanoliu). Papildomas praskiedimas sumažina analizės jautrį. Keliuose darbuose [65, 73] ekstrakcijai

naudoti mažesne klampa pasižymintys 1-alkil-3-metilimidazoliai su bis(trifluorometilsulfonil)imido priešjoniu. Taip pat buvo naudoti ir 1-heksilpiridinio heksafluorofosfatas [74], 1,3-diizooktilimidazolio heksafluorofosfatas [75] bei įvairiais ligandais funkcionalizuoti pirolidinio grupės joniniai skysčiai [76].

Keliuose darbuose buvo tirta alkilo grandinės ilgio 1-alkil-3-metilimidazolio katijone įtaka DSME efektyvumui [63, 71, 77, 78]. Pavyzdžiui, darbe [78] buvo palygintas insekticidų ekstrakcijos efektyvumas 1-alkil-3-metilimidazolio heksafluorofosfatais (akil = butil, heksil, heptil arba oktil) ir nustatyta, kad ilgėjant imidazolio alkilo grandinei, t.y. stiprėjant ekstrahento hidrofobiškumui, ekstrakcijos efektyvumas gerėja. Kitame darbe [71] biogeninių aminų ekstrakcijai buvo nustatyta priešinga tendencija. Tokie rezultatai greičiausiai susiję su nevienodu ekstrahuojamų analičių poliškumu: žymiai poliškesnių biogeninių aminų ekstrakcijai palankesnis ir poliškesnis joninis skystis.

Dviejuose darbuose [73, 79] buvo palyginti tradicinės DSME ir DSME joniniais skysčiais efektyvumai ir nustatyta, kad mikroekstrakcijos joniniais skysčiais efektyvumas panašus arba netgi geresnis už ekstrakcijos tradiciniais tirpikliais efektyvumą.

Dažniausiai DSME joniniais skysčiais apjungama su ESCh metodu [62, 63, 66, 68-71], žymiai rečiau (nustatant metalus) su ETAAS [67, 72] arba su LAAS [64] metodais.

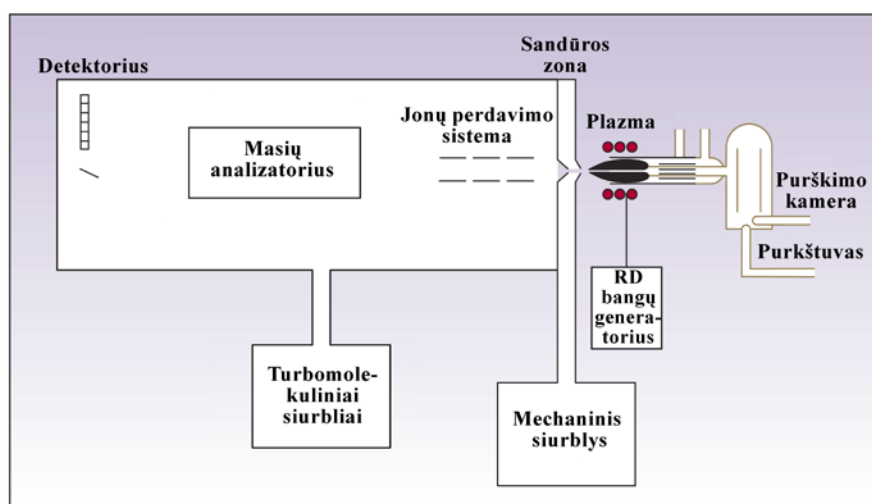
Apibendrinant publikuotus šia tema darbus galima teigti, kad joninių skysčių panaudojimas ekstrahentais ženkliai praplečia DSME metodo galimybes. Metodo privalumai:

- a) žymiai platesnis potencialių ekstrahentų spektras;
- b) ekstrahuojant joninius junginius antrinės jonų mainų sąveikos atveria galimybę papildomai manipuluoti ekstrakcijos atrankumu;
- c) puikus joninių skysčių suderinamumas su skysčių chromatografijos judriomis fazėmis.

Pagrindinis metodo trūkumas - dėl menko joninių skysčių lakumo, ekstraktų negalima analizuoti DCh metodu. Be to, didelė daugelio joninių skysčių klampa apsunkina tiesioginę (be praskiedimo) ekstraktų analizę. Tačiau pastarasis trūkumas sėkmingai sprendžiamas: neseniai komercializuoti maža klampa pasižymintys labai hidrofobiniai imidazolio joniniai skysčiai su tris(pentafluoretil)trifluorofosfato anijonu [80].

1.4. Lazerinio išgarinimo induktyviai sužadintos plazmos masių spektrometrija

Induktyviai sužadintos plazmos masių spektrometrija (ICP-MS) yra vienas iš jautriausių šiuo metu naudojamų elementų analizės metodų, apjungiantis induktyviai sužadintos plazmos jonizacijos šaltinį bei masių spektrometriją [81]. Metodo principas yra gana nesudėtingas: į dujų išlydžio plazmą išpurškiamas mėginio tirpalas, jame esantys elementai yra atomizuojami ir jonizuojami bei nukreipiami į masių spektrometrą, kuriame elektrinio ir/arba magnetinio lauko pagalba atskiriami pagal masės (m) ir krūvio (z) santykį m/z ir detektuojami. Taip gaunamas masių spektras – registruojamų jonų intensyvumo (matuojamo impulsų skaičiumi per sekundę) priklausomybė nuo jų m/z vertės [82, 83]. Spektrai suteikia galimybę nustatyti tiriamų mėginių kokybinę bei kiekybinę sudėtį. Principinė induktyviai sužadintos plazmos masių spektrometro schema pateikta 1.3 pav.



1.3 pav. ICP-MS prietaiso principinė schema.

Pagrindinės ICP-MS spektrometro sudedamosios dalys yra:

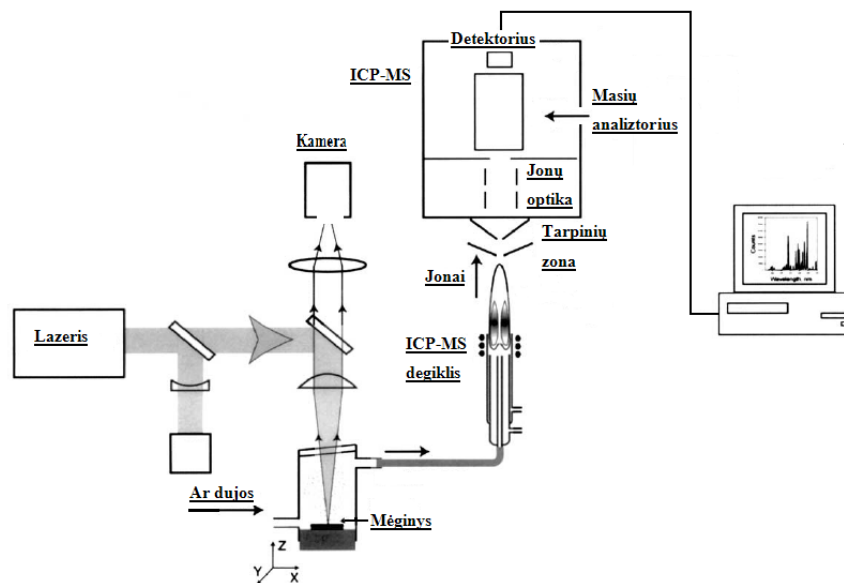
1) jonų gavimo ir perdavimo sistema (į kurią įeina mėginio įleidimo sistema, plazmos šaltinis, sandūros tarp plazmos ir masių spektrometro zona bei jonų perdavimo sistema);

2) masių analizatorius;

3) jonų detektorius.

Tirpalai į plazmą įpurškiami specialiu purkštuvu. Tačiau šioje apžvalgoje bus aptariamas tik disertaciniame darbe naudotas lazerinio išgarinimo (LA) mėginio įleidimo būdas. Lazerinis išgarinimas yra būtinas tiesioginei kietų ir pusiau kietų mėginių analizei. Jis nereikalauja jokio mėginio paruošimo, todėl sumažina mėginio užteršimo pavojų, nekelia reikalavimų mėginio dydžiui, formai, struktūrai (milteliai, lydiniai, uolienos ir t.t.) ar paviršiaus topografijai [84, 85]. LA paremtas mėginio išgarinimu lazerio pagalba ir gauto aerozolio padavimu į ICP-MS sistemą (1.4 pav.). Didelės energijos lazerio spindulys sufokusuojamas į analizuojamo mėginio paviršių, lazeris akimirksniu ploną kietos medžiagos sluoksnį paverčia į dujų fazę, kuri argono dujų srauto pagalba paduodama į ICP-MS sistemą.

Pirmieji 1980 m. LA mėginio įleidimui pradėti taikyti 694 nm bangos ilgio rubininiai lazeriai. Tačiau pasirodė, kad dėl lazerinio spindulio nestabilumo bei gana didelio spindulio diametro tokio tipo lazeriai yra sunkiai suderinami su didelio jautrio ICP-MS sistemomis. Tuomet susidomėta eksimeriniais lazeriais, naudojančiais elektrine iškrova sužadinamas halogenines dujas (XeCl, KrF, ArF, F₂) [86]. Šio tipo lazeriuose išgaunamas mažesnio diametro ir didesnės energijos lazerio spindulys. Tai reiškia, kad išgarinimas vyksta efektyviau (pagreitėja sužadinimas) bei sumažėja išgarinamų komponentų frakcionavimas. Eksimeriniai lazeriai dirba artimojoje infraraudonojoje srityje (~1064 nm), tačiau lęšių optikos pagalba lazerio dažnis gali būti padvigubinamas, patrigubinamas ir t.t., t.y. bangos ilgis sumažinamas iki 308, 248, 193 ar 157 nm [87, 88]. Esant trumpesniam lazerio bangos ilgiui, suformuojamas didesnės energijos fotonų srautas, todėl efektyviau suardomi ryšiai ir išgarinamas mėginys.



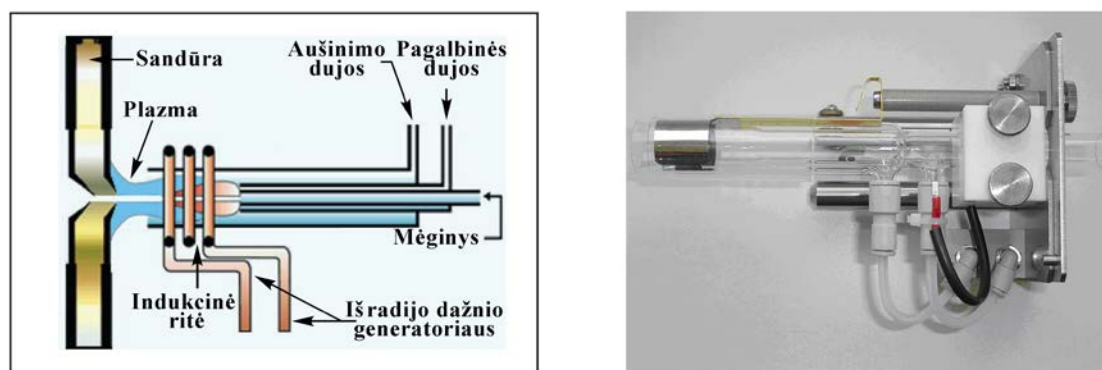
1.4 pav. Principinė lazerinio išgarinimo schema.

Dažnai išgarinimo procesas yra neatsiejamas nuo terminio poveikio, t.y. mėginio komponentų elektronai tiesiogiai absorbuoja lazerio spinduliuotę, perduodami absorbuotą energiją gardelei, todėl mėginys išsilydo ir išgaruoja [85]. Priklausomai nuo pačio mėginio cheminės sudėties, šis procesas gali sukelti gana didelį masių frakcionavimąsi, kai lagesni mėginio komponentai išgarinami greičiau už mažiau lakius. Siekiant išvengti šio efekto, lazerio spinduliuojamų fotonų energija visada esti bent keliais elektronvoltais didesnė nei ryšio energija tarp gretimų jonų.

Dar vienas veiksnys įtakojantis mėginio išgarinimo efektyvumą yra lazerio spindulio erdvinis profilis [84, 85]. Dažniausiai suformuojamas Gauso formos fotonų spindulių profilis, kuris išgarina gilius ir siaurėjančius kraterius analizuojamo mėginio paviršiuje. Tačiau naujaisi lazeriai fokusuoja plokščio profilio lazerio spindulį, kuris mėginio paviršiuje geba išgarinti plačius ir stačiais kraštais kraterius. Manoma, kad išgarintų mėginio komponentų frakcionavimas sustiprėja, gilėjant išgarinamo mėginio krateriui, tačiau ši priklausomybė nėra griežta, todėl net ir veikiant plokščio profilio lazerio spinduliu gali pasireikšti masių frakcionavimas.

Keičiant lazerinio skenavimo režimą galima tirti tiek gilesnius analizuojamo mėginio sluoksnius, tiek mėginio topografiją. Tačiau tiriamasis mėginys turi būti homogeniškas, nes priešingu atveju nebus galima patikimai įvertinti mėginio sudėtį. Kaip jau minėta anksčiau, šis mėginio įleidimo būdas taikomas tik kietos ir pusiau kietos agregatinės būsenos pavyzdžiams – keramikai, stiklams, mineralams, lydiniams, augalams ir pan. Analizuoti galima bet kokios formos, dydžio ar topografijos mėginius, galima tiesioginė analizė, t.y. visiškai nereikia jokio mėginio paruošimo (nebent paviršiaus nuvalymo ar nuriebalinimo prieš pat matavimą). Lazeriu išgarintas mėginys argono dujų srautu nukreipiamas į ICP-MS sistemą.

Plazmos šaltinis sudarytas iš kelių dalių dalių – plazmos degiklio, indukcinės ritės ir srovės šaltinio [89]. Plazmos degiklį sudaro išorinis, vidinis ir centrinis kvarciniai vamzdeliai (1.5 pav.).

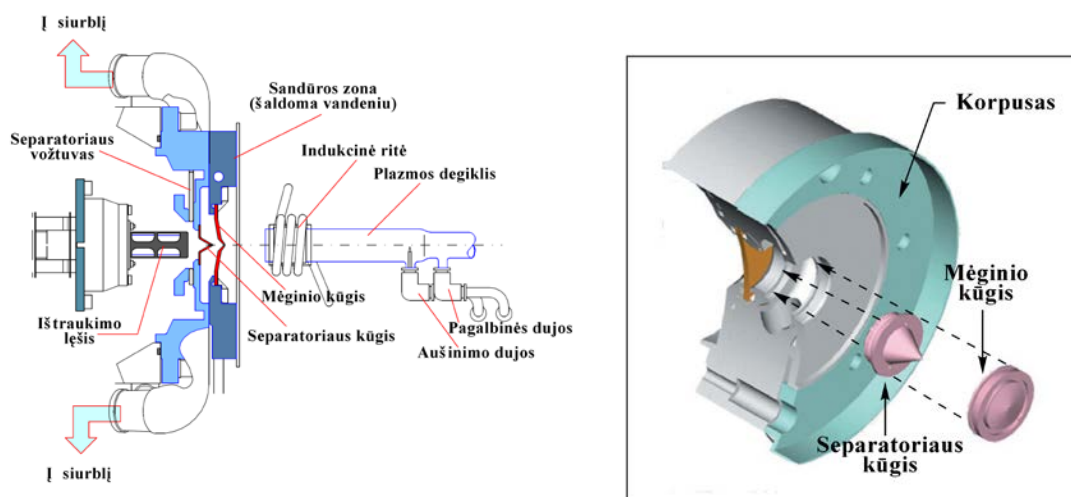


1.5 pav. Plazmos degiklio nuotrauka (dešinėje) ir jo sandara (kairėje).

Išoriniu vamzdeliu 11 – 14 L/min greičiu teka aušinimo dujų (dažniausiai argono) srautas. Šis srautas ne tik apsaugo degiklį nuo aukštos plazmos temperatūros bet ir nupučia plazmą nuo degiklio taip nukreipdamas ją į sandūros zonoje esančius kūgius. Vidiniu vamzdeliu 0,5 – 1 L/min greičiu teka pagalbinių dujų srautas, kuriame ir įžiebama plazma. Naudojamos dujos taip pat dažniausiai būna argonas. Šio srauto pagalba galima keisti plazmos pagrindo padėtį centrinio vamzdelio atžvilgiu. Centriname vamzdelyje argono dujų srautas teka tokiu pačiu greičiu kaip ir vidiniame ir yra naudojamas

mėginio pernašai į plazmą. Plazmos degiklio galas yra ritės, sujungtos su aukšto dažnio elektromagnetinių bangų (27,12 MHz) generatoriumi, viduryje. Degiklyje kibirkštimi sukuriama pradinė jonizacija, kuri toliau palaikoma aukštadažniu 1120 W galios elektromagnetiniu lauku. Tokios aukštadažnio išlydžio plazmos temperatūra siekia apie 8000 – 10000 °C. Mėginio dalelės patekusios į plazmą yra jonizuojamos ir per sandūros zoną nukreipiamos į masių spektrometrą tolimesnei analizei.

Sandūros tarp plazmos ir masių spektrometro zona (1.6 pav.) apjungia prietaiso elementus esančius atmosferos slėgyje su elementais, esančiais giliame vakuume. Kitaip tariant jonai, esantys atmosferos slėgyje (1 atm), per šią zoną paduodami iš plazmos į masių spektrometro zoną, kur slėgis siekia 10^{-10} atm ar mažiau. Tai ypatingai jautri ICP-MS vieta. Sandūros zona sudaryta iš dviejų metalinių kūgių, turinčių mažo diametro skylutes (1.6 pav. dešinėje).



1.6 pav. Sandūros tarp plazmos ir masių spektrometro zona (kairėje) bei mėginio ir separatoriaus kūgiai stambiu planu (dešinėje).

Iš plazmos išnešamos įkrautos dalelės (jonai, elektronai, fotonai) ir dujų molekulės pirmiausiai patenka į pirmąjį (mėginio) kūgį, kurio angos diametras yra 0,8-1,2 mm. Po to dalelės patenka į antrąjį mažesnio 0,1-0,8 mm diametro separatoriaus kūgį. Paprastai abu kūgiai gaminami iš nikelio, tačiau gali būti pagaminami ir iš didesniu atsparumu korozijai pasižyminčių metalų, pvz., platinos. Kadangi plazma su pro ją pareinančių jonizuotų dalelių srautu turi būti tiksliai nukreipti į kūgių viršūnėse esančias angas, sandūros zonoje

neišvengiama aukštų temperatūrų. Todėl sandūros zona yra šaldoma vandeniui, o pats sandūros korpusas gaminamas iš lengvai šilumą sklaidančių medžiagų (pvz., vario, aliuminio). Tarp šių kūgių neutralios dalelės yra pašalinamos iš spektrometro siurbliu, o jonizuotos dalelės toliau nukreipiamos į jonų perdavimo sistemą.

Jonų perdavimo sistema kartais dar vadinama „jonų optika“ sudaryta iš vieno ar daugiau lęšių, įkrautų metalinių plokštelių, vamzdelių ar cilindriukų. Šios prietaiso dalies paskirtis - suformuoti, pagreitinti ir nukreipti jonų srautą iš sandūros zonos į masių analizatorių. Plazmos degiklis, sandūros zona bei jonų perdavimo sistema yra glaudžiai susijusios ir turi būti suderintos, kitaip padidės foninis signalas ir aptikimo ribos bei sumažės analizinio signalo stabilumas. Jonų perdavimo sistema taip pat nepraleidžia į masių analizatorių neutronų bei fotonų, sukeliančių analizinio signalo nestabilumus bei fono triukšmus. Šiuos nepageidaujamus reiškinius buvo bandoma spręsti keliais būdais, pvz., už sandūros zonos patalpinant įžemintą metalinį strypelį ar diską [90] arba jonų perdavimo sistemą ir masių analizatorių patalpinti ne vienoje plokštumoje [91]. Tačiau tik „ištraukimo lęšis“ pateisino keliamus lūkesčius. Šis lęšis -tai papildoma įkrauta metalinė plokštelė, talpinima iš karto už sandūros zonos (1.6 pav.). Jo paskirtis elektrostatiškai „ištraukti“ jonus iš sandūros zonos ir nukreipti juos į masių analizatorių. Tuo tarpu tiesiai nešamos kitos dalelės atsitrenkia į metalinę plokštelę ir masių analizatoriaus nepasiekia.

Masių analizatoriaus paskirtis - atskirti praėjusius lęšių sistemą jonus pagal jų masės ir krūvio santykį (m/z). Šiuo metu populiariausi yra dvigubo fokusavimo ir kvadrupoliniai masių analizatoriai, rečiau naudojami skriejimo trukmės bei susidūrimų/sąveikos celės masių analizatoriai [92]. Nors visų išvardintų masių analizatorių veikimo principai ir skiriasi, tačiau jie atlieka tą pačią funkciją – atskiria skirtingo masės ir krūvio santykio jonus ir nukreipia juos į detektorius.

Kvadrupolinis masių analizatorius šiuo metu naudojamas ~90% visų pagaminamų ICP-MS prietaisų. Šis analizatorius sudarytas iš keturių lygiagrečių vienodo ilgio (8-20 cm) ir maždaug 1 cm diametro strypelių,

pagamintų iš nerūdijančio plieno arba molibdeno. Vienai strypelių porai suteikiama pastovi įtampa, o kitai - 2-3 MHz dažnio kintama įtampa. Patekę į masių analizatorių ir veikiami aukšto dažnio kintamo elektrinio lauko jonai atitinkama amplitude virpa plokštumoje, statmenoje savo judėjimo kryptčiai. Tuo tarpu pastovios įtampos vertė lemia jonų nukrypimo nuo skriejimo detektoriaus link trajektorijos laipsnį. Taigi, priklausomai nuo užduotų pastovios ir kintamos įtampų verčių, tik tam tikro masės ir krūvio santykio jonų virpesiai ir skriejimo trajektorija bus tinkami, kad jie galėtų pasiekti detektorių. Jonų, turinčių mažesnę masės ir krūvio santykį, virpesių amplitudė viršys atstumą tarp strypelių, todėl jie pralėks pro tarpus tarp strypelių ir bus pašalinti iš kvadrupolio. Didesnio m/z jonai taip pat nepasieks detektoriaus, kadangi jie per smarkiai nukryps nuo skriejimo detektoriaus link trajektorijos. Taigi, konkrečiose sąlygose detektorių pasieks tik atitinkamų m/z verčių jonai. Jie bus atskiriami (iki tam tikro laipsnio) dėl nevienodų jų skriejimo trajektorijų. Varijuodami kintamo ir nuolatinio laukų įtampomis galime sudaryti įvairias sąlygas, pradedant tokiomis, kuriose visi jonai pasieks detektorių (skenavimo režimas) ir baigiant sąlygomis, kuriose kvadrupolis praleistų į detektorių tik konkrečios m/z vertės ar kelių m/z verčių jonus. Visi lengvesni ir sunkesni už pasirinktus jonai bus destabilizuoti ir pašalinami iš sistemos. Toks masių analizės būdas dar vadinamas pasirinktų jonų monitoringas.

Nepaisant šio masių analizatoriaus populiarumo, jis turi vieną ir labai svarų trūkumą - nedidelę skiriamąją gebą. (ICP-MS metode skiriamoji geba (R) yra apibrėžiama kaip matuojamos atominės masės (m) santykis su mažiausiu išskiriamu masių intervalu (Δm); $R = m/\Delta m$) [93].

Susidūrimų/sąveikos celės masių analizatorius - tai modifikuotas kvadrupolinis masių analizatorius su specialia susidūrimų/sąveikos cele, įmontuotą prieš masių analizatorių [94]. Į šią celę, esančią radijo dažniu valdomame multipolyje (kvadrupolyje, heksapolyje ar oktapolyje), paduodamas vandenilio arba helio dujų srautas. Radijo dažnio laukas neatskiria jonų pagal jų m/z vertes kaip tradiciniame kvadrupolyje, bet juos sufokusuoja,

inicijuodamas jonų susidūrimus su dujų molekulėmis [95]. Dėl skirtingų jonų-dujų molekulių sąveikos mechanizmų trukdantys jonai celėje neutralizuojami, o analičių jonai nukreipiami į masių analizatorių, kur atskiriami ir detektuojami.

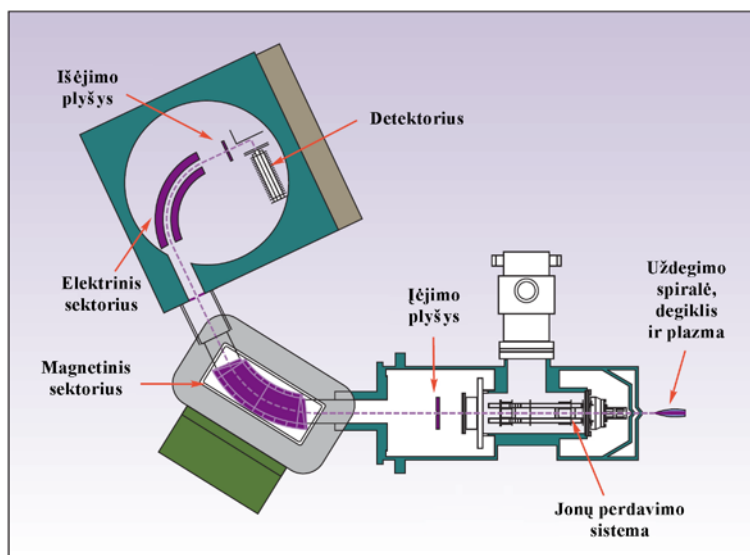
Skriejimo trukmės masių analizatoriuje matuojama jonų skriejimo analizatoriumi trukmė [96]. Pradiniu laiko momentu visi jonai greitintuve įgyja vienodą kinetinę energiją, tačiau dėl skirtingos masės jie skries vakuumu skirtingais greičiais. Lengviausias jonas skries greičiausiai ir t.t.. Todėl detektorių jie pasieks skirtingu laiku, kuris priklausys nuo jono m/z vertės. Tokiu būdu masių spektre registruojama detektoriaus signalo intensyvumo priklausomybė nuo skriejimo trukmės, kuri automatiškai gali būti transformuotą į priklausomybę nuo jonų m/z .

Dvigubo fokusavimo masių analizatoriumi pasiekama didžiausia skiriamoji geba. Veikimo principas remiasi jonų atskyrimu pagal m/z santykį bendram jonų srautui keliaujant per magnetinį bei elektrostatinį laukus [97]. Tokio masių analizatoriaus principinė schema pateikta 1.7 pav. Dvigubo fokusavimo masių analizatoriuose elektrinis laukas yra patalpinamas statmenai skersiniam magnetiniam laukui. Patekę į magnetinį lauką jonai, priklausomai nuo jų krūvio, masės bei energijos, yra fokusuojami skirtingais judėjimo kampais. Iš magnetinio sektoriaus ištekantis jonų srautas yra sudarytas iš vienodos masės, bet skirtingos energijos jonų. Elektrostatiniame lauke jonai papildomai atskiriami pagal energijas [98].

Magnetas (magnetiniame sektoriuje) pastatomas taip, kad magnetinio lauko jėgų linijos būtų statmenos jonų srauto trajektorijai. Tuomet, veikiami išcentrinės jėgos, jonai priverčiami judėti lanku, kurio spindulys r yra lygus:

$$r = \frac{1}{B} \sqrt{2U \frac{m}{z}} \quad (1.4)$$

kur B - magnetinė indukcija, U – jonų greitinimo įtampa, m – jono masė, z – jono krūvis [99]. Esant tam tikroms magnetinės indukcijos ir greitinimo įtampos vertėms, reikiama trajektorija judės tik atitinkamų m/z verčių jonai. Kiti jonai judės kitokio spindulio trajektorijomis ir detektoriaus nepasieks.



1.7 pav. Didelės skiriamosios gebos dvigubo fokusavimo (su magnetiniu ir elektriniu sektoriais) masių spektrometro schema.

Iš magnetinio sektoriaus išlekiantys jonai turės tą pačią masę, bet skirtingą energiją. Todėl elektriniame lauke jie judės skirtingo spindulio r lanku, t.y. bus papildomai atskiriami pagal energijas:

$$r = \frac{2U}{E} \quad (1.5)$$

kur U – jonų pagreitinimo įtampa, E – potencialų skirtumas tarp elektrodų plokštelių.

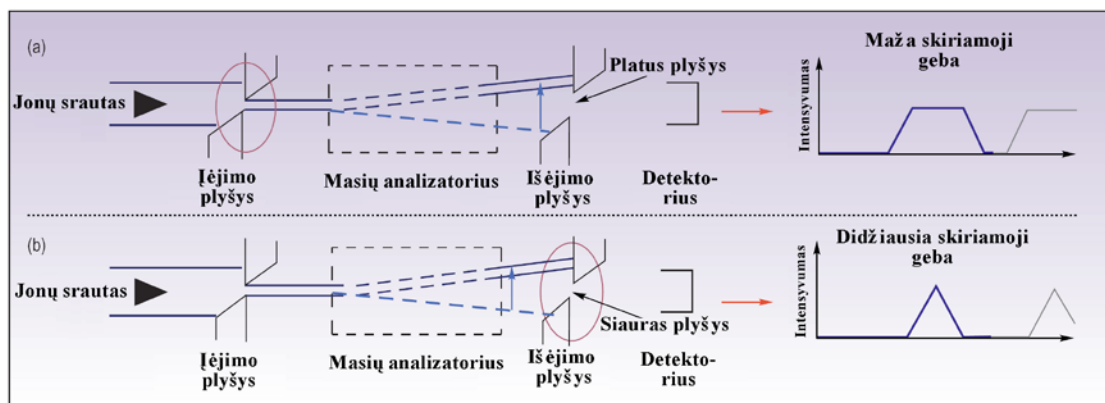
Galiausiai tos pačios masės bei energijos jonai pro išėjimo plyšį pateks į detektorių. Masių skenavimas tokio tipo masių analizatoriuose gali būti atliekamas keliais skirtingais būdais: magnetiniu skenavimu, elektriniu skenavimu ir sinchroniniu skenavimu [100]. Skenuojant magnetiniu lauku pagreitinimo ir elektrinio lauko įtampos palaikomos pastoviomis, todėl gaunami platūs, vientisi masių spektrai. Šis skenavimo būdas turi vieną trūkumą – atliekant naują matavimų ciklą, magnetas turi grįžti į pradinę būseną. Tam reikia laiko, todėl šis skenavimo būdas, lyginant su skenavimu elektriniu lauku, yra lėtesnis.

Skenuojant elektriniu lauku, magnetas suderinamas pradinei masei ir, suteikus pagreitinimo įtampą U , skenuojama mažinant jos vertę. Maksimalus skenavimo elektriniu lauku plotis yra 30% nuo pradinės masės. Tokiu būdu

galima labai greitai pakartoti skenavimą reikiamame masių intervale ir registruoti tik tam tikrą spektro dalį, taip sutaupant laiką. Tačiau tokio skenavimo būdo m/z matavimo ribos yra fiksuotos ir tai reiškia, kad atliekant skenavimą platesniame m/z intervale reikėtų keisti ir magnetinį lauką.

Sinchroninis skenavimas atliekamas naudojant elektrinį ir magnetinį skenavimą kartu.

Kaip jau buvo minėta, dvigubo fokusavimo masių detektoriai pasižymi didele skiriamąja geba, siekiančia 10000. Pastaroji keičiama automatiškai, keičiant išėjimo ir/arba įėjimo plyšio plotį (1.8 pav. a). Maža skiriamoji geba (pvz., $R = 300$) yra gaunama naudojant platų plyšį, vidutinė (pvz., $R = 4000$) – naudojant siauresnį plyšį, o pati didžiausia ($R = 10000$) – naudojant siauriausią plyšį (1.8 pav. b).



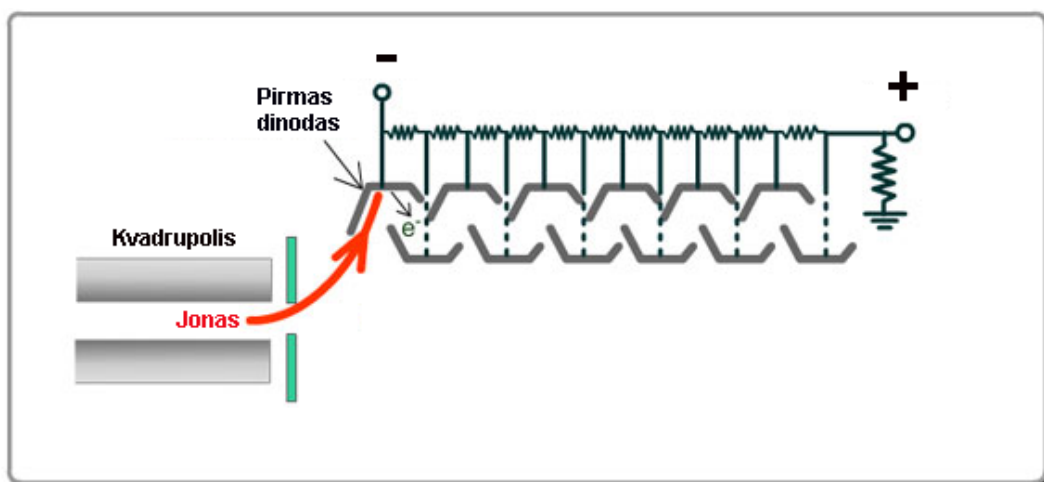
1.8 pav. Skiriamoji geba naudojant platų (a) ir siaurą (b) išėjimo plyšio plotį bei naudojant magnetinį skenavimą.

Reikėtų pažymėti, kad didėjant skiriamajai gebai, mažėja masių spektrometro jautris. Jautris sumažėja maždaug 10 kartų pereinant nuo vienos skiriamosios gebos prie kitos. Todėl esant galimybei patariama matavimus atlikti naudojant mažą skiriamąją gebą. Ir tik tuo atveju, kai analizė neatskiriama arba blogai atskiriama nuo trukdančių elementų, matavimus patariama atlikti naudojant didesnę skiriamąją gebą.

Masių analizatoriuje atskirtus jonus būtina detektuoti. Tam dažniausiai naudojami Faradėjaus narvas (naudojamas intensyviai jonų srautui detektuoti)

[101] arba jautresnis elektronų daugintuvas (naudojamas jonams detektuoti mažo intensyvumo jonų sraute) [102].

ICP-MS sistemose su dvigubo fokusavimo masių analizatoriais detektavimui plačiausiai naudojami elektronų daugintuvai. Juose panaudojama bendru principu: iš masių analizatoriaus į detektorių nukreipiami jonai vakuume išmuša iš specialių elektrodų (dinodų) elektronus. Registruojamas elektronų srauto sukeltas srovės stipris. Kadangi iš masių analizatoriaus į detektorių patenkančių jonų kiekis, o tuo pačiu ir jais išmušamų elektronų skaičius yra palyginti nedideli, gauto signalo intensyvumą (srovės stiprį) būtina sustiprinti. Tam panaudojamas antrinės emisijos reiškinys. Elektronų daugintuvą sudaro vakuuminis vamzdelis (1.9 pav.), kuriame patalpinta serija dinodų – elektrodų su vis didėjančiu teigiamu potencialu. Kiekvieno sekančio dinodo potencialas 90-100 V teigiamesnis už ankstesniojo. Iš masių analizatoriaus atskriejantis jonas nukreipiamas į pirmą dinodą (BeO, MgO ir pan. plokštelė) iš kurio išmuša elektroną. Išmuštas elektronas pagreitinamas elektriniu lauku ir iš antro dinodo jau išmuša nuo 1 iki 3 elektronų. Tai vadinama antrine emisija. Elektronai vėl pagreitinami ir iš trečio dinodo papildomai kiekvienas išmuša dar po 1-3 elektronus. Ir taip kartojama daug kartų. Gaunamas intensyvus elektronų srautas – elektros srovė, kurios stipris proporcingas į detektorių patekusių jonų skaičiui [103, 104].



1.9 pav. Elektronų daugintuvo schema.

Net ir turint jautrų detektorių ir gerai funkcionuojantį masių analizatorių, gautus rezultatus dažnai iškraipo įvairūs trukdžiai. ICP-MS metode trukdžiai būna keturių tipų: izobariniai, izobariniai poliatominiai, fizikiniai bei atminties [105].

Izobariniai trukdžiai atsiranda tada, kai skirtingų elementų izotopai sudaro to paties masės ir krūvio santykio, t.y. masių analizatoriuje neatskiriamus, jonus. Paprastai ICP-MS metodu analizuojami elementai turi bent vieną neįtakojamą tokių trukdžių izotopą, todėl tyrimams patartina pasirinkti būtent jį. Tačiau didesnis analizės jautris pasiekiamas registruojant labiausiai paplitusį tiriamo elemento izotopą. Jei intensyviausiam analitės izotopui pasireiškia izobariniai trukdžiai, tokiu atveju gautus rezultatus galima koreguoti. Išmatavus trukdančio elemento kito izotopo signalą, pagal dviejų izotopų signalų santykį įvertinti trukdančio analizei izotopo signalo intensyvumą ir jį atimti iš analitės izotopo signalo.

Izobariniai poliatominių jonų trukdžiai reiškia, kad analizės metu susiformuoja poliatominis jonas, kurio masės ir krūvio santykis yra toks pat, kaip ir tiriamojo jono. Poliatominiai jonai paprastai susiformuoja plazmoje arba sandūros tarp plazmos ir masių spektrometro zonoje iš naudojamų dujų ir/arba mėginio komponentų. Dauguma potencialių poliatominių jonų yra identifikuoti ir pateikiami žinyuose [106]. Kaip jau minėta anksčiau, šio tipo trukdžių galima išvengti pasirenkant analizei jokių trukdžių neįtakojamą matuojamo elemento izotopą arba atitinkamai pakoreguoti gautą rezultatą. Šie trukdžiai labai priklauso nuo mėginio matavimo sąlygų.

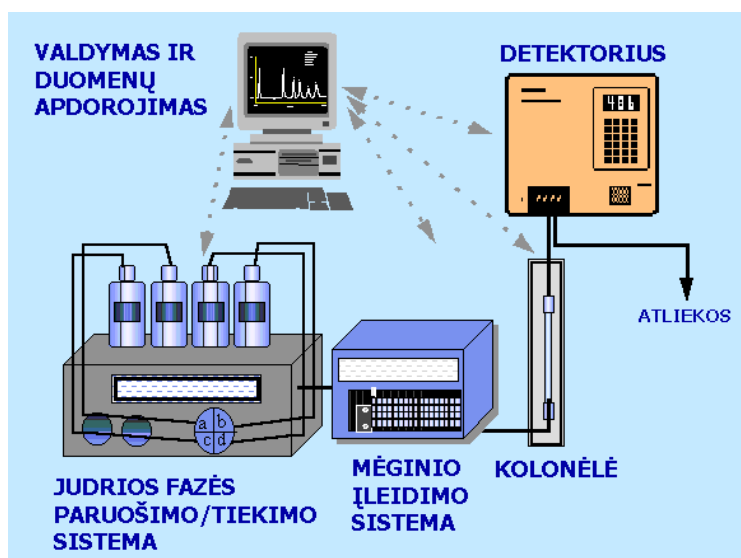
Fizikinius trukdžius sukelia fizikiniai procesai, susiję su mėginio transportu į plazmą, mėginio pasikeitimu plazmoje bei jonų pernešimu per sandūros tarp plazmos ir masių spektrometro zoną. Dėl šių trukdžių tas pats analitės kiekis mėginyje ir standartiniame tirpale gali duoti nevienodo intensyvumo signalus. Fizikiniais trukdžiais gali būti įvairūs klamos efektai mėginio patekimo į purkštuvą metu, paviršiaus įtempimo skirtumai aerozolio susidarymo ir transportavimo į plazmą metu ir pan. Kai skystame mėginyje yra didelė druskų koncentracija, jos gali nusėsti ant kūgių, tokiu būdu

sumažindamos efektyvų kūgių angų diametrą, o tuo pačiu ir jonų pernešimą. Siekiant išvengti šio efekto, rekomenduojama dirbti su tirpalais turinčiais ne daugiau kaip 0,2% (m/v) ištirpusių medžiagų. Dauguma fizikinių trukdžių efektyviai eliminuojami naudojant vidinį standartą.

Atminties trukdžiai atsiranda tada, kai išanalizavus mėginį sistemoje lieka tiriamų elementų, padidinančių kitame mėginyje matuojamus tų pačių elementų signalus. Tokie trukdžiai gali atsirasti dėl mėginio nusėdimo ant kūgių, o taip pat dėl mėginio susikaupimo plazmos degiklyje bei purškimo kameroje. Atminties trukdžiai paprastai pašalinami tarp matavimų praplaunant sistemą tuščiuoju mėginiu.

1.5. Ultraefektyvioji skysčių chromatografija

Efektyvioji skysčių chromatografija – vienas iš plačiausiai šiuolaikinėje analizėje taikomų metodų [107]. ESCh metodo populiarumą lemia tai, kad naudojant tą pačią įrangą bei keičiant tik sorbento prigimtį ir judrios fazės sudėtį šiuo metodu galima nustatyti labai platų junginių spektrą, pradedant paprastais neorganiniais jonais ir baigiant sudėtingomis biomolekulėmis ir sintetiniais polimerais. Principinė šiuolaikinio skysčių chromatografo schema pavaizduota 1.10 pav.



1.10 pav. Šiuolaikinio efektyviosios skysčių chromatografijos prietaiso schema.

Per visą maždaug 45 m. trunkančią ESCh taikymo laikotarpį metodas buvo tobulinamas siekiant pagerinti keturias pagrindines charakteristikas [108]:

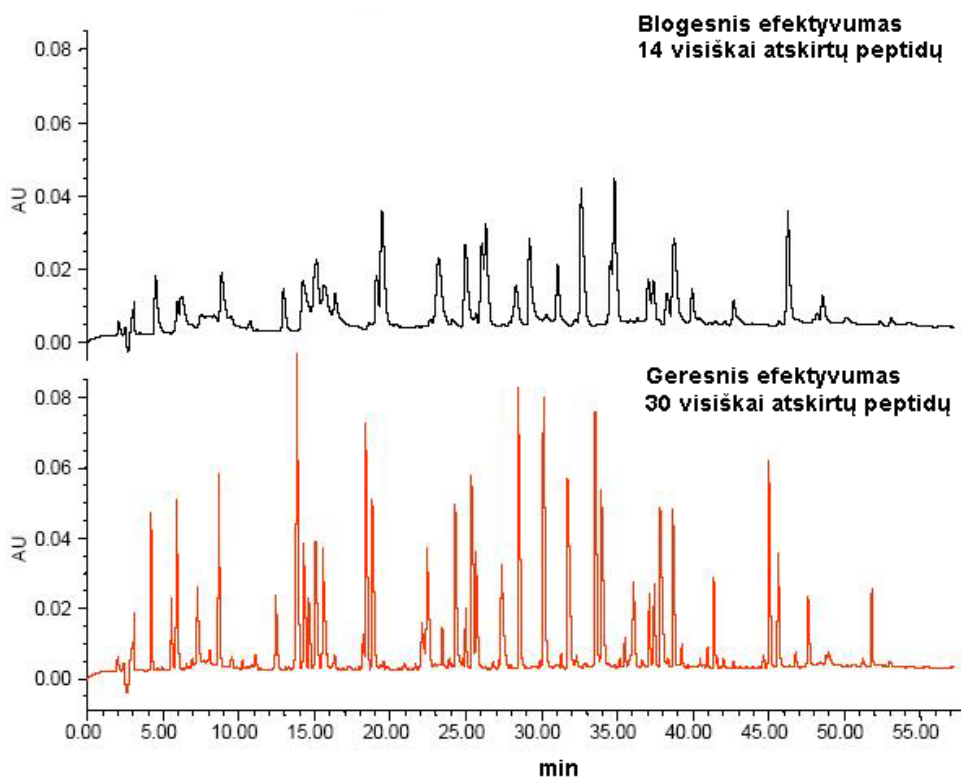
- Efektyvumą;
- Atskyrimo atrankumą;
- Atskyrimo greitį;
- Detektavimo jautrį.

Neabejotinai svarbiausia charakteristika yra efektyvumas, kadangi jo padidinimas:

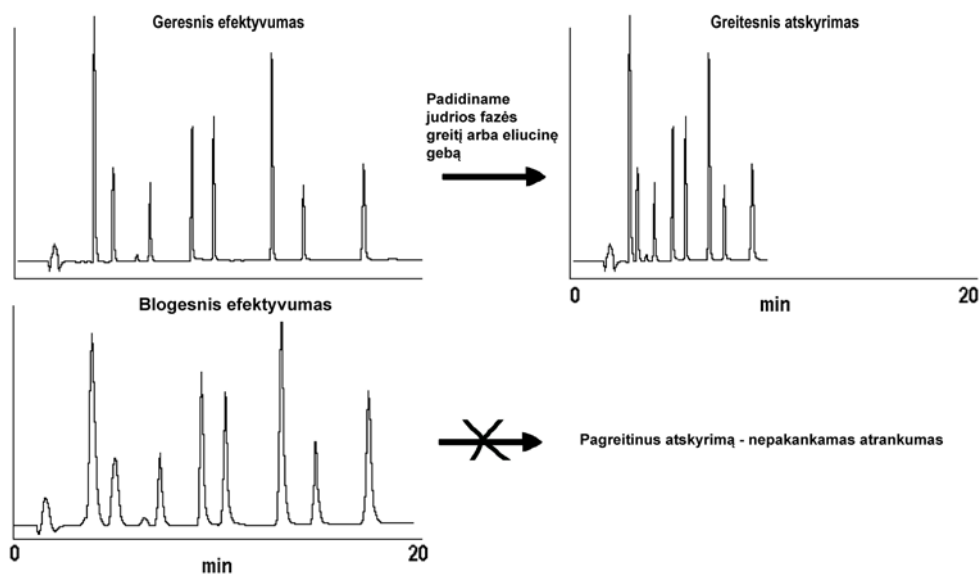
a) pagerina atskyrimo atrankumą, t.y. galime atskirti sudėtingesnius mišinius, sumažėja matricos įtakos (1.11 pav.);

b) leidžia pagreitinti atskyrimą neaukojant atrankumo (1.12 pav.);

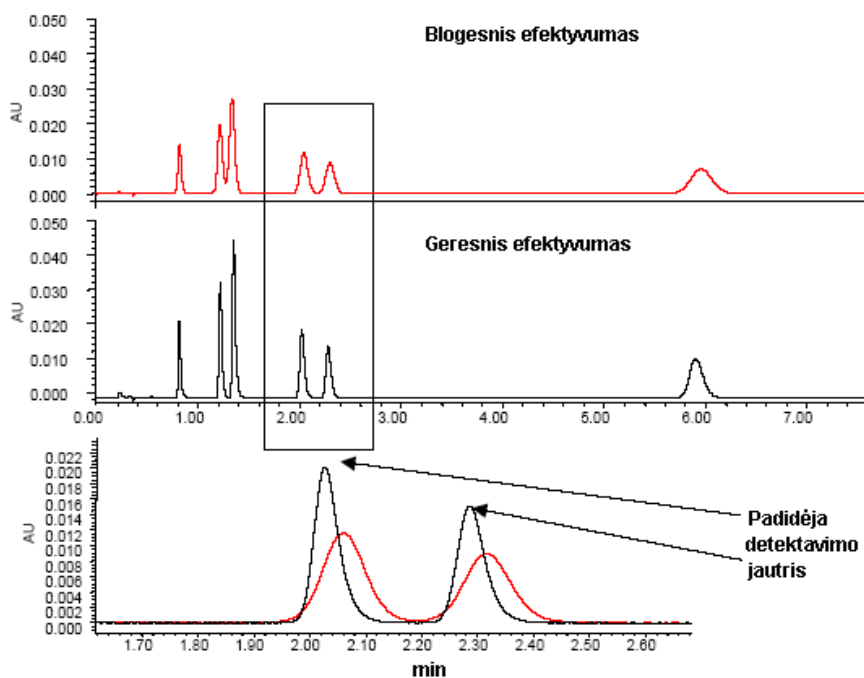
c) pagerina detektavimo jautrį (1.13 pav.).



1.11 pav. Efektyvumo įtaka atskyrimo atrankumui.



1.12 pav. Efektyvumo įtaka atskyrimo greičiui.



1.13 pav. Efektyvumo įtaka detektavimo jautriui.

Yra visa eilė būdų (pvz., ilginti ir/arba siaurinti kolonėlę, didinti kolonėlės temperatūrą) chromatografinės sistemos efektyvumui pagerinti, tačiau neabejotinai veiksmingiausias - mažinti sorbento dalelių dydį. Kolonėlės efektyvumas (teorinių lėkštelių skaičius N) susijęs su sorbento dalelių skersmeniu (d_p) [109]:

$$N \propto \frac{1}{d_p} \quad (1.6)$$

Matome, kad sumažinus sorbento dalelių dydį dvigubai, efektyvumas taip pat padidės du kartus. Būtent sorbento dalelių mažinimas ir buvo pagrindinis efektyvumo didinimo būdas per visą ESCh metodo vystymo laikotarpį [110]:

1965-1970 m. ESCh metode dominavo 30-40 μm skersmens sorbento dalelės.

1970-1980 m. dauguma atskyrimų atliekama su 10 μm sorbento dalelėmis.

1980-2004 m. jau buvo dirbama su 3,5-5 μm dalelių skersmens sorbentais.

Kaip matyti iš pateiktų duomenų, nuo 1985 m. daugiau nei du dešimtmečius nebuvo jokių reikšmingų poslinkių šioje srityje. Pagrindinė problema, stabdžiusi tolimesnį ESCh metodo efektyvumo didinimą – mažinant sorbento daleles smarkiai padidėja slėgis prieš kolonėlę. Slėgis prieš kolonėlę (ΔP) susijęs su sorbento dalelių dydžiu [111]:

$$\Delta P = \frac{\varphi \cdot \eta \cdot L}{d_p^2} \cdot u \quad (1.7)$$

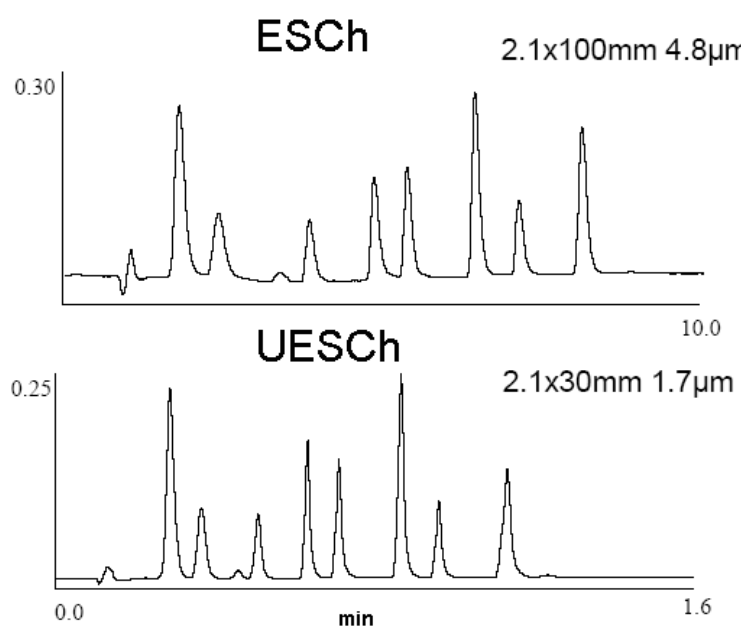
kur φ – kolonėlės „pasipriešinimo“ faktorius; η – judrios fazės klampa; u – judrios fazės linijinis tekėjimo greitis; L – kolonėlės ilgis; d_p – sorbento dalelių skersmuo.

Iš pateiktos išraiškos matyti, kad sumažinus sorbento daleles 2 kartus, slėgis sistemoje padidės net 4 kartus. Naudojant standartines kolonėles su 3,5-5 μm dalelių skersmens sorbentais, slėgis prieš kolonėlę siekia ~200-250 barų. Dar sumažinus šių sorbento dalelių dydį bent dvigubai ir dirbant tomis pačiomis sąlygomis (kolonėlės matmenys, judrios fazės greitis ir sudėtis) slėgiai siektų jau 800-1000 barų. Tuo tarpu komerciniai ESCh prietaisai (siurbliai, mėginio įleidimo sistemos) atlaiko tik iki 400-500 barų slėgius. Be to, dirbant prie didesnių slėgių mechaniškai suyra tradiciniai porėti sorbentai. Taigi, siekiant dar padidinti naudojamų ESCh sistemų efektyvumą, buvo būtini du dalykai: atlaikanti didelius slėgius aparatūra bei mechaniškai patvarūs sorbentai. Esminis proveržis įvyko 2003-2004 m. 2003 m. Waters firma

pasiūlė [112] naujos kartos porėtą ir mechaniškai labai patvarų etilsiloksano/silikagelio hibridinį sorbentą. Buvo nustatyta [113], kad šis sorbentas net ir 4500 bar slėgyje puikiai išlaiko savo savybes. Ir jau 2004 m. [114] Waters firma pristatė komercinę ultraefektyviosios skysčių chromatografijos (UESCh) sistemą Acquity-UPLC, sudarytą iš:

- naujos kartos 1000 barų maksimalaus slėgio siurblių sistemos;
- dideliems slėgiams pritaikytos mėginio įleidimo sistemos;
- sumažinto detektoriaus celės tūrio bei bendro sistemos „tuščio“ tūrio;
- mechaniškai atsparių, porėtų 1,7 μm dalelių skersmens nemodifikuotų ir modifikuotų oktadecilo, oktilo, fenilo bei amido ligandais sorbentų.

Palyginus UESCh ir ESCh metodus to paties ilgio kolonėlėms buvo nustatyta [115], kad sorbento dalelių dydžio sumažinimas iki 1,7 μm , padidino chromatografinės sistemos efektyvumą ~ 3 kartus, atrankumą pagerino $\sim 1,7$ karto, o detektavimo jautrį padidino ~ 2 kartus. Be to, padidinus judrios fazės tekėjimo greitį (tai padaryti leidžia žymiai didesnis naujos įrangos maksimalus darbinis slėgis) arba sumažinus kolonėlės ilgį, atskyrimai UESCh metodu pagreitinami iki 10 kartų neprarandant atrankumo. Tai iliustruoja 1.14 pav. palygintas aštuonių junginių atskyrimas ESCh ir UESCh metodais.



1.14 pav. Aštuonių junginių atskyrimo ESCh ir UESCh metodais palyginimas.

Pirmiausiai UESCh metodas buvo pradėtas taikyti problematiškiausiose srityse, būtent biocheminiams (proteomikos ir metabolizmo) tyrimams, kuriuose tiriami labai sudėtingi mėginiai ir todėl reikalingas didelis efektyvumas bei aukšta skiriamoji geba [116-119]. Šiuo metu UESCh metodas jau visuotinai pripažintas ir plačiai naudojamas daugelyje analizės sričių [120]. Tai patvirtina ir tas faktas, kad neseniai dvi kitos chromatografinę įrangą gaminančios firmos (Agilent ir Shimadzu) taip pat išleido į rinką naujos kartos UESCh įrangą bei jai tinkančius sorbentus.

II. EKSPERIMENTO METODIKA

2.1. Aparatūra

Tyrimai buvo atliekami ultraefektyviosios skysčių chromatografijos (UESCh) sistema Waters Acquity UPLC (Waters, Milford MA), sukomplektuota iš aukšto slėgio 2 kanalų gradientinio siurblio su eliuento nudujinimu, automatinės mėginių įleidimo sistemos ir fotodiodinės matricos (PDA) detektoriaus (190-500 nm).

Tyrimams buvo naudojamos šios kolonėlės (Waters):

Acquity UPLC BEH C18, 1,7 μm , 100 \times 2,1 mm;

Acquity UPLC BEH C8, 1,7 μm , 100 \times 2,1 mm;

Acquity UPLC BEH Phenyl, 1,7 μm , 100 \times 2,1 mm.

Įleidžiamo mėginio tūris – 5 μL . Judrios fazės tekėjimo greitis – 0,5 mL/min. Detektavimas buvo atliekamas prie 260 nm bangos ilgio. Tyrimų metu buvo palaikoma 30 °C kolonėlės temperatūra. Chromatografinės analizės rezultatams apdoroti buvo naudojama „Empower 2“ programinė įranga (Waters).

LA-ICP-MS tyrimai buvo atliekami didelės skiriamosios gebos dvigubo fokusavimo (su magnetiniu ir elektriniu sektoriais) masių spektrometru ELEMENT2 (Thermo Finnigan AB, Vokietija) (2.1 pav.). Lazeriniam mėginių išgarinimui buvo naudojamas įrenginys UP-213 (New Wave, USA) su 213 nm bangos ilgio Nd:YAG lazeriu (2.1 pav.).



2.1 pav. Darbe naudotas induktyviai sužadintos plazmos masių spektrometras ELEMENT2 (kairėje) ir lazerinio išgarinimo mėginių įleidimo sistema (dešinėje).

Pagrindinės ELEMENT2 prietaiso techninės charakteristikos yra pateiktos 2.1 lentelėje, o jo darbiniai parametrai 2.2 lentelėje. LA-ICP-MS analizei kontroliuoti ir duomenims apdoroti buvo naudojama ELEMENT Software 2.42 programinė įranga.

2.1 lentelė

Pagrindinės ELEMENT2 techninės charakteristikos

Charakteristika	Vertė
Matuojamų masių sritis	5 – 260 a.m.v.
Jautris	$> 10^9$ imp/s/(μ g/g) In
Foninis triukšmas	0,2 imp/s
Dinaminis diapazonas	10^9 (tiesinis)
Skiriamoji geba R (m/ Δ m)	Maža (300), vidutinė (4000) ir didelė (10 000)
Signalio stabilumas (santykinis nuokrypis)	<2% (1 val. ribose)
Darbinės dujos	Argonas, <20 L/min
Plazmos šaltinio elektromagnetinio lauko dažnis	27,12 MHz
Plazmos šaltinio maitinimo galingumas	< 1,5 kW

2.2 lentelė

Darbinės ELEMENT2 charakteristikos

Charakteristika	Vertė
Aušinimo dujų (Ar) srautas	14 L/min
Pagalbinių dujų (Ar) srautas	0,7 L/min
Dujų (Ar) srautas mėginio išpurškimui	1 L/min
Mėginio kūgis	Nikelio su 1,1 mm skersmens anga
Separatoriaus kūgis	Nikelio su 0,8 mm skersmens anga

Ultrašvaraus vandens paruošimui LA-ICP-MS analizei buvo naudojama vandens gryninimo įranga sudaryta iš vandens distiliavimo aparato (GFL

Water Still Typ 2002) bei vandens dejonizavimo sistemos NANOpure (Barnstead/Thermolyne).

Ekstraktai buvo centrifuguojami „Sigma 1-6P“ centrifuga. Svėrimai buvo atliekami analizinėmis svarstyklėmis SCALTEX SBC 31 (Vokietija) bei techninėmis svarstyklėmis SCALTEX SBC 52 (Vokietija).

Tirpalų pH buvo kontroliuojamas pH-metru “pH-673. M” (Rusija).

2.2. Reagentai ir tirpalai

Darbe naudotos tokios medžiagos:

$K_2Cr_2O_7$, $\geq 99,9$ % grynumo (Sigma-Aldrich, JAV).

$Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, $\geq 99,0$ % grynumo (Sigma-Aldrich, JAV).

$CuCl_2 \cdot 2H_2O$, $\geq 99,9$ % grynumo (Sigma-Aldrich, JAV).

$Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, $\geq 99,9$ % grynumo (Sigma-Aldrich, JAV).

$FeCl_3$, $\geq 98,0$ % grynumo (Sigma-Aldrich, JAV).

Pt etaloninis tirpalas, 1000 mg/L Pt(II) 5% HCl tirpale (Sigma-Aldrich, JAV).

1-Heksil-3-metilimidazolio heksafluorofosfatas, $\geq 99,0$ % grynumo (Merk, Vokietija).

1-Heksil-3-metilimidazolio bis(trifluormetilsulfonyl) imidas, $\geq 99,0$ % grynumo (Merk, Vokietija).

1-Heksil-3-metilimidazolio tris(pentafluoretil)trifluorofosfatas, $\geq 99,0$ % grynumo (Merk, Vokietija).

Amonio pirolidinditiokarbamatas (APDC), 98,0 % grynumo (Sigma-Aldrich, JAV).

Acetonitrilas (ACN), gradientinės HPLC grynumo (ROTH, Vokietija).

Metanolis (MeOH), gradientinės HPLC grynumo (Sigma-Aldrich, JAV).

Etanolis, HPLC grynumo (Sigma-Aldrich, JAV).

Acetonas, HPLC grynumo (Sigma-Aldrich, JAV).

Anglies tetrachloridas (CCl_4), HPLC grynumo (Sigma-Aldrich, JAV).

Amonio formiatas, 99,9 % (Sigma-Aldrich, JAV).

Skruzdžių rūgštis, 98,0 % (Sigma-Aldrich, JAV).

HNO_3 , 65,6 % *Suprapur* grynumo (Merck, Vokietija).

Argonas, 99,996 % grynumo (UAB „Elme Messer Lit“, Lietuva).

Chromatografinėi analizei tirpalai buvo ruošiami du kartus distiliuotame vandenyje. LA-ICP-MS analizei tirpalai buvo ruošiami distiliuotame ir dejonizuotame vandenyje. Standartiniai 100 mg/L koncentracijos metalų katijonų tirpalai buvo ruošiami iš atitinkamų druskų svėrinčių tirpinant 0,01 mol/L HCl tirpale. Mažesnių koncentracijų tirpalai buvo ruošiami prieš analizę skiedžiant pirminius standartus 0,01 mol/L HCl tirpalu. Standartinis APDC tirpalas buvo ruošiamas kiekvieną dieną tirpinant reikiamą reagento svėrinį vandenyje.

2.3. Procedūros

DSME procedūra Cr(VI)-APDC komplekso ekstrakcijai ir LA-ICP-MS nustatymui. Į 15 mL talpos centrifuginį mėgintuvėlį pridedama 8 mL Cr(VI) standartinio arba mėginio tirpalo, 1 mL 1 mol/L fosfatinio buferio (pH 2,5), 0,1 mL 5 mg/L standartinio Pt tirpalo ir 0,5 mL 4 % APDC tirpalo. Tirpalas gerai išmaišomas ir į jį medicininiu 2 mL talpos švirkštu greitai sušvirkščiamas ekstrahuojantis mišinys (50 μ L CCl₄ + 1 mL MeOH). Gauta dispersinė sistema tuoj pat centrifuguojama 3 min 4000 aps/min greičiu. Po centrifugavimo mikrošvirkštu paimama ~7 μ L organinės fazės porcija ir užlašinama ant polistireno padėkliuko. Lašui išdžiuvus (~30-60 s) sausa liekana analizuojama LA-ICP-MS metodu.

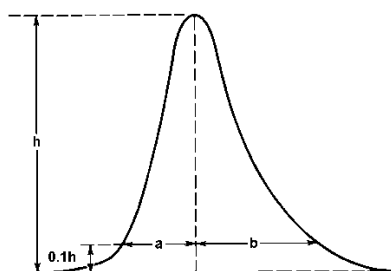
DSME procedūra Me-APDC kompleksų ekstrakcijai ir UESCh nustatymui. Į 15 mL talpos centrifuginį mėgintuvėlį pridedama 10 mL standartinio arba mėginio tirpalo, 0,5 mL 1 mol/L formiatinio buferio (pH 3) su 0,02 mmol/L fenil-2-acetiloksibenzoato (vidinis standartas) ir 0,5 mL 4% APDC tirpalo. Tirpalas gerai išmaišomas ir į jį medicininiu 2 mL talpos švirkštu greitai sušvirkščiamas ekstrahuojantis mišinys (80 μ L [HMIM][FAP] + 0,5 mL MeOH). Gauta dispersinė sistema tuoj pat centrifuguojama 3 min 4000 aps/min greičiu. Po centrifugavimo mikrošvirkštu paimama ekstrakto porcija (~50-60 μ L), išstumiami į 100 μ L talpos mėginio indelį ir analizuojama UESCh metodu.

Optimizuojant ekstrakcijos sąlygas, lyginant skirtingus ekstrahentus bei vertinant skirtingus dispersinės fazės inicijavimo būdus, po centrifugavimo viršutinis vandens mėginio sluoksnis buvo nuimamas švirškštu, o likusi organinė fazė buvo skiedžiama iki 0,5 arba iki 1 mL acetonitrilu ir analizuojama.

Smailių asimetriškumo faktoriai A_s buvo skaičiuojami pagal formulę:

$$A_s = b/a \quad (2.1)$$

a ir b atstumai (žiūr. 2.2 pav.) išmatuoti ties 1/10 smailės aukščio.



2.2 pav. Smailės asimetriškumo faktoriaus nustatymas.

Smailių efektyvumai buvo skaičiuojami pagal formulę:

$$N = 5,54 \times \left(\frac{t_R}{W_{0,5}} \right)^2 \quad (2.2)$$

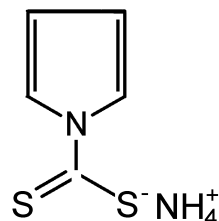
N – teorinių lėkštelių skaičius (bedimensinis); t_R – analitės sulaikymo trukmė (min); $w_{0,5}$ – smailės plotis pusėje smailės aukščio (min).

Visi skaičiavimai buvo atliekami naudojantis kompiuterine chromatografijos duomenų apdorojimo programa Empower 2 (Waters). Rezultatai, pateikiami skyriuje „Rezultatai ir jų aptarimas“, yra vidutinės vertės gautos atlikus ne mažiau kaip tris matavimus.

III. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

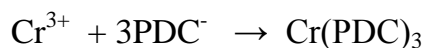
3.1. Cr(VI) mikroekstrakcijos sąlygų optimizavimas

Cr(VI) ekstrakcijai ir nustatymui pasirinkome jo reakciją su amonio pirolidinditiokarbamatu (3.1 pav.).



3.1 pav. Amonio pirolidinditiokarbamatas (APDC).

Yra žinoma, kad atitinkamose sąlygose Cr(VI) jonai su šiuo reagentu sudaro labai patvarų, blogai tirpų vandenyje, bet puikiai tirpų organiniuose tirpikliuose kompleksą [121]. Reakcija vyksta dviem stadijomis: pirmiausiai APDC redukuoja Cr(VI) iki Cr(III), o po to, susidarę Cr(III) katijonai yra kompleksuojami pirolidinditiokarbamato (PDC⁻) anijonu:



Būtina pažymėti, kad šioje reakcijoje dalyvauja tik iš Cr(VI) susidarantys Cr(III) jonai. Tuo tarpu su pradiniame tirpale esančiais inertiškais Cr(III) jonais reakcija nevyksta arba vyksta labai lėtai, todėl Cr(III) visiškai netrukdo Cr(VI) nustatymui.

Pirmiausiai buvo optimizuojamos Cr(VI) jonų kompleksavimo reakcijos sąlygos. Šių tyrimų rezultatai pateikti 3.3.2. skyriuje kartu su analogiškų tyrimų rezultatais kitiems metalams.

3.1.1. Ekstrahento ir dispergento parinkimas

Kaip jau buvo minėta literatūros apžvalgoje, DSME metode ekstrahentu naudojamo organinio tirpiklio tankis turi būti pakankamai didelis, t.y. tirpiklis turi būti sunkesnis už vandenį. Be to, kadangi ekstrahuojama labai mažu

tirpiklio tūriu, jo tirpumas vandenyje turi būti minimalus. Trečia savybė – tirpiklio lakumas – svarbi atliekant ekstraktų analizę skysčių chromatografijos bei LA-ICP-MS metodais. Analizuojant ekstraktus paminėtais metodais po ekstrakcijos būtina nugarinti tirpiklį, todėl lakesnis tirpiklis pagreitina mėginio paruošimo procedūrą. Preliminariems tyrimams pasirinkome šešis tirpiklius: CH₂Cl₂, CHCl₃, CCl₄, C₆H₅Cl, C₆H₅Br ir C₆H₄Cl₂. Pagrindinės jų charakteristikos surašytos 3.1 lentelėje.

3.1 lentelė

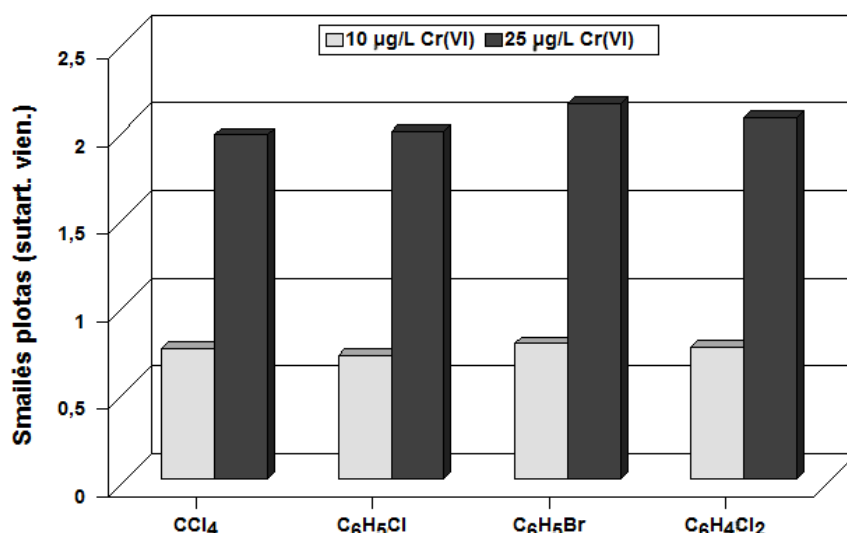
Darbe naudotų tirpiklių charakteristikos

Tirpiklis	Tankis, g/mL	Tirpumas H ₂ O, g/100 g	Virimo temp., °C
CH ₂ Cl ₂	1,326	0,198	40
CHCl ₃	1,489	0,850	61
CCl ₄	1,594	0,077	77
C ₆ H ₅ Cl	1,106	0,033	132
C ₆ H ₅ Br	1,495	0,042	156
C ₆ H ₄ Cl ₂	1,306	0,016	181

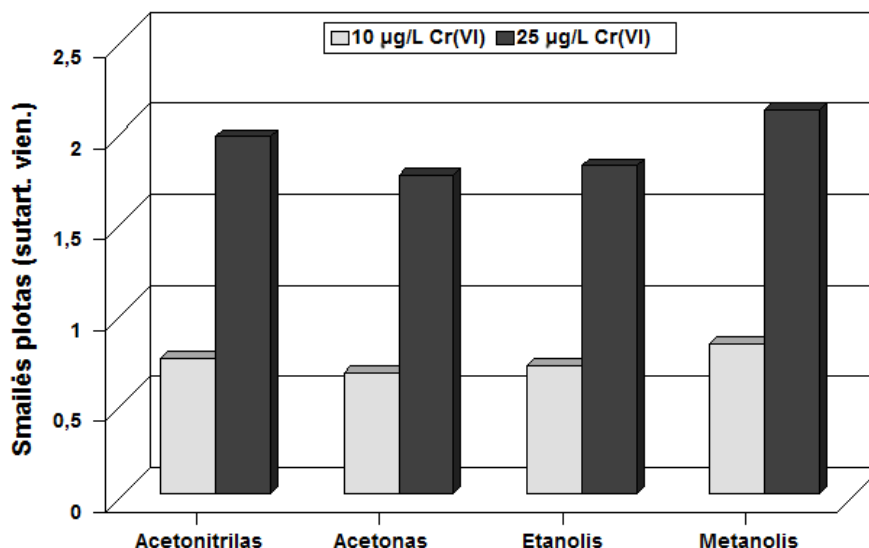
Tyrimus atlikome su trijų koncentracijų (10, 25 ir 100 µg/L) Cr(VI) standartiniais tirpalais. Į 5 mL atitinkamo standarto buvo pridėdama 1 mL 1 mol/L fosfatinio buferio (pH 2,5) ir 0,5 mL 1% APDC (m/v) tirpalų. Mikroekstrakcijai naudojome 1 mL metanolio (disperguojantis tirpiklis) ir 100 µL atitinkamo ekstrahuojančio tirpiklio mišinį. Kadangi LA-ICP-MS įranga stovėjo ne fakulteto patalpose, šiame tyrimų etape ekstraktų analizė buvo atliekama skysčių chromatografijos metodu. Kadangi tiriami ekstrahentai nesuderinami su skysčių chromatografijos judria faze, po ekstrakcijos ir centrifugavimo mikrošvirkštu atskirta organinė fazė buvo nugarinama azoto srautu, sausas likutis tirpinamas 0,5 mL acetonitrilo ir analizuojamas. Nustatėme, kad naudojant ekstrahuojančiu tirpikliu CH₂Cl₂ ir CHCl₃, dėl palyginti didelio šių tirpiklių tirpumo vandenyje, dispersinė fazė apskritai nesusidaro (CHCl₃ atveju) arba po mišinio centrifugavimo lieka labai mažas

organinės fazės tūris (CH_2Cl_2 atveju), kurį sunku surinkti mikrošvirkštu. Taigi, šie tirpikliai netinkami tiriamai sistemai. Likusių keturių tirpiklių ekstrahuojančios savybės labai panašios – identiškose sąlygose jais išekstrahuojami Cr komplekso kiekiai reikšmingai nesiskiria. Tai demonstruoja 3.2 pav. dviems Cr(VI) koncentracijoms palyginti skirtingais tirpikliais išekstrahuoto Cr-APDC komplekso smailių plotai. Tolimesniems tyrimams ekstrahuojančiu tirpikliu pasirinkome didžiausiu lakumu pasižymintį CCl_4 .

Tai pat buvo palyginta disperguojančio tirpiklio prigimties įtaka Cr-APDC komplekso ekstrakcijos efektyvumui. Buvo tiriami ir palyginami keturi dispergentai: acetonas, etanolis, acetonitrilas ir metanolis. Iš 3.3 pav. pateiktų rezultatų matyti, kad dispergento prigimties įtaka ekstrakcijai nėra labai reikšminga. Todėl tolimesniems tyrimams buvo pasirinktas metanolis.



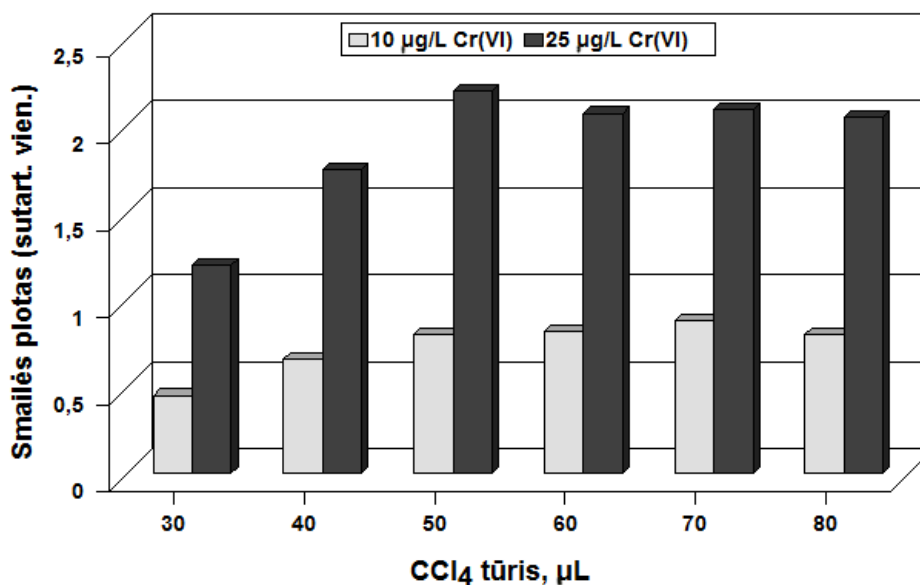
3.2 pav. Ekstrahuojančio tirpiklio prigimties įtaka Cr(VI)-APDC komplekso ekstrakcijos efektyvumui. Mėginio tūris – 5 mL. Ekstrahuojančio tirpiklio tūris - 100 µL. Dispergentas – 1 mL MeOH.



3.3 pav. Disperguojančio tirpiklio prigimties įtaka Cr(VI)-APDC komplekso ekstrakcijos efektyvumui. Mėginio tūris – 5 mL. Ekstrahuojantis tirpiklis - 100 µL CCl₄. Dispergento tūris – 1 mL.

3.1.2. Mikroekstrakcijos sąlygų tyrimas

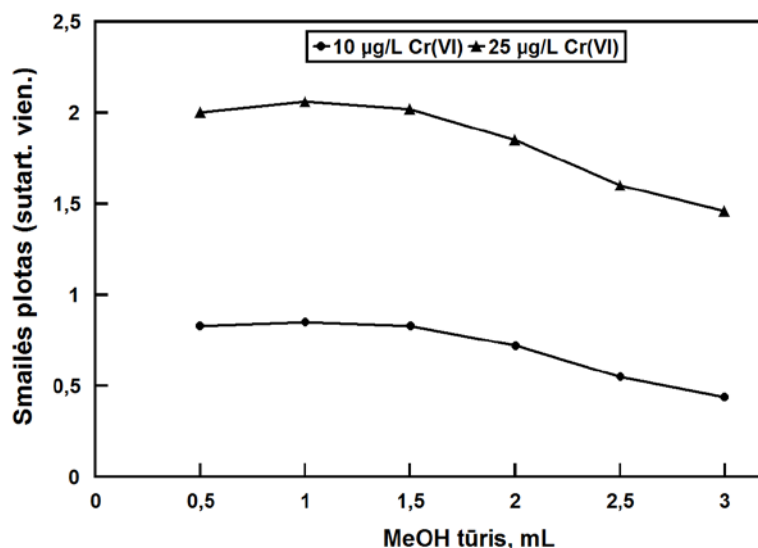
Ekstrahuojančio tirpiklio ir dispergento tūrio įtaka. 3.4 pav. pateikta ekstrahuojančio tirpiklio tūrio įtaka Cr(VI)-APDC komplekso ekstrakcijos efektyvumui. Iš pateiktų rezultatų matyti, kad kai pridedamo CCl₄ tūris ≥ 50 µL, išekstrahuoto Cr komplekso kiekis nebedidėja.



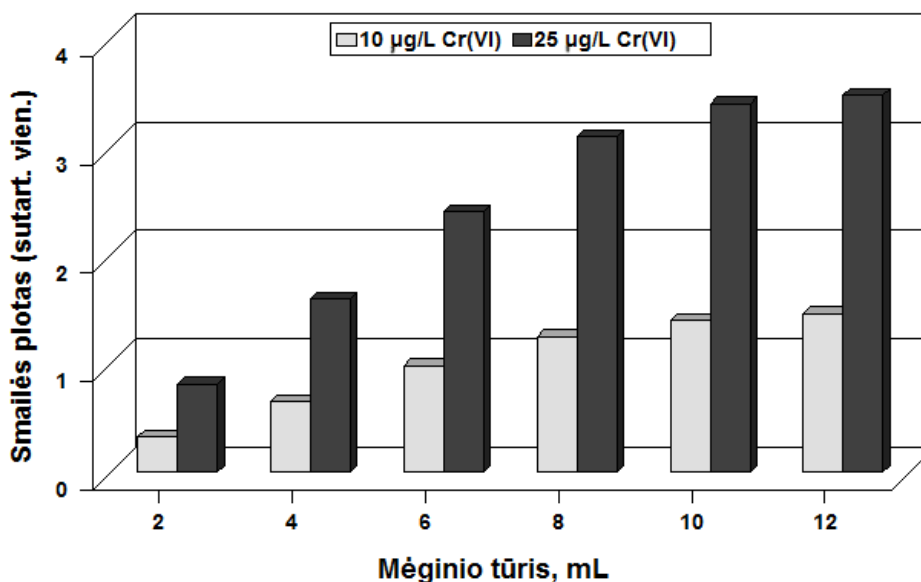
3.4 pav. CCl₄ tūrio įtaka Cr(VI)-APDC komplekso ekstrakcijos efektyvumui. Mėginio tūris – 5 mL. Dispergentas – 1 mL MeOH.

Optimizuojant disperguojančio tirpiklio (MeOH) tūrį, CCl₄ tūris buvo palaikomas pastoviu (50 µL), o MeOH tūris buvo keičiamas nuo 0,5 iki 3 mL. Nustatėme (3.5 pav.), kad MeOH tūrio didinimas iki maždaug 1,5 mL išekstrahuoto Cr(VI)-APDC kiekio neįtakoja. Ir tik tai esant didesniems nei 1,5 mL MeOH tūriams, komplekso smailių plotai pradeda tolygiai mažėti. DSME metu analizė pasiskirsto tarp ekstrahento (CCl₄) ir mėginio (vanduo+dispergentas) fazių. Taigi, didinant metanolio tūrį, didėja jo tūrio dalis mėginio fazėje, t.y. mažėja mėginio fazės poliškumas. Tai padidina hidrofobinio komplekso tirpumą mėginyje ir sumažina ekstrakcijos efektyvumą.

Mėginio tūrio įtaka. Optimizuojant analizių išskyrimo metodą įprastai siekiama maksimalaus jų sukonzentravimo. Akivaizdu, jog ekstrakcijai paimamo mėginio tūris tiesiogiai susijęs su nustatymo jautriu. Siekdami maksimalaus sukonzentravimo, ištyrėme mėginio tūrio įtaką Cr(VI) ekstrakcijos efektyvumui (3.6 pav.). Matome, kad didinant mėginio tūrį nuo 2 iki 8 mL, išekstrahuoto Cr(VI)-APDC kiekiai (smailės plotai) taip pat proporcingai (maždaug 4 kartus) padidėja. Tuo tarpu dar padidinus mėginio tūrį iki 10 ir 12 mL, išekstrahuoto Cr(VI)-APDC smailės plotų padidėjimas jau nėra proporcingas mėginio tūriui. Šiuo atveju mėginio/ekstrahento tūrių santykis jau per didelis pilnam Cr komplekso išekstrahavimui. Todėl teko apsiriboti maksimaliu 8 mL mėginių tūriu. Būtina pažymėti, kad analizuojant ekstraktus ne UESCh, bet LA-ICP-MS metodu, nereikalinga CCl₄ ekstrakto nugarinimo ir išekstrahuoto likučio tirpinimo acetonitrile stadija, t.y. ekstraktas nėra papildomai praskiedžiamas.

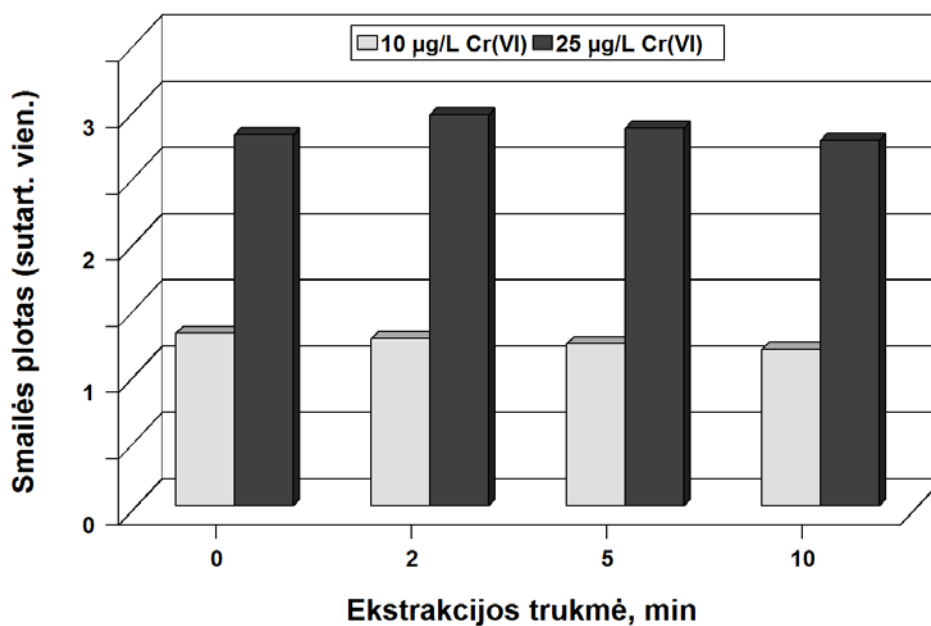


3.5 pav. Disperguojančio tirpiklio (MeOH) tūrio įtaka Cr(VI)-APDC ekstrakcijos efektyvumui. Mėginio tūris – 5 mL. Ekstrahento mišinys – 50 µL CCl₄ + MeOH.



3.6 pav. Mėginio tūrio įtaka Cr(VI)-APDC komplekso ekstrakcijos efektyvumui. Ekstrahento mišinys – 50 µL CCl₄ + 1 mL MeOH.

Ekstrakcijos trukmė. Standartinis analitės tirpalas buvo ekstrahuojamas ir centrifuguojamas iš karto po ekstrahento pridėjimo bei praėjus 2, 5 ir 10 min nuo ekstrahento pridėjimo. Nustatėme (3.7 pav.), kad išekstrahuoti Cr(VI)-APDC komplekso kiekiai visiškai nepriklauso nuo ekstrakcijos trukmės, t.y. ekstrakcijos trukmė – kelios/keliolika sekundžių.



3.7 pav. Ekstrakcijos trukmės įtaka Cr(VI)-APDC ekstrakcijos efektyvumui. Mėginio tūris – 8 mL. Ekstrahento mišinys – 50 µL CCl₄ + 1 mL MeOH.

3.2. DSME apjungimas su LA-ICP-MS metodu

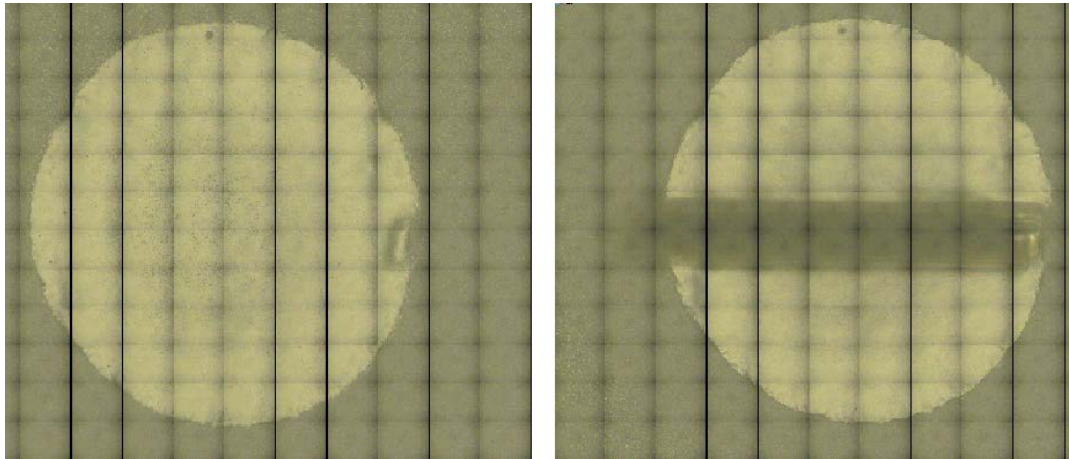
DSME metodas dažniausiai yra apjungiamas su dujų arba skysčių chromatografijos metodais, rečiau – su ETAAS arba LAAS metodais. Šiuo metu bene jautriausiu elementų nustatymo metodu yra ICP-MS, tačiau, kaip ir liepsnos AAS atveju, labai mažo tūrio organinių ekstraktų analizė tiesioginio įleidimo ICP-MS metodu neįmanoma. Šiame kontekste labai patrauklus yra ICP-MS su lazeriniu mėginio išgarinimu metodu (LA-ICP-MS), kuriuo labai greitai, be papildomo mėginio paruošimo galime analizuoti ypač mažus mėginio kiekius. Deja, dėl menko rezultatų atsikartojamumo, šis metodas iki šiol beveik išimtinai yra taikomas tik kietų ir pusiau kietų mėginių kokybinei arba pusiau-kiekybinei analizei geologijoje bei biomedicinoje. Neseniai kanadiečių mokslininkai [122] kiekybiniam metalų jonų nustatymui LA-ICP-MS metodu vandeniniuose mėginiuose pasiūlė taip vadinamą „išdžiovinto lašo“ (angl. *dried-droplet*) LA-ICP-MS metodą. Šiame metode lašas vandeninio mėginio atitinkamose sąlygose (homogeniškumui užtikrinti) išdžiovinamas ant stiklo plokštelės, gauta sausa liekana išgarinama apšaudant

lazerio spinduliu ir analizuojama. Kadangi DLME dirbama su labai mažais lakaus tirpiklio tūriais, „išdžiovinto lašo“ LA-ICP-MS metodas turėtų puikiai tikti DSME ekstraktų analizei.

3.2.1. Ekstraktų išgarinimo ir signalo atsikartojamumo sąlygų optimizavimas

Taikant „išdžiovinto lašo“ metodą LA-ICP-MS matavimams labai svarbu geras lašo dimensių atsikartojamumas, tolygus analitės pasiskirstymas sausoje liekanoje bei geras sausos liekanos matomumas. Paminėtas savybes didele dalimi lemia ir medžiagos, ant kurios uždedamas lašas, prigimtis. Todėl pirmiausiai palyginome stiklo ir polistireno padėkliukus. Skirtingi Cr(VI)-APDC komplekso standartinio tirpalo ekstrakto tūriai (5, 7 ir 10 μ L) mikropipete buvo uždedami ant padėkliukų, išdžiovinami kambario temperatūroje ir vizualiai (prieš ir po išdžiovinimo) tiriami lazerio video monitoriaus ekrane. Nustatėme, kad stiklo paviršiuje susidaro labai netaisyklingos formos ir dydžio lašas, o jam išdžiuvus, sausos liekanos zona beveik nepastebima. Lašo džiuvimo trukmė stiklo paviršiuje siekia 3-5 min. Tuo tarpu polistireno paviršiuje gaunami sferinės formos, panašaus dydžio ir žymiai greičiau (30-60 s) išgaruojantys lašai. Be to, šiuo atveju sausa liekana puikiai matoma ekrane. Tai iliustruoja 3.8 pav. pavaizduotos išgarinto ant polistireno pagrindo ekstrakto lašo nuotraukos prieš ir po apšaudymo lazeriu.

Tokia nevienoda padėkliuko medžiagos prigimties įtaka greičiausiai susijusi su skirtingu jų hidrofobiškumu. Ekstrahentas (anglies tetrachloridas) ir polistirenas yra palyginti hidrofobinės medžiagos, todėl anglies tetrachloridas ne tik puikiai drėkina, bet dar ir įsigeria (t.y. brinkina) į polistireno paviršių. Tai pagreitina lašo džiuvimą, o išbrinkusi padėklo paviršiaus zona puikiai matoma ekrane. Tuo tarpu hidrofilinis stiklo paviršius labai blogai drėkinamas hidrofobiniu ekstrahentu, todėl lašo forma ir dydis blogai atsikartoja, o stiklo paviršiaus morfologija nepakinta ir sausa liekana sunkiai matoma.



3.8 pav. Išgarinto ant polistireno pagrindo ekstrakto lašo (7 μL) nuotraukos prieš (kairėje) ir po apšaudymo lazeriu (dešinėje).

Nustatėme, kad priklausomai nuo paimto lašo tūrio, sausos liekanos skersmuo polistireno paviršiuje svyruoja nuo maždaug 3,5 iki 7,0 mm. Tolimesniuose tyrimuose naudojome 7 μL tūrio ekstrakto lašus.

Toliau tyrėme kaip tolygiai pasiskirsto analizė sausoje liekanoje. Tyrimų metu buvo matuojami du intensyviausi Cr izotopai: ^{52}Cr (83,8%) ir ^{53}Cr (9,5%). Deja, atlikus išsamius tyrimus buvo nustatyta, kad ant polistireno padėkliuko išdžiovinto ekstrakto lašo sausoje liekanoje išekstrahuoto Cr kiekis pasiskirsto labai netolygiai. Iš 3.2 lentelėje pateiktų rezultatų matyti, kad netgi naudojant metodą, kuriame vieno analizės ciklo metu vidurkinami 50 matavimų rezultatai (t. y. mėginio Nr. 1 rezultatas gautas suvidurkinus 50 matavimų, mėginio Nr. 2 taip pat ir t.t.), rezultatų santykiniai standartiniai nuokrypiai (S_r) siekia tik apie 12%. Nors LA-ICP-MS metodui tai nėra labai blogas atsikartojamumas, šiame darbe siekėme pasiekti tirpalų analizei prilygstančias atsikartojamumo vertes.

Šią problemą pabandėme išspręsti taikydami vidinio standarto metodą. Dirbant su vidiniu standartu, gautas analizinis signalas yra analizės (šiuo atveju ^{52}Cr ir ^{53}Cr izotopų) bei vidinio standarto pasirinkto izotopo signalų santykis, proporcingas išgarintam jų kiekių santykiui:

$$I(^{52}\text{Cr})/I(\text{st}) = n(^{52}\text{Cr})/n(\text{st}) \quad (3.1)$$

kur $I(^{52}\text{Cr})$ ir $I(\text{st}) - ^{52}\text{Cr}$ bei vidinio standarto signalų intensyvumai, imp/s, $n(^{52}\text{Cr})$ ir $n(\text{st}) -$ lazerinio išgarinimo metu į ICP-MS sistemą patenkantys ^{52}Cr bei vidinio standarto kiekiai.

Idealiu atveju, keičiantis chromo koncentracijai skirtingose sausos liekanos vietose, tokiu pačiu laipsniu turėtų keistis ir vidinio standarto koncentracija, o kiekviename taške išgarintas jų kiekių santykis, o tuo pačiu ir išmatuotų signalų intensyvumų santykis turėtų išlikti pastovus.

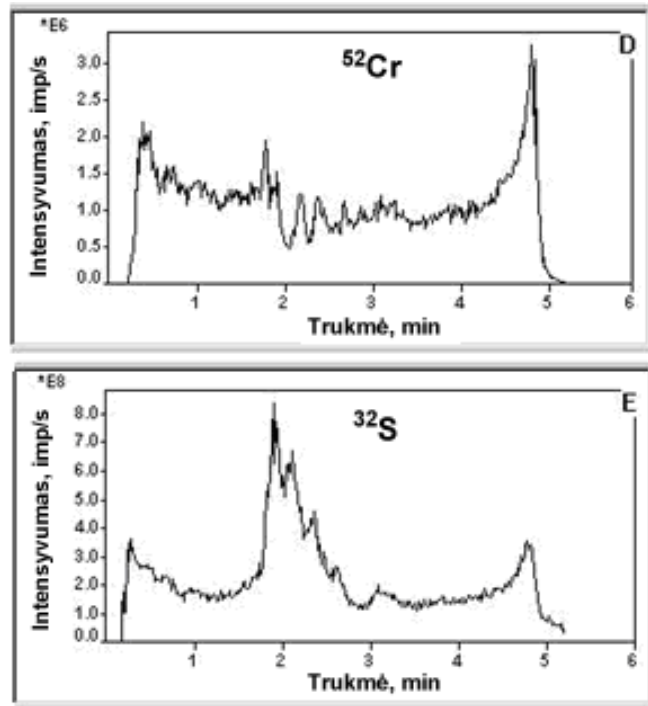
3.2 lentelė

Cr izotopų signalų matavimo atsikartojamumas ($c(\text{Cr(VI)}) = 10 \mu\text{g/L}$)

Matavimo Nr.	Signalų intensyvumas, imp/s	
	^{52}Cr	^{53}Cr
1	371290	42362
2	320561	36724
3	444004	50863
4	354067	40162
5	337379	38949
6	476589	53921
7	419843	47643
8	398741	45249
9	355929	40449
10	323201	36519
11	395570	45488
12	427062	48961
13	349142	40104
14	382697	44491
Vidurkis (n=14)	382577	43706
S_r (%)	12,3	12,1

Pirmiausiai vidiniu standartu išbandėme ^{32}S izotopą. Tokį pasirinkimą lėmė tai, kad siera įeina į ligando (APDC) sudėtį, todėl nereikia į mėginį pridėti pašalinio reagento. Deja, atlikus tyrimus paaiškėjo, kad išdžiūvusiame

lašė siera pasiskirsto šiek tiek kitaip nei chromas, todėl jos naudoti vidiniu standartu negalėjome. Tai iliustruoja 3.9 pav. palyginti ^{52}Cr ir ^{32}S signalų intensyvumų profiliai apšaudant išdžiovintą ekstrakto lašą linijinio skenavimo būdu.



3.9 pav. ^{52}Cr ir ^{32}S signalų intensyvumų profiliai apšaudant išdžiovintą ekstrakto lašą linijinio skenavimo būdu. ($c(\text{Cr}(\text{VI})) = 25 \mu\text{g/L}$).

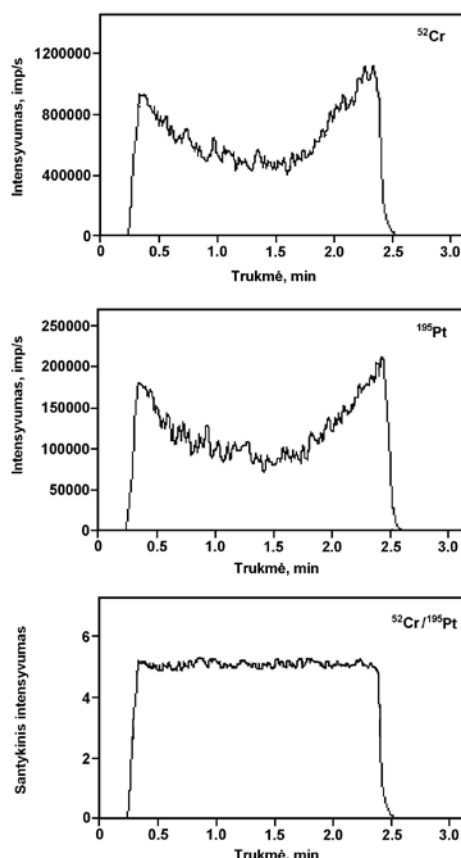
Pasirenkant pašalinį vidinį standartą būtina atsižvelgti į šiuos pagrindinius reikalavimus:

- 1) planuojamuose tirti mėginiuose šio elemento turi nebūti arba jo koncentracija turi būti nykstamai maža;
- 2) pasirinktas vidinio standarto izotopas turi būti puikiai atskiriamas nuo trukdančių junginių ir patikimai matuojamas toje pačioje (t. y. vidutinėje) skiriamosioje geboje kaip ir chromo izotopai;
- 3) jei standartas pridedamas į mėginį dar prieš ekstrakciją, jo ekstrakciją chromui optimizuotose sąlygose turi gerai atsikartoti.

Remdamiesi literatūros duomenimis vidiniu standartu pasirinkome Pt(II). Šis elementas puikiai tenkina pirmuosius du reikalavimus. Be to, Pt(II) su

APDC sudaro neutralų kompleksą, kuris puikiai ekstrahuojamas anglies tetrachloridu [123]. Matavimams buvo pasirinktas labiausiai paplitęs platinos izotopas – ^{195}Pt (33,8 %). Pagrindiniai trukdžiai galintys turėti įtakos ^{195}Pt nustatymui galėtų atsirasti susiformavus poliatominiams jonams iš Gd, Sm, Hf ir Yb elementų. Kadangi realiuose mėginiuose šių metalų koncentracija yra nykstamai maža, susidariusių poliatominių jonų, taip pat bus mažai, todėl šių trukdžių galima nepaisyti ir pasirinktą platinos izotopą kartu su chromo izotopais matuoti naudojant vidutinę skiriamąją gebą.

3.10 pav. pateikti ^{52}Cr ir ^{195}Pt signalų intensyvumų bei $^{52}\text{Cr}/^{195}\text{Pt}$ intensyvumų santykio profiliai, išmatuoti Cr(VI) standarto su Pt(II) priedu ekstrakto laše. Kaip matyti iš pateiktų rezultatų, abiejų metalų pasiskirstymo sausoje liekanoje profiliai yra labai panašūs, todėl jų signalų intensyvumų santykis linijinio skenavimo metu išlieka pastovus (3.10 pav. apatinė kreivė).



3.10 pav. ^{52}Cr ir ^{195}Pt signalų intensyvumų bei $^{52}\text{Cr}/^{195}\text{Pt}$ intensyvumų santykio profiliai, išmatuoti apšaudant išdžiovintą ekstrakto lašą linijinio skenavimo būdu. $c(\text{Cr(VI)}) = 25 \mu\text{g/L}$, $c(\text{Pt}) = 50 \mu\text{g/L}$.

Iš 3.3 lentelėje pateiktų šešių ekstrakto lašų matavimo rezultatų atsikartojamumo matyti, kad matuojant Pt vidinio standarto atžvilgiu, rezultatų atsikartojamumas pagerėjo maždaug 3-5 kartus. Visuose tolimesniuose tyrimuose ^{52}Cr ir ^{53}Cr izotopų signalų intensyvumai buvo dalinami iš ^{195}Pt izotopo signalo intensyvumo ir gautas santykis naudojamas kaip analizinis signalas.

3.3 lentelė

Cr izotopų signalų ir Cr/Pt izotopų signalų santykio santykiniai standartiniai nuokrypiai (%) ($n = 6$; $c(\text{Pt}) = 50 \mu\text{g/L}$).

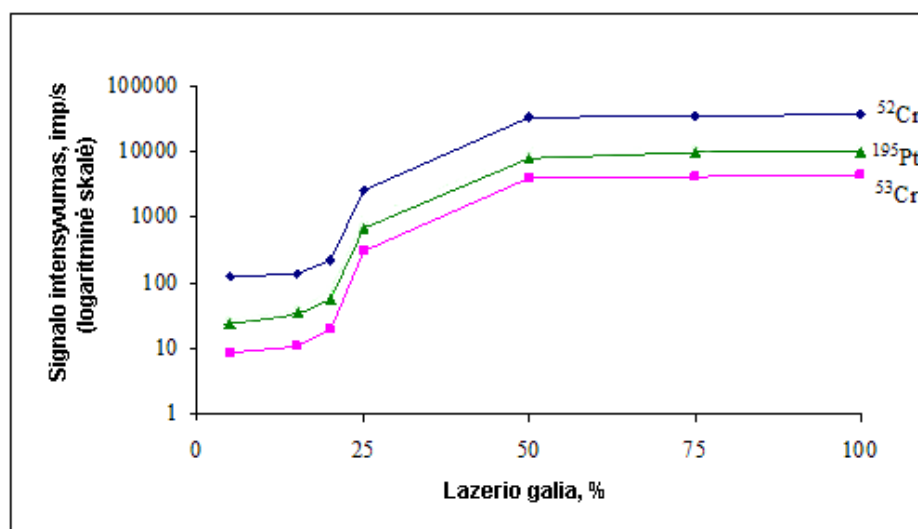
Cr(VI), $\mu\text{g/L}$	^{52}Cr	^{53}Cr	$^{52}\text{Cr}/^{195}\text{Pt}$	$^{53}\text{Cr}/^{195}\text{Pt}$
5	18	21	5,4	6,5
25	14	23	4,3	4,6
100	11	16	4,0	4,8

3.2.2. Lazerinio išgarinimo sąlygų optimizavimas

LA-ICP-MS metode analitės signalo intensyvumas priklauso ir nuo išgarinimui naudojamo lazerio parametru. Siekdami parinkti optimalias lazerinio išgarinimo sąlygas Cr nustatymui, ištyrėme pagrindinių lazerio parametru (galios, spindulio skersmens, šūvių skaičiaus per sekundę, skenavimo greičio) įtaką pasirinktu Cr ir Pt izotopų signalų intensyvumui. Optimaliais laikėme tuos lazerio parametrus, kuriems esant buvo nustatomi intensyviausi elementų izotopų signalai. Tyrimų metu kiekvienas eksperimentas buvo kartojamas po tris kartus.

Lazerio galios įtaka. Apšaudant mėginį lazerinio išgarinimo metu, šūvio vietoje susidaro tam tikro dydžio krateris. Kuo didesnio ploto ir/ar gylio krateris, tuo didesnė mėginio porcija bus išgarinama vieno lazerio šūvio metu, t. y. tuo daugiau analitės pateks į ICP-MS sistemos plazmą ir bus registruojami intensyvesni matuojamų elementų izotopų signalai. Didinant lazerio spinduliavimo galią, didėja kraterio gylis, o tuo pačiu ir išgarinamo mėginio kiekis. Tyrimų metu, lazerio galia buvo didinama nuo 5% iki 100%, kiekvieną

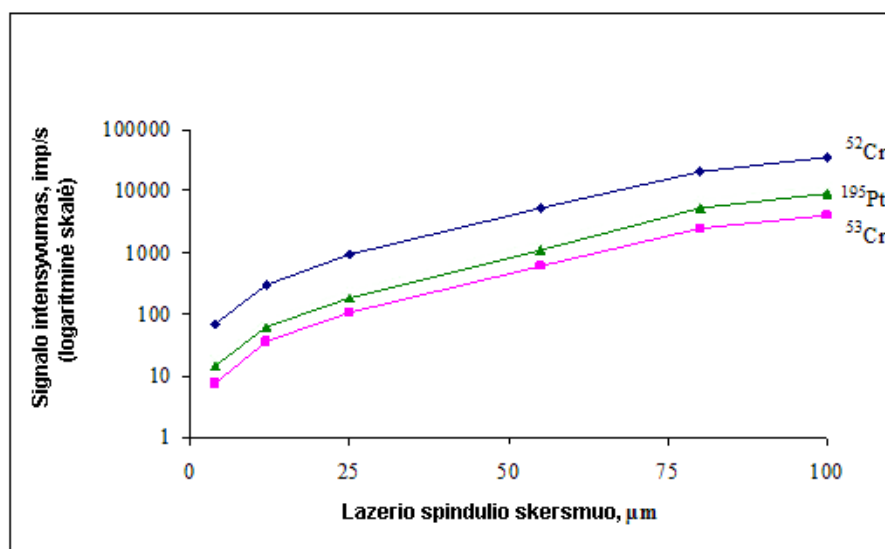
kartą masių spektrometru registruojant pasirinktų Cr ir Pt izotopų signalų intensyvumus. Gauti duomenys pateikti 3.11 pav. Kaip ir buvo galima tikėtis, didinant lazerio galią abiejų elementų izotopų signalų intensyvumas didėjo. Gana ryškus signalų intensyvumų didėjimas buvo registruojamas didinant galią iki 50%. Tuo tarpu toliau didinant galią iki maksimalios (100%), tiriamų izotopų signalų intensyvumai jau nebedidėjo. Tai liudija, kad išdžiovintas mėginys apšaudymo taške jau yra išgarinamas pilnai, t.y. visame jo gylyje. Tolimesniems tyrimams pasirinkome maksimalią 100% lazerio galią.



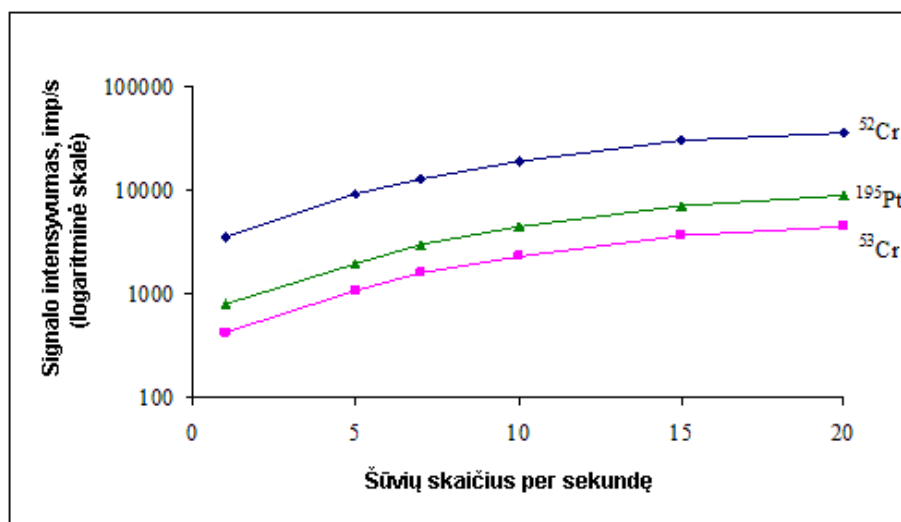
3.11 pav. Lazerio galios įtaka chromo ir platinos izotopų signalų intensyvumams. Skenavimo greitis - 30 $\mu\text{m/s}$; spindulio skersmuo - 100 μm ; šūvių per sekundę - 20. $c(\text{Cr(VI)}) = 10 \mu\text{g/L}$, $c(\text{Pt}) = 50 \mu\text{g/L}$.

Lazerio spindulio skersmens įtaka. Lazeryje esančių optinių elementų pagalba gali būti keičiamas lazerio spindulio projekcijos į mėginį skersmuo. Didinant lazerio spindulio skersmenį, didėja kraterio skersmuo, o tuo pačiu ir vieno lazerio šūvio metu išgarinamo mėginio kiekis. Tyrimams naudotame New Wave Research UP-213 lazeryje šis parametras gali būti keičiamas nuo 4 μm iki 100 μm . Tyrimai buvo atlikti pasirinkus 4 μm , 12 μm , 25 μm , 55 μm , 80 μm bei 100 μm spindulio skersmens vertes. Gauti rezultatai yra pateikti 3.12 paveiksle. Kaip ir buvo galima tikėtis, didinant lazerio spindulio skersmenį, tiriamų Cr ir Pt izotopų signalų intensyvumai tolygiai didėja. Tolimesniam darbui buvo pasirinktas maksimalus 100 μm spindulio skersmuo, duodantis didžiausią signalų intensyvumą.

Šūvių dažnio įtaka. Optimizuojant lazerinio išgarinimo sąlygas, šis parametras buvo keičiamas nuo 1 iki maksimalaus 20 šūvių per sekundę dažnio. Iš 3.13 paveiksle pateiktų rezultatų matyti, kad Cr ir Pt izotopų signalų intensyvumai didėja didinant šūvių skaičių. Tolimesni eksperimentai buvo atliekami apšaudant mėginį maksimaliu 20 šūvių per sekundę dažniu.

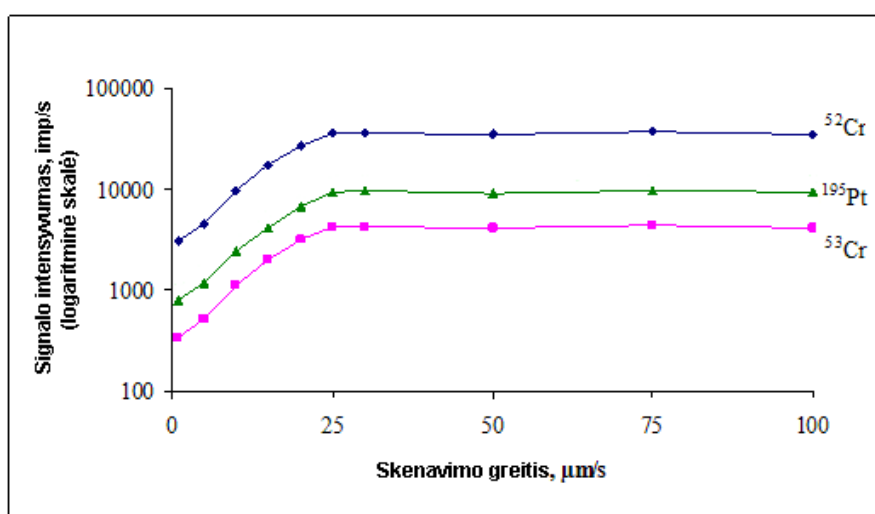


3.12 pav. Lazerio kraterio skersmens įtaka chromo ir platinos izotopų signalų intensyvumui. Skenavimo greitis - 30 μm/s; lazerio galia – 100%; šūvių per sekundę - 20. c(Cr(VI)) = 10 μg/L, c(Pt) = 50 μg/L.



3.13 pav. Lazerio šūvių skaičiaus įtaka chromo ir platinos izotopų signalų intensyvumams. Skenavimo greitis - 30 μm/s, lazerio galia – 100 %, spindulio skersmuo – 100 μm. c(Cr(VI)) = 10 μg/L, c(Pt) = 50 μg/L.

Lazerio skenavimo greičio įtaka. Optimizuojant lazerio skenavimo greitį elementų signalų intensyvumas buvo stebimas prie 1 $\mu\text{m/s}$, 5 $\mu\text{m/s}$, 10 $\mu\text{m/s}$, 15 $\mu\text{m/s}$, 20 $\mu\text{m/s}$, 25 $\mu\text{m/s}$, 30 $\mu\text{m/s}$, 50 $\mu\text{m/s}$, 75 $\mu\text{m/s}$ ir 100 $\mu\text{m/s}$ greičių. Šis parametras parodo, kokių greičių mėginys judės pro šaudantį lazerį. Optimizuojant skenavimo greitį, svarbu atsižvelgti į tai, koks yra lazerio šūvių dažnis bei šiuos abu parametrus tarpusavyje suderinti. Jei skenavimo greitis yra labai didelis, o lazeris iššauna retai, tai kiekvienas lazerio šūvis į mėginį bus nutolęs nuo prieš tai buvusio šūvio per tam tikrą atstumą, t. y. gausis ne vientisa šūvių linija, o atskirai išsidėstę krateriai. Toks šaudymas yra neefektyvus ir neleidžia pasiekti maksimalių izotopų signalų intensyvumų. Optimizuojant lazerio skenavimo greitį, mėginys buvo apšaudomas 20 kartų per sekundę dažniu. Gauti rezultatai yra pateikti 3.14 paveiksle. Iš gautų duomenų, matyti, kad mėginio išgarinimo efektyvumas didėja skenavimo greičiui didėjant iki 25 $\mu\text{m/s}$, o paskui nebekinta. Tolimesniuose tyrimuose buvo naudojamas 30 $\mu\text{m/s}$ skenavimo greitis.



3.14 pav. Lazerio skenavimo greičio įtaka chromo ir platinos izotopų signalų intensyvumams. Lazerio galia – 100%, spindulio skersmuo – 100 μm , šūvių skaičius per sekundę - 20. $c(\text{Cr(VI)}) = 10 \mu\text{g/L}$, $c(\text{Pt}) = 50 \mu\text{g/L}$.

3.2.3. Analizinės charakteristikos ir metodo taikymas

Optimizavus DSME ir LA-ICP-MS sąlygas buvo išmatuotos pagrindinės Cr(VI) analizinės charakteristikos. Viena iš aktualiausių LA-ICP-MS metodo

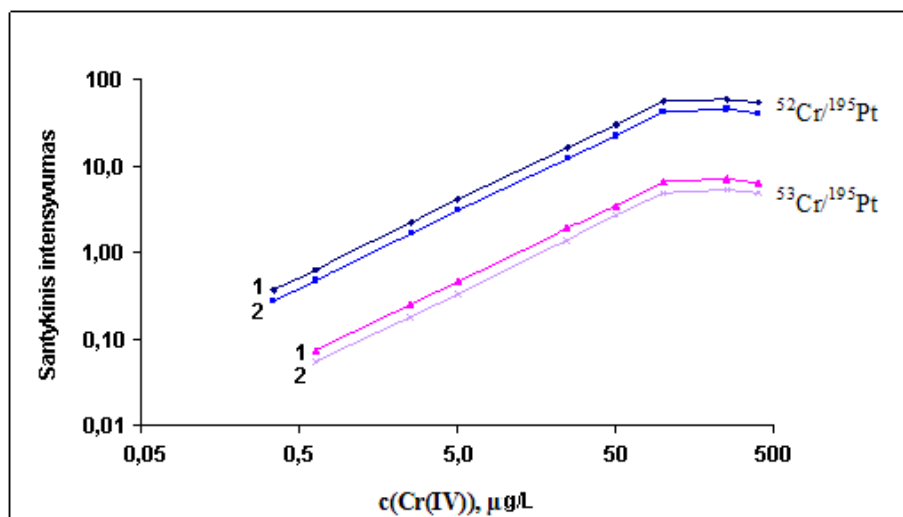
problemų, ribojanti metodo taikymą kiekybinei analizei – kalibravimas. Norint išvengti mėginio matricos įtakos, būtina, kad kalibravimui naudojamų standartų sudėtis būtų kuo artimesnė tiriamo mėginio sudėčiai, t.y. turi būti atliekamas kalibravimas matricoje. Tam reikalingi realūs mėginiai be analitės. Šiame darbe analizė yra išekstrahuojama iš mėginio organiniu tirpikliu, todėl pagrindinė ir pavojingiausia LA-ICP-MS analizei mėginio matricos dalis (neorganiniai jonai) yra pašalinama. Vis dėlto išmatavome ir palyginome analizines charakteristikas Cr(VI) standartiniams tirpalams, paruoštiems dviejose smarkiai besiskiriančios sudėties matricose: a) dejonizuotame vandenyje ir b) sintetiniame jūros vandenyje. Sintetinio jūros vandens sudėtis (1 L): NaCl - 23,5 g; MgCl₂ - 5,0 g; Na₂SO₄ - 3,9 g; CaCl₂ - 1,1 g; KCl - 0,66 g; NaHCO₃ - 0,19 g; KBr - 0,096 g; H₃BO₃ - 0,026 g; SrCl₂ - 0,024 g ir NaF - 0,003 g.

3.15 pav. palygintos abiejose matricose išmatuotos kalibracinės kreivės Cr izotopams, o 3.4 lentelėje surašytos pagrindinės analizinės charakteristikos. Aptikimo riba buvo skaičiuojama pagal formulę (n=6):

$$x_A = \frac{3 \cdot \sigma_0 \cdot x_e}{I_e - I_0} \quad (3.2)$$

kur x_A – Cr(VI) aptikimo riba, µg/L; I_e – koncentracijos x_e (µg/L) Cr(VI) standarto ekstrakto santykinis (Pt atžvilgiu) signalo intensyvumas; I_0 – “tuščio” mėginio (be Cr) ekstrakto santykinis signalo intensyvumas; σ_0 – “tuščio” mėginio ekstrakto santykinio signalo intensyvumo standartinis nuokrypis. Nustatymo riba (kalibracinių kreivių pirmas taškas) buvo apskaičiuojama pagal analogišką formulę “tuščio” mėginio ekstrakto santykinio signalo standartinį nuokrypį dauginant iš 10.

Abiem Cr izotopams viršutinė kalibracinių kreivių tiesiškumo riba - 250 µg/L. Iš pateiktų rezultatų matyti, kad mėginio matricos įtaka Cr izotopų analiziniams signalams yra nereikšminga, todėl tiriamai sistemai kalibravimas matricoje nėra būtinas.



3.15 pav. Dejonizuoto vandens (2) ir sintetinio jūros vandens (1) matricose išmatuotos kalibracinės kreivės (logaritminė skalė) Cr izotopams ($c(\text{Pt}) = 50 \mu\text{g/L}$).

3.4 lentelė

Cr(VI) analizinių charakteristikų skirtingose matricose palyginimas ($n=6$)

Charakteristika	Cr izotopas	Matrica	
		Bidistiliuotas vanduo	Sintetinis jūros vanduo
Polinkis, L/ μg	^{52}Cr	0,3768	0,3719
	^{53}Cr	0,0431	0,0419
Atkirta	^{52}Cr	0,0688	0,0705
	^{53}Cr	0,0085	0,0091
R^2	^{52}Cr	0,9985	0,9988
	^{53}Cr	0,9992	0,9983
Aptikimo riba, $\mu\text{g/L}$	^{52}Cr	0,11	0,12
	^{53}Cr	0,31	0,29
Nustatymo riba, $\mu\text{g/L}$	^{52}Cr	0,35	0,38
	^{53}Cr	0,91	0,88

DSME-LA-ICP-MS metodas buvo įvertintas analizuojant vandentiekio ir Neries upės vandenį. Vandentiekio vanduo buvo paimtas Puslaidininkų fizikos instituto laboratorijoje, o Neries vanduo Vilniuje prie Žirmūnų tilto. Prieš

ekstrakciją vandens mėginiai buvo filtruojami 0,45 µm membraniniu filtru, t.y. buvo nustatoma tik tirpi Cr(VI) forma. Kiekybinė analizė buvo atliekama matuojant intensyvesnio ⁵²Cr izotopo analizinius signalus. Vandentiekio vandenyje nustatyta 0,42 µg/L Cr(VI) koncentracija, o upės vandenyje Cr(VI) nenustatyta, t.y. jo koncentracija mažesnė už nustatymo ribą. Atlikus išgavos testą nustatyta (3.5 lentelė), kad vandentiekio vandenyje Cr(VI) išgavos siekia 93-103%, tuo tarpu Neries vandenyje tik 74-86 %. Akivaizdu, kad Cr(VI) nustatymas upės vandenyje yra slopinamas kažkokių pašalinių procesų. Iškėlėme dvi pagrindines galimų trukdžių versijas: 1) LA-ICP-MS analizės metu Cr signalas yra slopinamas pašalinių kartu besiekstrahuojančių junginių; 2) dalis APDC reaguoja su upės vandenyje esančiais pašaliniais junginiais (pvz. metalų katijonais ir/arba oksidatoriais), todėl reagento nebeužtenka pilnai redukuoti ir kompleksuoti Cr(VI). Kadangi LA-ICP-MS metodu analizuojamas pakankamai išvalytas mėginys (ekstraktas), pirmoji versija yra mažai tikėtina. Nepaisant to atlikome papildomą tyrimą: į upės vandens ekstrakto porcijas buvo pridedami žinomi kiekiai standartinio Cr(VI)-APDC komplekso tirpalo anglies tetrachloride ir analizuojami LA-ICP-MS metodu. Nustatėme, kad į upės vandens ekstraktą pridedamo chromo signalas jau nėra slopinamas. Taigi, Cr nustatymui trukdantys procesai vyksta ne ekstraktų analizės, bet kompleksavimo/ekstrakcijos stadijoje.

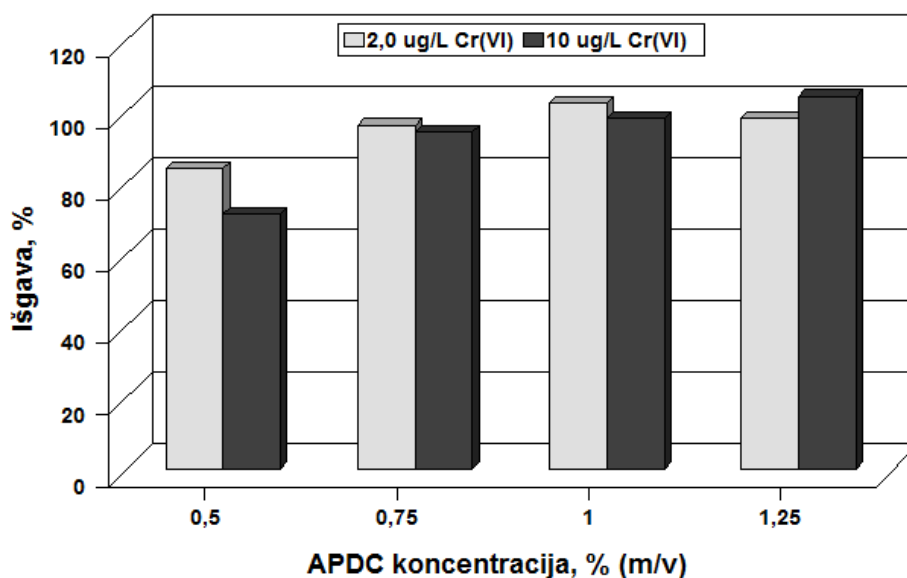
Antroji versija buvo tikrinama didinant į upės mėginį su Cr(VI) standartiniu priedu pridedamo APDC koncentraciją (pridedamas APDC tūris – 0,5 mL) nuo aukščiau aprašytuose tyrimuose naudotos 1% (m/v) iki 4%. 3.16 pav. pateikti tyrimo rezultatai dviem Cr(VI) koncentracijoms patvirtino antrą prielaidą. Jau padvigubinus pridedamo į mėginį APDC koncentraciją, Cr(VI) išgavos padidėjo iki 92-102% ir toliau didinant APDC kiekį, reikšmingai nebekito. Papildomai išanalizavus upės vandens mėginius naudojant 4% APDC koncentraciją, Cr(VI) juose vis tiek nebuvo aptiktas.

Galiausiai buvo ištirtas etaloninis nutekamojo vandens pavyzdys BCR-544, kuriame sertifikuota Cr(VI) koncentracija $22,8 \pm 1,0$ µg/L. Tiriamu metodu buvo nustatyta $23,6 \pm 1,6$ µg/L koncentracija (n=3).

3.5 lentelė

Cr(VI) nustatymo vandenyse rezultatai
(vidurkis \pm standartinis nuokrypis; n = 3)

Mėginys	Cr(VI) nustatyta, $\mu\text{g/L}$	Cr(VI) pridėta, $\mu\text{g/L}$	Cr(VI) nustatyta su priedu, $\mu\text{g/L}$	Išgava, %
Vandentiekio vanduo	0,42 \pm 0,04	0,50	0,89 \pm 0,07	94
		2,00	2,48 \pm 0,20	103
		10,0	9,73 \pm 0,43	93
Upės (Neris) vanduo	Nerasta	0,50	0,43 \pm 0,05	86
		2,00	1,56 \pm 0,08	78
		10,0	7,40 \pm 0,04	74



3.16 pav. APDC koncentracijos įtaka Cr(VI) išgavoms iš upės vandens mėginio. Mėginio tūris – 8 mL. Pridedamo APDC tirpalo tūris – 0,5 mL.

3.3. Metalų kompleksų mikroekstrakcija joniniais skysčiais

Vienas iš DSME metodo trūkumų – ribotas ekstrahentų pasirinkimas. Ekstrahentu naudojamas tirpiklis turi būti sunkesnis už vandenį ir suderinamas su ekstrakto analizei naudojamu metodu. Dujų chromatografijoje šiam tikslui

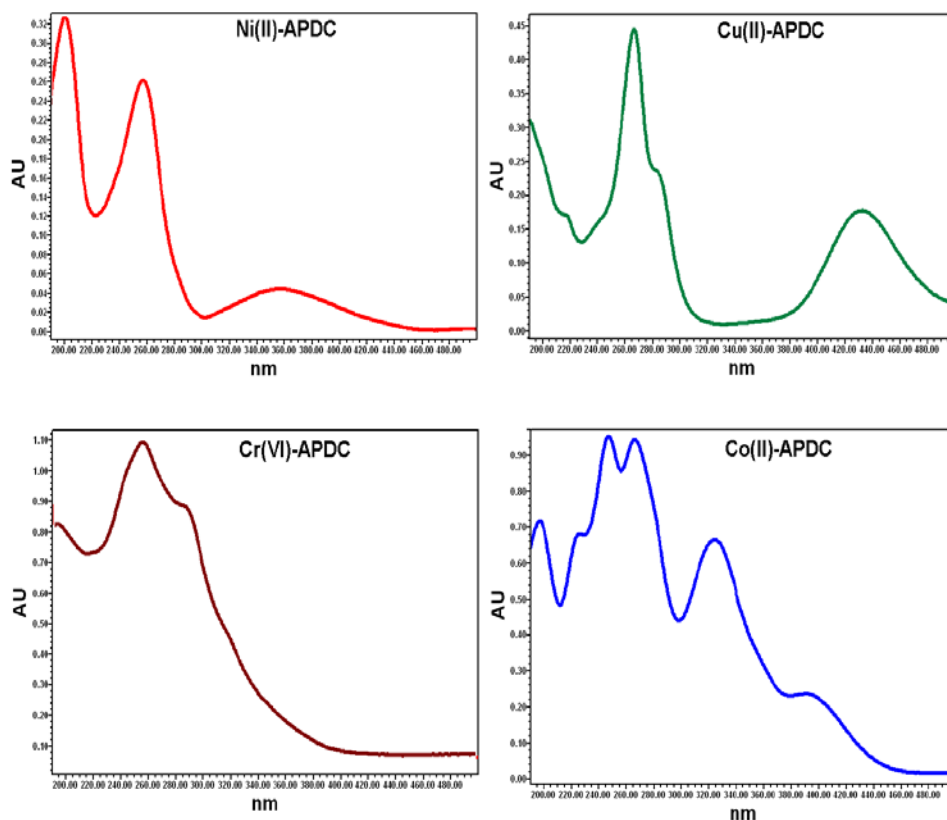
puikiai tinka halogeninti angliavandeniliai, tačiau jie nesuderinami (t.y. išplečia ir deformuoja smailes) su skysčių chromatografijoje naudojamomis judriomis fazėmis. Analizuojant tokius ekstraktus skysčių chromatografijos metodu, būtinas ekstrakto nugarinimas iki sausos liekanos ir pertirpinimas tinkamame tirpiklyje. Apjungiant DSME metodą su skysčių chromatografija, puikia alternatyva tradiciniams ekstrahentams yra hidrofobiniai joniniai skysčiai [61]. Jie yra sunkesni už vandenį, o savo joninės prigimties dėka puikiai suderinami su skysčių chromatografija.

Šioje darbo dalyje pateikti tyrimai skirti imidazolio joninių skysčių taikymo Cr(VI), Cu(II), Co(II) ir Ni(II) ekstrakcijos DSME metodu galimybių tyrimui bei DSME apjungimui su ultraefektyviaja skysčių chromatografija (UESCh). Metalų katijonų pervedimui į neutralią formą pasirinkome APDC, su kuriuo šie metalai sudaro patvarius, UV šviesą absorbuojančius kompleksus.

3.3.1. Detektavimo ir chromatografinio atskyrimo sąlygų optimizavimas

3.17 pav. pateikti tiriamų metalų kompleksų su APDC absorbcijos spektrai, išmatuoti fotodiodinės matricos detektoriumi (PDA) chromatografiškai atskyrus kompleksus nuo reagento pertekliaus. Maksimali visų metalų kompleksų absorbcija registruojama UV srityje, 255-266 nm bangos ilgių intervale, todėl tolimesniems tyrimams detektavimui buvo pasirinktas 260 nm bangos ilgis.

Šiuolaikinėje skysčių chromatografinėje analizėje dominuoja atvirkščių fazių variantas, kuriame nejudriomis fazėmis naudojami nepoliniai sorbentai (pvz. oktadecilsilikagelis), o judriomis fazėmis – vandens ir polinių organinių tirpiklių (CH₃CN, CH₃OH) mišiniai. Šis chromatografijos variantas ir buvo pasirinktas hidrofobinių kompleksų atskyrimui ir nustatymui. Pirminis tikslas - izokratinės elucijos režime greitai ir efektyviai atskirti keturių metalų kompleksus ir laisvą APDC.



3.17 pav. Tiriamų metalų kompleksų su APDC (0,1 mmol/L) absorbcijos spektrai išmatuoti PDA detektoriumi.

3.6 lentelė

Atskirymui naudotų sorbentų charakteristikos

Sorbentas	Vid. kolonėlės skersmuo×ilgis, mm	Sorbento dalelių skersmuo, μm	Anglies kiekis, %
Acquity UPLC BEH C18	2,1 × 100	1,7	18
Acquity UPLC BEH C8	2,1 × 100	1,7	13
Acquity UPLC BEH Phenyl	2,1 × 100	1,7	15

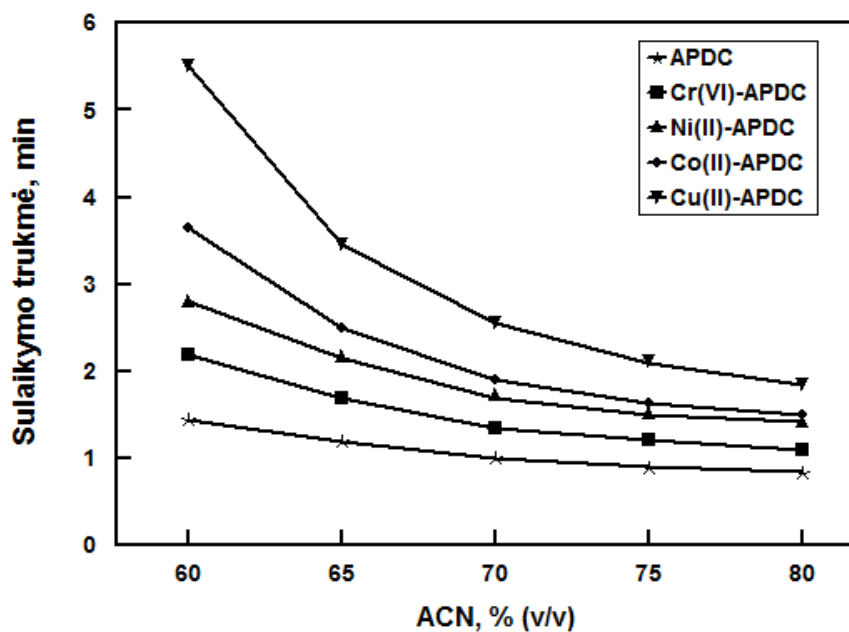
Pirmiausiai ištyrėmė sorbento prigimties įtaką atskirymui. Tuo tikslu atskirimas buvo atliktas izokratinės eliuacijos sąlygomis naudojant tris

skirtingus sorbentus, kurių pagrindinės charakteristikos surašytos 3.6 lentelėje. Visi trys sorbentai priskiriami atvirkščių fazių sorbentams, o jų poliškumas nežymiai stiprėja tokia seka: C18 < C8 < Phenyl. Preliminariam tyrimui pasirinkome stipria išstūmimo jėga pasižyminčią judrią fazę – 80:20 (v/v) ACN/H₂O tirpalą. Atitinkamo metalo komplekso tirpalas buvo ruošiamas 0,5 mmol/L metalo druskos tirpalą acetatiniame buferyje (pH 4) paveikus 5-kartiniu APDC pertekliumi ir 5 kartus praskiedus jį acetonitrilu. 3.7 lentelėje palygintos pagrindinės tiriamų kolonelių charakteristikos tiriamoms analizėms - sulaikymo trukmės, smailių asimetriškumo faktoriai A_s ir smailių efektyvumai (teorinių lėkštelių skaičius N).

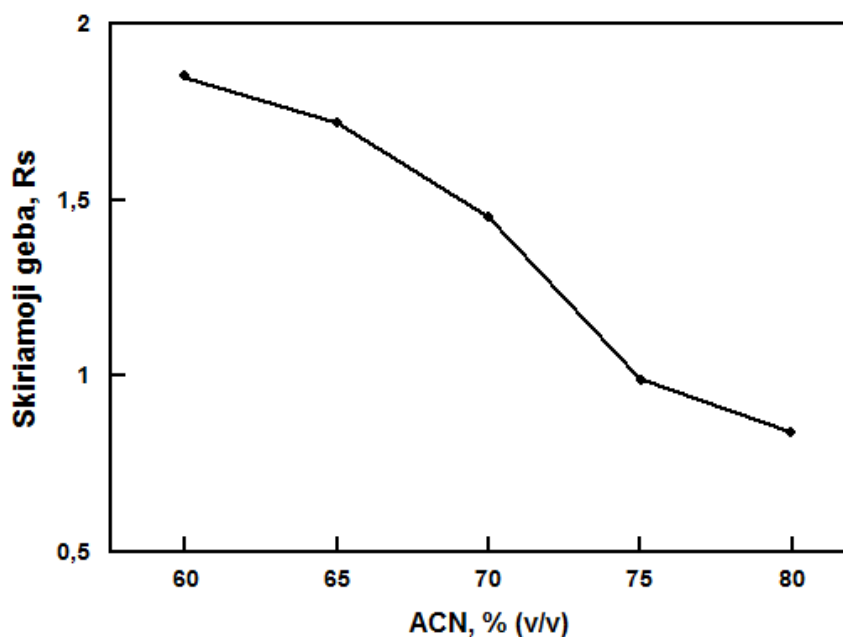
3.7 lentelė

Me-APDC kompleksų atskyrimo skirtingose kolonėlose charakteristikų palyginimas. Judri fazė: 80:20 v/v ACN:H₂O, 0,5 mL/min.

Kolonėlė	Analitė	Sulaikymo trukmė, min	A_s	Smailės efektyvumas, N
Acquity UPLC BEH C18	APDC	0,85	0,97	8600
	Cr(VI)-APDC	1,32	0,95	9900
	Ni(II)-APDC	1,55	0,99	11400
	Co(II)-APDC	1,62	0,97	10200
	Cu(II)-APDC	2,08	0,88	12070
Acquity UPLC BEH C8	APDC	0,80	0,95	8100
	Cr(VI)-APDC	1,10	0,98	9200
	Ni(II)-APDC	1,41	0,91	9700
	Co(II)-APDC	1,46	0,95	9200
	Cu(II)-APDC	1,84	0,89	10900
Acquity UPLC BEH Phenyl	APDC	1,25	1,07	8800
	Cr(VI)-APDC	1,38	1,25	6500
	Ni(II)-APDC	1,88	0,29	6080
	Co(II)-APDC	1,95	1,38	6100
	Cu(II)-APDC	2,40	1,56	5260

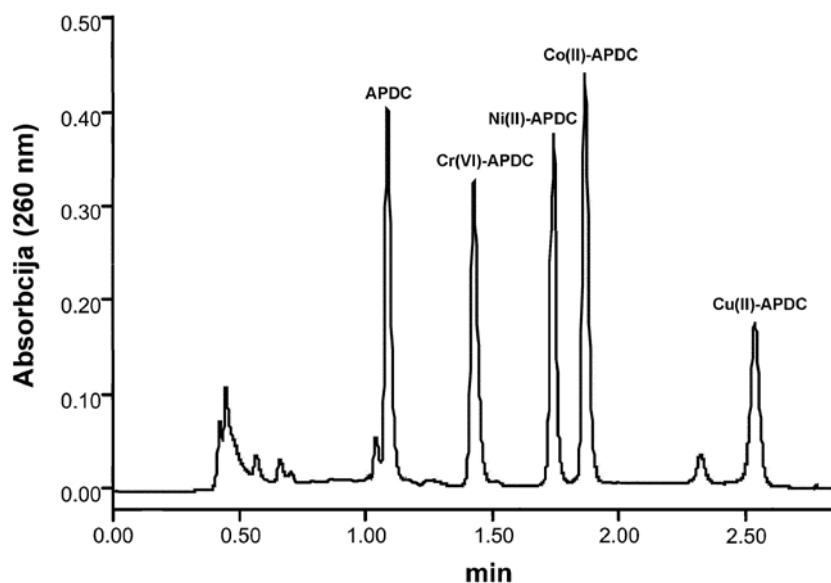


3.18 pav. Acetonitrilo koncentracijos judrioje fazėje įtaka analičių sulaikymo trukmėms. Kolonėle: Acquity UPLC BEH C18. Judri fazė: ACN/H₂O, 0,5 mL/min. Bangos ilgis - 260 nm.



3.19 pav. Acetonitrilo koncentracijos judrioje fazėje įtaka Ni(II) ir Co(II) kompleksų skiriamajai gebai.

Standartinio metalų-APDC kompleksų ir laisvo APDC mišinio chromatograma optimizuotose sąlygose pavaizduota 3.20 pav. Keturi metalų kompleksai puikiai atskiriami izokratinėse sąlygose per ~2,5 min.



3.20 pav. Metalų kompleksų su APDC chromatograma optimizuotose UESCh sąlygose. Kolonėle: Acquity UPLC BEH C18. Judri fazė: 70:30 v/v ACN/H₂O. Judrios fazės greitis - 0,5 mL/min. Bangos ilgis - 260 nm.

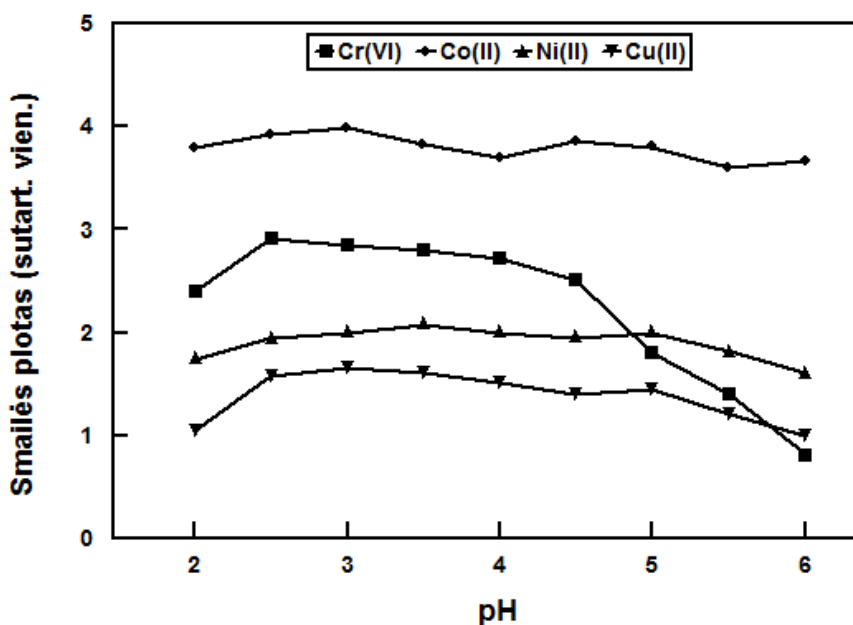
3.3.2. Kompleksavimo sąlygų tyrimas

Nors metalų katijonų reakcija su APDC yra pakankamai išsamiai tyrinėta, literatūros duomenys yra priešaringi. Todėl šiame darbe papildomai tyrėme dviejų veiksnių įtaką kompleksavimo reakcijai: tirpalo pH ir reagento koncentracijos. Be to, kadangi neradome literatūroje duomenų apie kompleksų susidarymo trukmę, įvertinome ir šio faktoriaus įtaką.

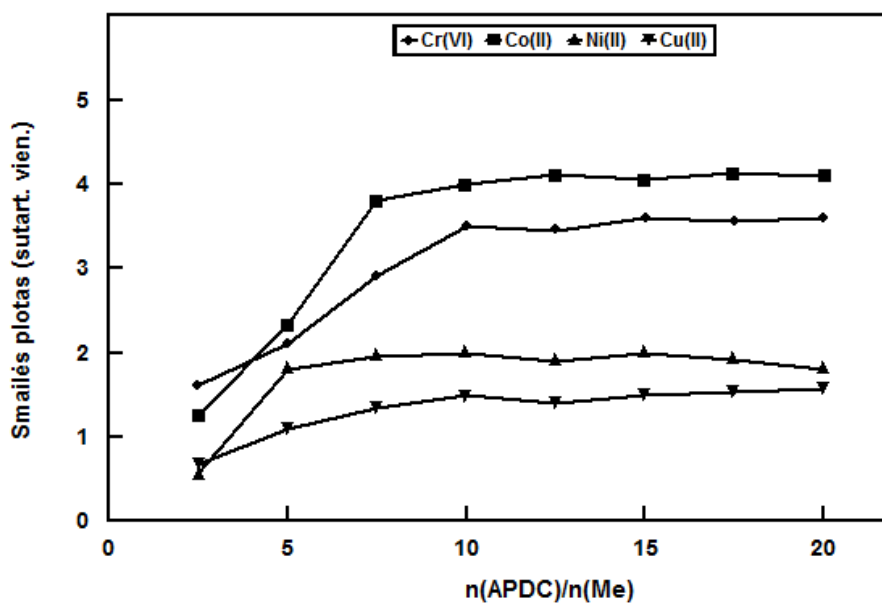
Tirpalo pH įtaka buvo tiriama ruošiant dviejų koncentracijų (0,025 ir 0,10 mmol/L) standartinius metalų druskų tirpalus 0,1 mol/L HCOOH + 0,1 mol/L CH₃COOH tirpale, neutralizuotame NaOH iki atitinkamos pH vertės ir pridedant į gautą tirpalą APDC perteklių (5 mmol/L). Kadangi susidarę kompleksai blogai tirpūs vandenyje, po reakcijos (~5 min) mišinys buvo skiedžiamas (1:1) acetonitrilu ir analizuojamas. Tyrimo rezultatai vienai tiriamų metalų koncentracijai pateikti 3.21 pav. Matome, kad optimali kompleksų susidarymui pH sritis – 2,5-4,5. Beveik identiškos priklausomybės buvo nustatytos ir mažesnei metalų katijonų koncentracijai.

Nors yra žinoma, kad tiriami metalai su APDC sudaro neutralius kompleksus moliniu santykiu 1:3 (Cr) arba 1:2 (kitiems metalų jonams), tačiau

dalį reagento sunaudojama Cr(VI) redukcijai iki Cr(III). Be to, pilnam metalų jonų kompleksavimui dažnai būtinas reagento perteklius. 3.22 pav. pavaizduota APDC/Me molinio santykio įtaka Me-APDC kompleksų susidarymui (susidariusio komplekso smailės plotui). Kai $n(\text{APDC})/n(\text{Me}) \geq 10$, visoms analitėms susidariusių kompleksų smailės nebedidėja.



3.21 pav. Tirpalo pH įtaka Me-APDC kompleksų (0,1 mmol/L) susidarymui. Terpė – 0,1 mol/L HCOOH ir 0,1 mol/L CH₃COOH mišinys, neutralizuotas NaOH iki reikiamos pH vertės. $c(\text{APDC}) = 5$ mmol/L.



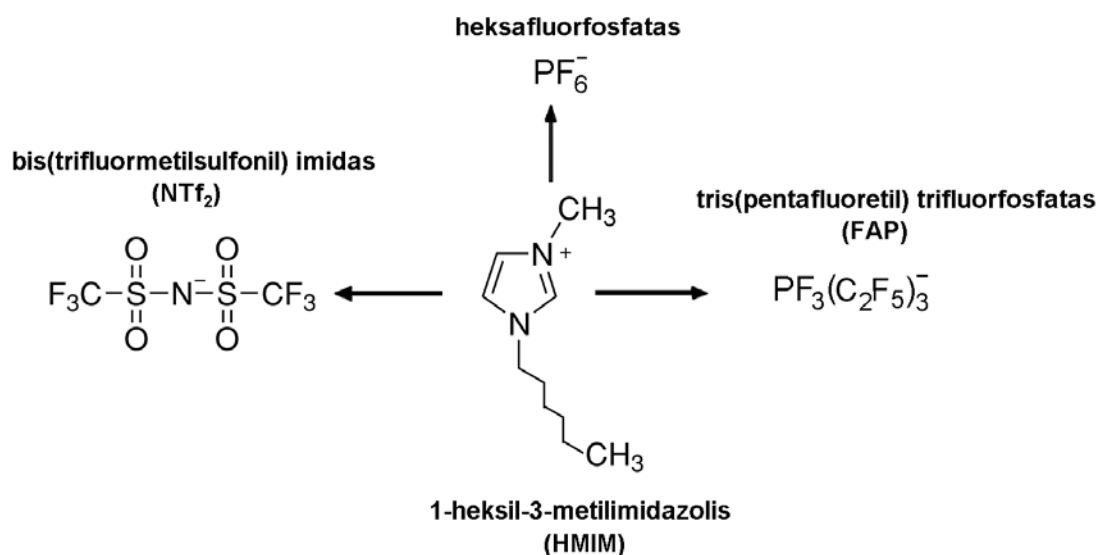
3.22 pav. Me-APDC kompleksų (0,1 mmol/L) smailių plotų priklausomybė nuo APDC/Me molinio santykio (pH 3).

Galiausiai ištyrėme reakcijos trukmės įtaką kompleksų susidarymui. Standartiniai analičių tirpalai buvo analizuojami iš karto po APDC pridėjimo (t.y. maždaug po 1 min) bei praėjus 3, 5, 10 ir 15 min nuo reagento pridėjimo. Nustatėme, kad susidarę Me-APDC kiekiai visiškai nepriklauso nuo reakcijos trukmės, t.y. kompleksai susidaro iš karto pridėjus reagentą.

Visi tolimesni tyrimai buvo atliekami ~0,05 mol/L natrio formiatiniame buferyje (pH 3) metalų kompleksavimui naudojant ne mažesnę nei ~50-kartinį APDC perteklių.

3.3.3. Ekstrahento ir dispergento parinkimas

DSME tyrimams pasirinkome tris hidrofobinius 1-heksil-3-metilimidazolio (HMIM) joninius skysčius, kurių struktūros pavaizduotos 3.23 pav. Pagrindinės jų charakteristikos surašytos 3.8 lentelėje. Kadangi DSME metode ekstraktas įprastai surenkamas mikrošvirštu, ekstrahento klampa labai svarbi šiai procedūrai.



3.23 pav. Darbe tirtų imidazolio joninių skysčių struktūros.

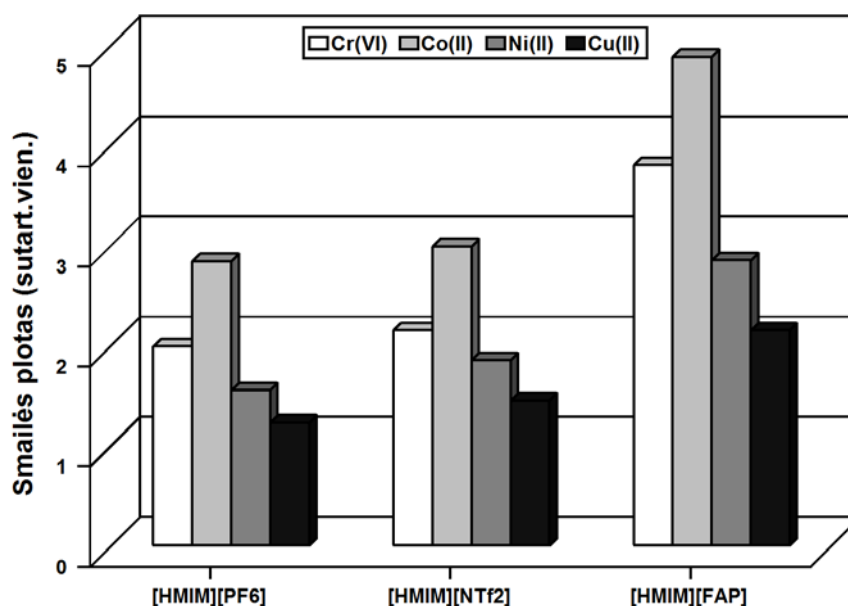
3.8 lentelė

Darbe naudotų imidazolio joninių skysčių charakteristikos [124, 125]

Joninis skystis	Tankis, g/mL	Tirpumas H ₂ O, g/100 g	Klampa, mPa·s
[HMIM][PF ₆]	1,29-1,31	0,75	560-586
[HMIM][NTf ₂]	1,33	0,34	70
[HMIM][FAP]	1,56	0,038	74

Preliminarius DSME tyrimus atlikome su dviem koncentracijų (50 ir 100 µg/L) metalų standartiniais tirpalais. Ekstrakcijai naudojome 0,5 mL metanolio (dispergentas) ir 50 µL atitinkamo joninio skysčio mišinį. Po ekstrakcijos ir centrifugavimo, viršutinis vandens mėginio sluoksnis buvo nuimamas švirškštu. Dėl nevienodo joninių skysčių tirpumo vandenyje, po ekstrakcijos likusių ekstraktų tūriai buvo skirtingi. Todėl siekiant eliminuoti skirtingų tūrių įtaką rezultatams, visi ekstraktai buvo skiedžiami acetonitrilu iki 1 mL ir analizuojami UESCh metodu. Iš 3.24 pav. pateiktų rezultatų matyti, kad gauti rezultatai gerai koreliuoja su tiriamų joninių skysčių hidrofobiškumu: geriausiomis ekstrahuojančiomis savybėmis pasižymi hidrofobiškiausias (blogiausiai vandenyje tirpus) [HMIM][FAP]. Jis ir buvo pasirinktas tolesniems tyrimams.

Toliau buvo palyginta disperguojančio tirpiklio prigimties įtaka metalų kompleksų ekstrakcijai. Buvo tiriami ir palyginami keturi dispergentai: acetonas, etanolis, acetonitrilas ir metanolis. Nustatėme, kad dispergento prigimties įtaka nėra reikšminga, todėl tolesniems tyrimams disperguojančiu tirpikliu pasirinkome metanolį.



3.24 pav. Joninio skysčio prigimties įtaka Me-APDC kompleksų (100 µg/L kiekvieno metalo) ekstrakcijos efektyvumui. Mėginys – 5 mL, pH 3,0, c(APDC) = 0,05% (m/v). Ekstrahento mišinys – 50 µL joninio skysčio + 0,5 mL MeOH.

3.3.4. Ekstrakcijos sąlygų tyrimas

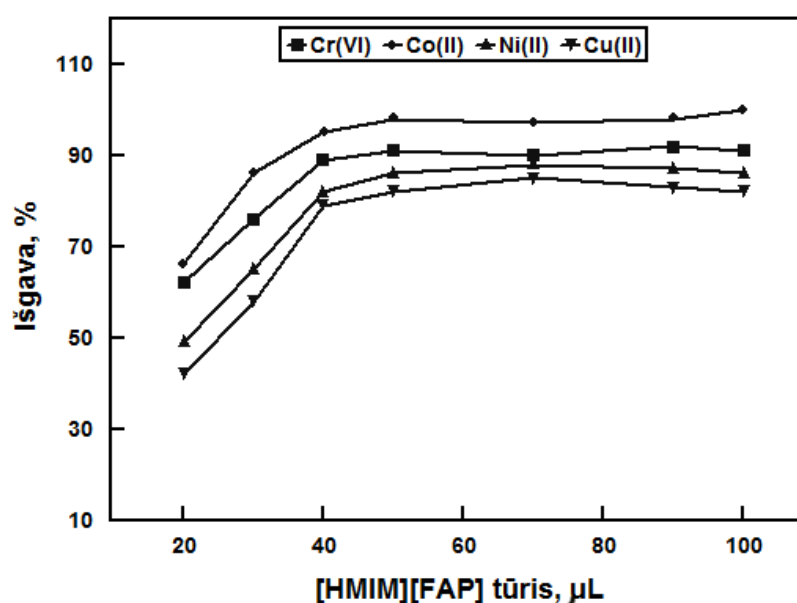
Ekstrahuojančio tirpiklio tūrio įtaka. 3.25 pav. pateikta tiriamų metalų kompleksų išgavų priklausomybė nuo ekstrahuojančio tirpiklio [HMIM][FAP] tūrio. Išgavos buvo skaičiuojamos naudojantis formule:

$$\text{Išgava (\%)} = (S_e \cdot V_e / S_{pr} \cdot V_{pr}) \cdot 100\%$$

S_e ir S_{pr} – Me-APDC komplekso smailės plotai išmatuoti ekstrakto ir pradiniam tirpale be ekstrakcijos. V_e ir V_{pr} – ekstrakto ir pradinio mėginio tirpalo (5 mL) tūriai. Kadangi mikrošvirkštu sunku tiksliai išmatuoti gauto ekstrakto tūrį, šiame tyrime visi ekstraktai buvo skiedžiami ACN iki 1 mL (t.y. $V_e=1$ mL).

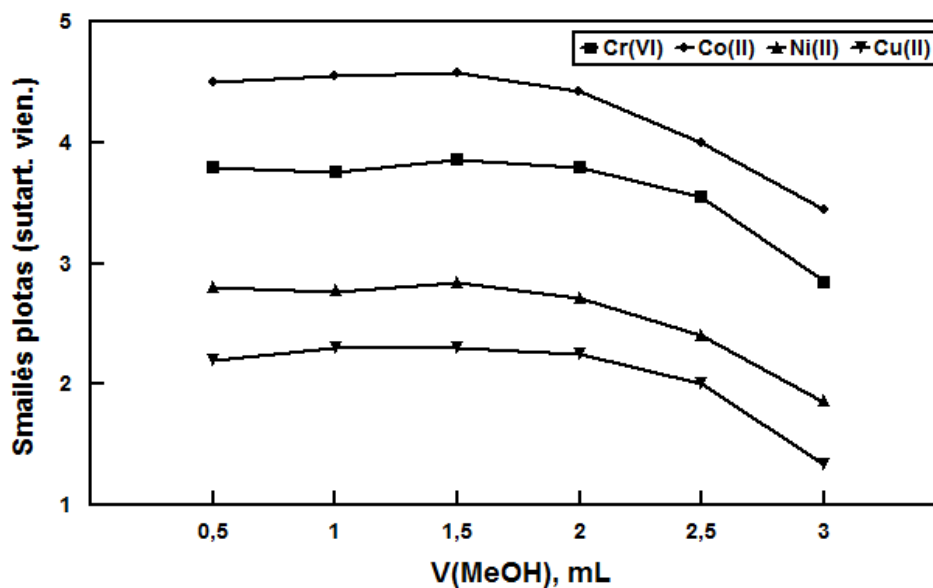
Iš pateiktų rezultatų matyti, kad visų kompleksų išgavos pasiekia maksimalias vertes, kai joninio skysčio tūris viršija 40 µL. Cr(VI), Cu(II) ir Ni(II) kompleksams maksimalios išgavos siekia 78-89%, ir tik Co(II) – viršija 90%. Tokios išgavų vertės ekstrahuojant standartinius tirpalus liudija, kad pakankamai reikšminga analičių dalis ekstrakcijos metu yra prarandama.

Detaliau patyrinėjus sistemą buvo pastebėta, kad po centrifugavimo nedidelė dalis ekstrakto lieka ant mėgintuvėlio šoninės sienelės. Skiedžiant ekstraktą acetonitrilu ši ekstrakto dalis nebuvo suplaunama. Atlikus pakartotinius ekstrakcijos išgavų matavimus, ekstrakto skiedimo metu kruopščiai apiplaunant ir mėgintuvėlio sieneles, išgavos visiems metalams buvo 95-102% intervale. Būtina pažymėti, kad toks sienelių plovimas visiškai nereikalingas, kai po mėginio centrifugavimo nusėdęs ekstraktas neskiedžiamas, o tiesiogiai analizuojamas. Tolesniems tyrimams pasirinkome 80 μL joninio skysčio tūrį.



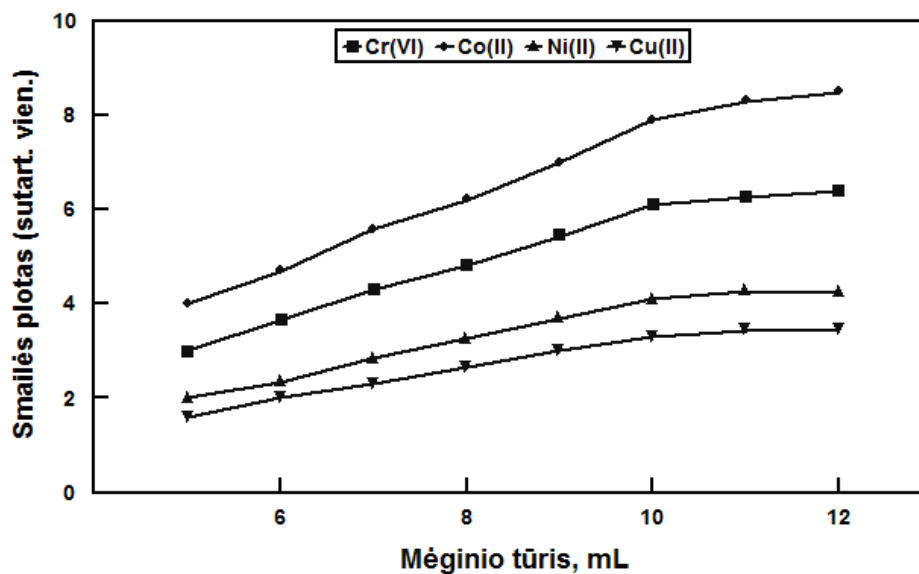
3.25 pav. [HMIM][FAP] tūrio įtaka metalų kompleksų ekstrakcijos efektyvumui. Sąlygos kaip ir 3.24 pav.

Disperguojančio tirpiklio tūrio įtaka. Optimizuojant disperguojančio tirpiklio (MeOH) tūrį, [HMIM][FAP] tūris buvo palaikomas pastoviu (80 μL), o MeOH tūris buvo keičiamas nuo 0,5 iki 3 mL. Esant mažesniui nei 0,5 mL MeOH tūriui nesusidaro emulsija. Nustatėme (3.26 pav.), kad MeOH tūrio didinimas iki maždaug 2 mL išekstrahuotų kompleksų kiekių neįtakoja. Ir tik tai esant didesniems nei 2 mL MeOH tūriams, kompleksų smailių plotai pradeda mažėti greičiausiai dėl padidėjančio kompleksų tirpumo vandens-metanolio mišinyje. Pasirinkome minimalų 0,5 mL MeOH tūrį.



3.26 pav. Disperguojančio tirpiklio (MeOH) tūrio įtaka Me-APDC kompleksų (100 µg/L kiekvieno metalo) ekstrakcijos efektyvumui. Mėginio tūris – 5 mL. Ekstrahento mišinys – 80 µL [HMIM][FAP] atitinkamame MeOH tūryje.

Mėginio tūrio įtaka. Siekdami maksimalaus jautrio, ištyrėme mėginio tūrio įtaką metalų ekstrakcijos efektyvumui (3.27 pav.). Matome, kad didinant mėginio tūrį nuo 5 iki 10 mL, tiriamų kompleksų smailių plotai taip pat proporcingai didėja. Pavyzdžiui, Cr-APDC smailės plotas padidėjo nuo 3,05 ekstrahuojant iš 5 mL mėginio iki 6,15 ekstrahuojant iš 10 mL mėginio. Tuo tarpu dar padidinus mėginio tūrį iki 12 mL, analičių smailių plotai jau visiškai nepadidėjo arba padidėjo tik nežymiai. Taigi, kai mėginio tūris viršija 10 mL, mėginio/ekstrahento tūrių santykis jau per didelis kiekybinei analičių ekstrakcijai.

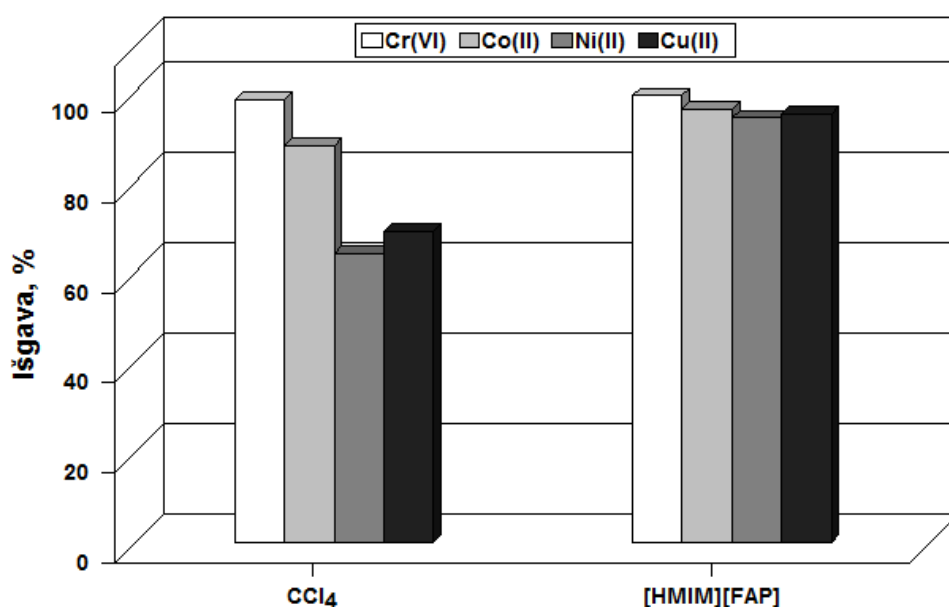


3.27 pav. Mėginio tūrio įtaka Me-APDC kompleksų (100 µg/L kiekvieno metalo) ekstrakcijos efektyvumui. Ekstrahento mišinys – 80 µL [HMIM][FAP] + 0,5 mL MeOH.

3.3.5. [HMIM][FAP] ir CCl₄ ekstrahuojančių savybių palyginimas

Tradicinėje DSME ekstrahentu dažniausiai naudojamas anglies tetrachloridas. Todėl buvo įdomu palyginti CCl₄ ir [HMIM][FAP] ekstrahuojančias savybes toms pačioms analitėms. Vienodų koncentracijų metalų kompleksų tirpalus (50 ir 100 µg/L) ekstrahavome abiem ekstrahentais identiškose sąlygose. CCl₄ tirpumas vandenyje didesnis už [HMIM][FAP] tirpumą, be to CCl₄ nesuderinamas su analičių chromatografiniam atskyrimui naudojama judria faze. Todėl su abiem ekstrahentais gauti ekstraktai po centrifugavimo buvo skiedžiami acetonitrilu iki 1 mL kruopščiai suplaunant nuo indo sienelių ekstrahento likučius ir analizuojami. Iš 3.28 pav. pateiktų išgavų vienai analičių koncentracijai matyti, kad ekstrakcija joniniu skysčiu yra efektyvesnė. Su [HMIM][FAP] visi keturi kompleksai išekstrahuojami kiekybiškai (išgavos ≥95%). Tuo tarpu su CCl₄ pilnai išekstrahuojami tik Cr-APDC (išgava 97%) ir iš dalies Co-APDC (išgava 84%) kompleksai. Panašūs rezultatai buvo gauti ir kitai tiriamų analičių koncentracijai. Viena iš galimų blogesnio ekstrakcijos anglies tetrachloridu efektyvumo priežasčių - dvigubai didesnis CCl₄ tirpumas vandenyje. Todėl papildomai buvo atlikta analičių

ekstrakcija ir su didesniais CCl_4 tūriais (100 ir 150 μL). Tačiau ir padidinus CCl_4 tūrį, nustatytos Ni^{2+} ir Cu^{2+} kompleksų išgavos neviršijo 70%. Tokie rezultatai rodo, kad geresnis ekstrakcijos joniniu skysčiu efektyvumas pasiekiamas geresnių jo metalų chelatus tirpinančių savybių ir/arba efektyvesnės dispersinės fazės (mažesni emulsijos lašeliai) sudarymo dėka. Be to, nedidelė ekstrahentu naudojamo joninio skysčio [HMIM][FAP] klampa bei jo suderinamumas su UESCh judria faze leidžia tiesiogiai (neskiedžiant acetonitrilu) analizuoti gautą ekstraktą ir tokiu būdu dar padidinti analičių sukonzentravimo laipsnį.

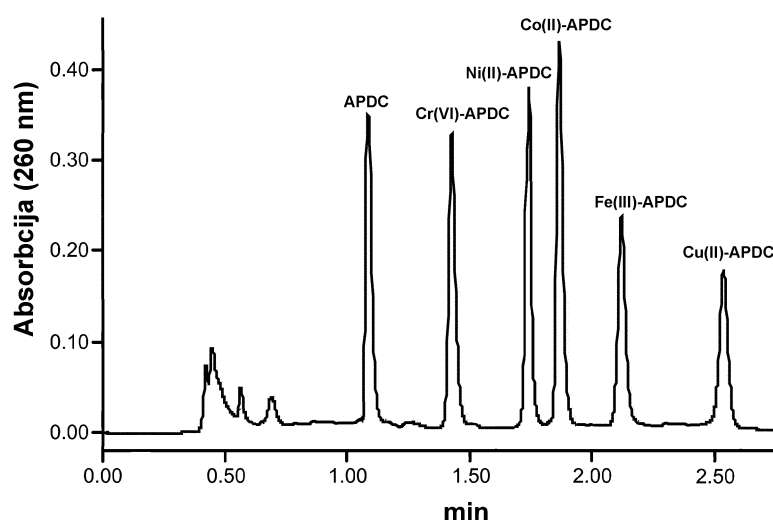


3.28 pav. CCl_4 ir HMIM ekstrahuojančių savybių palyginimas. Mėginio tūris – 5 mL. Ekstrahento mišinys – 60 μL atitinkamo tirpiklio + 0,5 mL MeOH. Analičių koncentracija 100 $\mu\text{g/L}$ kiekvieno metalo.

3.3.6. Metodo atrankumo tyrimas

APDC gali sudaryti kompleksus su visa eile metalų katijonų, tokių kaip Fe^{3+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} ir kt. Pašaliniai metalai gali trukdyti tiek tiriamų analičių nustatymui UESCh metodu, tiek ir jo mikroekstrakcijai iš realių mėginių. Be to, nors iš literatūros šaltinių žinoma, kad Cr^{3+} visiškai nereaguoja su APDC esant $\text{pH} < 6$, papildomai tyrėme ir jo įtaką. Pirmiausiai ištyrėme ar pašalinių metalų kompleksai netrukdo chromatografiniam analičių nustatymui.

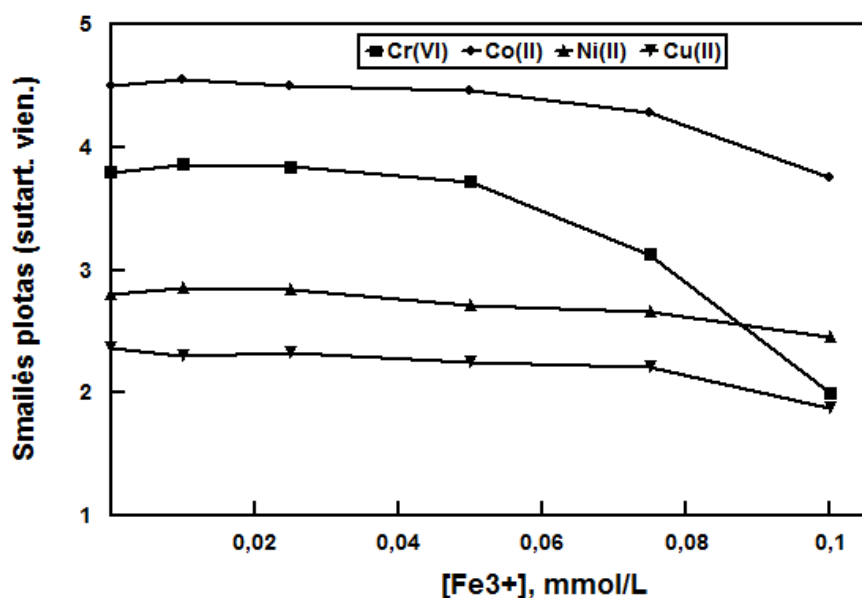
Šiam tikslui ruošėme standartinius atitinkamų metalų katijonų tirpalus (0,1 mmol/L) veikėme juos ~10-kartiniu APDC pertekliumi formiatiniame buferyje (pH 3), skiedėme (1:5) acetonitrilu ir analizavome optimizuotose UESCh sąlygose. Zn²⁺, Cd²⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ ir Cr³⁺ metalų kompleksams su APDC chromatogramose apskritai neregistravome jokių signalų, išskyrus laisvo APDC smailę. Cr³⁺ atveju tai susiję su labai lėtu komplekso susidarymu, o Zn²⁺, Cd²⁺, Ca²⁺ ir Mg²⁺ katijonų kompleksų su APDC patvarumas nepakankamas ir jie suyra chromatografinio atskyrimo metu. Tuo tarpu Fe³⁺ kompleksas yra registruojamas, tačiau jo smailė nepersikloja su analičių smailėmis ir netrukdo jų chromatografiniam nustatymui. Tai iliustruoja 3.29 pav. pateikta tiriamų analičių ir Fe³⁺ kompleksų su APDC mišinio chromatograma.



3.29 pav. Tiriamų analičių ir Fe³⁺ kompleksų su APDC mišinio chromatograma.

Toliau tyrėme pašalinių metalų katijonų įtaką analičių mikroekstrakcijai. Buvo ruošiami standartiniai pastovios koncentracijos (50 ir 100 µg/L) tiriamų katijonų druskų tirpalai su skirtingomis (nuo 0 iki 0,1 mmol/L) pašalinio metalo katijono koncentracijomis. Po kompleksavimo, mikroekstrakcijos ir centrifugavimo, ekstraktuose buvo matuojami išekstrahuotų tiriamų Me-APDC kiekiai (t.y. smailės plotai). Nustatėme, kad Cr³⁺, Zn²⁺, Cd²⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ koncentracijų didinimas iki 0,1 mmol/L visiškai neįtakėjo išekstrahuotų

analičių kiekių. Tuo tarpu Fe^{3+} jonų koncentracijai viršijus 0,05 mmol/L, išekstrahuotas Cr(VI)-APDC kiekis (smailės plotas) pradeda ženkliai mažėti. Kitų trijų analičių ekstrakcijai Fe^{3+} įtaka ne tokia ryški. Tai iliustruoja 3.30 pav. pateiktos analičių smailių plotų priklausomybės nuo Fe^{3+} koncentracijos mėginyje. Fe^{3+} su APDC sudaro pakankamai patvarų kompleksą, todėl tikėtina, kad didinant geležies koncentraciją, pirmiausiai nebeužtenka reagento Cr(VI) redukcijai ir kompleksavimui, o pridėjus jos dar daugiau - ir kitų analičių kompleksavimui. Kadangi, lyginant su kitų metalų katijonais, realiuose vandens mėginiuose Fe^{3+} koncentracija dažnai būna didelė, būtina pašalinti jos įtaką. Ši problema buvo išspręsta padidinus APDC koncentraciją mėginyje. Buvo nustatyta, kad didinant pridedamo į mėginį APDC kiekį, geležies jonų įtaka analičių ekstrakcijai silpnėja ir, galiausiai, visiškai panaikinama. Optimizuotose sąlygose į 10 mL tiriamo mėginio buvo pridedama 0,5 mL 4% APDC (m/v) tirpalo. Tokiose sąlygose geležies jonų koncentracijos didinimas iki 0,2 mmol/L, tiriamų kompleksų ekstrakcijos nebeįtakoja. Detali DSME procedūra pateikta skyriuje Eksperimento metodika.



3.30 pav. Fe^{3+} koncentracijos įtaka Me-APDC kompleksų (100 $\mu\text{g/L}$ kiekvieno metalo) ekstrakcijos efektyvumui.

3.3.7. Analizinės charakteristikos ir taikymas

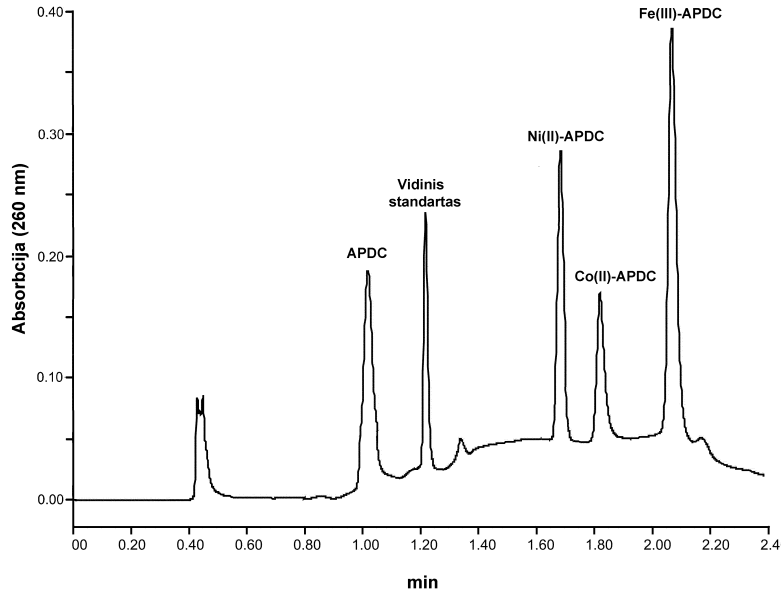
Mikroekstraciniai metodai nepasižymi geru rezultatų atsikartojamumu, todėl kiekybinė analizė dažniausiai atliekama naudojant vidinį standartą. Vidiniu standartu pasirinkome fenil-2-acetiloksibenzoatą, kuris yra stabilus, puikiai ekstrahuojasi optimizuotose sąlygose, yra atskiriamas nuo tiriamų analičių bei stipriai absorbuoja šviesą 260 nm bangos ilgyje. Kalibracinių kreivių tiesiškumas buvo matuojamas su septyniomis skirtingoms tiriamų metalų koncentracijoms ir pastovia (į mėginį pridedama 0,5 mL 0,02 mmol/L vidinio standarto) vidinio standarto koncentracija. Matuojamas analizinis signalas – analitės ir vidinio standarto smailių plotų santykis. Kiekvienos koncentracijos tirpalas buvo matuojamas po 3 kartus. Aptikimo ribos buvo nustatomos esant signalo/fono triukšmų santykiui 3. Išmatuotos analizinės charakteristikos surašytos 3.9 lentelėje.

3.9 lentelė

Pagrindinės metalų nustatymo charakteristikos (n=3)

Analitė	Tiesiškumo intervalas (µg/L)	Koreliacijos koeficientas, R^2	Aptikimo riba (µg/L)
Cr(VI)	1,5 - 200	0,9978	0,5
Co(II)	1,0 - 100	0,9984	0,3
Cu(II)	5,0 - 150	0,9950	2,0
Ni(II)	5,0 - 150	0,9916	1,5

DSME metodas skirtas analičių ekstrakcijai iš vandeninių mėginių. Todėl metodo tinkamumui įvertinti atlikome dviejų etaloninių vandens pavyzdžių analizę: natūralaus vandens NIST SRM 1643e ir nutekamojo vandens BCR-544. 3.31 pav. pavaizduota natūralaus vandens etaloninio pavyzdžio ekstrakto chromatograma. Tyrimų rezultatai pateikti 3.10 lentelėje.



3.31 pav. Natūralaus vandens etaloninio pavyzdžio NIST SRM 1643e ekstrakto chromatograma. Kolonėlė: Acquity UPLC BEH C18. Judri fazė: 70:30 v/v ACN/H₂O. Judrios fazės greitis - 0,5 mL/min. Bangos ilgis - 260 nm.

Nors gautų rezultatų atitikimas sertifikuotoms koncentracijoms nebuvo statistiškai įvertintas, iš pateiktų rezultatų akivaizdu, kad optimizuotas metodas puikiai tinka metalams vandenyse nustatyti. Pagrindiniai DSME-UESCh metodo privalumai – sunaudojami minimalūs organinių tirpiklių kiekiai, labai paprasta ekstrakcijos procedūra, o ekstrakcijos trukmė - tik keliolika sekundžių. Pilna mėginio paruošimo analizei trukmė ~5 min. O kartu su chromatografiniu nustatymu visas analizės ciklas trunka tik apie 10 min.

3.10 lentelė

Metalų nustatymo etaloniniuose vandens pavyzdžiuose rezultatai (n=3)

Etaloninis pavyzdys	Analitė	Sertifikuota koncentracija, $\mu\text{g/L}$	Nustatyta koncentracija ($\mu\text{g/L}$) \pm PI (95%)
NIST SRM 1643e (natūralus vanduo)	Co	$27,1 \pm 0,3$	$26,2 \pm 2,4$
	Ni	$62,4 \pm 0,7$	$64,8 \pm 3,8$
BCR-544 (nutekamasis vanduo)	Cr(VI)	$22,8 \pm 1,0$	$21,5 \pm 2,1$

3.4. Mikroekstrakcijos joniniais skysčiais būdų palyginimas

Svarbus joninių skysčių privalumas tradicinių ekstrahentų (chlorintų angliavandenilių) atžvilgiu – galimybė inicijuoti dispersinę fazę nenaudojant disperguojančiojo tirpiklio. Pastaruoju metu publikuota nemažai darbų [61], kuriuose ekstrahuojant joniniais skysčiais dispersinės fazės susidarymas buvo inicijuojamas temperatūra arba ultragarsu ir temperatūra. Nors inicijuojant dispersinę fazę abiem alternatyviais būdais mikroekstrakcijos trukmė ženkliai padidėja, teigiama, kad disperguojančio tirpiklio eliminavimas pagerina mikroekstrakcijos efektyvumą. Deja, jokie palyginamieji tyrimai, įrodantys minėtų sistemų privalumus iki šiol nebuvo atlikti. Todėl buvo įdomu tiriamai analičių sistemai palyginti mikroekstrakcijos joniniu skysčiu efektyvumą naudojant skirtingus dispersinės fazės inicijavimo būdus. Tyrime mikroekstrakcijai buvo naudojamas 30 µL joninio skysčio tūris, t.y. pasirinkome tokį tūrį, su kuriuo inicijuojant dispersinę fazę tirpikliu tiriami kompleksai išekstrahuojami nepilnai (žiūr. 3.25 pav.). Tai įgalintų įvertinti galimą ekstrakcijos efektyvumo padidėjimą inicijuojant dispersinę fazę alternatyviais būdais. Tyrimas buvo atliekamas dviem analičių koncentracijoms (50 ir 100 µg/L). Buvo lyginami išekstrahuotų kompleksų kiekiai (smailių plotai), išmatuoti ekstraktuose, gautuose naudojant skirtingus dispersinės fazės inicijavimo būdus.

1. Inicijavimas disperguojančiu tirpikliu. Į 5 mL standartinio Me-APDC kompleksų tirpalo švirkštu suleidžiamas ekstrahuojantis mišinys (30 µL [HMIM][FAP] + 0,5 mL MeOH). Gauta dispersinė sistema iš karto centrifuguojama (3 min 5000 aps/min), švirkštu nuimama viršutinė vandeningė fazė, o likęs ekstraktas skiedžiamas iki 1 mL acetonitrilu ir analizuojamas.

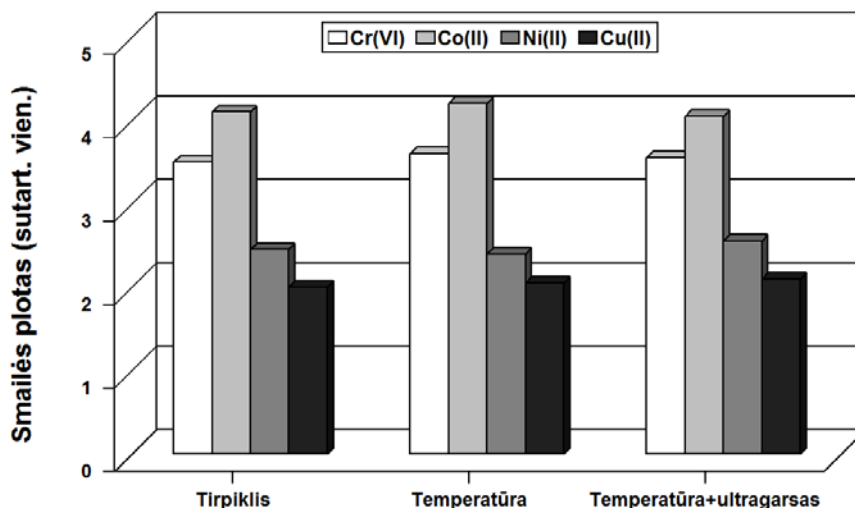
2. Inicijavimas temperatūra. Į 5 mL standartinio Me-APDC kompleksų tirpalo pridedama 30 µL [HMIM][FAP]. Gautas mišinys maišant šildomas vandens vonelėje 60-70°C temperatūroje, kol joninis skystis visiškai ištirpsta (maždaug 2-3 min). Tuomet mėgintuvėlis laikomas šaldytuvo šaldiklyje (-7 °C), kol susidaro dispersinė sistema (maždaug 10 min). Tada tirpalas

centrifuguojamas, švirkštu nuimama vandeninė fazė, o likęs ekstraktas skiedžiamas iki 1 mL acetonitrilu ir analizuojamas.

3. Inicijavimas ultragarsu ir temperatūra. Visos operacijos analogiškos aprašytoms 2 metode, tik šiuo atveju pridėtas joninis skystis ištirpinamas ne šildant, o 15 min veikiant mėginį ultragarsu.

3.32 pav. palygintas ekstrakcijos inicijuojant dispersinę fazę skirtingais būdais efektyvumas 50 µg/L analičių koncentracijai. Panašūs rezultatai buvo gauti ir didesnei koncentracijai. Matome, kad skirtingais būdais išekstrahuotų analičių smalių plotai skiriasi nežymiai – nei vienu atveju smalių plotų skirtumas neviršijo 5%.

Neatmestina galimybė, jog nenaudojant disperguojančiojo tirpiklio pilna analičių ekstrakcija bus pasiekama mažesniu joninio skysčio tūriu nei ekstrahuojant su disperguojančiu tirpikliu. Todėl papildomai buvo palyginta [HMIM][FAP] tūrio įtaką analičių išgavoms trimis ekstrakcijos būdais. Nustatyta, kad padidinus [HMIM][FAP] tūrį iki 40 µL, visais trim ekstrakcijos būdais tiriami kompleksai išekstrahuojami pilnai (išgavos $\geq 90\%$).



3.32 pav. Dispersinės fazės inicijavimo būdo įtaka mikroekstrakcijos efektyvumui. Analčių koncentracija – 50 µg/L.

Apibendrinant galime konstatuoti, kad dispersinės fazės inicijavimo būdas neįtakoja ekstrakcijos joniniais skysčiais efektyvumo. Todėl geriausia mikroekstrakcijai naudoti greičiausią ir paprasčiausią inicijavimo tirpikliu būdą.

IŠVADOS

1. Dėl palyginti didelio tirpumo vandenyje CH_2Cl_2 ir CHCl_3 netinkami Cr(VI)-APDC komplekso mikroekstrakcijai. Kitų keturių tirpiklių (CCl_4 , $\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}$, $\text{C}_6\text{H}_5\text{Br}$ ir $\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2$) ekstrahuojančios savybės labai panašios.
2. Cr(VI)-APDC kompleksas išekstrahuojamas kiekybiškai, kai CCl_4 tūris $\geq 50 \mu\text{L}$. Naudojant didesnius nei 2 mL dispergento (MeOH) tūrius, ekstrakcijos efektyvumas blogėja, greičiausiai dėl padidėjančio komplekso tirpumo vandens-metanolio mišinyje. Maksimalūs sukonzentravimo laipsniai pasiekiami ekstrahuojant iš 8 mL tūrio mėginių.
3. Stiklo paviršiuje susidaro labai nereguliarios formos ir dydžio lašas, o jam išdžiuvus, sausa liekana beveik nematoma. Polistireno paviršiuje gaunami sferinės formos, panašaus dydžio, žymiai greičiau išdžiūstantys lašai, o sausa liekana puikiai matoma ekrane. Nevienoda padėklo medžiagos prigimties įtaka susijusi su tuo, kad hidrofobinis ekstrahentas (anglies terachloridas) gerai drėkina ir brinkina hidrofobinį polistireno paviršių.
4. Išdžiovinto ekstrakto liekanoje Cr(VI)-APDC kompleksas pasiskirsto labai netolygiai: ^{52}Cr ir ^{53}Cr izotopų signalų intensyvumo santykinis standartinis nuokrypis ($n=6$) siekia 11-23%. Vidiniu standartu panaudojus Pt(II), signalų intensyvumo atsikartojamumas pagerėjo maždaug 3-5 kartus.
5. Optimizuotos lazerinio išgarinimo sąlygos ^{52}Cr ir ^{53}Cr izotopų nustatymui: lazerio galia 100 %, kraterio skersmuo – 100 μm , šūvių skaičiaus per sekundę – 20 Hz, skenavimo greitis – 30 $\mu\text{m/s}$.
6. Apjungta dispersinės skystafazės mikroekstrakcijos ir lazerinio išgarinimo ICP-MS sistema panaudota Cr(VI) nustatymui. Cr(VI) aptikimo ribos siekia 0,11 $\mu\text{g/L}$ ^{52}Cr izotopui ir 0,31 $\mu\text{g/L}$ ^{53}Cr izotopui, o Cr(VI) išgavos iš vandentiekio ir upės vandens mėginių sudaro 93-103%.
7. Ultraefektyviosios skysčių chromatografijos metodu izokratinės eliucijos sąlygose Cr(VI), Co(II), Cu(II) ir Ni(II) kompleksai su APDC visiškai atskiriami per 2,5 min. Optimali pH sritis metalų reakcijai su APDC – 2,5-

- 4,5. Pilnam metalų kompleksavimui būtinas ne mažesnis nei 10-kartinis APDC perteklius.
8. Palyginus trijų hidrofobinių imidazolio joninių skysčių ([HMIM][PF₆], [HMIM][NTf₂] ir [HMIM][FAP]) ekstrahuojančias savybes nustatyta, kad efektyviausiai metalų kompleksus ekstrahuoja hidrofobiškiausias [HMIM][FAP]. Visi kompleksai išekstrahuojami kiekybiškai, kai [HMIM][FAP] tūris ≥ 40 μL . DSME joniniu skysčiu efektyvesnė už ekstrakciją identiškose sąlygose anglies tetrachloridu.
 9. DSME-UESCh metodu nustatytos metalų aptikimo ribos siekia 0,5-1,5 $\mu\text{g/L}$. Dviejuose etaloniniuose vandens pavyzdžiuose išmatuotos metalų koncentracijos atitiko sertifikuotas koncentracijų vertes.
 10. Dispersinės fazės inicijavimo būdas neturi įtakos Me-APDC kompleksų ekstrakcijos joniniais skysčiais efektyvumui. Todėl geriausiai mikroekstrakcijai naudoti greičiausią ir paprasčiausią inicijavimo tirpikliu būdą.

PUBLIKACIJOS DISERTACIJOS TEMA

Moksliniai straipsniai:

1. **I. Razmislevičienė**, A. Padarauskas, B. Pranaitytė, E. Naujalis. Determination of Cr(VI) by dispersive liquid-liquid microextraction and dried-droplet laser ablation ICP-MS. *Current Analytical Chemistry*, 6 (2010) 310-315.
2. **I. Razmislevičienė**, V. Olšauskaitė, A. Padarauskas. Ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction combined with ultra performance liquid chromatography for the determination of metal ions. *Chemija*, 22 (2011) 197-203.

Konferencijų medžiagos ir tezės:

1. **I. Razmislevičienė**, A. Padarauskas, B. Pranaitytė, E. Naujalis. Dispersive liquid-liquid microextraction of Cr(VI) followed by ultra-performance liquid chromatographic analysis. Lietuvos 9-osios chemikų konferencijos "Chemija-2009" pranešimų tezės, Vilnius, 2009 spalio 16 d., p. 42.
2. A. Padarauskas, **I. Razmislevičienė**, J. Aukštikalnytė. Dispersive liquid-liquid microextraction followed by ultra-performance liquid chromatography for the determination of metals. Abstracts of the IUPAC International Congress on Analytical Sciences ICAS 2011, May 22-26, Kyoto, Japan, 2011, P. 23P071.
3. **I. Razmislevičienė**, V. Olšauskaitė, A. Padarauskas. Ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction: a comparative study. Abstracts of the 10th International Conference of Lithuanian Chemists "Chemistry 2011", October 14-15, 2011, Vilnius, P. 91.

KITOS PUBLIKACIJOS

1. Ž. Daunoravičius, **I. Juknaitė (Razmislevičienė)**, E. Naujalis, A. Padarauskas. Simple and rapid determination of denaturants in alcohol formulations by hydrophilic interaction chromatography. *Chromatographia*, 63 (2006) 373-377.
2. **I. Razmislevičienė**, R. Baltuškonytė, A. Padarauskas, E. Naujalis. Determination of fumaric and maleic acids by capillary electrophoresis. *Chemija*, Vol. 19, No 3-4 (2008) 31-35.
3. Ž. Černova, **I. Razmislevičienė**, A. Padarauskas. Determination of melamine in milk powder by capillary electrophoresis. *Chemija*, 20 (2009) 231-235.
4. Ž. Daunoravičius, **I. Juknaitė (Razmislevičienė)**, A. Padarauskas. Determination of denaturants by hydrophilic interaction chromatography. Konferencijos “Neorganinių medžiagų chemija ir technologija” pranešimų medžiaga, Kaunas, 2006, 62-63.
5. **I. Razmislevičienė**, A. Padarauskas. Capillary electrophoretic determination of melamine. Lietuvos 9-osios chemikų konferencijos “Chemija-2009” pranešimų tezės, Vilnius, 2009 spalio 16 d., p. 43.

Literatūros sąrašas

1. M. Rezaee, Y. Assadi, M. R. Milani Hosseini, E. Aghaee, F. Ahmadi, S. Berijani. *J. Chromatogr. A*, **1116** (2006) 1.
2. P. Liang, J. Xu, Q. Li. *Anal. Chim. Acta*, **609** (2008) 53.
3. E. Z. Jahromi, A. Bidari, Y. Assadi, M. R. Milani Hosseini, M. R. Jamali. *Anal. Chim. Acta*, **585** (2007) 305.
4. M. A. Farajzadeh, M. Bahram, J. A. Jonsson. *Anal. Chim. Acta*, **591** (2007) 69.
5. S. Berijani, Y. Assadi, M. Anbia, M. R. Milani Hosseini, E. Aghaee. *J. Chromatogr. A*, **1123** (2006) 1.
6. M. T. Naseri, P. Hemmatkhah, M. R. Milani Hosseini, Y. Assadi. *Anal. Chim. Acta*, **610** (2008) 135.
7. A. Sarafraz-Yazdi, N. Razavi, S. Raouf-Yazdinejad. *Talanta*, **75** (2008) 1293.
8. E. Zhao, W. Zhao, L. Han, S. Jiang, Z. Zhou. *J. Chromatogr. A*, **1175** (2007) 137.
9. J. Xiong, B. Hu. *J. Chromatogr. A*, **1193** (2008) 7.
10. N. Fattahi, Y. Assadi, M. R. Milani Hosseini, E. Z. Jahromi. *J. Chromatogr. A*, **1157** (2007) 23.
11. J. S. Chiang, S. D. Huang. *Talanta*, **75** (2008) 70.
12. E. Pusvaškienė, B. Januškevič, A. Prichodko, V. Vičkačkaitė. *Chromatographia*, **69** (2009) 271.
13. V. Andruch, I. Balogh, L. Kocurova, J. Sandrejova. *Applied Spectr. Rev.*, **48** (2013) 161.
14. G. Wei, Y. Li, X. Z. Wang. *J. Sep. Sci*, **30** (2007) 3262.
15. J. H. Guo, X. H. Li, X. L. Cao, Y. Li, X. Z. Wang, X.B. Xu. *J. Chromatogr. A*, **1216** (2009) 3038.
16. M. Rezaee, Y. Yamini, S. Shariati, A. Esrafil, M. Shamsipur. *J. Chromatogr. A*, **1216** (2009) 1511.

17. M. A. Farajzadeh, M. R. Vardast, M. Bahram. *Chromatographia*, **69** (2009) 409.
18. K. Farhadi, M. A. Farajzadeh, A. A. Matin. *J. Sep. Sci*, **32** (2009) 2442.
19. R. Maleki, N. Mohammad Nezhad, N. Samadi, K. Farhadi. *Mikrochim. Acta*, **165** (2009) 97.
20. A. Daneshfar, T. Khezeli, H. J. Lotfi. *J. Chromatogr. B*, **877** (2009) 456.
21. H. Chen, H. Chen, J. Ying, J. Huang, L. Liao. *Anal. Chim. Acta*, **632** (2009) 80.
22. C. Chang, S. Huang. *Anal. Chim. Acta*, **662** (2010) 39.
23. L. Campone, A. L. Piccinelli, L. Rastrelli. *Anal. Bioanal. Chem.*, **399** (2011) 1279.
24. Y. T. Hia, M. Cheng, F. Guo, X. F. Wang, J. Cheng. *Anal. Chim. Acta*, **724** (2012) 47.
25. N. Sagueiro-Gonzales, E. Concha-Grana, I. Turnes-Carou, S. Muniategui-Lorenzo, P. Lopez-Mahia, D. Prada-Rodriguez. *J. Chromatogr. A*, **1223** (2012) 1.
26. P. Liang, H. Sang. *Anal. Biochem.*, **380** (2008) 21.
27. R. E. Rivas, I. Lopez-Garcia, M. Hernandez-Cordoba. *Spectrochim. Acta B*, **64** (2009) 329.
28. P. Liang, L. Peng, P. Yan. *Microchim. Acta*, **166** (2009) 47.
29. P. Liang, E. Zhao, F. Li. *Talanta*, **77** (2009) 1854.
30. M. T. Naseri, M. R. Milani Hosseini, Y. Assadi, A. Kiani. *Talanta*, **75** (2008) 56.
31. H. Jiang, Y. Qin, B. Hu. *Talanta*, **74** (2008) 1160.
32. R. Khani, F. Shemirani, B. Majidi. *Desalination*, **266** (2011) 238.
33. T. A. Kokya, K. Farhadi. *J. Hazard. Mater.*, **169** (2009) 726.
34. M. A. Farajzadeh, M. Bahram, B. G. Mehr, J. A. Jonsson. *Talanta*, **75** (2008) 832.

35. S. Jafarvand, A. Bidari, P. Hemmatkhah, M. R. M. Hosseini, Y. Assadi. *Anal. Lett.*, **42** (2009) 2214.
36. Mihkel Koel (Editor). *Ionic Liquids in Chemical Analysis*, Taylor & Francis Group, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2009.
37. S. Gabriel, J. Weiner. *Chem. Ber.*, **21** (1888) 2669.
38. P. Walden. *Bull. Acad. Sci. St. Petersburg*, **8** (1914) 405.
39. J. S. Wilkes, M. J. Zaworotko. *Chem. Commun.*, **13** (1992) 965.
40. R. J. Soukup-Hein, M. M. Warnke, D.W. Armstrong. *Annu. Rev. Anal. Chem.*, **2** (2009) 145.
41. R. Liu, J. Liu, Y. Yin, X. Hu, G. Jiang. *Anal. Bioanal. Chem.*, **393** (2009) 871.
42. Y. Wang, M. Tian, W. Bi, K. H. Row. *Int. J. Mol. Sci.*, **10** (2009) 2591.
43. S. Pandey. *Anal. Chim. Acta*, **556** (2006) 38.
44. T. Welton. *Chem. Rev.*, **99** (1999) 2071.
45. P. Wasserscheid, T. Welton. *Ionic liquids in synthesis*, Wiley-VCH, Weinheim, 2003.
46. F. Endres, S. Z. El Abedin. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **8** (2006) 2101.
47. D. W. Armstrong, L. F. He, Y. S. Liu. *Anal. Chem.*, **71** (1999) 3873.
48. D. W. Armstrong, L.-K. Zhang, L. He, M. L. Gross. *Anal. Chem.*, **73** (2001) 3679.
49. J. L. Anderson, D. W. Armstrong. *Anal. Chem.*, **77** (2005) 6453.
50. D. W. Armstrong, T. Payagala, L. M. Sidisky. *LC-GC North Am.*, **27** (2009) 596.
51. L. He, W. Zhang, L. Zhao, X. Liu, S. Jiang. *J. Chromatogr. A*, **1007** (2003) 39.
52. M. P. Marszall, T. Baczek, R. Kaliszan. *Anal. Chim. Acta*, **547** (2005) 172.
53. M. P. Marszall, T. Baczek, R. Kaliszan. *J. Sep. Sci.*, **29** (2006) 1138.
54. B. Buszewski, S. Studzinska. *J. Chromatogr. A*, **68** (2008) 1.

55. E. G. Yanes, S. R. Gratz, M. J. Baldwin, S. E. Robison, A. M. Stalcup. *Anal. Chem.*, **73** (2001) 3838.
56. Y. Xu, E. Wang. *J. Chromatog. A*, **1216** (2009) 4817.
57. A. E. Visser, J. D. Holbrey, R. D. Rogers. *Chem. Commun.*, **22** (2001) 2484.
58. S. Dai, Y. H. Ju, C. E. Barnes. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1999) 1201.
59. A. E. Visser, R. P. Swatloski, W. M. Reichert, R. Mayton, S. Sheff, A. Wierzbicki, J. H. Davis Jr., R. D. Rogers. *Environ. Sci. Technol.*, **36** (2002) 2523.
60. H. Zhao, S. Q. Xia, P. S. Ma. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **80** (2005) 1089.
61. V. Vičkačkaitė, A. Padaruskas. *Centr. Eur. J. Chem.*, **10** (2012) 652.
62. Y. Liu, E. Zhao, W. Zhu, H. Gao, Z. Zhou. *J. Chromatogr. A*, **1216** (2009) 885.
63. M. T. Pena, M. C. Casais, M. C. Mejuto, R. Cela. *J. Chromatogr. A*, **1216** (2009) 6356.
64. S. R. Yousefi, F. Shemirani. *Anal. Chim. Acta*, **689** (2010) 25.
65. M. Charebhaghi, F. Shemirani. *Food Chem. Toxicol.*, **49** (2011) 423.
66. Q. Zhao, H. Bai, G. Xie, J. Xiao. *J. Chromatogr. A*, **1177** (2008) 43.
67. P. Berton, E. M. Martinis, R. G. Wuilloud. *J. Hazard. Mater.*, **176** (2010) 721.
68. R. S. Zhao, X. Wang, J. Sun, J. P. Yuan, S. S. Wang, X. K. Wang. *J. Sep. Sci.*, **33** (2010) 1.
69. Q. Zhou, H. Bai, G. Xie, J. Xiao. *J. Chromatogr. A*, **1188** (2008) 148.
70. Q. Zhou, X. Zhang, J. Xiao. *J. Chromatogr. A*, **1216** (2009) 436.
71. K. J. Huang, C. X. Jin, S. L. Song, C. Y. Wei, Y. M. Liu, J. Li. *J. Chromatogr. B*, **879** (2011) 579.
72. S. Li, S. Cai, W. Hu, H. Chen, H. Liu. *Spectrochim. Acta B*, **64** (2009) 666.

73. L. He, K. Zhang, C. Wang, X. Luo, S. Zhang. *J. Chromatogr. A*, **1218** (2011) 3595.
74. H. Abdolmohammad-Zadeh, G.H. Sadeghi. *Talanta*, **81** (2010) 778.
75. Z. Li, Y. Fang, P. Chen, Z. Wang, L. Wang, G. Ren, Y. Huang. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **90** (2010) 856.
76. C. Yao, T. Li, P. Twu, W. R. Pitner, J. L. Anderson. *J. Chromatogr. A*, **1218** (2011) 1556.
77. H. Zhang, X. Chen, X. Jiang. *Anal. Chim. Acta*, **689** (2011) 137.
78. Q. Zhou, X. Zhang, G. Xie. *Analytical Methods*, **3** (2011) 356.
79. L. He, X. Luo, X. Jiang, L. Qu. *J. Chromatogr. A*, **1217** (2010) 5013.
80. C. Yao, W. R. Pitner, J. L. Anderson. *Anal. Chem.*, **81** (2009) 5054.
81. C. R. Brundle, C. A. Evans Jr., S. Wilson (Ed.). *Encyclopedia of Materials Characterization*. Butterworth-Heinemann, USA, 1992.
82. D. J. Douglas, J. B. French. *Anal. Chem.*, **53** (1982) 37.
83. R. Thomas. *Spectroscopy*, **16** (2001) 38.
84. R. Thomas. *Spectroscopy*, **17** (2002) 26.
85. R. E. Russo, X. Mao, H. Liu, J. Gonzalez, S. S. Mao. *Talanta*, **57** (2002) 425.
86. J. Daintith (Ed). *A Dictionary of Chemistry*. Oxford University Press, Oxford, 2008.
87. D. Günther, C. Heinrich. *J. Anal. At. Spectrom.*, **14** (1999) 1369.
88. M. Gagaen, J. M. Mermet. *Spectrochim. Acta B*, **53** (1998) 581.
89. R. Thomas. *Spectroscopy*, **16** (2001) 26.
90. E. R. Denoyer, D. Jacques, E. Debrah, S. D. Tanner. *At. Spectrosc.*, **16** (1995) 1.
91. D. Potter. *Am. Lab*, **18** (1994) 48.
92. R. Thomas. *Spectroscopy*, **16** (2001) 44.
93. F. Adams, R. Gijbels, R. Van Grieken. *Inorganic Mass Spectrometry*. J. Wiley and Sons, New York, 1988.
94. B. A. Thomson, D. J. Douglas, J. J. Corr, J. W. Hager, C. A. Joliffe. *Anal. Chem.*, **67** (1995) 1696.

95. R. Thomas. *Spectroscopy*, **17** (2002) 42.
96. R. Thomas. *Spectroscopy*, **17** (2002) 36.
97. N. Bradshaw, E. F. H. Hall, N. E. Sanderson. *J. Anal. At. Spectrom*, **4** (1989) 801.
98. P. Roos, P. Appelblad, L. Skipperud, A. Sjögren. *NKS-136, "The NKS-Norcmass guide to beginners in ICP-MS"*, (2006) 20.
99. D. Mickevičius. *Cheminės analizės metodai 1d. Žiburio leidykla, Vilnius, 1998.*
100. U. Geismann, U. Greb. *Poster Presentation at Second Regensburg Symposium on Elemental Mass Spectrometry* (1993).
101. A. Montasser (Ed.). *Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry*. Wiley-VCH, Berlin, 1998.
102. K. Hunter. *Atomic Spectroscopy*, **15** (1994) 17.
103. E. R. Denoyer, R. J. Thomas, L. Cousins. *Spectroscopy*, **12** (1997) 56.
104. R. Thomas. *Spectroscopy*, **17** (2002) 34.
105. R. Thomas. *Spectroscopy*, **17** (2002) 24.
106. R. S. Houk. *Anal. Chem.*, **58** (1986) 97A.
107. L. R. Snyder, J. J. Kirkland, J. L. Glajch. *Practical HPLC method development*. 2nd Edition, New York, John Wiley & Sons, Inc. 1997.
108. J. M. Miller. *Chromatography: concepts and contrasts*. New York, John Wiley & Sons, Inc. 1988.
109. R. P. W. Scot. *Liquid chromatography column theory*. New York, John Wiley & Sons, Inc. 1991.
110. U. D. Neue. *HPLC columns: theory, technology, and practice*. Wiley-VCH, 1997.
111. M. Swartz, B. Murphy. *Am. Lab.*, **37** (3) (2005) 22.
112. K. D. Wyndham, J. E. O'Gara, T. H. Walter, K. H. Glose, N. L. Lawrence, B. A. Alden, G. S. Izzo, C. J. Hudalla, P. C. Iraneta. *Anal. Chem.*, **75** (2003) 6781.
113. J. S. Mellors, J. W. Jorgenson. *Anal. Chem.*, **76** (2004) 5441.

114. M. Swartz. *J. Liquid Chromatogr. Relat. Technol.*, **28** (2005) 1253.
115. M. Swartz. *LabPlus Int.*, **18** (3) (2004) 6.
116. J. Castro-Perez, R. Plumb, J. Granger, I. Beattie, K. Jancour, A. Wright. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **19** (2005) 843.
117. I. D. Wilson, R. Plumb, J. Granger, H. Major, R. Williams, E.M. Lenz. *J. Chromatogr. B*, **817** (2005) 67.
118. D. O'Connor, R. Mortishire-Smith. *Anal. Bioanal. Chem.*, **385** (2006) 114.
119. P. D. Rainville, C. L. Stumpf, J. P. Shockcor, R. S. Plumb, J. K. Nicholson. *J. Proteome Res.*, **6** (2) (2007) 552.
120. I. Ali, Z. A. Al-Othman, V. D. Gaitonde, K. K. Dutta. *J. Sep. Sci.*, **35** (2012) 3235.
121. K. S. Subramanian. *Anal. Chem.*, **60** (1988) 11.
122. L. Yang, R. E. Sturgeon, Z. Mester. *Anal. Chem.*, **77** (2005) 2971.
123. I. M. Shaibal, F. Khanom, M. A. Rahman, A. M. S. Alam. *J. Anal. Chem.*, **6** (2005) 35.
124. N. V. Ignatiev, U. Welz-Bierman, A. Kucheryna, G. Bissky, H. Willner. *J. Fluorine Chem.*, **126** (2005) 1150.
125. J. F. Liu, J. A. Jonsson, G. B. Jiang. *Trends Anal. Chem.*, **24** (2005) 20.