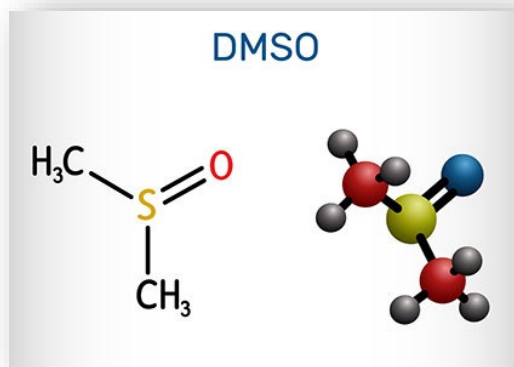
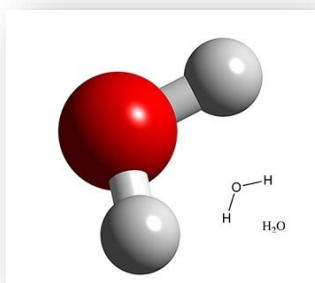
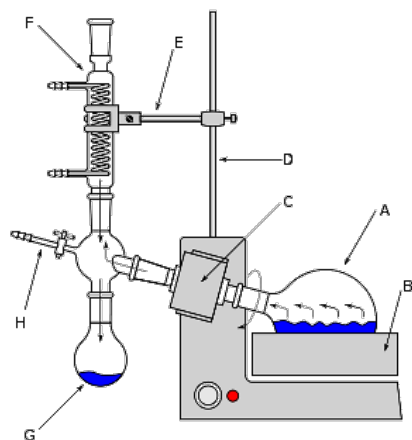


Problematyka odparowania rozpuszczalników o różnym punkcie wrzenia na przykładzie rozwiązań technicznych firmy Biotage®

Rozpuszczalniki są związkami chemicznymi mającymi zdolność do rozpuszczania innych substancji takich jak: gazy, ciecze czy ciała stałe tworząc jednorodne ciecze zwane roztworami. Najbardziej rozpowszechnionym rozpuszczalnikiem w przyrodzie jest woda, która nie tylko warunkuje rozpuszczanie różnego rodzaju związków, ale również stanowi środowisko wielu reakcji biochemicznych zapewniających prawidłowy przebieg procesów życiowych. Podobną funkcję pełnią inne rodzaje rozpuszczalników wykorzystywanych w chemii, jako środowisko różnego rodzaju oddziaływań między cząsteczkowych np. podczas syntezy, ale również stanowią media umożliwiające ekstrakcję różnego rodzaju substancji w celu dalszych badań z wykorzystaniem różnych technik analitycznych.



Zasadniczo rozpuszczalniki występują w postaci cieczy o małej lepkości i niskim punkcie wrzenia. Nie mniej wraz z rozwojem nauki i analityki zaistniała konieczność zastosowania rozpuszczalników o specyficznych właściwościach fizyko – chemicznych, o większej lepkości i gęstości, a przede wszystkim punkcie wrzenia przekraczającym temperaturę 100°C. Pociągnęło to za sobą pewne problemy, gdyż w wielu stosowanych metodykach, w tym w procesie ekstrakcji stosowano procedurę zatężenia próbki poprzez odparowania rozpuszczalnika. O ile stosowane od lat 50 wyparki rotacyjne umożliwiały w miarę szybkie odparowanie większości rozpuszczalników, zwłaszcza lotnych, to w przypadku cieczy o wysokim punkcie wrzenia efektywność tego procesu spadała pomimo zastąpienia łaźni wodnych olejowymi.



Wyparka laboratoryjna, uproszczony schemat. A – kolba okrągłodenna, B – łaźnia wodna, C – zespół napędowy, D – statyw, E – łapa statywu, F – chłodnica zwrotna, G – kolbka-odbieralnik, H – kran z oliwką.

Źródło: Wikipedia

Prawdziwe kłopoty zaczęły się od momentu gwałtownego wzrostu ilości analiz i konieczności jednoczesnego odparowania większej ilości próbek, ale co ważniejsze konieczności zmniejszenia ilości zużywanych rozpuszczalników. Pojawił się również problem czasu, gdyż efektywność tradycyjnie stosowanych metod stała się zbyt niska, a satysfakcjonująca analiza bardzo czasochłonna.

W związku z tym zaczęto poszukiwać rozwiązań technicznych, które pozwoliłyby sprawnie usunąć rozpuszczalnik z większej ilości próbek i skrócić czas ich przygotowania. Najprostszym rozwiązaniem miało być zastosowanie wielostanowiskowych bloków grzejnych wyposażonych w głowicę z nadmuchem gazu obojętnego, który miał zapobiegać zanieczyszczeniu próbek. Rozwiązanie to jednak było obarczone pewnym błędem. Problem polegał na tym, że na skutek wpływu temperatury otoczenia, zwłaszcza latem przy braku klimatyzacji, rzeczywista temperatura w każdej z cel mogła być 2-5°C wyższa od wskazań wyświetlacza, co mogło prowadzić do rozkładu próbki, zwłaszcza niestabilnej termicznie. Inna kwestia dotyczyła ustawienia dysz nadmuchujących azot (N_2), których prostopadłe ustawienie do lustra cieczy często powodowało jej rozprysk na boki, co mogło być przyczyną zanieczyszczenia próbek. Problem też dotyczył rozpuszczalników łatwopalnych, które w przypadku przegrzania urządzenia na skutek awarii mogły ulec samozapłonowi. Tak też bloki grzejne znalazły ograniczone zastosowanie w laboratoriach chemicznych w procesie odparowania próbki.

Statyw

Głowica nadmuchu gazu (N_2)

Aluminiowy blok grzejny

Termostat



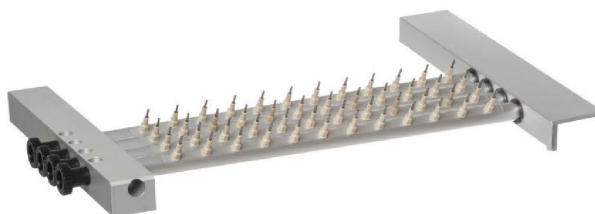
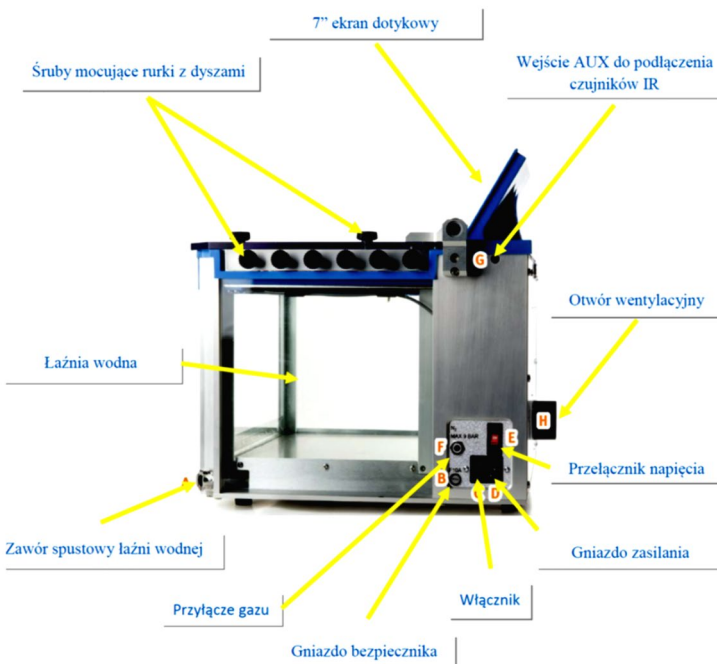
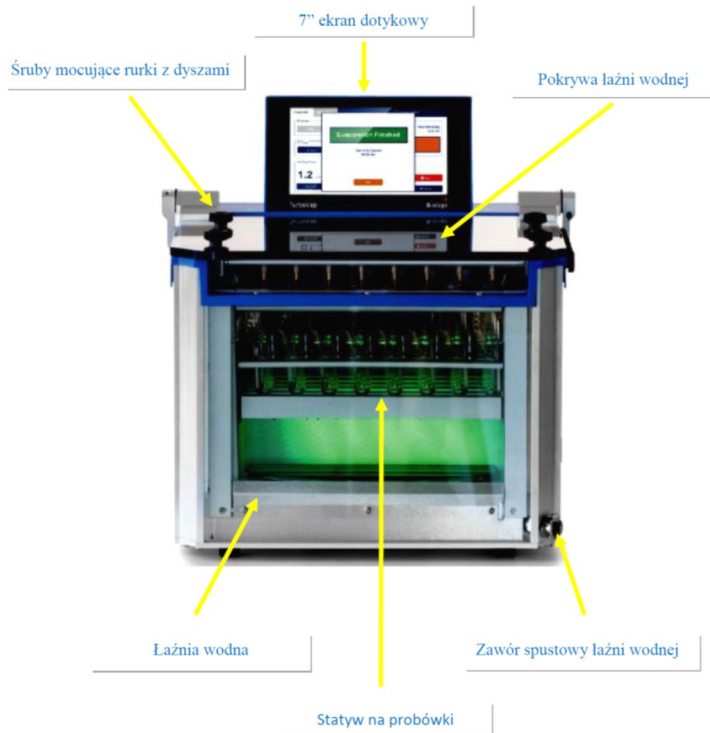
Pod koniec lat 90 dwudziestego wieku amerykańska firma Zymark opracowała urządzenie TurboVap®, którego konstrukcja oparta była na ogrzewaniu próbki w łaźni wodnej i podawaniu gazu obojętnego do wielu próbek zawierających próbki przy pomocy specjalnie zaprojektowanemu systemu dysz.



Zasada działania urządzenia jest niezwykle prosta. Źródłem ogrzewania jest łaźnia wodna, którą można wyposażyć w statywy różnego formatu. Pokrywa wyposażona jest w wymienny system dysz ustawionych pod odpowiednim kątem, które podają gaz obojętny do każdej z próbek wprawiając ciecz w ruch wirowy. Prędkość obrotu cieczy zależy od siły nadmuchu gazu regulowanego zaworem. Dzięki takiemu rozwiązaniu cząsteczki próbki rozrzucają się w kierunku ścianek próbki, a pary podgrzanego rozpuszczalnika ściągane są powierzchniowo i zostają odprowadzone przy pomocy systemu wentylacyjnego zamontowanego w urządzeniu. Obecnie firma Biotage® w znaczny sposób unowocześniła system poprawiając kontrolę nad parametrami załadunku próbki poprzez zastosowanie precyzyjnego sterowania temperaturą łaźni i przepływem gazu (N_2) oraz czujników podczerwieni w celu przerywania procesu odparowania przy określonej objętości próbki.



TurboVap® firmy Biotage.



Przykłady dysz nadmuchu gazu i statywów do aparatu TurboVap®.



Dostępne modele aparatu TurboVap®.

Pomimo szerokiego zastosowania w wielu aplikacjach TurboVap® nie rozwiązał wszystkich problemów analitycznych. Z powodu ograniczeń systemu podgrzewania próbki aparat wykazywał największą sprawność w przypadku odparowywania rozpuszczalników bardzo lotnych np. heksanu. Natomiast jego efektywność gwałtownie spadała przy próbie zatężenia próbki zawierającej rozpuszczalniki o wysokim punkcie wrzenia typu **DMSO, DMF czy woda**.

Rozpuszczalnik	Typ próbek	Objętość początkowa (mL)	Objętość końcowa (mL)	Profil ciśnienia gazu (ciężnienie)	Profil ciśnienia gazu (czas)	Temperatura wody	Czas trwania procesu
	13x100 mm	7	0.5	psi	min.	°C	min.
Aceton		7	0.7 ± 0.3	12-->24	15	50	11
DCM		7	0.5 ± 0.4	12-->24	15	40	15
Heksan		7	0.7 ± 0.3	12-->24	6	60	6
Metanol		7	0.6 ± 0.2	12-->24	18	60	16
Octan etylu		7	0.7 ± 0.4	12-->24	10	65	10
Acetonitryl		7	0.6 ± 0.4	12-->24	30	65	19
	16x100mm	12	0.5	psi	min.	°C	min.
Aceton		12	0.2 ± 0.3	6-->24	15	50	12
DCM		12	0.4 ± 0.1	6-->24	18	40	15
Heksan		12	0.5 ± 0.3	6-->24	7	60	7
Metanol		12	0.3 ± 0.3	6-->24	30	60	23
Octan etylu		12	0.4 ± 0.3	6-->24	15	65	13
Acetonitryl		12	0.5 ± 0.2	6-->24	24	65	20
	15-mL stożkowe	15	0.5	psi	min.	°C	min.
Aceton		15	0.4 ± 0.3	4-->24	16	50	14
DCM		15	0.3 ± 0.1	4-->24	18	40	17
Heksan		15	0.6 ± 0.3	4-->24	8	60	8
Metanol		15	0.4 ± 0.2	4-->24	24	60	22
Octan etylu		15	0.5 ± 0.2	4-->24	24	65	16
Acetonitryl		15	0.5 ± 0.2	4-->24	24	65	22
	50-mL stożkowe	45	0.5	psi	min.	°C	min.
Aceton		45	0.3 ± 0.1	4-->24	24	50	18
DCM		45	0.5 ± 0.1	4-->24	24	40	24
Heksan		45	0.5 ± 0.3	4-->24	21	60	12
Metanol		45	0.5 ± 0.1	4-->24	45	60	22
Octan etylu		45	0.5 ± 0.2	4-->24	33	65	16
Acetonitryl		45	0.5 ± 0.2	4-->24	36	65	22

Przykładowe czasy odparowania rozpuszczalników organicznych.

Z tego powodu firma Biotage® rozpoczęła pracę nad urządzeniem, które wykorzystując różne zjawiska fizyczne umożliwiłoby rozwiązanie tego problemu.

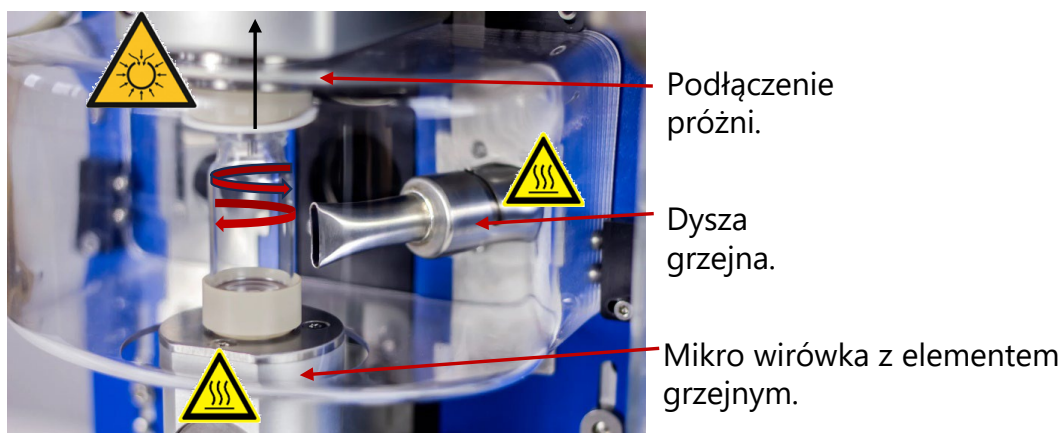
Zadanie to nie okazało się proste, gdyż trzeba było przeanalizować własności fizyko – chemiczne szeregu używanych rozpuszczalników. Większość z nich z powodzeniem mogła być odparowana z wykorzystaniem wcześniej opracowanego urządzenia typu TurboVap®, gdyż ich temperatura wrzenia nie przekracza 100°C. Znalazła się jednak grupa substancji, gdzie ta temperatura osiągała nawet 180°C i wyżej. Dodatkowo trzeba było uwzględnić stabilność termiczną wybranych roztworów próbek z których ma być odparowany rozpuszczalnik.

Bazując na wcześniejszych doświadczeniach związanych z aktualnie wykorzystywanymi aparatami do odparowania inżynierowie z firmy Biotage® stwierdzili, że aby stworzyć efektywnie działające urządzenie należy wykorzystać trzy zjawiska fizyczne: temperaturę, podciśnienie oraz siłę odśrodkową.

Biotage® V-10 Touch – rozwiązanie problemu odparowania rozpuszczalników o wysokim punkcie wrzenia



Od strony technicznej V-10 Touch® w porównaniu z aparatem TurboVap® jest bardzo zaawansowanym automatem, który umożliwia szybkie i ściśle kontrolowane odparowanie zarówno rozpuszczalników o niskiej i wysokiej temperaturze wrzenia. Pomimo złożonej budowy zasada działania aparatu jest stosunkowo prosta.

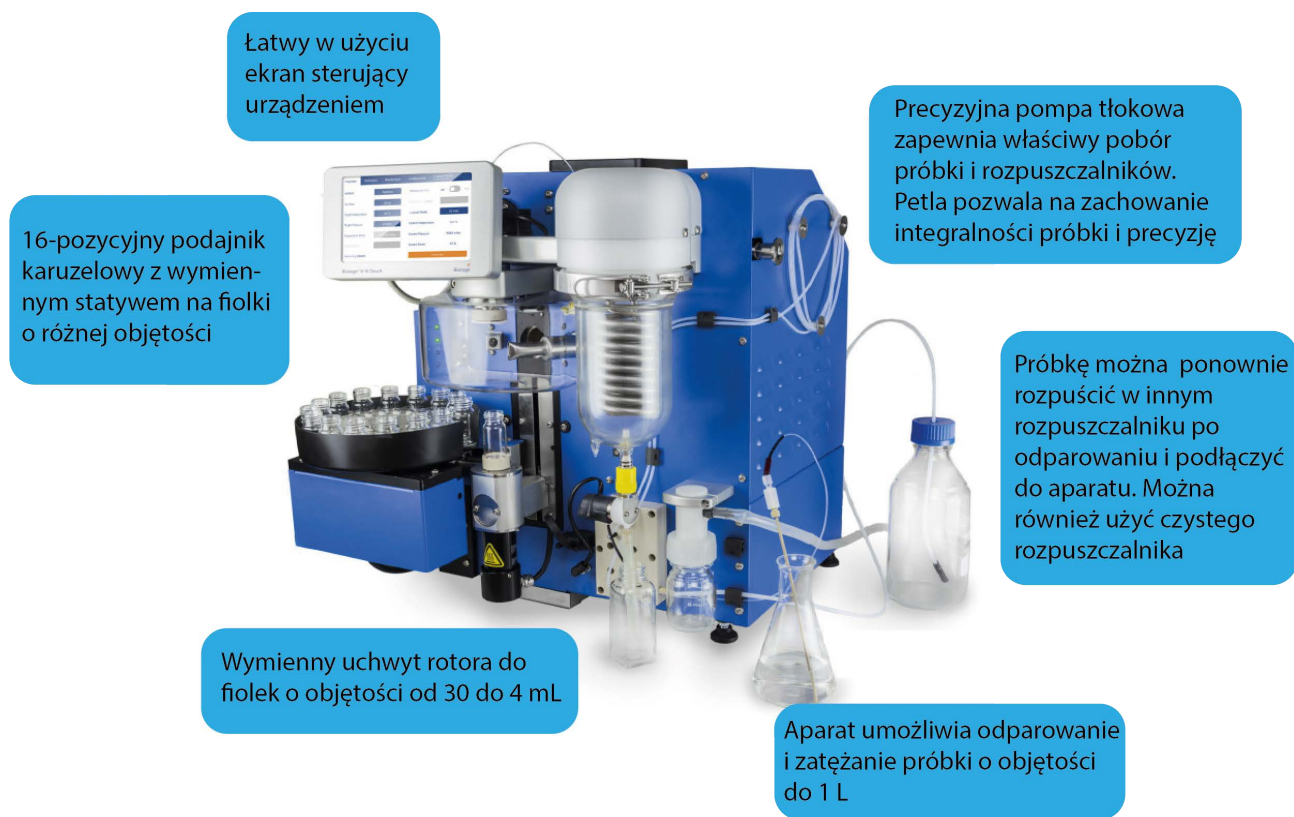


Probówka jest umieszczona w uchwycie dolnym mikrowirówki z termostatem. Na górną część fiolki nałożony jest uchwyt podłączony do głowicy próżniowej. Boczna ściana fiolki ogrzewana jest poprzez nadmuch gorącego powietrza. Podczas wirowania (8000rpm) siła odśrodkowa powoduje osadzanie się cząsteczek próbki na ściankach fiolki. Roztwór podgrzewany jest zarówno z dołu jak i z boku, co daje równomierny rozkład temperatury. Podgrzana ciecz zaczyna odparowywać, a ulotnione cząsteczki rozpuszczalnika zasysane są z powierzchni przez pompę próżniową. Zassane pary rozpuszczalnika kierowane są do kondensatora, gdzie ulegają skropleniu i przeniesieniu do naczynia zbiorczego. Takie rozwiązanie pozwala skutecznie odparowywać rozpuszczalniki o temperaturach wrzenia od 30°C do 160°C, a w przypadku użycia dodatkowej, zewnętrznej pompy próżniowej nawet do 205°C.

Volume & Solvent	Method	Evaporation Time
30 mL Vials		
12 mL NMP	Very-High Boil	18 minutes
12 mL DMSO	Very-High Boil	15 minutes
12 mL DMF	Hi-Boil	7 minutes
12 mL Water	Aqueous	16 minutes
12 mL Ethanol	Volatile	9 minutes
12 mL DCM	High-Volatile	4 minutes
12 mL 50% ACN in Water	HPLC	15 minutes
20 mL Vials		
8 mL Water	Aqueous	8 minutes
8 mL Ethanol	Volatile	5 minutes
8 mL 25% Piperidine in DMF	mx'd Vol + HBP	7 minute

Przykładowe czasy odparowania rozpuszczalników o różnej temperaturze wrzenia.

Aby automatycznie odparować większą liczbę próbek V-10 Touch może być wyposażony w 16-stanowiskowy podajnik karuzelowy lub w automatyczny pipetor firmy Gilson GX-271 pozwalający na obróbkę dużej ilości próbek. Ważną funkcją jest również możliwość odparowywania próbek z objętości 1L. W takim przypadku aparat pobiera zadaną ilość roztworu i dozuje kolejno do fiolek do odparowywania. Jeżeli istnieje taka potrzeba to po odparowaniu aparat może ponownie automatycznie rozpuścić próbkę w innym rozpuszczalniku bez konieczności zmiany naczynia.



Ogólny schemat V-10 Touch wyposażonego w automatyczny podajnik karuzelowy.



Automatyczny pipetor firmy Gilson GX-271.

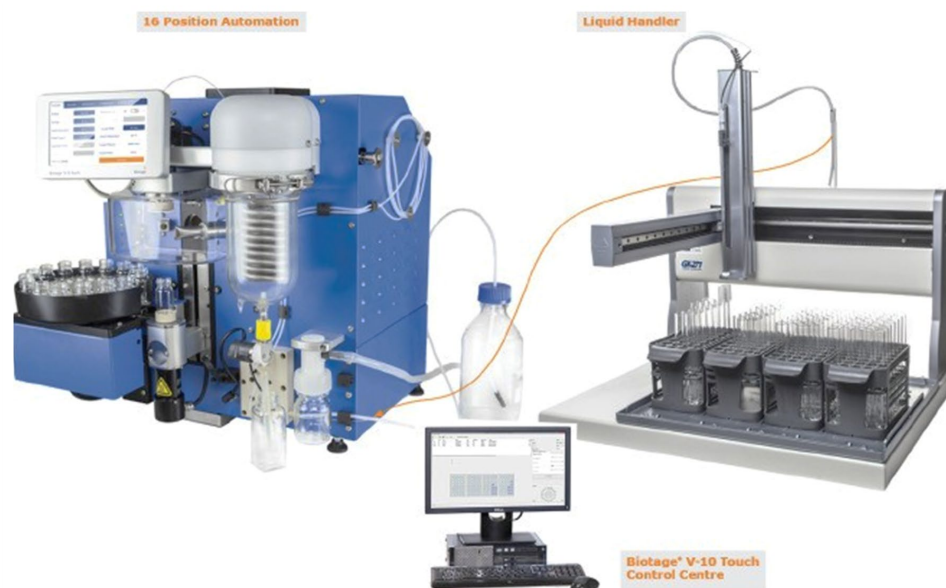


A - Panel wentylacyjny, B - Ekran dotykowy, C – górny uchwyt fiolki, D – Czujnik IR, E – Dysza ogrzewająca próbkę, F – Plastikowa osłona, G – Dolny uchwyt fiolki, H – Ramię unoszące fiolkę I – Przyłącze do zewnętrznej pompy próżniowej, J – Pętla zaciskowa chłodnicy, K – Izolowana próżniowo komora skraplacza, L – Zawór spustowy, M – Przyłącze wydechowe pompy, N – zbiorni wyrównawczy pompy do łapania par rozpuszczalników.

Należy również podkreślić, że twórcy V-10 Touch przemyśleli również aspekt sterowania urządzeniem. Wszystkie ustawienia i niezbędne parametry można wprowadzić poprzez czytelny ekran dotykowy bądź z zewnętrznego komputera w przypadku podłączenia aparatu do automatycznego pipetora GX-271. Standardowe oprogramowanie zawiera wbudowane w pamięć gotowe metody, ale również umożliwia tworzenie własnych procedur. Trochę inaczej ma się sytuacja, jeżeli chodzi o współpracę odparowywacza z pipetorem, gdyż tu wykorzystywany jest osobny program V-10 Touch Control Centre wpisany w pamięć komputera zewnętrznego.



Ekran dotykowy umożliwiający sterowanie i kontrolę procesu odparowania.



Schemat podłączenia zewnętrznego komputera do zestawu V-10 Touch i GX-271.

Podsumowanie

Do tej pory w wielu laboratoriach proces zatężania próbki odbywał się poprzez odparowanie rozpuszczalnika. Ogólny trend do zwiększania ilości badań w mniejszej skali i konieczność zmniejszania ilości używanych rozpuszczalników zmusiło wielu analityków i inżynierów do konstruowania urządzeń, które umożliwiłyby wprowadzanie metod optymalizujących pracę w laboratorium przy jednoczesnym zmniejszeniu kosztów i skróceniu czasu analizy. Celem niniejszej publikacji jest przedstawienie rozwiązań technicznych, umożliwiających efektywne odparowanie różnego rodzaju rozpuszczalników w zależności od ich punktu wrzenia jak i właściwości fizyko-chemicznych. Niewątpliwie szwedzka firma Biotage® zaproponowała rozwiązania, które w dużej mierze zaspokajają zapotrzebowanie runku laboratoryjnego w zakresie skracania procesu zatężania. TurboVap® jest bardzo dobrym rozwiązaniem w przypadku cieczy o niskim punkcie wrzenia jak np. heksan, etanol czy izopropanol. Natomiast aparat V-10 Touch umożliwia zatężanie roztworów próbek zawierających rozpuszczalniki, których temperatura wrzenia przekracza 100°C. Ten niezwykle przemyślany aparat pozwolił wielu użytkownikom przeskalować starsze metody badawcze poprzez zmniejszenie wielkości próbki i rozwiązać szereg problemów związanych z użyciem trudno lotnych cieczy. Dodatkowo stosowanie systemu V-10 Touch pozwala poprawić wydajność reakcji oraz wyeliminować pewne czasochłonne czynności podczas przygotowania próbek:

- etap ekstrakcji ciecz-ciecz
- użycie siarczanu magnezu
- etap liofilizacji
- pozwala na użycie dowolnego rozpuszczalnika (w tym wysokowrzących)

Co więcej, możliwość odzysku odparowanych rozpuszczalników dzięki skraplaniu umożliwia ich bezpieczną utylizację, co wpisuje się w ogólne założenia "Green Chemistry". TurboVap® i V-10 Touch® pozwalają na odparowanie całego spektrum rozpuszczalników organicznych wykorzystywanych w różnych typach laboratoriów niwelując koszty, zmniejszenie ilości stosowanego szkła laboratoryjnego oraz znaczącą redukcję czasu analizy.