

Ekstrakcja pigmentów z osadów jeziornych

Materiały eksploatacyjne i urządzenia

Odczynniki chemiczne

- Aceton **100%** (klasa czystości **HPLC**): rozpuszczalnik.
- Aceton **techniczny**: czyszczenie naczyń i urządzeń.
- Woda **redestylowana** (*MilliQ*).
- Azot techniczny.
- Neodisher Laboclean.

Neodisher LaboClean FLA: płynny, wysoko-alkaliczny środek o wysokim działaniu dyspergującym.

Urządzenia

- Wyciąg laboratoryjny.

Stężony aceton (C_3H_6O) to rozpuszczalnik organiczny, który wymaga pracy pod włączonym **wyciągiem laboratoryjnym**. Aceton jest wysoce **łatwopalny**. Aceton ma silne działanie **drażniące**.

- Myjka ultradźwiękowa.
- Wirówka laboratoryjna.
- Wytrząsarka typu *Vortex*.
- Piec laboratoryjny do wypiekania szkła laboratoryjnego.
- Suszarka laboratoryjna.
- Liofilizator.
- Szklane cylindry wolumetryczne:
 - **500 ml.**
 - **1000 ml.**
- Szklane zlewki do pipetowania acetonu.
- Pipeta do acetonu **1000 μ L** i końcówki (odpowiednie do acetonu).

- Blok grzewczy.
- Ewaporator (parownik azotowy) N₂.
 - Igły do ewaporatora N₂.
 - Metalowy statyw na próbki w brązowych fiolkach.

Np. urządzenie *Turbovap*.

- Statywy na próbki.
- Waga analityczna i urządzenie antystatyczne, mikrołyżeczka.
- Łaźnia lodowa.

Taca wypełniona wkładami chłodzącymi.

Pozostałe

- Falkony polipropylenowe (PP) **25 ml** lub **50 ml** Corning™.
Zwykły plastik reaguje ze stężonym acetonem.
Jednorazowe.
- Fiolki z brązowego szkła z zakrętkami **25 ml** lub **50 ml**.
Etykiety przyklejone taśmą.
- Folia aluminiowa.
- Długie, szklane pipety Pasteura.
Jednorazowe.
- Smoczek silikonowy do pipet.

Czyszczenie

Szkło laboratoryjne musi zostać wypieczone w piecu (**500 °C, 12 h**) lub wyczyszczone acetonem (**5 razy**).

Fiolki brązowe

- Namaczać przez kilka godzin w wodzie z dodatkiem Neodisher Laboclean.
- Umyć w zmywarce laboratoryjnej.
Program do mycia szkła i Neodisher Laboclean.
- Wysuszyć w suszarce.
- Zabezpieczyć folią aluminiową
Upřednio wyczyszczona acetonem lub wypalona.
- Wypiec w piecu w temperaturze **500 °C**.
Minimum **12 h**.

Zakrętki do fiolek brązowych

- Przemyć wodą z kranu.
- Umieścić w zlewce wypełnionej mieszanką **acetonu technicznego** i wody **redestylowanej (MilliQ)** w stosunku **1:1**.
 - Umieścić zlewkę w myjce ultradźwiękowej na **10 minut**.
- Umieścić w zlewce wypełnionej **acetonem technicznym**.
 - Umieścić zlewkę w myjce ultradźwiękowej na **10 minut**.
- Wysuszyć w suszarce.

Odczynniki wykorzystane do mycia można wykorzystać ponownie, po zabezpieczeniu w szklanych butelkach.

Igły do ewaporatora

- Umieścić igły w zlewce wypełnionej acetonem technicznym.
- Umieścić w myjce ultradźwiękowej na **3 × 10 minut**.

Utylizacja

- Aceton zgodnie z wymogami.
- Falkony i szklane pipety Pasteura muszą zostać dokładnie umyte i wyrzucone do recyklingu.

Przygotowanie osadów

- Próbkę wysuszyć w liofilizatorze.

Wysoka temperatura przy suszeniu w suszarce prowadzi do degradacji pigmentów.

Jeśli ekstrakcja wykonana zostanie w ciągu tygodnia, próbki można przechowywać w eksykatorze.

Dłuższej przechowywanie wymaga zamrożenia próbek i ich ponownego dosuszenia.

- Na osobnej części osadów dokonać analizy metodą strat na prażeniu **550 °C**.

Laboratorium PRL: obliczenie koncentracji materii organicznej na podstawie wyników **CNS**.

- Naważyć **0.5 g** zhomogenizowanego osadu do falkonów polipropylenowych (PP) **25 ml**.

Czyścić narzędzia acetonem technicznym, korzystać z urządzenia antystatycznego.

W szczególnych przypadkach masa osadu może wynosić poniżej **0.50 g**, nie mniej niż **0.25 g**.

Przy wysokiej zawartości OM **0.25 g** do **0.50 g**, w przypadku osadów klastycznych **1.00 g**.

- Oznaczyć falkon oraz nakrętkę symbolem próbki.

Ekstrakcja pigmentów

- Przygotować stanowisko pracy, przykryć powierzchnię pod wyciągiem laboratoryjnym folią aluminiową, która uprzednio została wyczyszczona acetonem.
- W miarę możliwości wyłączyć zbędne oświetlenie.
- Przykrywać próbki folią aluminiową.
- Wypełnić zlewkę szklaną acetonem 100%.
Nie pipetować bezpośrednio z butelki.
- Nabrać acetonu do pipety w celu wypłukania.
Zużyty aceton pipetować do osobnej zlewki.
- Dodać 5 ml acetonu do falkona.
Zwrócić uwagę na poprawne pipetowanie, w pipecie nie powinno być pęcherzyków powietrza.
- Wymieszać na Vortexie przez **1 minutę**.
- Umieścić w myjce ultradźwiękowej na **1 minutę**.
- Odwirować.
 - **10 minut**.
 - **5000 rpm**.

Ten krok należy dostosować do możliwości wirówki. Niższe obroty wymagają dłuższego wirowania.

- Sprawdzić czy supernatant jest czysty po odwirowaniu.
Jeśli w rozpuszczalniku widoczna jest zawiesina należy powtórzyć wirowanie. Ciecz może być zabarwiona.
- Usunąć supernatant z użyciem długiej szklanej pipety Pasteura i przenieść do brązowej fiolki.
Fiolka musi mieć odpowiednią etykietę.
Upewnić się, że cały supernatant został przeniesiony z falkona.
- Powtórzyć ekstrakcję dwukrotnie z użyciem **5 ml** acetonu.
- Odpowiednio oznaczone szklane pipety Pasteura pomiędzy cyklami przechowywać w szklanej zlewce.
Każdej brązowej fiolce i falkonowi odpowiada jedna szklana pipeta Pasteura.
- Brązowe fiolki pomiędzy etapami ekstrakcji zakryć przed światłem i przechowywać w łaźni lodowej.
Jeśli supernatant **po trzecim cyklu** ekstrakcji nadal jest **wyraźnie zabarwiony** należy kontynuować ekstrakcję do osiągnięcia **czystego ekstraktu**.
Istotne aby wszystkie próbki w danej serii przeszły **taki sam proces ekstrakcji**.
Tak przygotowane ekstrakty można przechowywać w temperaturze **-20 °C** do około **1 miesiąca**.
Wypełnienie próbówki **N₂** lub **Ar** i usunięcie **O₂** pozytywnie wpływa na zachowanie pigmentów.

Koncentracja i rekonstytucja roztworów

Odparowanie

- Ustawić blok grzewczy i ewaporator azotowy.
- Z użyciem ewaporatora azotowego odparować próbki do suchej pozostałości.

Przed użyciem ewaporatora należy upewnić się, że igły zostały wyczyszczone (Seksja ??).

- Umieścić próbki w brązowych fiolkach w bloku grzewczym pod ewaporatorem azotowym, ustawić temperaturę **35 °C**.
- Otworzyć przepływ azotu.

Ciśnienie ustawić tak, aby zaobserwować niewielkie ugięcie powierzchni roztworu.

- Odparowywać do uzyskania suchej pozostałości (około **4 do 6 godzin**).

Rekonstytucja

- Dodać **2 ml** acetonu do brązowej fiołki z wykorzystaniem pipety **1000 µl**.

Postępować bardzo precyzyjnie, upewnić się, że w pipecie nie ma pęcherzyków powietrza.

- Zhomogenizować roztwór szklaną pipetą Pasteura.
- Spłukać ścianki i w miarę możliwości odwirować na *vortexie*.

Całość pigmentów musi się ponownie rozpuścić w acetonie. Może pojawić się i pozostać biały nalot.

Filtrowanie

Rejestr zmian

09.12.2022, MZ – wersja inicjalna Quarto, procedura za: Andrea Sanchini i Giulia Wienhues (Uniwersytet w Bernie).

09.02.2023, MZ – pełna wersja.

Maurycy Żarczyński r `Sys.Date()`