

**UNIVERZITA KARLOVA**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**  
**KATEDRA ANALYTICKÉ CHEMIE**



**VYUŽITÍ MODERNÍCH MATERIÁLU PRO EXTRAKCI  
TUHOU FÁZÍ V PRŮTOKOVÝCH SYSTÉMECH (REŠERŠE)**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**LUCIE ČERMÁKOVÁ**

**Vedoucí bakalářské práce: PharmDr. Ivana Horstkotte Šrámková, Ph.D.**

**HRADEC KRÁLOVÉ**

**2018**

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové, dne

Lucie Čermáková

## **Poděkování**

Touto cestou bych velmi ráda poděkovala vedoucí bakalářské práce PharmDr. Ivaně Horstkotte Šrámkové, Ph.D. za její podnětné rady, trpělivé a odborné vedení při zpracování dané problematiky.

# OBSAH

|  |    |
|--|----|
| SEZNAM ZKRATEK .....   | 6  |
| 1 ÚVOD .....   | 7  |
| 2 CÍL PRÁCE .....  | 8  |
| 3 TEORETICKÁ ČÁST .....  | 9  |
| 3.1 PRŮTOKOVÉ TECHNIKY .....   | 9  |
| 3.1.1 Průtoková injekční analýza (FIA) .....   | 9  |
| 3.1.2 Sekvenční injekční analýza (SIA) .....   | 11 |
| 3.1.3 Bead injection (BI) .....  | 13 |
| 3.1.4 Sekvenční injekční chromatografie (SIC) .....  | 14 |
| 3.1.5 Lab-in-Syringe (LIS) .....   | 15 |
| 3.2 EXTRAKCE TUHOU FÁZÍ .....  | 17 |
| 3.2.1 Princip .....  | 17 |
| 3.2.2 Formát .....   | 18 |
| 3.2.2.1 Kolonky .....  | 18 |
| 3.2.2.2 Disky .....  | 19 |
| 3.2.2.3 Plněné špičky pipet (Pipette tips, SPE-PT) .....   | 19 |
| 3.2.2.4 Mikrotitrační destičky .....   | 19 |
| 3.2.2.5 Mikroextrakce tuhou fází (SPME) .....  | 20 |
| 3.2.2.6 Mikroextrakce tuhým sorbentem (Microextraction by packed sorbent, MEPS) .....                                  | 20 |
| 3.2.3 Sorbenty .....   | 20 |
| 3.2.3.1 Klasické sorbenty .....  | 21 |
| 3.2.3.2 Moderní sorbenty .....   | 21 |
| 4 AUTOMATIZACE EXTRAKCE TUHOU FÁZÍ POMOCÍ PRŮTOKOVÝCH METOD .....  | 24 |
| 4.1 SPE v průtokové injekční analýze .....   | 24 |
| 4.1.1 Použití sorbentu Amberlite XAD-4 pro extrakci kovových kationtů .....  | 24 |
| 4.1.2 Modifikovaný oxid hlinitý pro stanovení zinku .....  | 25 |
| 4.1.3 Funkcionalizovaná polystyrenová pryskyřice pro on-line prekoncentraci a stanovení kobaltu ve vzorcích vody ..... | 26 |
| 4.1.4 Extrakce polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) na uhlíkových nanotrubičkách .....                         | 27 |

|        |  |    |
|--------|--|----|
| 4.1.5  | Zakoncentrování chloramfenikolu pomocí molekulárně vtištěných polymerů .....   | 29 |
| 4.1.6  | Využití biosorbentu ze semen Moringy olejodárné pro extrakci olova v pivu.....   | 30 |
| 4.1.7  | Nanočásticově vtištěné polymery pro zakoncentrování a stanovení iontů rtuti.....   | 31 |
| 4.1.8  | Modifikovaný bentonit jako minerální adsorbent na bázi jílu pro extrakci stříbrných iontů tuhou fází .....   | 32 |
| 4.1.9  | Nanočástice černého uhlí modifikované 3-merkaptopropyltrimethoxysilanem k zakoncentrování stopového množství kadmia.....   | 33 |
| 4.1.10 | Molekulárně vtištěnými polymery pro zakoncentrování a stanovení 1-hydroxypyrenu v moči.....  | 34 |
| 4.2    | SPE v průtokové injekční analýze s použitím vícero pístových pump .....  | 38 |
| 4.2.1  | RAM pro stanovení atenololu a propranololu v lidské plazmě .....   | 38 |
| 4.3    | SPE v sekvenční injekční analýze.....  | 40 |
| 4.3.1  | On-line spojení sekvenční injekční analýzy a extrakce tuhou fází s využitím materiálů s omezeným přístupem pro extrakci a stanovení propranololu v lidské plazmě ..... | 40 |
| 4.3.2  | Obnovitelný sorbční materiál pro extrakci tuhou fází s přímým spojením SIA-BI na LC-ESI-MS/MS.....   | 41 |
| 4.3.3  | Kovově-organické rámce (MOF) navrstvené na smíšené matricové disky (MMD) pro extrakci fenolických látek před chromatografickou separací ..                             | 42 |
| 4.3.4  | Využití nanovláken v sekvenční injekční analýze .....  | 44 |
| 4.4    | SPE v Lab-on-Valve formátu.....  | 45 |
| 4.4.1  | Obnovitelný celulózný sorbent pro zakoncentrování železa z vysokého objemu vzorku .....  | 45 |
| 4.4.2  | Stanovení stopového množství zinku spojením extrakce tuhou fází a detekcí pomocí fluorescence ve formátu Lab-on-valve .....  | 46 |
| 4.5    | SPE ve spojení s technikou Lab-in-Syringe.....   | 48 |
| 4.5.1  | Extrakce estrogenů na zeolitových imidazolátových rámcích (MPC-ZIF). 48  |    |
| 5      | ZÁVĚR .....  | 52 |
| 6      | SEZNAM OBRÁZKŮ .....   | 53 |
| 7      | Použitá literatura .....   | 54 |

## SEZNAM ZKRATEK

BI – „bead injection“

BIS – „bead injection“ spektroskopie

FAAS – plamenová atomová absorpční spektroskopie

FIA – průtoková injekční analýza

FL – fluorescenční spektrometrie

GC-MS – plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií

HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

ICP-OES – optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

IIP – iontově vtištěné polymery

LC – kapalinová chromatografie

LC-ESI-MS/MS – kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií s elektrosprejem

MOF-MMD – kovově-organické rámce navrstvené na smíšené matricové disky

LIS – „lab-in-syringe“

LLE – extrakce z kapaliny do kapaliny

LOV – „lab-on-valve“

MEPS – mikroextrakce tuhým sorbentem

MIP – molekulárně vtištěné polymery

MOF – kovově-organické rámce

MPC-ZIF – magnetické uhlovodíkové mikročástice získané ze zeolitových imidazolátových rámců

MSFIA – průtoková injekční analýza s použitím vícero pístových pump

RAM – materiály s omezeným přístupem

SI – sekvenční injekce

SIA – sekvenční injekční analýza

SIC – sekvenční injekční chromatografie

SPE – extrakce tuhou fází

SPE-PT – extrakce tuhou fází s použitím plněných špiček pipet

SPME – mikroextrakce tuhou fází

# 1 ÚVOD

Průtokové techniky jsou analytické techniky, které umožňují automatizaci chemických reakcí, úpravy vzorků, monitorování životního prostředí a nalézají i další využití. V současné době patří mezi techniky používané zejména ve výzkumných laboratořích.

Průtokové techniky byly vyvinuty pro zjednodušení manipulace se vzorky a omezení lidských chyb při manipulaci s nimi. Jejich automatizací lze docílit výrazného snížení spotřeby činidel a nákladů na analýzu.

Techniky se dělí do několika základních kategorií: Průtoková injekční analýza (FIA – založená na jednosměrném toku), sekvenční injekční analýza (SIA – založená na obousměrném toku), Bead injection (BI – založená na obousměrném toku a adsorpci na pevné částice) a sekvenční injekční chromatografie (SIC – založená na kombinaci průtokových technik a chromatografie). Vlivem trendu miniaturizace analýz byla vyvinuta také technika Lab-on-valve (LOV). Pro manipulace s větším objemem vzorků a činidel je vhodná technika Lab-In Syringe (LIS).

Extrakce tuhou fází je jednou z nejčastěji používaných technik pro úpravu vzorků před samotnou analýzou. Podstatou extrakce je zachycení molekul analytu na pevné fázi a následné promytí a odstranění matrice. Tato technika je prováděna za účelem přečištění vzorku, odstranění matrice a zakoncentrování stopových množství látek. V současné době jsou stále vyvíjené a testované nové sorbenty s cílem zlepšení vlastností nebo stávajících sorbentů.

Průtokové techniky jsou vhodné techniky pro automatizaci úpravy vzorku a extrakčních postupů, a to jak pro automatizaci kapalinové extrakce, tak pro automatizaci extrakce tuhou fází. Mnohé z moderních sorbentů jsou testovány právě v průtokových systémech.

## **2 CÍL PRÁCE**

Rešeršní práce se zabývá literaturou, která byla publikována od roku 2007 na poli průtokových technik a extrakce tuhou fází.

Cílem bylo shromáždění odborných článků týkajících se použití moderních sorbentů v průtokových systémech za posledních 10 let z databází Web of Knowledge a FIALab database, uspořádání nalezených dat do tabulky a jejich vzájemné porovnání. Jednotlivé metody byly uspořádány do kapitol podle typu použité průtokové techniky.



## **3 TEORETICKÁ ČÁST**

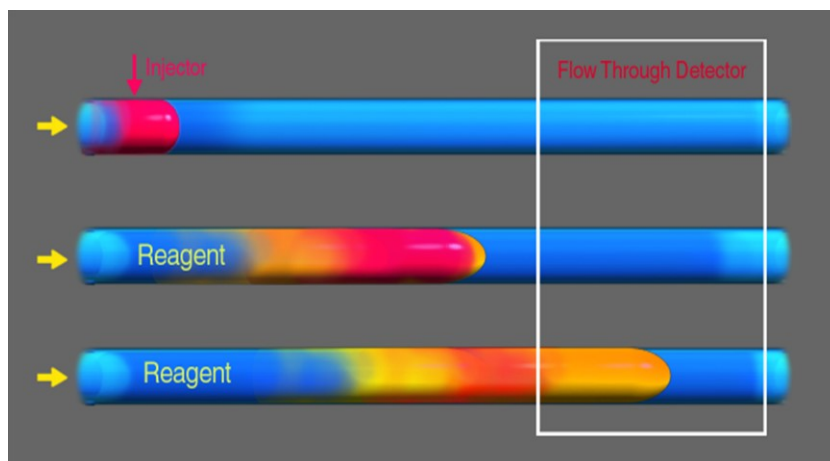
### **3.1 PRŮTOKOVÉ TECHNIKY**

Průtokové techniky jsou techniky založené na průtoku, které za posledních 40 let přinesly zvýšení rychlosti analýzy, automatizované zpracování roztoků, miniaturizaci a snížení nákladů na analýzu [1].

Počátek kinetických metod sahá až do roku 1957, kdy byla vyvinuta analýza segmentovaného průtoku. V 70. letech byla Růžičkou a Hansenem navržena nová metoda – průtoková injekční analýza (FIA). Od tohoto objevu byly postupy neustále zdokonalovány a začaly se rozvíjet jednotlivé techniky [1, 2].

#### **3.1.1 Průtoková injekční analýza (FIA)**

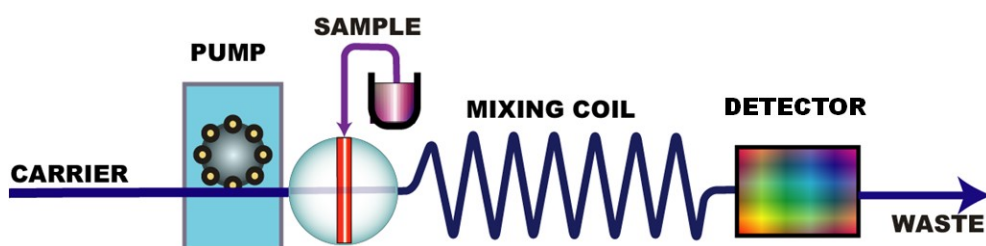
FIA je označovaná jako první z generace průtokových technik, která přináší zrychlení analýzy v porovnání s manuálním provedením. Principem této metody je dávkování kapalného vzorku definovaného objemu do nosného proudu, který obsahuje vhodné reakční činidlo. Nosný proud s činidly je kontinuálně čerpán do průtokového systému vícekanálovým peristaltickým čerpadlem. Dávkovaná zóna se pohybuje po proudu a disperguje do nosného proudu, proběhne reakce vzorku s činidlem a na rozhraní mezi jednotlivými zónami se vytváří produkt, který je dále unášen proudem do detektoru. Detektor, umístěný na konci systému, zaznamenává intenzitu barvy nebo jiný parametr, který se mění v důsledku průchodu vzorku průtokovou celou. Odezva detektoru je proto výsledkem dvou procesů, které probíhají současně: disperze vzorků a následné chemické reakce. Odezva detektoru má tvar píku, z jehož výšky nebo plochy lze určit koncentraci analytu [1, 3, 4]. Princip FIA znázorňuje obrázek 1.



Obrázek 1: Princip FIA [1]

System FIA zahrnuje peristaltické čerpadlo, které pohání nosný proud přes injekční ventil do mísící cívky a detektoru. Řízením průtoku při zpracování vzorku je zajištěno přesně stejné zpracování dávkovaných vzorků. Průtok je řízen čerpadlem, které může pracovat ve dvou rozdílných módech – konstantní průtokovou rychlostí nebo naprogramovanou průtokovou rychlostí, která generuje rozdílné průtoky v průběhu analýzy [1].

Vzorky jsou do proudu nosné kapaliny zavedeny prostřednictvím injekčního ventilu pro mísení s činidly. FIA využívá režim laminárního toku, který snižuje pravděpodobnost ovlivnění měření předchozím vzorkem, díky promývací funkci nosného proudu. Rozsah smíchání a délka reakční doby se řídí průtokovou rychlostí, objemem a geometrií mísící cívky [1, 2]. Schématické uspořádání systému FIA je na obrázku 2.

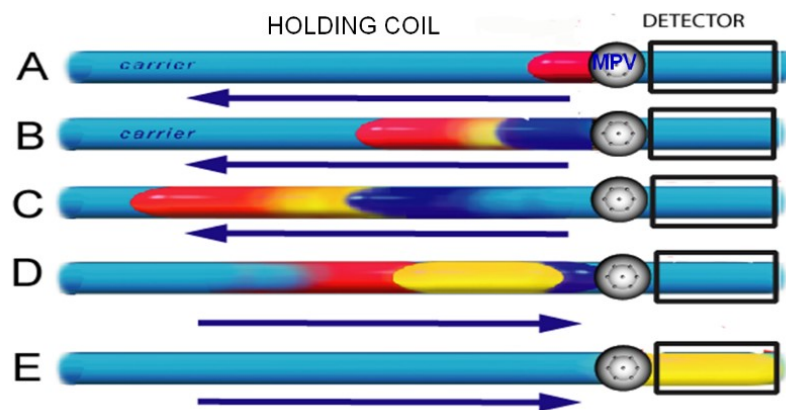


Obrázek 2: Schéma FIA [1]

Techniky průtokové injekční analýzy jsou založeny na řízené disperzi zóny vzorku, kdy se vzorek pohybuje po proudu a postupně disperguje do činidla. Tento jev vytváří koncentrační gradient v průběhu pohybu zóny vzorku směrem k detektoru [1].

### 3.1.2 Sekvenční injekční analýza (SIA)

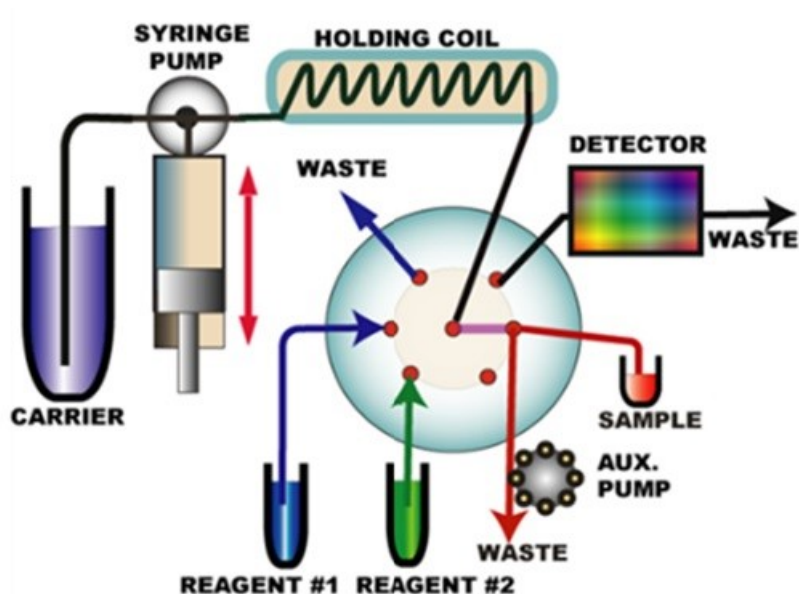
SIA byla vyvinuta jako další generace průtokových technik v roce 1990 G. D. Marshalllem a J. Růžičkou. Tato technika je založena na dávkování sekvence vzorku a činidel do nosného proudu. Během tohoto procesu se zóna vzorku (A) a činidla (B) aspiruje do mísící cívky přes vícecestný ventil poháněný peristaltickým, pístovým nebo MilliGAT čerpadlem umístěným před ventil. Jakmile se začne vytvářet reakční produkt (C) na rozhraní zón, pohyb čerpadla se obrátí a reverzním tokem (D, E) dojde k promísení všech složek, které jsou dále unášeny cívkou až k detektoru, kde se zaznamenávají požadované parametry [1, 5]. Princip SIA je znázorněn na obrázku 3.



Obrázek 3: Princip SIA [1]

Technika SIA využívá programování průtoku pro optimalizaci jednotlivých kroků. Základními principy SIA jsou reprodukovatelný čas, aspirace objemů a kontrolovaná disperze [1, 5].

Schéma přístrojového uspořádání SIA ukazuje obrázek 4.



Obrázek 4: Schéma SIA [1]

Důležitým mezníkem ve vývoji SI byla jeho miniaturizace na formu Lab-on-valve (LOV), která umožňuje provádět veškeré kroky potřebné pro analýzu na velmi malé ploše modifikovaného selekčního ventilu. Miniaturizované systémy SI používají malé objemy vzorku a činidel v řádech mikrolitrů a provádějí testy s vysokou rychlostí [1, 4].

### 3.1.3 Bead injection (BI)

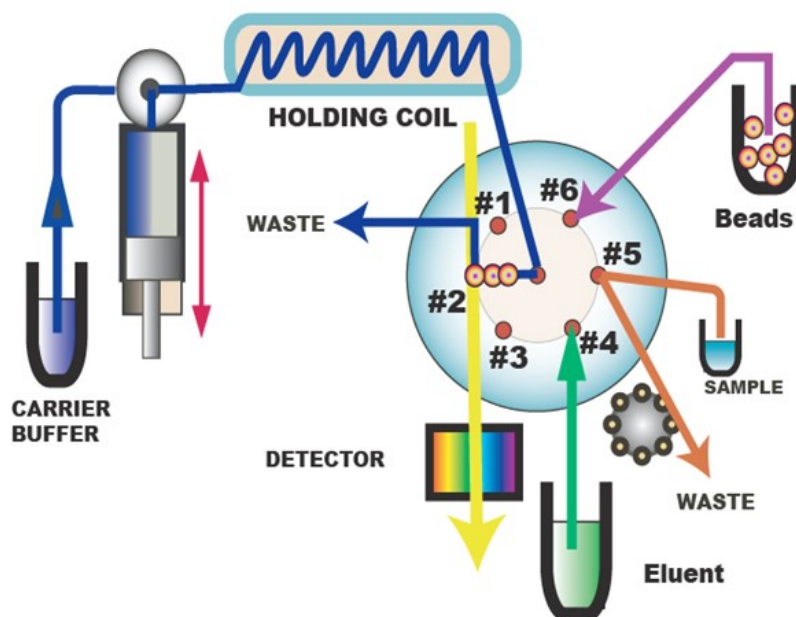
Klíčovým prvkem k rozvoji techniky Bead injection bylo navržení modulu "Lab-on-Valve" a možnost využití programovaného toku s přesným řízením průtokou a objemů aspirovaných činidel [1]. Bead Injection (BI) je třetí z generace technik FIA. Pracuje stejným způsobem jako sekvenční injekční analýza, ale jednotlivé vzorky jsou adsorbovány na pevné fázi. Je prováděna ve formátu LOV. Ve své nejjednodušší formě je definovaný objem suspenze malých polymerních částic s určitými vlastnostmi aspirován do jednoho z kanálků modulu LOV, kde jsou částice zachyceny. Dále je přes sorbent dávkovaná zóna vzorku. Na povrchu částic dochází k reakci mezi funkčními skupinami sorbentu a molekulami analytu. Zadržené molekuly analytu jsou detekovány nejčastěji spektroskopicky v jejich nativní formě nebo po reakci s vhodnými barevnými nebo fluorescenčními činidly. Na konci procesu se částice buď uchovávají pro další analýzy, nebo jsou vymyté do odpadu [1, 4, 6].

Charakteristickým znakem aspirace polymerních částic je automatizovaná obnova reaktivní pevné fáze, což umožňuje selektivní reakce s analyty ze složitých matic [1].

BI umožňuje provádět kromě jiného následující manipulaci se vzorkem:

- injekční spektroskopie (BIS) – spoléhá se na skenovací spektrofotometrii, která monitoruje zachycování cílových analytů v reálném čase,
- extrakce tuhou fází – extrakční kolonka je vytvořena v modulu LOV,
- chromatografie obnovitelných kolon – je založena na eluci cílového analytu z mikrokolony, tvořené technikou BI [1].

Hlavní výhodou BI je zadržení cílového analytu na povrchu částic, zatímco je odstraněna nezachycená matrice. Dosažené zakoncentrování analytu zvyšuje citlivost metody a zlepšuje jeho detekční limit [1, 4]. Schématické uspořádání systému BI je na obrázku 5.



Obrázek 5: Schéma BI-LOV [1]

### 3.1.4 Sekvenční injekční chromatografie (SIC)

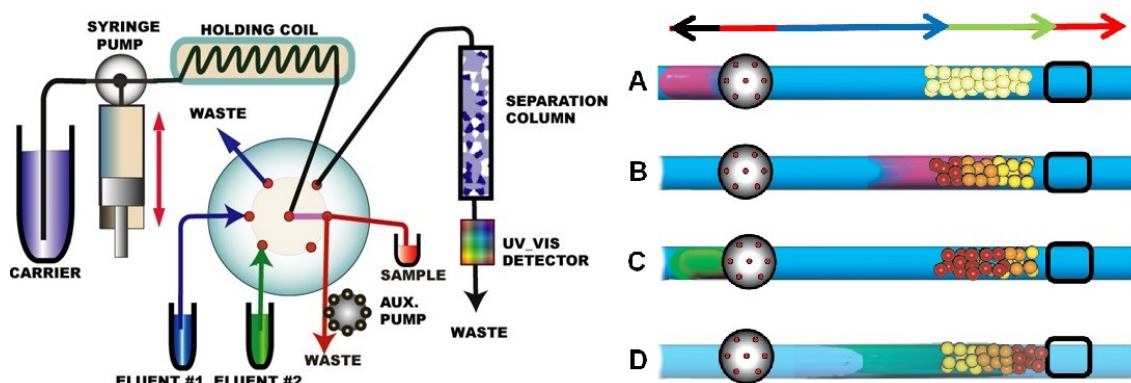
Sekvenční injekční chromatografie je kombinace dvou technologií: původně neseparační sekvenční injekční analýzy (SIA) a kapalinové chromatografie (LC) se separační kolonou, jejíž materiál nevytváří příliš vysoký zpětný tlak. Kombinuje separační výhody LC s univerzálností zpracování vzorků pomocí programovatelného toku SIA [1, 4].

Technika SIC je založena na programovatelném toku mobilní fáze kolonou, který umožňuje aspirovat přesně definovaný objem vzorku a elučních roztoků, a vytvářet eluční gradient. Výsledkem je zjednodušené vybavení a snížená spotřeba reagentů. Technika SIC usnadňuje derivatizaci před separací, vytváření elučních gradientů a rychlou regeneraci kolon [1].

Systém je nejprve naplněn roztokem eluentu, do kterého je reverzním tokem aspirována zóna vzorku (A). Vícecestný selekční ventil se poté přepne ze vzorku na kolonu a vzorek se přenesse do kolony, kde proběhne separace. (B). Další eluent se nasaje zpětným tokem (C) a použije se k eluci analytů zachycených v koloně (D) [1].

SIC se může provádět ve formě reverzní fáze, výměny iontů nebo afinitní chromatografie, a to na monolitních kolonách nebo na částicových kolonách s pevným jádrem a porézním povrchem. Díky zapojení robustní pumpy je tato technika vhodná

k automatizaci úpravy vzorku SPE před vlastní separací [1, 4]. Schématické uspořádání systému SIC je na obrázku 6.

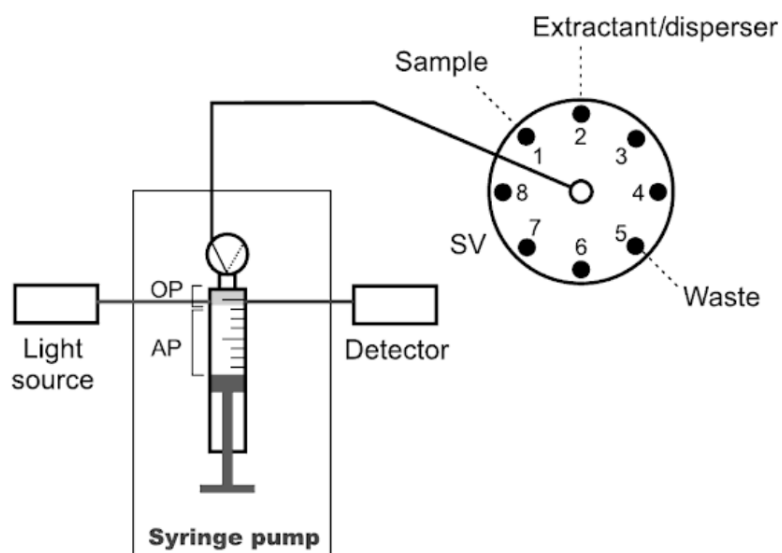


Obrázek 6: Schéma SIC a princip SIC [1]

### 3.1.5 Lab-in-Syringe (LIS)

Tato technika se vyznačuje jednoduchostí instrumentálního vybavení. Systém využívá prostor pístové pumpy jako reakční a extrakční komoru, kde probíhají jednotlivé analytické kroky. Základní sestava se skládá z automatického pístového čerpadla vybaveného dvou-, tří- nebo devíticestným ventilem [7, 8, 9]. Schématické uspořádání systému LIS je na obrázku 7.

Složitější uspořádání systému umožňuje míchání vzorku, které již není prováděno disperzí vzorku, ale homogenním mícháním ve vnitřním prostoru injekční stříkačky za použití magnetického míchadla. Způsoby míchání byly vyvinuty za použití stříkačky buď v normální poloze nebo v obrácené orientaci („vzhůru nohama“). Nejčastější uplatnění této techniky se nachází v úpravě vzorku, zejména kapalinové extrakci [7].



Obrázek 7: Schéma systému LIS s detekcí bez transportu do detekční cely [9]  
**OP** = organická fáze, **AP** = vodná fáze, **Syringe pump** = pístová pumpa, **Light source** = zdroj světla, **Detector** = detektor, **SV** = selekční ventil, **Sample** = vzorek, **Waste** = odpad, **Extractant** = extrakční činidlo



## 3.2 EXTRAKCE TUHOU FÁZÍ

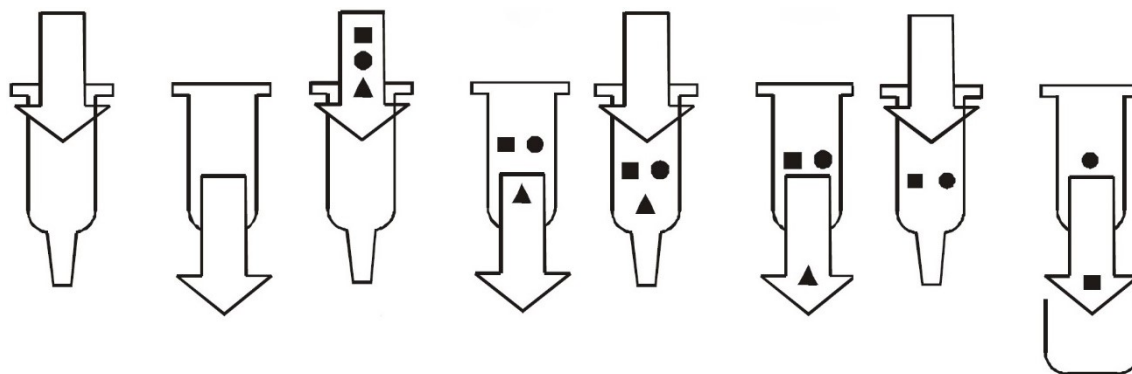
Extrakce tuhou fází (SPE) je jednou z nejčastějších technik používaných na úpravu vzorků před analýzou. Tato technika přináší výhody, jako je vysoká výtěžnost, rychlá a selektivní příprava vzorků, zakoncentrování analytů, nízká spotřeba rozpouštědel oproti jiným extrakčním technikám a možnost automatizace [10, 11].

SPE se provádí manuálně nebo automatizovaně v on-line i off-line provedení. Extrakce se urychluje za pomoci vakua, které se jednoduše ovládá, avšak musí být kontrolováno nastavení průtoku a dále nesmí dojít k úplnému vysušení sorbentu. Dnes už existují i výjimky, kdy extrakční kolonky tolerují i naprosté vysušení sorbentu [10].

Nevýhodou SPE postupu je vysoká spotřeba rozpouštědel i vzorku, mnoha-krokový způsob přečištění, nutnost odpařování a rekonstituce v mobilní fázi. Další nevýhodou jsou SPE kolonky, které se vyrábí pro jednorázové použití, což zvyšuje ekonomické náklady analýzy [10].

### 3.2.1 Princip

SPE je založeno na principu rozdělování, adsorpce či jiné interakce mezi pevnou stacionární fází a kapalnou fází, ve které je vzorek rozpuštěn. Podstatou extrakce je zachycení molekul látky na pevném sorbentu, přes který protéká vzorek. Extrakce probíhá úspěšně pouze za předpokladu, že má analyt vyšší afinitu k pevné fázi než k matici daného vzorku. Po adsorpci analytu na sorbent se zbytek matrice eluuje ven z kolony a zůstává čistý, zakoncentrovaný analyt. Následně se kolona promyje vhodným elučním rozpouštědlem, které uvolní analyt z pevné fáze [10, 11]. Princip SPE je znázorněn na obr. 8.

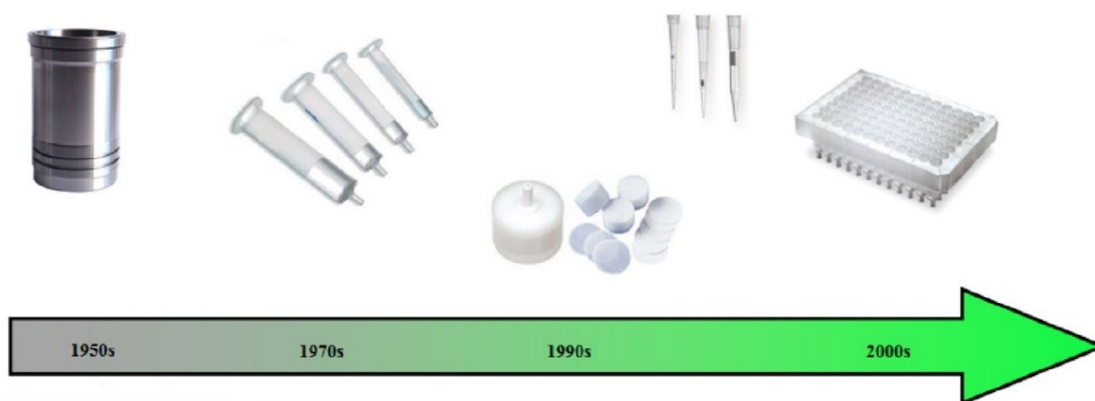


■ Izolovaná látka, ▲ ● rušící složky matrice

Obrázek 8: Schéma jednotlivých kroků SPE [12]

### 3.2.2 Formát

SPE může být provedena v různých módech, podle množství a formátu použitého sorbentu, a podle stupně automatizace. Kromě volně sypaného sorbentu jsou tradičně používaným formátem kolonky. Dále se využívá sorbent upravený do formy disku. Další modifikace formátu jsou odvozené zejména miniaturizací a simultánním zpracováním více vzorků najednou. Moderní trendy vedou jak ke snižování množství použitých rozpouštědel, tak ke snížení množství použitého sorbentu (Obr. 9) [13].



Obrázek 9: Vývoj formátu SPE: kolonky, disky, pipety, mikrotitrační destičky [14]

#### 3.2.2.1 Kolonky

SPE kolonky představují tradiční nejčastěji používaný formát pro extrakci analytů z matrice. Standardní kolonky jsou vyráběny jako injekční stříkačky bez pohyblivého pístu z plastu nebo skla. Přibližně z jedné třetiny jsou naplněny sorbentem, zbylá část se využívá jako zásobník pro vzorek či rozpouštědlo. Pro dosažení maximální účinnosti extrakce závisí především na výběru vhodné stacionární fáze. Velikost kolonek závisí na množství sorbentu, které zase závisí na množství analytu nebo vzorku. Preferovány jsou kolonky s nejmenšími možnými objemy [13, 14].

Extrakce se zrychluje použitím vakua především pro malé kolonky, protože jejich doba extrakce je velmi dlouhá na rozdíl od velkých kolonek, které extrahují rychleji, ale za vyšší spotřeby elučního rozpouštědla. Velké kolonky extrahují rychleji díky vyššímu průtoku, ale v případě, kdy je nutné vzorek po extrakci vysušit, aby se analyt dostal do koncentračního rozmezí, je ušetřený čas ztracen [13].

### 3.2.2.2 Disky

Disky byly zavedeny ve snaze odstranit nevýhody, které jsou spojené s použitím kolonek. Porézní disky tvoří tenké membrány, které jsou vyrobeny z teflonu či jiného inertního polymeru. Na membrány jsou vloženy částice sorbentu, které jsou zachyceny ve skleněném nebo papírovém filtru. Částice sorbentů zapuštěných do disků jsou mnohem menší než částice používané do kolonek. Disky jsou umístěny do injekčních stříkaček nebo jiného obalu a princip je stejný jako u kolonek. Velikost disků pro izolaci analytů je určována objemem vzorku [13, 14].

Přínosem extrakčních disků je zrychlení analýzy a zmenšení množství elučního činidla. Širší průměr disků vede ke zvýšení rychlosti průtoku, ale přesto je zachována dobrá interakce vzorku a analytu s povrchově modifikovaným sorbentem. Další výhodou je snížení rizika vysoušení částic, protože není zapotřebí použití vakua [13, 14].

### 3.2.2.3 Plněné špičky pipet (Pipette tips, SPE-PT)

Formáty plněných špiček pipet SPE-PT jsou miniaturizované verze tradičních kolonek. Částice sorbentu jsou zachyceny uvnitř plastových pipetových špiček. Analyty se extrahují opakovaným odsáváním a desorpcí roztoku vzorku za použití jednokanálových či vícekanálových pipet [14, 15].

Plněné špičky pipety patří mezi nejslibnější metody pro extrakci tuhou fází, a to především díky snížení množství organických rozpouštědel, ke kterému přispělo snížení množství sorbentu. Menší množství použitých rozpouštědel také významně snižuje náklady na extrakci a zkracuje čas potřebný pro provedení celé analýzy. Při formátu SPE-PT není třeba odpařovat rozpouštědla, proto lze metodu snadno automatizovat a výsledné analyty se následně můžou přímo dávkovat na analytickou kolonu [14].

### 3.2.2.4 Mikrotitrační destičky

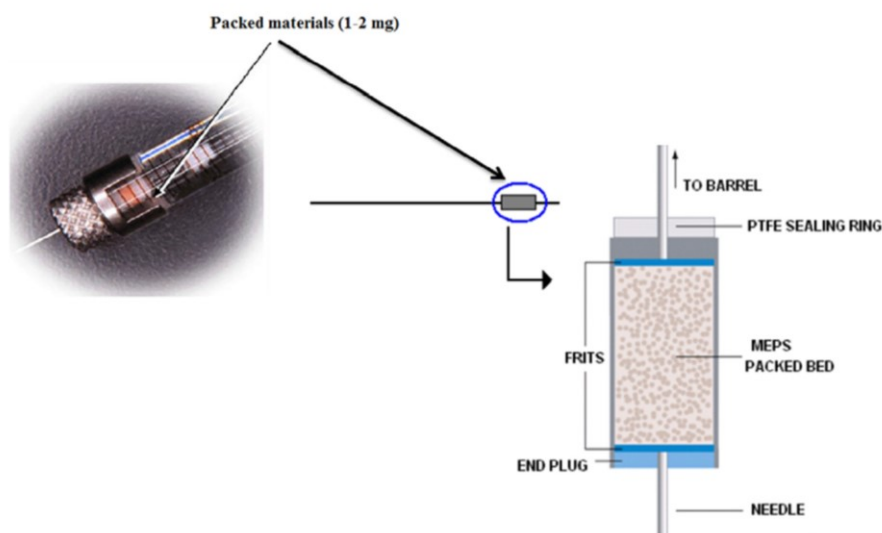
Mikrotitrační destičky jsou vyráběny ve třech formátech: 96, 384 a 1536 jamek, což umožňuje rychlou analýzu a zároveň zpracování více vzorků najednou v krátkém časovém úseku. Každá jamka je naplněná sorbentem. Sorpční vrstva je buď volně nasypaná nebo je zachycena na membrány extrakčního disku [14, 15].

### 3.2.2.5 Mikroextrakce tuhou fází (SPME)

Moderní analytické metody pracují s velmi malými objemy vzorků. Miniaturizací extrakce lze dosáhnout ještě většího snížení množství používaného elučního rozpouštědla. SPME využívá křemenné vlákno potažené stacionární fází. Vlákno je uloženo uvnitř kovové jehly, která ho chrání [13].

### 3.2.2.6 Mikroextrakce tuhým sorbentem (Microextraction by packed sorbent, MEPS)

MEPS je miniaturizovaná forma techniky SPE, která používá stejné sorbenty. Sorpční vrstva je integrována do injekční stříkačky v malém kontejneru, který leží mezi stříkačkou a jehlou. Vzorek prochází pevným nosičem a analyty se adsorbují na sorbent v barelu. MEPS je flexibilní metoda k přípravě vzorků v normálních i obrácených fázích. Může být plně automatizována a její výhodou je schopnost manipulace s malým objemem vzorku, nízká spotřeba rozpouštědel a rychlost extrakce [17, 18]. Uspořádání systému ukazuje obrázek 10.



Obrázek 10: MEPS – injekční stříkačka obsahující sorbent [17]

### 3.2.3 Sorbenty

Při SPE extrakci obsahují kolony sorbenty obdobné v separační technice HPLC, nejčastěji založené na chemicky modifikovaných částicích silikagelu. Modifikací se na silanolové skupiny navazují jiné skupiny s různými vlastnostmi, které ovlivňují konečné vlastnosti sorbentu [10, 11].

Během separace se využívá odlišných interakcí mezi analytem a sorbentem. Mezi uplatňované interakce patří vodíkové vazby a dipól-dipól interakce (polární interakce), van der Waalsovy síly (nepolární interakce) a kation-aniontové interakce [11].

Vhodný sorbent se volí na základě chemických vlastností analytu, požadovaného stupně čistoty, vlastností matrice vzorku, použitého rozpouštědla a kontaminantů obsažených ve vzorku [10, 11].

### 3.2.3.1 Klasické sorbenty

Jednotlivé druhy sorbentů se dělí do čtyř základních skupin podle vlastností a jejich vazebných interakcí:

- Nepocházející vazebné fáze – používají se do systémů s reverzními (obrácenými) fázemi, kdy je rozpouštědlem polární kapalina. Do této skupiny se řadí modifikované silikagely s funkční skupinou oktadecyl (C18) a oktyl (C8).
- Polární vázané fáze – do této skupiny patří nemodifikované silikagely, oxid hlinitý, kyanopropylové skupiny, také dioly či aminopropyly uplatňující iontové výměny.
- Iontově-výměnné vázané fáze.
- Polymerní materiály [10, 11].

### 3.2.3.2 Moderní sorbenty

Rostoucí požadavky na kvalitu extrakcí a čistoty látek přinášejí nároky na nové vlastnosti sorbentů. Nové sorbenty jsou vyvíjeny s cílem zachovat nebo zlepšit kvalitu a vlastnosti existujících sorbentů [14].

#### *Uhlíkové nanostrukturní materiály*

Pro použití SPE byly zavedeny nové materiály s vynikajícími vlastnostmi. Nanočástice jsou unikátní svou velikostí v nanometrovém měřítku. V analytických vědách jsou široce používány pro jedinečné chování a jejich užitečnost při miniaturizaci SPE [14, 19].

Výhodou nanočástic jsou snadné derivatizační postupy, vysoký poměr povrchu k objemu, tepelné, mechanické a elektronické vlastnosti. Nejčastěji využívaným

principem adsorpce jsou nekovalentní vazby, včetně elektrostatických interakcí, vodíkových vazeb, van der Waalsových sil a hydrofobních interakcí [14].

#### *Molekulární sorbenty*

Tento druh sorbentu zahrnuje **imunosorbenty**, které jsou založeny na molekulárním rozpoznávání při použití přirozených protilátek. Extrakce je možná především proto, že protilátky mají vysokou selektivitu vůči analytům, které se používají k iniciování imunitní odpovědi [14, 20].

Dalším druhem jsou **molekulárně vtištěné polymery** (MIP), základem je výroba syntetických polymerů s templátovou molekulou shodnou se zamýšleným analytem. Technologie je založena na tvorbě komplexu mezi analytem a funkčními polymery. Pro vytvoření polymerní sítě je templátová molekula odstraněna. Výsledný polymer rozpoznává a selektivně váže pouze templátové molekuly [14, 21].

MIP má mnoho výhod, ale nejdůležitější pro SPE je vysoká selektivita a afinita k cílové molekule. Mezi další výhody také patří zvýšená doba skladování polymerů a nízké náklady na syntézu [14].

**Iontově vtištěné polymery** (IIP) jsou podobné molekulárně vtištěným polymerům. Zachovávají si všechny výhody MIP a k tomu rozpoznávají kovové ionty. Zahrnují jednoduchou a pohodlnou přípravu a mají předem stanovenou selektivitu [14, 22].

**Aptamer modifikované sorbenty** jsou sorbenty s navázanými jednovláknovými syntetickými oligonukleotidy, které se mohou skládat v charakteristické tvary schopné velice selektivní vazby s cílovými molekulami [14].

#### *Kovově-organické rámce (Metal-organic framework, MOF)*

MOF jsou typem sorbentu hybridních anorganicko-organických materiálů, které se samy sestavují přímo z kovových iontů s organickými ligandy. Kovově-organické sorbenty jsou porézní, mají velký povrch, který poskytuje velkou adsorpční plochu, jednotnou strukturu pórů a tepelnou stabilitu. Polarita může být upravena podle analytického požadavku. Specifická struktura pórů umožňuje selektivní adsorpci molekul [14, 23].

### *Materiály s omezeným přístupem (Restricted-access materiál, RAM)*

Adsorpční částice umožňující přímou extrakci analytů z matrice. Mechanismus separace je založen na hydrofilním účinku a vyloučení velkých molekul. Hydrofilní bariéra umožňuje pronikání malých molekul do vnitřní části materiálu, ale makromolekuly nejsou schopné se zachytit a vyloučí se na povrchu [14, 23].

### *Nanovlákná*

Nanovlákná tvoří vlákna o průměru menším než 1000 nm. Jsou vyráběny převážně elektrostatickým zvláknováním. Výhody nanovláken jsou především ve vysokém poměru specifického povrchu k jejich objemu a možnosti volby fyzikálních i chemických vlastností materiálu optimalizací pracovních podmínek při jejich výrobě. Dosud vyráběná zařízení SPE, která používají nanovlákná jako sorbent jsou založena na polystyrenových nebo nylonových polymerech [14, 24, 25].

# 4 AUTOMATIZACE EXTRAKCE TUHOU FÁZÍ POMOCÍ PRŮTOKOVÝCH METOD

## 4.1 SPE V PRŮTOKOVÉ INJEKČNÍ ANALÝZE

### 4.1.1 Použití sorbentu Amberlite XAD-4 pro extrakci kovových kationtů

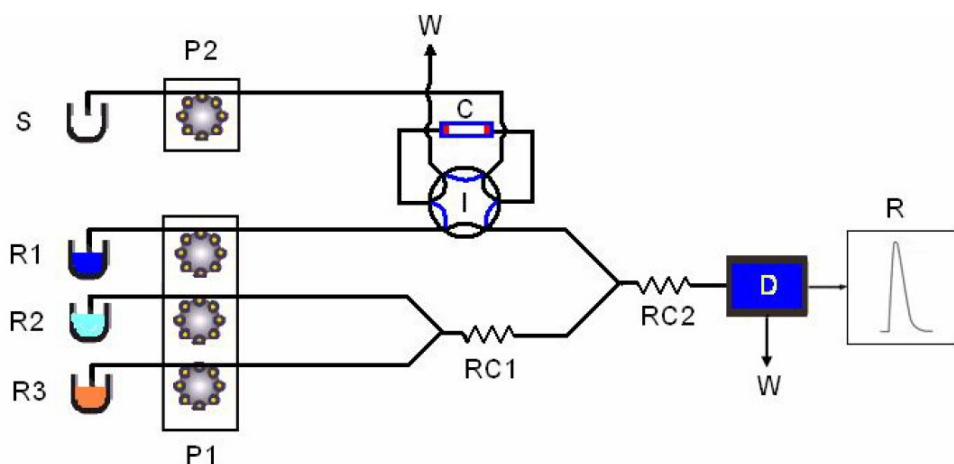
V práci od autorů Klamtet et al. [26] byl zkoumán systém on-line průtokové injekce (FIA) s prekoncentrací pomocí extrakce tuhou fází (SPE) pro stanovení olova ve vzorcích vody a následnou spektrofotometrickou detekcí.

Pro SPE byla vybrána jako sorbent pryskyřice Amberlite XAD-4 naplněná v mikrokolonkách. Je to nepolární polymerní sorbent, který se používá pro adsorpci hydrofobních molekul z polárního rozpouštědla, má velký povrch a vhodnou velikost pórů pro adsorpci Pb. Analyt byl ze sorbentu extrahován 0,20 mol/l HCl.

FIA systém zahrnoval dvě peristaltické pumpy, jednu pro aspirování vzorku a druhou pro aspiraci činidel, šestipolohový injekční ventil a mikrokolonku naplněnou sorbentem. Analyt po eluci reagoval s 4-(2-pyridylazo)resorcinolem při pH 9 a barevný komplex byl pak detekován spektrofotometricky. Schéma systému je znázorněno na obrázku 11.

Metoda poskytuje dobrou přesnost a reprodukovatelnost. Velkou výhodou je vysoká citlivost a jednoduchost metody s nízkými náklady na analýzu.

Byl zjištěn detekční limit 7  $\mu\text{g/l}$  s faktorem zakoncentrování 9. Další parametry jsou uvedeny v Tabulce 1.



Obrázek 11: Systém FIA s on-line prekoncentrací [26]:  
*R1* = eluční činidlo, *R2* = roztok pufru, *R3* = roztok PAR (4-(2-pyridylazo)resorcinol-monosodný hydrát), *S* = vzorek, *P* = peristaltická pumpa, *I* = injekční ventil, *C* = mikrokolonka, *RC1*, *RC2* = mísící cívky, *D* = detektor, *W* = odpad, *R* = počítač



V další práci [27] autoři popisují stanovením Pb a Cd v mořských plodech pomocí SPE a emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES).

SPE v této práci využívá minikolony naplněné 165 mg sorbentu Amberlite XAD-4. Pro desorpci analytu ze sorbentu byl použit čistý ethanol.

Celý průtokový systém pro stanovení olova a kadmia byl sestaven z peristaltické pumpy, proporcionálního injekčního ventilu a SPE minikolony naplněné sorbentem. Pro detekci byl použit ICP-OES detektor.

Navrhovaná metoda vyniká svojí jednoduchostí, nízkými náklady na analýzu, spotřebou činidel a odolností vůči kontaminaci. Oproti výše zmíněné metodě [26] vykazuje nižší koncentrační limity (0,02 - 0,1  $\mu\text{g/l}$  Cd, 0,6 - 2,0  $\mu\text{g/l}$  Pb) díky použití ICP-OES detektoru. Více detailů viz. Tabulka 1.

#### **4.1.2 Modifikovaný oxid hlinitý pro stanovení zinku**

Autoři [28] zde navrhli systém, který je založen na on-line separaci a zakoncentrování zinku na mikrokoloně naplněné oxidem hlinitým, na kterém bylo přímo imobilizováno chelatační činidlo Alizarin Red S. K detekci byla využita plamenová atomová absorpční spektrometrie (FAAS).

Metoda byla aplikována na stanovení zinku ve vzorcích vody, lidských vlasů, moči a slinách. Pevné vzorky byly mineralizované a pH výsledného roztoku bylo upraveno na 6,5. Vzorky vody, moči a slin byly zfiltrány přes membránový filtr a pH upraveno na hodnotu 6,5. Pro samotnou analýzu bylo použito 25 ml upraveného vzorku moči a 5 ml vzorku vlasů a slin.

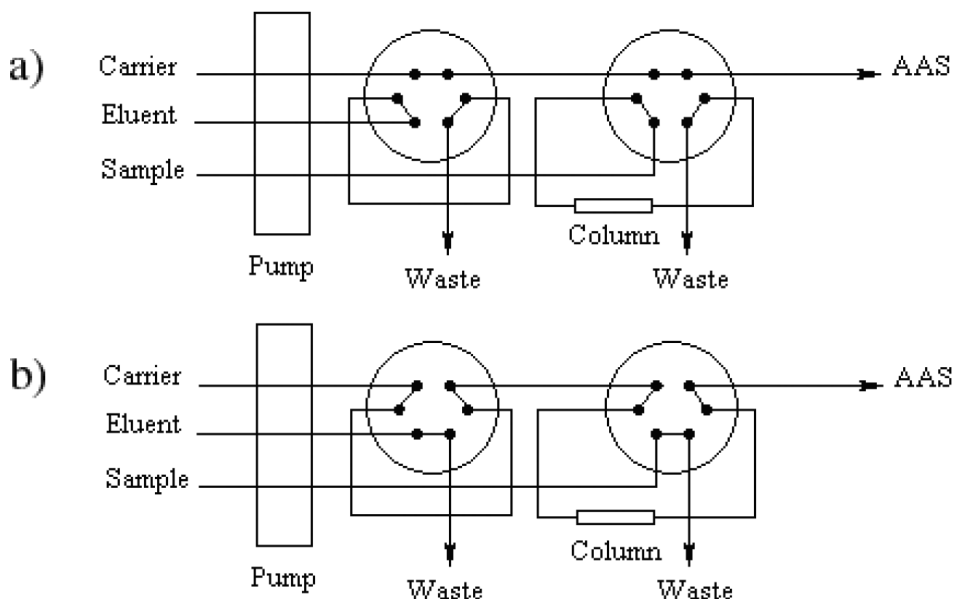
K extrakci tuhou fází metoda využívá mikrokolonek naplněných modifikovaným oxidem hlinitým s vlastnostmi iontoměniče. Pro desorpci analytu ze sorbentu bylo použito 250  $\mu\text{l}$  elučního činidla  $\text{HNO}_3$  o koncentraci 1 mol/l.

Průtokový systém se skládal z peristaltické pumpy, dvou šesticestných injekčních ventilů a mikrokolony naplněné sorbentem. K detekci byl použit FAAS detektor s výbojkou obsahující zinkovou dutou katodu. Uspořádání systému ukazuje obrázek 12.

Vzorek byl pomocí peristaltické pumpy dávkován na kolonku. V tomto kroku eluční činidlo cirkulovalo v systému. Po přepnutí ventilu bylo eluční činidlo čerpáno na kolonku a v systému cirkuloval vzorek.

Výhodou této metody je jednoduchý systém a úspora času při současném provedení některých kroků (dávkování vzorku na kolonu a plnění smyčky elučním

činnidlem). Za nevýhodu lze považovat nutnost manuálního přepínání ventilů. Více detailů týkajících se analytických parametrů metody je v Tabulce 1.



Obrázek 12: Schéma průtokového systému pro prekoncentraci a stanovení zinku [28]:  
 (a) aspirace vzorku, (b) eluce, *carrier* = nosný proud, *eluent* = eluční činidlo, *sample* = vzorek, *pump* = peristaltická pumpa, *waste* = odpad, *column* = kolona, *AAS* = detektor

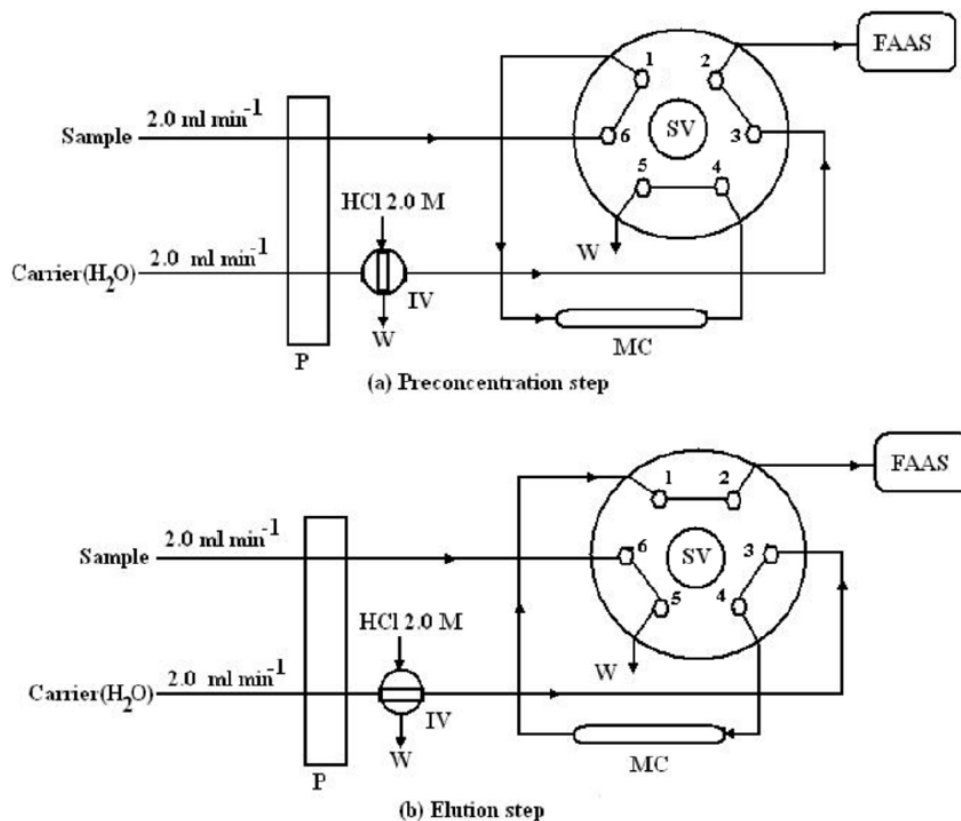
#### 4.1.3 Funkcionalizovaná polystyrenová pryskyřice pro on-line prekoncentraci a stanovení kobaltu ve vzorcích vody

Metoda [29] je založena na on-line zakoncentrování pomocí FIA a detekci FAAS ke stanovení kobaltu ve vzorcích stojatých vod.

Zakoncentrování analytu pomocí SPE probíhalo v poměrně dlouhých kolonkách o délce 10 cm a průměru 2 mm naplněných polymerním nepolárním sorbentem Ligand NAPdien. Tento modifikovaný polystyren je odolný vůči chemikáliím a vyniká svou dlouhou životností. Dávkování vzorku probíhalo při pH 7. Eluce byla provedena snížením pH. Jako eluční činidlo byla použita HCl (2,0 mol/l).

Použitý průtokový systém zahrnoval peristaltickou pumpu, šestipolohový injekční ventil a SPE minikolonu zapojenou mezi ventilem a detektorem. Schéma systému je znázorněno na obrázku 13.

Praktické využití polymerního sorbentu s Ligand NAPdienem bylo úspěšně aplikováno pro on-line zakoncentrování v systému FIA s přímou FAAS detekcí. Vyvinutou metodou byl získán vysoký faktor zakoncentrování. Nevýhodou tohoto systému je ruční dávkování elučního činidla. Všechny parametry jsou k nalezení v Tabulce 1 včetně faktoru zakoncentrování 110.



Obrázek 13: Schéma SPE-FIA-FAAS [29]:  
 (a) zakoncentrování, (b) eluce, P = peristaltická pumpa, IV = injekční ventil, SV = selekční ventil, MC = mikrokolona, W = odpad

#### 4.1.4 Extrakce polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) na uhlíkových nanotrubičkách

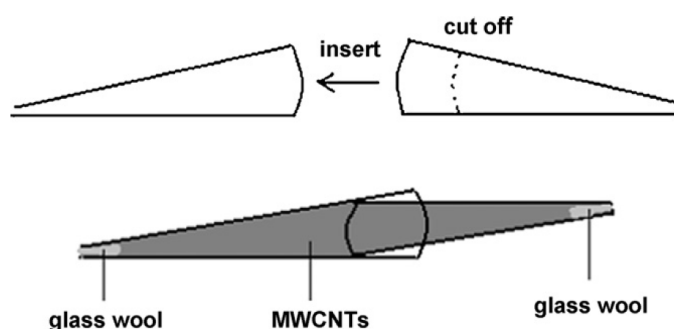
Tato práce [30] se zabývá stanovením 16 polycyklických aromatických uhlovodíků ve vodě pomocí GC-MS. Vzorky povrchové vody byly odebrány ze dvou různých regionů v Číně.

Pro SPE extrakci byl zvolen sorbent MWCNT (multiwalled carbon nanotubes, uhlíkové nanotrubičky s vnějším průměrem 60 – 100 nm – L-MWCNT-60100). K vytvoření mikrokolonky byly využity dvě špičky na pipety, které byly naplněny 25 mg sorbentu. Analyty byly z mikrokolonek eluovány metanolem (0,4 ml). Mikrokolona je zobrazená na obrázku 14.

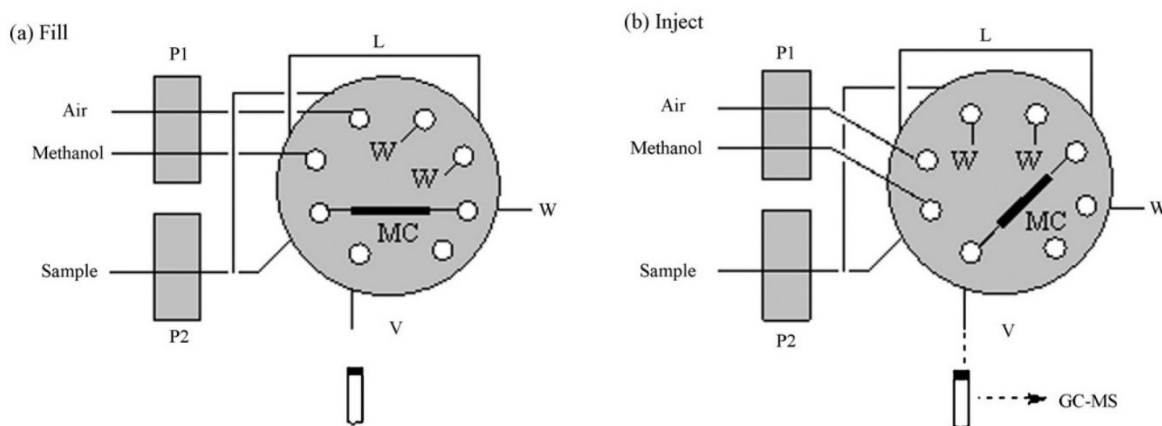
FIA systém zahrnoval dvě peristaltické pumpy, kdy jedna byla použita pro vzorek a druhá pro metanol a vzduch, dále byl součástí systému osmicestný injekční ventil, ke kterému byla připojena SPE mikrokolona naplněná sorbentem. Detektor do automatizovaného systému zapojen nebyl. Eluát se shromažďoval do připravených

zkumavek a následně byl manuálně dávkován do plynového chromatografu pro detekci GC-MS. Celé schéma průtokového systému je znázorněno na obrázku 15.

Stanovení PAH bylo prováděno mnohými prekoncentračními a separačními technikami v off-line režimu. Nejvíce využívaná byla separace pomocí HPLC s UV detekcí. Výsledky této práce ukazují výhody, které přináší spojení FIA-SPE s detekcí pomocí GC-MS. Metoda vykazuje dobrou linearitu, reprodukovatelnost a detekční limit pro stanovení PAH ve vzorcích povrchové vody i přes manuální injekci extrahovaného analytu do GC-MS detektoru. Systém spojuje výhody rychlé analýzy FIA technik a vysokou citlivost a selektivitu GC-MS. Více detailů viz. Tabulka 1.



Obrázek 14: Schéma mikrokolonky naplněné uhlíkovými nanotrubičkami MWCNTs [30]



Obrázek 15: (a) aspirace, (b) eluce [30]:

*Air* = vzduch, *Sample* = vzorek, *P1*, *P2* = peristaltická pumpa, *W* = odpad, *MC* = mikrokolonka, *V* = injekční ventil, *L* = eluční smyčka

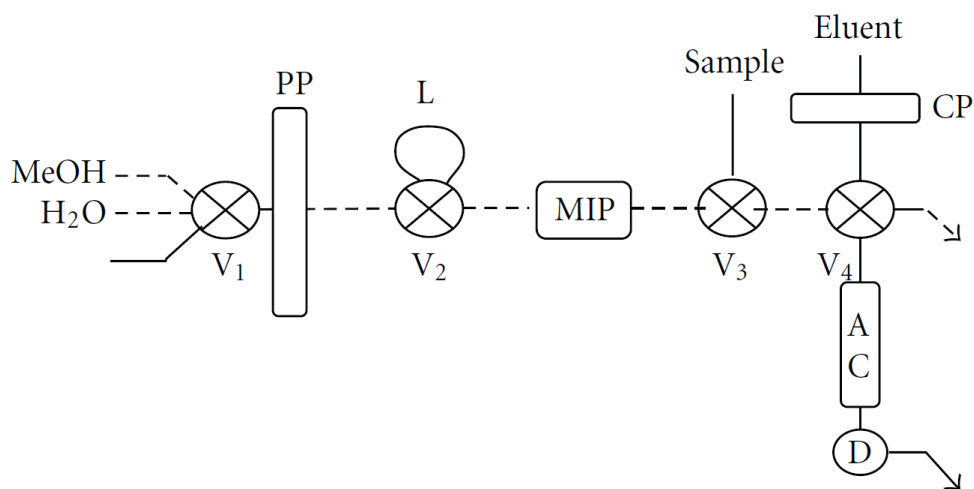
#### 4.1.5 Zakoncentrování chloramfenikolu pomocí molekulárně vtištěných polymerů

Hlavním cílem této studie [31] bylo vyvinout citlivou analytickou metodu s účinným prekoncentračním postupem pro stanovení chloramfenikolu (CAP) ve vzorcích říční a pitné vody.

Extrakce tuhou fází probíhala v SPE kolonkách naplněných 100 mg nepolárním polymerním sorbentem MIP. Jako eluční činidlo byl použit 1 ml metanolu.

Průtokový injekční systém byl přímo spojen s HPLC ventilem a separační kolonou. Jako detektor byl použit UV detektor. Schéma na obrázku 16.

Autoři do průtokového systému zapojili i separační kolonu, protože jak konstatují, použitý MIP sorbent neposkytuje dostatečnou selektivitu, která by umožnila stanovení CAP v složité matici bez separace. Dosažený limit detekce umožňuje použití dané metody pro monitorování CAP v odpadních vodách v oblastech zatížených průmyslem a zemědělstvím. Dosažený limit detekce byl 0,015 µg/l, další analytické parametry jsou uvedeny v Tabulce 1.



Obrázek 16: Schéma systému FIA-HPLC s UV detekcí pro stanovení CAP [31]:  
**PP** = peristaltická pumpa, **L** = eluční smyčka, **MIP** = SPE kolonka naplněná MIP sorbentem, **Sample** = vzorek, **Eluent** = eluční činidlo, **CP** = chromatografické čerpadlo, **V** = injekční ventil, **AC** = analytická kolona, **D** = detektor

#### 4.1.6 Využití biosorbentu ze semen Moringy olejodárné pro extrakci olova v pivu

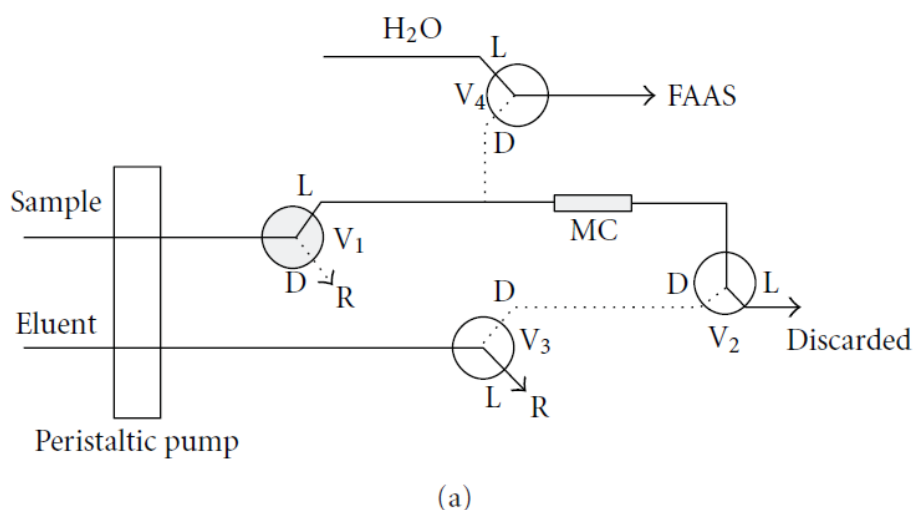
V této studii [32] byl vyvinut nový způsob stanovení nízkých koncentrací olova ve vzorcích piva za použití extrakce tuhou fází v on-line spojení s FIA systémem a detekcí pomocí plamenové atomové absorpční spektrometrie (FAAS).

Jako SPE sorbent byly použity semena Moringy olejodárné – přírodní adsorbent (biosorbent), která byla naplněna v minikolonkách. Semena byla oddělena od lusků, promyta deionizovanou vodou a sušena při 25 °C, poté byla drcená upravená semena naplněna do kolonky (60 x 3 mm). Elučním činidlem v této studii byla HNO<sub>3</sub> (2 mol/l).

Prekoncentrační systém byl konstruován s použitím peristaltické pumpy, čtyř třícestných ventilů a minikolonky naplněné 63 mg přírodního sorbentu. Pro detekci olova byl použit FAAS on-line zapojen v analytickém systému. Celý systém je znázorněn na obrázku 17.

Díky prekoncentračnímu kroku pomocí SPE bylo dosaženo nízkého limitu detekce (7,5 µg/l). Optimalizace umožnila snížení počtu pokusů a tím nižší spotřebu činidel. Metoda může být použita jako nástroj kontroly kvality pro stanovení různých prvků přítomných v nízkých koncentracích ve vzorcích piva. Detekční limit, faktor zakoncentrování a další parametry jsou uvedeny v Tabulce 1.

Dále byl tento sorbent využitý v podobném systému pro stanovení zinku [33].



Obrázek 17: Schéma on-line prekoncentračního systému [32]:  
(a) adsorpční proces, **Sample** = vzorek, **Eluent** = eluční činidlo, **Peristaltic pump** = peristaltická pumpa, **V** = ventil, **L** = otevřeno, **D** = uzavřeno, **MC** = minikolonka, **R** = zpětný tok pro vzorek nebo eluční činidlo, **Discarded** = odpad

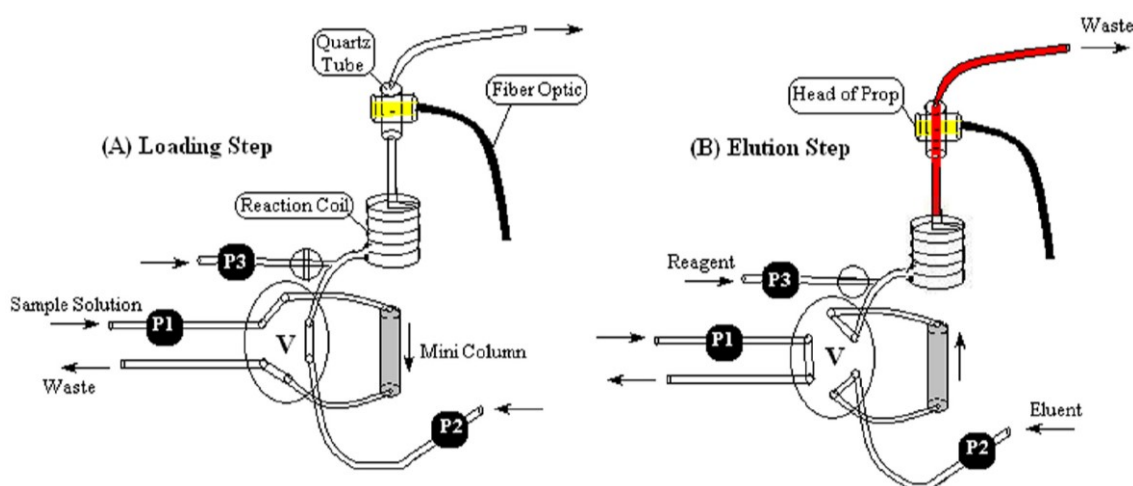
#### 4.1.7 Nanočásticově vtištěné polymery pro zakoncentrování a stanovení iontů rtuťi

Tato práce [34] popisuje novou analytickou metodu pro zakoncentrování a stanovení iontů  $\text{Hg}^{2+}$  ve vodě a lidských vlasech na základě použití FIA techniky ve spojení s procesem extrakce tuhou fází.

Vzorky vody včetně povrchové, říční a odpadní byly shromážděny v PET lahvích, poté bezprostředně po odběru filtrovány přes membránu. Nakonec byl vzorek okyselen a ozařován UV lampou, aby fotooxidovaly interferující sloučeniny, které by mohly být přítomny ve vodě.

Po přípravě bylo 25 ml výsledného roztoku dávkováno na minikolonku naplněnou sorbentem IIP ( $\text{Hg}$ -IIP). Analyt byl ze sorbentu extrahován 5 ml  $\text{HNO}_3$  (1 mol/l). Použitý průtokový systém zahrnoval peristaltickou pumpu, čtyřpolohový injekční ventil a SPE minikolonu naplněnou 150 mg IIP sorbentu.  $\text{Hg}$  byla stanovena jako komplex s dithizonem při vlnové délce 485 nm. Schéma je znázorněno na obr. 18.

Nová metoda aplikuje IIP sorbenty spojené s průtokovou injekční analýzou pro selektivní rozpoznávání, zakoncentrování a stanovení množství iontů  $\text{Hg}^{2+}$  při použití jednoduché a rychlé on-line fotometrické metody. Připravené iontově vtištěné polymerní nanočástice vykazují zvýšenou selektivitu vůči  $\text{Hg}^{2+}$  iontům. Výhodou metody je vysoká rychlost desorpce a stupeň selektivity. Na základě porovnání s dalšími metodami a získaným limitem detekce je IIP sorbent označen jako nejlepší sorbent pro extrakci  $\text{Hg}^{2+}$ . Více detailů viz. Tabulka 1.



Obrázek 18: Schéma IIP-FIA pro stanovení rtuťi [34]:

(a) aspirace, (b) eluce, **Sample** = vzorek, **Reagent** = činidlo, **Eluent** = eluční činidlo, **P** = peristaltická pumpa, **V** = ventil, **Mini column** = minikolona, **Reaction coil** = mísící cívka, **W** = odpad

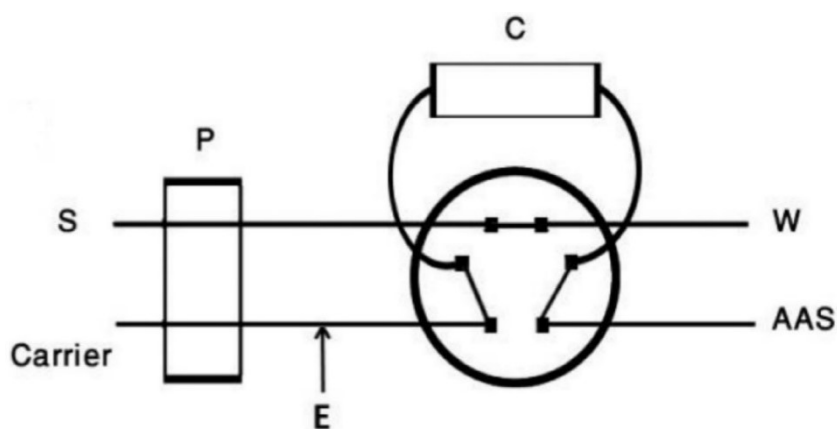
#### 4.1.8 Modifikovaný bentonit jako minerální adsorbent na bázi jílu pro extrakci stříbrných iontů tuhou fází

V této práci [35] byl jednoduchý FIA systém obsahující mikrokolonu modifikovaného bentonitu (imobilizovaný dithizon na bentonitu potaženém cetyltrimethylamoniumbromidem) kombinován s FAAS detekcí pro on-line separaci, zakoncentrování a stanovení stopového množství stříbra ve vodě.

Vzorky vody byly zfiltrány a pH nastaveno na hodnotu 3. Pro SPE byla použita mikrokolonka naplněná 150 mg sorbentu. Použit byl modifikovaný bentonit potažený povrchově aktivním činidlem, na kterém byl imobilizován dithizon, na kterém byly stříbrné kationty zadrženy. K eluci kationtů bylo použito 250  $\mu$ L thiomčoviny (0,4 mol/l).

FIA systém zahrnoval peristaltickou pumpu, rotační šestipolohový injekční ventil a mikrokolonku naplněnou sorbentem, která byla umístěna ve vzorkovací smyčce injekčního ventilu. Pro všechna absorpční měření byl využit FAAS detektor. Uspořádání systému je zobrazeno na obrázku 19.

Tento typ sorbentu na bázi organicky modifikovaného bentonitu byl použit s jednoduchou FIA technikou pro stanovení stopového množství stříbra ve vzorcích vody. Adsorbent vykazoval vysokou afinitu vůči stříbrným iontům v různých matricích a je šetrný k životnímu prostředí, snadno se připravuje a může být použit opakovaně. Selektivita, detekční limity a přesnost ukazují vhodnost metody pro měření a sledování stříbra v různých zdrojích vody. Hlavním přínosem bylo použití přírodního adsorbentu, citlivost stanovení pomocí FAAS, eliminace složek interferující matrice, rychlost analýzy a jednoduchost. Více detailů je v Tabulce 1.



Obrázek 19: Schéma průtokového systému, eluční fáze [35]:  
*S* = vzorek, *Carrier* = nosný proud, *P* = peristaltická pumpa, *E* = eluční činidlo,  
*C* = mikrokolonka, *D* = detektor, *W* = odpad



#### **4.1.9 Nanočástice černého uhlí modifikované 3-merkaptopropyltrimethoxysilanem k zakoncentrování stopového množství kadmia**

V této studii [36] se pro stanovení  $\text{Cd}^{2+}$  použila extrakce tuhou fází v systému průtokové injekční analýzy s on-line spojením s FAAS detekcí.

Kadmium bylo stanovované ve vzorcích cigaret, fyziologického roztoku a vody (vodovodní, minerální a jezerní). Pro analýzu se odebralo 95 ml vzorku vody a 500 mg cigarety. Po úpravě bylo použito 20 ml výsledného roztoku.

SPE extrakce probíhala na polyetylenové minikolonce po naplnění 30 mg černého uhlí modifikovaného s 3-merkaptopropyltrimethoxysilanem. Po zakoncentrování se kovový iont eluoval HCl (1 mol/l).

Průtokový systém byl složen z peristaltické pumpy, injekčního ventilu, minikolonky naplněné sorbentem. K detekci byl použit FAAS detektor.

Použití modifikovaného černého uhlí zlepšuje citlivost metody. V porovnání s dalšími sorbenty na bázi uhlíku jsou výhodou zejména nízké náklady na analýzu. Všechny parametry jsou k nalezení v Tabulce 1.

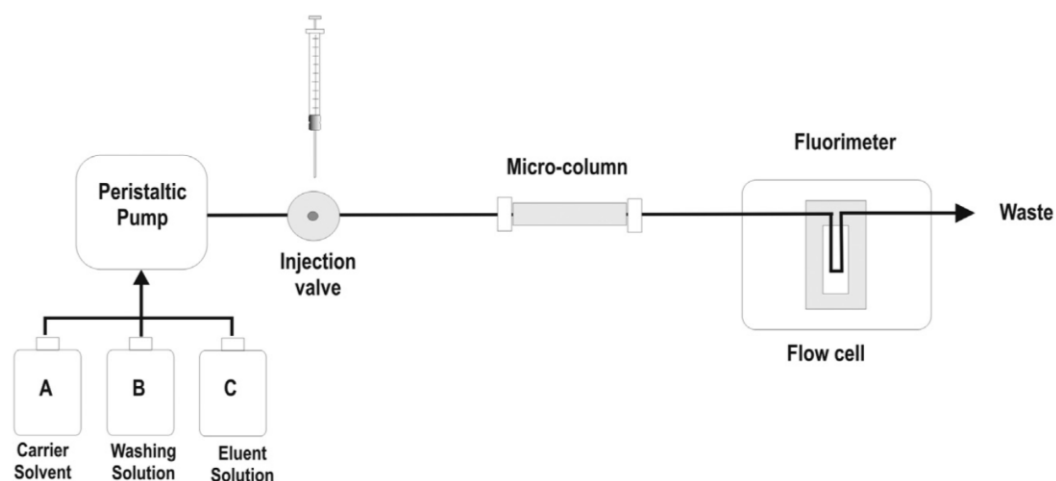
#### 4.1.10 Molekulárně vtištěnými polymery pro zakoncentrování a stanovení 1-hydroxypyrenu v moči

Tato práce [37] se zabývá stanovením polycyklického aromatického uhlovodíku (PAH) 1-hydroxypyrenu v lidské moči. PAH jsou karcinogenní látky, jejichž monitorování napomáhá ochraně životního prostředí. Pro stanovení byl vyvinut systém pro extrakci tuhou fází s použitím mikrokolonek naplněných molekulárně vtištěnými polymery (MIP). Selektivita stanovení byla zvýšena použitím fluorescenční detekce.

Vzorky moče byly odebrány od zdravých novorozenců a skladovány bez konzervačních látek při teplotě  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Před zpracováním se nechaly rozmrazit a poté zhomogenizovat protřepáním. Tekutina byla zfiltrována a následně přímo vstříkována do systému. Pro SPE byly připraveny mikrokolony naplněné 11,3 mg MIP sorbentu, který byl vybrán na základě specifické retence k analytu. Jako eluční činidlo byla použita směs metanolu a dichlormethanu.

Systém byl sestaven ze základních součástí: peristaltické pumpy pro aspiraci vzorku a činidel, šestipolohového injekčního ventilu a za ventilem byla připojena SPE mikrokolona naplněná sorbentem. Takto sestavený systém využíval luminiscenční spektrofotometr pro měření intenzity fluorescence. Celý systém je znázorněn na obrázku 20.

Navrhovaný postup vykazuje dobrou selektivitu, citlivost a reprodukovatelnost pro stanovení PAH ve vzorcích lidské moče. Výhodou jsou také nízké náklady na analýzu oproti jiným technikám. Analytické parametry metody jsou uvedeny v Tabulce 1.



Obrázek 20: Schéma FIA systému pro stanovení 1-hydroxypyrenu [37]:  
*A* = nosný proud, *B* = promývací roztok, *C* = eluční činidlo, **Peristaltic pump** = peristaltická pumpa, **Injection valve** = injekční ventil, **Micro-column** = mikro-kolona, **Flow cell** = průtoková cela, **Fluorimeter** = fluorimetr, **Waste** = odpad

**Tabulka 1: Analytické parametry vybraných metod SPE v FIA**

| Technika    | Analyt/matrice   | Typ sorbentu  | Množství sorbentu | Objem vzorku [ml]  | Faktor pre-konzentrace | LOD [µg/l]                   | Eluční činidlo                          | Detekce | Citace |
|-------------|--|---|-------------------|--|------------------------|------------------------------|---|---------|--------|
| FIA on-line | Pb <sup>(II)</sup> /<br>přírodní voda                        | Pryskyřice<br>Amberlite<br>XAD-4 resin<br>polymerní<br>sorbent/<br>nepolární/ | –                 | 7,7  | 9                      | 7                            | HCl<br>(0,20 mol/l)                     | UV-VIS  | [26]   |
| FIA on-line | Cd <sup>(II)</sup> a Pb <sup>(II)</sup> /<br>(ryby, krevety) | Pryskyřice<br>Amberlite<br>XAD-4 resin<br>polymerní<br>sorbent/<br>nepolární/ | 165 mg            | 50   | 13 Cd<br>6 Pb          | 0,02-0,1<br>Cd<br>0,6-2,0 Pb | Etanol                                  | ICP OES | [27]   |
| FIA on-line | Zn <sup>(II)</sup> /<br>voda, vlasy, moč,<br>sliny           | Alizarin Red S<br>modifikovaný<br>oxidem<br>hlinitým/<br>iontoměnič           | 80 mg             | 25 ml<br>(voda, moč)<br>5 ml<br>(lidské vlasy,<br>sliny) | 144<br>(25 ml)         | 0,2<br>(25 ml)               | HNO <sub>3</sub><br>(1 mol/l)<br>250 µL | FAAS    | [28]   |
| FIA on-line | Co <sup>(II)</sup> /<br>stojaté voda<br>(eutrofní)           | Ligand<br>NAPdien<br>polymerní<br>sorbent/<br>nepolární/                      | 135 mg            | 10   | 110                    | 0,75                         | HCl<br>(2,0 mol/l)<br>200 µL            | FAAS    | [29]   |

|                 |   |   |        |     |      |                     |                               |                  |      |
|-----------------|---|---|--------|-----|------|---------------------|-------------------------------|------------------|------|
| FIA<br>off-line | PAH uhlovodíky:<br>(NA, AcPY, AcP,<br>FL, PH, AN, FLUR,<br>PY, CHRY, BbF,<br>BkF, BaP, IcdP,<br>dBA, BPe) <sup>1/</sup> /<br>povrchová voda | MWCNTs<br>mikročástice s<br>vícenásobnými<br>uhlíkovými<br>nanotrubkami<br>(L-MWCNT-<br>60100)  | 25 mg  | 50  | –    | 0,001 -<br>0,15 g/l | Metanol<br>0,4 ml             | GC-MS            | [30] |
| FIA<br>off-line | CAP -<br>chloramfenikol/<br>vzorky životního<br>prostředí   | MIP -<br>molekulárně<br>vtištěné<br>polymery/<br>polymerní<br>sorbenť/<br>nepolární/            | 100 mg | 100 | 100  | 0,015               | Metanol<br>1 ml               | HPLC -<br>UV-VIS | [31] |
| FIA<br>on-line  | Pb <sup>(II)</sup> /<br>pivo  | Moringa<br>olejodárná<br>přirodní<br>adsorbent<br>(biosorbent)                                  | 63 mg  | 10  | 93   | 7,5                 | HNO <sub>3</sub><br>(2 mol/l) | FAAS             | [32] |
| FIA<br>on-line  | Zn <sup>(II)</sup> /<br>brazilský<br>cukrovarnický<br>destilát  | aktivovaný<br>uhlík získaný z<br>Moringy<br>olejodárné<br>přirodní<br>adsorbent<br>(biosorbent) | 30 mg  | 10  | 10,9 | 1,9                 | HNO <sub>3</sub><br>(1 mol/l) | FAAS             | [33] |

|                |  |  |         |      |     |                |  |      |      |
|----------------|--|--|---------|------|-----|----------------|--|------|------|
| FIA<br>on-line | Hg <sup>(II)</sup> / voda, lidské<br>vlasy   | IIP (Hg-IIP)   | 150 mg  | 25   | 160 | 0,036<br>ng/ml | HNO <sub>3</sub><br>(1 mol/l)<br>5 ml      | VIS  | [34] |
| FIA<br>on-line | Ag/<br>voda  | modifikovaný<br>bentonit                                 | 150 mg  | 30   | 116 | 0,08           | Thiomočo-<br>vina<br>(0,4 mol/l)<br>250 µL | FAAS | [35] |
| FIA<br>on-line | Cd <sup>(II)</sup> /<br>pitná a jezerní voda,<br>fyziologický roztok a<br>vzorek cigaret | černé uhlí s 3-<br>MPTMS (3-<br>MPTMS-<br>grafted<br>CB) | 30 mg   | 20   | 37  | 0,20           | HCl<br>(1 mol/l)                           | FAAS | [36] |
| FIA<br>on-line | 1-hydroxypyren/<br>lidská moč  | MIP  | 11,3 mg | 0,25 | –   | 3,1            | Směs<br>methanolu a<br>dichlor-<br>methanu | FL   | [37] |

*LOD – mez detekce, – neuvedeno, FAAS – plamenová atomová absorpční spektroskopie, FL – fluorescenční detekce, GC-MS – plynová chromatografie s hmotnostní detekcí, HPLC – VIS – kapalinová chromatografie se spektrofotometrickou detekcí, ICP-OES – optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, UV-VIS – spektrofotometrie ve viditelné nebo UV oblasti, NA – naftalen, AcPY – acenaftalen, AcP – acenaften, FL – fluorine, PH – fenantren, AN – antracen, FLUR – fluoranthen, PY – pyren, CHRY – chrysene, BbF – benzo[b]fluoranthen, BkF – benzo(k)fluoranthen, BaP – benzo[a]pyren, IcdP – indeno[1,2,3-cd]pyren, dBAa – dibenz[a,h]antracen, BPe – benzo[g,h,i]perylene*

## 4.2 SPE V PRŮTOKOVÉ INJEKČNÍ ANALÝZE S POUŽITÍM VÍCERO PÍSTOVÝCH PUMP

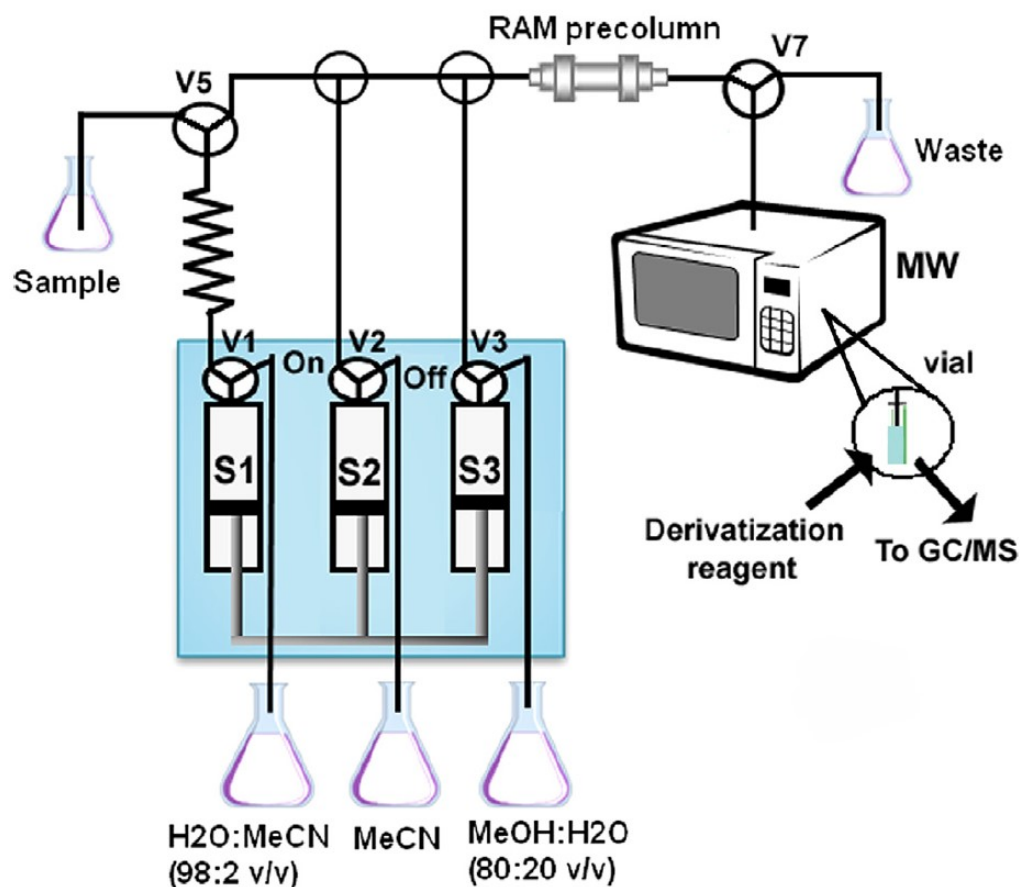
### 4.2.1 RAM pro stanovení atenololu a propranololu v lidské plazmě

Tato práce [38] představuje metodu na stanovení atenololu (ATN) a propranololu (PRO) v lidské plazmě s využitím extrakce tuhou fází ve spojení s průtokovou injekční analýzou spojenou s plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí. Separace pomocí SPE s MSFIA umožňuje současné stanovení ATN a PRO s vysokou selektivitou a citlivostí.

Pro optimalizaci a validaci metody bylo použito 30 ml lidské plazmy od zdravých dospělých dárců. Upravená plazma byla nakonec připravena na dávkování na extrakční kolonu, která byla naplněna RAM sorbentem. K eluci byl použit acetonitril.

Systém tvořený vícekanálovým průtokovým systémem obsahoval tři obousměrné injekční stříkačky, které sloužili k aspiraci a dávkování vzorku, promývacího činidla a elučního činidla. Každá stříkačka měla třicestný injekční ventil. Do systému byly zapojeny ještě dva ventily pro řízení směru toku. Dále systém obsahoval kolonu o rozměrech 25 mm×4 mm naplněnou RAM sorbentem s průměrem částic 25 μm. Výsledný extrakt se sbíral do vialek. K eluátu bylo přidáno činidlo pro zvýšení stability analytů při vysokých teplotách a derivatizační reakce proběhla za asistence mikrovlnného záření, což urychlilo reakci. Derivatizované vzorky byly analyzovány za použití plynového chromatografu, který byl vybaven autosamplerm a hmotnostním detektorem. Celé schéma průtokového systému s mikrovlnou troubou a GC-MS detektorem je znázorněno na obrázku 21.

Metoda byla úspěšně aplikována pro stanovení ATN a PRO v lidské plazmě pomocí GC-MS. Celý proces extrakce a derivatizace analytu je automatizován. Minimální manipulace se vzorky zvyšuje přesnost, snižuje náklady a zkracuje dobu analýzy. Dosažené analytické parametry jsou uvedeny v Tabulce 2.



Obrázek 21: Schematické znázornění systému SPE-MSFIA-MW [38]:  
**MeCN** = acetonitril, **Sample** = vzorek, **RAM precolumn** = RAM pre-kolona, **MW** = mikrovlnná trouba, **S (1-3)** = pístová pumpa, **V (1-7)** = ventil, **W** = odpad, **Vial** = vialka, **Derivatization reagent** = derivatizační činidlo

## 4.3 SPE V SEKVENČNÍ INJEKČNÍ ANALÝZE

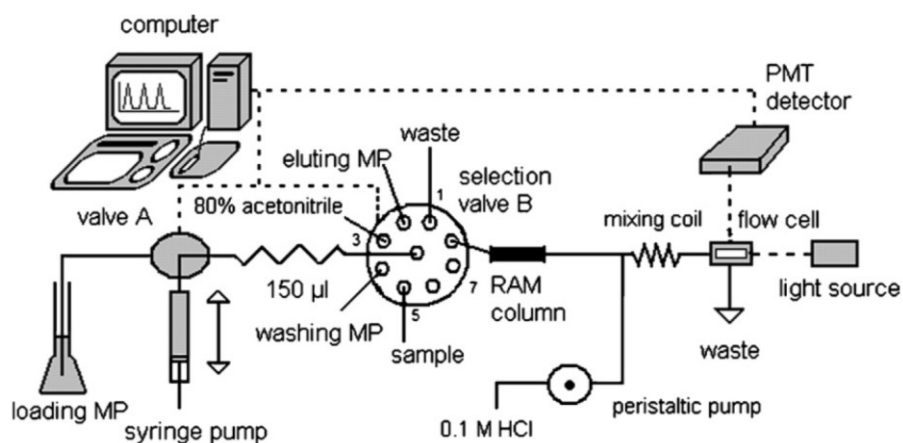
### 4.3.1 On-line spojení sekvenční injekční analýzy a extrakce tuhou fází s využitím materiálů s omezeným přístupem pro extrakci a stanovení propanololu v lidské plazmě

Tento článek [39] se zabývá přímým stanovením propanololu v lidské plazmě. Popisovaná metoda je založena na sekvenční injekční analýze (SIA) ve spojení s SPE na materiálech s omezeným přístupem (RAM).

Vzorky lidské plazmy byly doplněny zásobním roztokem propanololu, aby se dosáhlo konečné koncentrace v nezhředěné plazmě. Vzorky byly inkubovány při 37°C a centrifugovány. Supernatant byl odebrán na analýzu. K desorpci analytu z kolony bylo použito 5 ml směsi tetrahydrofuran-voda (25:75, v/v).

System byl sestaven z pístové pumpy pro aspiraci činidel nosného proudu, osmipolohového ventilu, mezi ventil a mísící cívku byla vložena RAM kolona, na níž probíhá extrakce, dále systém zahrnoval peristaltické čerpadlo pro aspiraci derivatizačního činidla. Fluorescence propanololu umožnila využít fluorescenční detektor. Uspořádání systému je ukázáno na obrázku 22.

Navržená metoda SIA-RAM je plně automatizovaná a tím snižuje manipulaci se vzorky. Minimální manipulace zaručuje zvýšení přesnosti, zkracuje čas analýzy a snižuje náklady. Metoda vykazuje dobrou citlivost a na rozdíl od jiných technik nevyžaduje nákladné vybavení. Díky využití techniky SIA se snižuje objem použitých činidel a produkovaného odpadu. Analytické parametry metody jsou uvedeny v Tabulce 2.



Obrázek 22: Schéma systému SIA-RAM [39]:

**MP** = mobilní fáze, **Syringe pump** = pístová pumpa, **RAM column** = RAM kolona, **Peristaltic pump** = peristaltická pumpa, **Mixing coil** = mísící cívka, **Flow cell** = průtoková cela, **Waste** = odpad, **Detector** = detektor



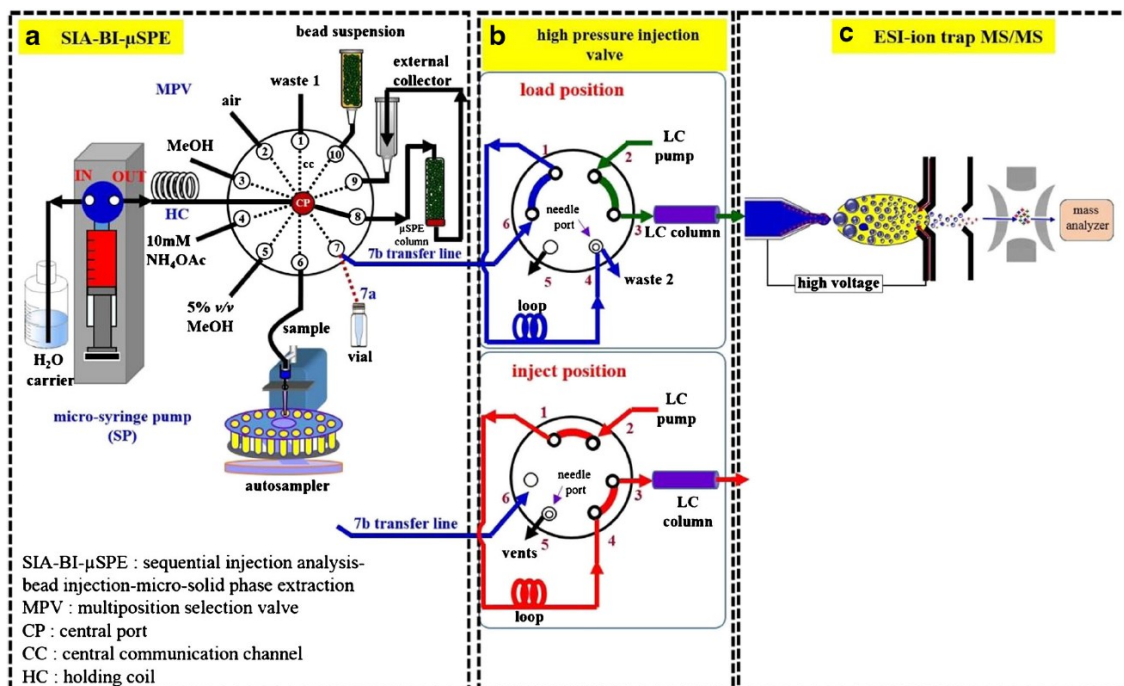
### 4.3.2 Obnovitelný sorbční materiál pro extrakci tuhou fází s přímým spojením SIA-BI na LC-ESI-MS/MS

Metoda [40] je založena na použití obnovitelného sorbentu pro automatizovanou extrakci tuhou fází ve vzorcích odpadních vod využívající SIA-BI- $\mu$ SPE-LC-ESI-MS/MS pro stanovení beta-blokátorů (atenolol, sotalol, pindolol, acebutolol, timolol, metoprolol, labetalol, karazolol, propranolol, betaxolol).

Vzorky vody byly odebrány z hlavní čistírny odpadních vod. Před samotnou analýzou byly vzorky vakuově filtrovány přes nylonovou membránu. Pro SPE byl vybrán sorbent HyperSep, což je sorbent s navázanými C18 řetězci, který byl naplněn v kolonách. Zadržené analyty byly ze sorbentu desorbovány 120  $\mu$ L metanolu.

System byl sestaven tak, aby působil jako automatizovaná jednotka od odběru vzorků po detekci. Pro automatizaci SPE byla použita pístová pumpa s třicestným teflonovým ventilem, který umožňuje aspiraci činidel nosného proudu nebo činidel z centrálního portu vícecestného ventilu. Desetipolohový selekční ventil byl k pístové pumpě připojen pomocí spojovací cívky. Kolonka byla pro každou analýzu obnovena. Na vícecestný ventil byla připojena nádobka se suspenzí sorbentu, ze které bylo pokaždé aspirováno potřebné množství na vytvoření kolonky. Po analýze byl použitý sorbent odstraněn do odpadu a byla vytvořena nová kolonka. Tímto způsobem byl odstraněn problém ovlivnění analýzy vzorku předchozí analýzou. System SIA-SI- $\mu$ SPE přímo propojen s HPLC a ESI-MS/MS detektorem. Celé schéma průtokového systému s LC-ESI-MS/MS je znázorněno na obrázku 23.

Použitý systém je jedinečný v tom, že poskytuje on-line spojení úpravy vzorku, separace a hmotnostní detekce. Možnost nastavení toku v průtokovém systému umožňuje synchronizaci jednotlivých kroků. On-line spojení SIA-BI- $\mu$ SPE-LC-ESI-MS/MS nabízí výhody, jako je snížení množství použitého rozpouštědla, eliminaci lidského zásahu a manuálních kroků, zvýšená průchodnost vzorku, snížení chyb a doby analýzy. Dosažené analytické parametry jsou uvedeny v Tabulce 2.



Obrázek 23: Schéma online systému SIA-BI- $\mu$ SPE-LC-ESI-MS/MS [40]:

**A: extrakční jednotka, B: separační jednotka, C: detekční jednotka**

*Carrier* = nosný proud, *Micro-syringe pump* = pístová mikro-pumpa, *HC* = mísící cívka, *MPV* = vícecestný selekční ventil, *CP* = centrální port, *Sample* = vzorek,  *$\mu$ SPE column* = SPE mikrokolona, *Vial (7a)* = vialka, *Transfer line (7b)* = převod,

### 4.3.3 Kovově-organické rámce (MOF) navrstvené na smíšené matricové disky (MMD) pro extrakci fenolických látek před chromatografickou separací

Studie [41] představuje aplikaci MOF-MMD pro automatickou extrakci kontaminantů životního prostředí. Pro stanovení sedmi substituovaných fenolů bylo využito spojení SPE a SIA před HPLC analýzou.

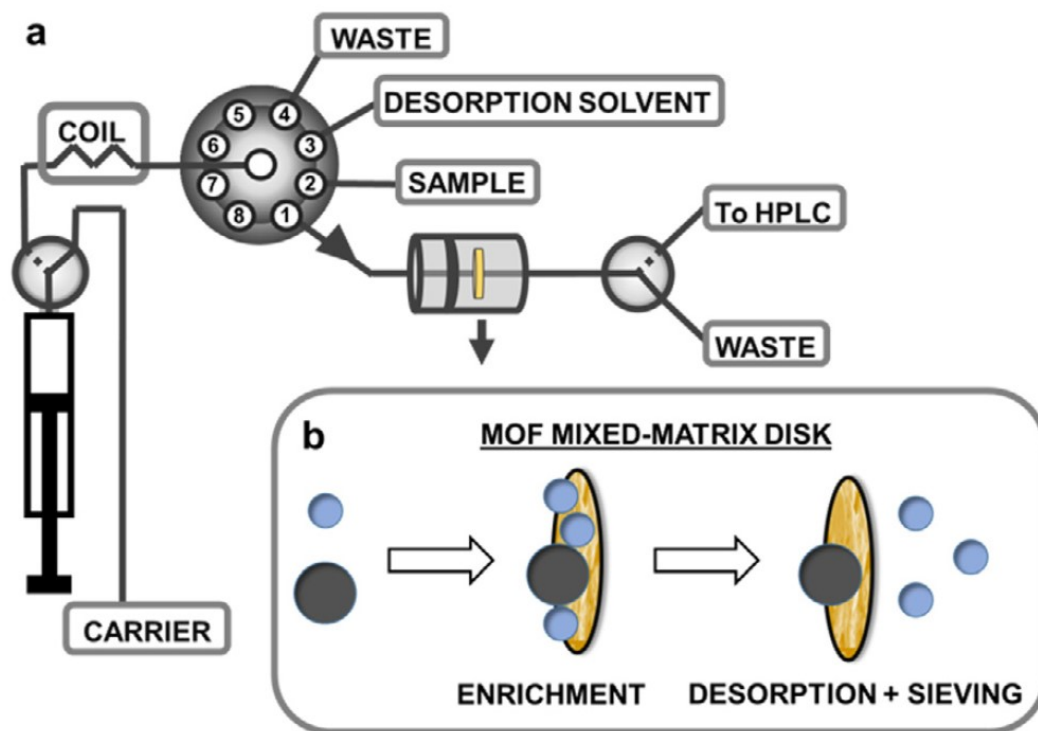
Shromážděny byly tři různé vzorky vody z nádrží podzemních vod, které se nacházejí v blízkosti různých čistíren odpadních vod. Vzorky neprošly žádnou úpravou, pouze byly před samotnou analýzou zfiltrovány za použití nylonového membránového filtru o velikosti pórů 0,45  $\mu$ m.

Pro extrakci byl vybrán MOF (Zirkonium-tereftalát UiO-66 a UiO-66-NH<sub>2</sub>) sorbent, který byl navrstven na mechanicky stabilní disky. Pro přípravu disků byl suchý UiO-66 nebo prášek UiO-66-NH<sub>2</sub> dispergován v 5 ml acetonu. Potom byl přidán 1,0 g roztoku, kterým jsou disky tvořeny, do vialek obsahující suspenzi MOF a aceton, celá směs se nechala inkubovat. Poté byl aceton odpařen plynným dusíkem. Výsledná disperze byla nalita na Petriho misku a zahřívána. Konečné disky byly promyty methanolem a

vysušeny na vzduchu. Takto připravený sorbent se použil na extrakci. Pro zakoncentrování bylo aspirováno 1,5 ml vzorku. Po dokončení extrakce se analyt extrahoval 0,3 ml acetonu.

SIA systém tvořila obousměrná Hamiltonova injekční stříkačka jako pístová pumpa, na kterou byl připojen třicestný ventil. Dále byl do systému zahrnut osmicestný ventil s centrálním portem, který se používal pro aspiraci vzorku, eluentu a činidel. Extrakční zařízení bylo napojeno na SIA systém. Tvořil ho válec s dutinou, ve které byl připraven disk a na něm navrstven sorbent. Zařízení bylo připojeno na třicestný ventil, který umožnil sběr eluátu do připravených vialek pro další HPLC analýzu. K detekci byl v této studii využit UV detektor, který měřil při vlnové délce 200-302 nm. Schéma systému je znázorněno na obrázku 24.

V této studii vyvinuté MOF-MMD ukázaly vysokou výkonnost při automatizaci SPE a stanovení substituovaných fenolů. Kromě chemických interakcí se při SPE uplatnil i mechanismus exkluze na základě velikosti molekuly. Detekční limit, faktor zakoncentrování a další parametry jsou uvedeny v Tabulce 2.



Obrázek 24: Schéma automatizovaného systému SIA-SPE pomocí MOF-MMD [41]:

**Carrier** = nosný proud, **Coil** = mísící cívka, **Sample** = vzorek, **Desorption solvent** = eluční činidlo, **MOF mixed-matrix disk** = SPE kolona s MOF diskem, **To HPLC** = spojení s HPLC, **Waste** = odpad

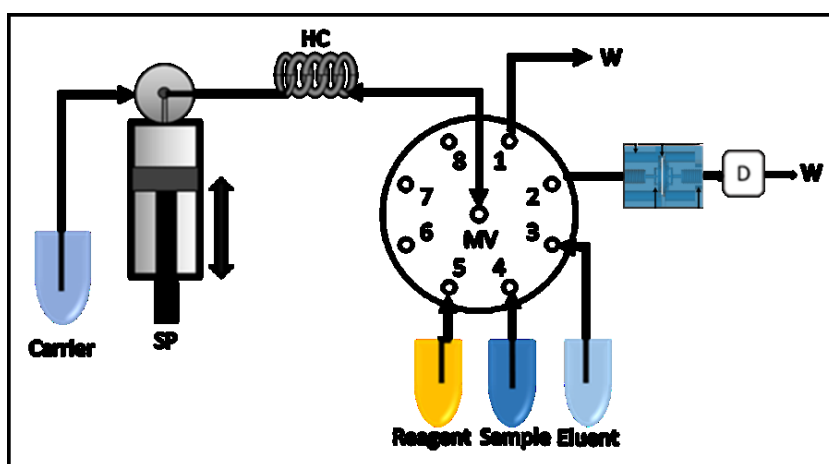
#### 4.3.4 Využití nanovláken v sekvenční injekční analýze

Tato práce [42] se zabývá využitím nanovláken jako potenciálních sorbentů pro SPE. Metoda je založena na použití on-line spojení SPE-SIA s UV detekcí pro stanovení léčiv.

Byly testovány různé typy nanovláken (polyamid, polyvinylidén fluorid, polyakrylonitril, polyethylen). SPE byla provedena ve formátu disku. Toto uspořádání se ukázalo být výhodnější než kolonový formát. Z vláken byly vyříznuty kruhy o průměru 13 mm a umístěny do speciálního zařízení, které bylo vyrobeno pomocí 3D tiskárny a jeho desing byl navržen tak, aby se snížil mrtvý objem. Celkové množství vláken bylo v řádech miligramů. Do systému bylo aspirováno 100  $\mu\text{L}$  vzorku, které bylo po zakoncentrování eluováno 70% metanolem.

SIA systém byl sestaven z pístové pumpy, osmicestného selekčního ventilu a UV detektoru. Celý systém je znázorněn na obrázku 25.

Metoda je výhodná pro testování extrakčních vlastností nanovláken a umožňuje spojení s HPLC. Parametry jsou uvedeny v Tabulce 2.



Obrázek 25: Systém SIA s 3D vytištěným zařízením pro umístění nanovláken [42]:  
*Carrier* = nosný proud, *SP* = pístová pumpa, *HC* = mísící cívka, *Sample* = vzorek, *Reagent* =  
činidlo, *Eluent* = eluční činidlo, *D* = detektor, *W* = odpad

## 4.4 SPE V LAB-ON-VALVE FORMÁTU

### 4.4.1 Obnovitelný celulózový sorbent pro zakoncentrování železa z vysokého objemu vzorku

Práce [43] popisuje systém Lab-on-valve pro zakoncentrování analytu z mililitrových objemů vzorku. Systém byl aplikován na spektrofotometrické stanovení železa v okyselené mořské vodě.

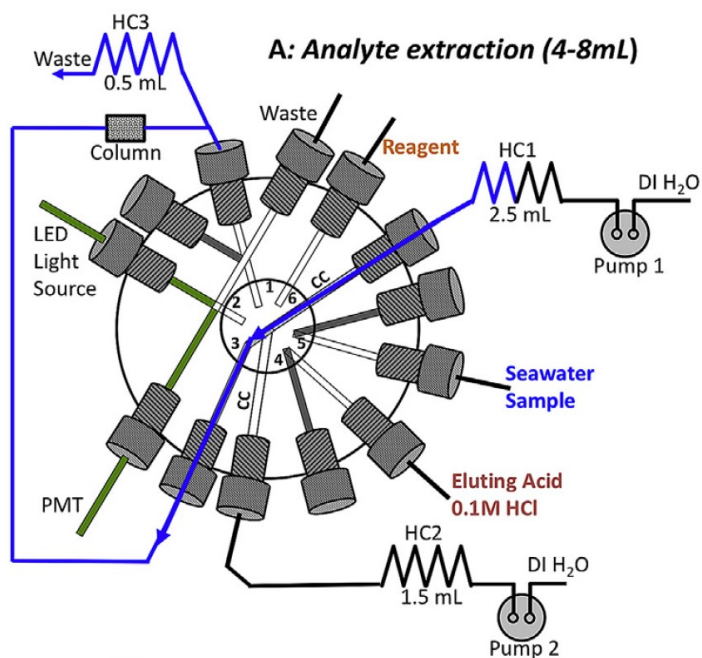
Vzorky mořské vody byly pětkrát zředěny, vakuově filtrovány a okyseleny HCl na pH 1,5. Z takto okyselené mořské vody byly denně připraveny pracovní roztoky. Zakoncentrování železa probíhalo na obnovitelných kolonkách v rámci LOV modulu. V této studii byla zvolena jako sorbent celulóza obsahující 8-hydroxychinolin, která patří mezi chelatační sorbenty. Suspenze sorbentu byla před aspirací příslušného objemu dispergovaná napuštěním vzduchu při vysoké průtokové rychlosti, tím se zajistila aspirace opakovatelného množství suspenze sorbentu. Analyty byly z mikrokolonek eluovány 160  $\mu\text{L}$  HCl.

Použitý průtokový systém zahrnoval pístové čerpadlo, obousměrné peristaltické čerpadlo a osmicestný selekční ventil. Výstup z ventilu směrem k detekční cele byl propojen krátkou mísicí cívkou. Pro tuto metodu byla zvolena spektrofotometrická detekce při 510 nm s detekční celou s optickou dráhou 14 cm, která zvyšuje citlivost dané metody. Uspořádání systému ukazuje obrázek 26.

Navrhovaný systém pro zakoncentrování železa prokázal svou použitelnost pro analýzu vzorků mořské vody s vhodným limitem detekce. Více detailů viz. Tabulka 2.



Navrhovaná metoda poskytuje univerzální postup pro zakoncentrování a spektrometrické stanovení přechodných kovů v mořské vodě. Nízký limit detekce a další parametry jsou k nalezení v Tabulce 2.



Obrázek 27: Schéma systému  $\mu$ SI-LOV ve fázi extrakce analytu [44]:  
**Pump** = pumpa, **CC** = centrální kanál, **HC** = mísicí cívka, **Seawater sample** = vzorek mořské vody, **Eluting Acid** = eluční činidlo, **Column** = kolona, **PMT** – fotonásobič,  
**Waste** = odpad

## 4.5 SPE VE SPOJENÍ S TECHNIKOU LAB-IN-SYRINGE

### 4.5.1 Extrakce estrogenů na zeolitových imidazolátových rámcích (MPC-ZIF)

V tomto článku [45] je navržena metoda na použití MPC-ZIF pro automatizovanou mikroextrakci tuhou fází a detekci pomocí GC-MS pro stanovení estrogenů v odpadních vodách.

Vzorky byly odebrány před vstupem a na výstupu z čistírny odpadních vod. Byly skladovány v plastových lahvích při teplotě 4°C. Před analýzou byly zcentrifugovány, aby se odstranily přítomné pevné částice. Odebraná kapalina byla zfiltrována přes nylonové filtry.

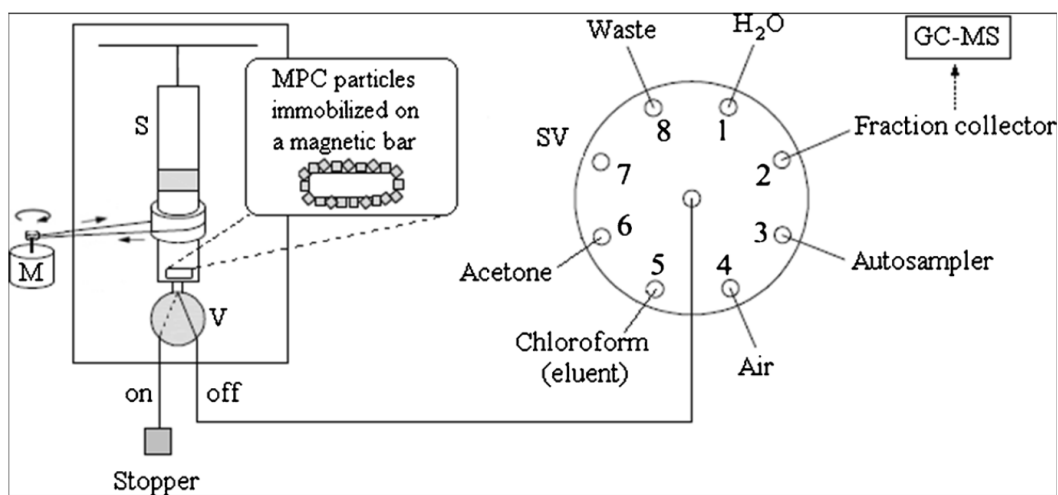
Extrakce  $\mu$ -SPE byla provedená v systému LIS. Prostor pístové pumpy byl naplněn MPC-ZIF sorbentem. Zadržené analyty byly ze sorbentu desorbovány 300  $\mu$ L chloroformu.

Systém zahrnoval injekční stříkačku jako pístovou pumpu, jejíž vnitřní prostor byl využit i pro extrakci a reakci. Uvnitř pístové pumpy bylo vloženo magnetické míchadlo, na kterém bylo navázáno 10 mg sorbentu, tvořeného magnetickými uhlíkovými mikročásticemi získanými ze zeolitových imidazolátových rámců. Dále systém obsahoval solenoidový ventil umístěný na hlavě stříkačky a osmipolohový selekční ventil s centrálním portem. Pomocí pumpy bylo do stříkačky aspirováno 4,5 ml vzorku. Následně se v důsledku aktivace magnetického pole dispergovaly magnetické částice ve vzorku. Po zastavení míchání byly částice opět zadrženy na magnetickém míchadle uvnitř stříkačky. Poté došlo k naplnění stříkačky vodou a k odstranění matrice ze vzorku. Nakonec byla provedena eluce estrogenů aspirací 0,3 ml elučního činidla, kterým byl v tomto případě chloroform. Eluát se sbíral do vialky, v níž byl následně derivatizován. Derivatizované vzorky se poté nastříkaly do systému GC-MS. Schéma na obrázku 28.

Automatizace systému poskytovala dobrou přesnost a nízké hodnoty relativní směrodatné odchylky. Dosažené analytické parametry jsou uvedeny v Tabulce 2.

Nevýhodou je relativně dlouhá doba extrakce (12 min), manuální sběr eluátů a použití halogenovaného rozpouštědla.





Obrázek 28: Schématické znázornění LIS [45]:

*M* = motor, *S* = pístová pumpa, *SV* = selekční ventil, *V* = třícestný ventil, **Eluent** = eluční činidlo, **Waste** = odpad

**Tabulka 2: Analytické parametry vybraných metod SPE v MSFIA, SIA, LOV, LIS**

| Technika          | Analyt/matrice                  | Typ sorbentu                             | Množství sorbentu/<br>rozměr kolony | Objem vzorku [ml] | Faktor prekoncentrace | LOD [µg/l]      | Eluční činidlo/<br>množství      | Detekce          | Citace |
|-------------------|---------------------------------|--|-------------------------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|----------------------------------|------------------|--------|
| MSFIA<br>off-line | ATN, PRO/<br>lidská plazma      | RAM                                      | 25 mm<br>× 4 mm                     | 0,2               | –                     | 0,002<br>µg/ml  | ACN                              | GC-MS            | [38]   |
| SIA<br>on-line    | Propanol/<br>lidská plazma      | RAM                                      | 2 mm<br>×10 mm                      | 0,05              | –                     | 0,046<br>µg/ml  | THF-voda<br>(25:75, v/v)<br>5 ml | FL               | [39]   |
| SIA-BI<br>on-line | Beta-blokátory<br>/odpadní voda | HyperSep                                 | 10 mg                               | 10                | 62 - 74               | 0,005 -<br>0,07 | MeOH<br>120 µL                   | LC-ESI-<br>MS/MS | [40]   |
| SIA<br>off-line   | Fenoly/<br>podzemní vody        | MOF-MMD                                  | průměr<br>disku<br>50 mm            | 1,5               | 12 - 20<br>(2 ml)     | 0,1 - 0,2       | Aceton<br>0,3 ml                 | HPLC –<br>UV     | [41]   |
| SIA<br>on-line    | Léčiva                          | Nanovlákná<br>(PA, PS, PAN,<br>PVDF, PE) | 17 mg –<br>50 mg                    | 0,1               | –                     | –               | MeOH                             | UV               | [42]   |

| Technika     | Analyt/matrice                      | Typ sorbentu                           | Množství sorbentu/<br>rozměr kolony | Objem vzorku [ml] | Faktor prekoncentrace | LOD [ $\mu\text{g/l}$ ] | Eluční činidlo/<br>množství          | Detekce  | Citace |
|--------------|-------------------------------------|--|-------------------------------------|-------------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------------------|----------|--------|
| LOV on-line  | $\text{Fe}^{(II)}$ /<br>mořská voda | celulóza obsahující 8-hydroxychinolin  | 12,5 mg                             | 3,3               | 86 (13 ml)            | 5 nmol/l                | HCl<br>160 $\mu\text{L}$             | UV - VIS | [43]   |
| LOV on-line  | Zn/<br>mořská voda                  | pryskyřice - Toyopearl AF-Chelate-650M | 6 mm $\times$ 2,54 mm               | 2                 | –                     | 0,02 nmol/l (8ml)       | HCl (0,1 M)<br>300 $\mu\text{L}$     | FL       | [44]   |
| LIS off-line | Estrogen/<br>odpadní voda           | MPC-ZIF                                | 10 mg                               | 4,5               | –                     | –                       | $\text{CHCl}_3$<br>300 $\mu\text{L}$ | GC-MS    | [45]   |

*LOD – mez detekce, – nevedeno, PA – polyamid, PS – polystyrén, PVDF – polyvinyliden fluorid, PAN – polyakrylonitril, PE – polyetylen, MOF-MMD - smíšené matricové disky (MMD) - kov-organické rámce (MOF), ACN – acetonitril, THF – tetrahydrofuran, MeOH – metanol,  $\text{CHCl}_3$  – chloroform, ATN – atenolol, PRO – propranolol*

## 5 ZÁVĚR

Bakalářská práce se zabývala využitím průtokových technik s automatizovanou extrakcí tuhou fází. Do rešeršní části bylo zahrnuto 21 odborných článků. Výsledné analytické parametry metod s různými sorbenty jsou zpracované do přehledných tabulek.

Průtokové techniky jsou využívány především pro jednoduchou automatizaci analytických procesů, včetně extrakce tuhou fází. Snížením manipulace se vzorky a použití citlivých detekčních technik umožnilo dosažení nízkých limitů detekce při stanovení analytů.

Jako nejčastěji používanou technikou se jeví průtoková injekční analýza. Většina procedur byla v on-line zapojení s detektorem. Detekčním technikám nejvíce dominovala FAAS detekce, v těsné návaznosti dominovala také UV-VIS spektrofotometrie. Mezi významné detektory se také řadí spojení GC-MS, které vyniká především svojí citlivostí. Techniky LOV a LIS vykazovaly nižší limity detekce oproti ostatním průtokovým technikám. Také jejich spotřeba činidel byla na rozdíl od ostatních technik výrazně nižší, díky tomu byly také sníženy náklady na analýzu.

Nejnovější sorbenty, jako třeba nanovlákná nebo sorbenty na bázi zeolitových imidazolových rámců nebo kovově-organických rámců jsou využívány ve spojení s posledními generacemi průtokových technik, jako je sekvenční injekční analýza nebo Lab-in-Syringe technika. Přístrojově jednodušší analytické techniky, ke kterým se průtokové techniky řadí, jsou často výhodným nástrojem pro testování a využití moderních sorbentů pro extrakci tuhou fází.

## 6 SEZNAM OBRÁZKŮ

|  |    |
|--|----|
| Obrázek 1: Princip FIA.....  | 10 |
| Obrázek 2: Schéma FIA.....   | 10 |
| Obrázek 3: Princip SIA.....  | 11 |
| Obrázek 4: Schéma SIA .....  | 12 |
| Obrázek 5: Schéma BI-LOV.....  | 14 |
| Obrázek 6: Schéma SIC a princip SIC.....   | 15 |
| Obrázek 7: Schéma systému LIS s detekcí bez transportu do detekční cely.....       | 16 |
| Obrázek 8: Schéma jednotlivých kroků SPE .....                                     | 17 |
| Obrázek 9: Vývoj formátu SPE: kolonky, disky, pipety, mikrotitrační destičky ..... | 18 |
| Obrázek 10: MEPS – injekční stříkačka obsahující sorbent.....                      | 20 |
| Obrázek 11: Systém FIA s on-line prekoncentrací.....                               | 24 |
| Obrázek 12: Schéma průtokového systému pro prekoncentraci a stanovení zinku.....   | 26 |
| Obrázek 13: Schéma SPE-FIA-FAAS .....  | 27 |
| Obrázek 14: Schéma mikrokolonky naplněné uhlíkovými nanotrubičkami MWCNTs.         | 28 |
| Obrázek 15: (a) aspirace, (b) eluce .....  | 28 |
| Obrázek 16: Schéma systému FIA-HPLC s UV detekcí pro stanovení CAP.....            | 29 |
| Obrázek 17: Schéma on-line prekoncentračního systému.....                          | 30 |
| Obrázek 18: Schéma IIP-FIA pro stanovení rtuti .....                               | 31 |
| Obrázek 19: Schéma průtokového systému, eluční fáze .....                          | 32 |
| Obrázek 20: Schéma FIA systému pro stanovení 1-hydroxypyrenu .....                 | 34 |
| Obrázek 21: Schematické znázornění systému SPE-MSFIA-MW: .....                     | 39 |
| Obrázek 22: Schéma systému SIA-RAM .....   | 40 |
| Obrázek 23: Schéma online systému SIA-BI- $\mu$ SPE-LC-ESI-MS/MS .....             | 42 |
| Obrázek 24: Schéma automatizovaného systému SIA-SPE pomocí MOF-MMD.....            | 43 |
| Obrázek 25: Systém SIA s 3D vtištěným zařízením pro umístění nanovláken:.....      | 44 |
| Obrázek 26: Schéma LOV systému.....  | 46 |
| Obrázek 27: Schéma systému $\mu$ SI-LOV ve fázi extrakce analytu.....              | 47 |
| Obrázek 28: Schematické znázornění LIS.....  | 49 |

## 7 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] RŮŽIČKA, J. *Flow injection tutorial* [online]. 2017 [cit. 2017-12-21]. Dostupné z: <http://www.flowinjectiontutorial.com/>
- [2] ZÝKA, J. *Analytická příručka 2. díl. 4. upr. vyd.* Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1988.
- [3] CERDÀ, A. a V. CERDÀ. *An introduction to flow analysis*. Palma de Mallorca: SCIWARE, S.L., 2009.
- [4] SKLENÁŘOVÁ, H. *Automatizace a průtokové analytické techniky. Moodle pro výuku 1* [online]. Univerzita Karlova, 2014 [cit. 2018-02-23]. Dostupné z: <https://dl1.cuni.cz/mod/page/view.php?id=192370>
- [5] PASEKOVÁ, H., M. POLÁŠEK a P. SOLICH. *Sequential injection analysis. Chemické listy* [online]. 1999, 93, 354-359 [cit. 2018-02-23]. ISSN 0009-2770.
- [6] ZAGATTO, Elias A. G. *Flow analysis with spectrophotometric and luminometric detection*. Waltham, Mass.: Elsevier, 2012. ISBN 0123859247.
- [7] ŠRÁMKOVÁ, I., B. HORSTKOTTE, H. SKLENÁŘOVÁ, P. SOLICH a SD. KOLEV. *A novel approach to Lab-In-Syringe Head-Space Single-Drop Microextraction and on-drop sensing of ammonia. Analytica Chimica Acta* [online]. 2016, 934, 132-144 [cit. 2018-02-28]. DOI: 10.1016/j.aca.2016.06.039. ISSN 00032670. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267016308029>
- [8] MAYA, F., B. HORSTKOTTE, J. M. ESTELA a V. CERDÀ. *Lab in a syringe: fully automated dispersive liquid-liquid microextraction with integrated spectrophotometric detection. Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2012, 404(3), 909-917 [cit. 2018-03-01]. DOI: 10.1007/s00216-012-6159-4. ISSN 1618-2642. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00216-012-6159-4>
- [9] CERDÀ, V. *Flow analysis: a practical guide*. Boston: Elsevier Science, 2014. ISBN 9780444626066.
- [10] NOVÁKOVÁ, L. a M. DOUŠA. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi II*. Praha: [i.e. Hradec Králové]: Lucie Nováková, 2013. ISBN 978-80-260-4244-0.
- [11] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody. 2., upr. a dopl. vyd.* Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-86369-07-2.
- [12] Extrakce, (online), cit. 3.5.2018, dostupné na: <https://web.natur.cuni.cz/~pcoufal/extrakce.pdf>
- [13] SIMPSON, Nigel J.K. *Solid-phase extraction principles, techniques, and applications*. New York: Marcel Dekker, 2000. ISBN 1420056247.

- [14] PŁOTKA-WASYLKA, J., N. SZCZEPAŃSKA, M. DE LA GUARDIA a J. NAMIEŚNIK. Modern trends in solid phase extraction: New sorbent media. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2016, 77, 23-43 [cit. 2018-02-23]. DOI: 10.1016/j.trac.2015.10.010. ISSN 01659936. Dostępne z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993615300558>
- [15] MAJORS, R. E. New Designs and Formats in Solid-Phase Extraction Sample Preparation. *LC GC Europe* [online]. 2001, 14(12), 746 - 751 [cit. 2018-03-02]. ISSN 14716577.
- [16] XU, C. H., G. S. CHEN, Z. H. XIONG, Y. X. FAN, X. C. WANG a Y. LIU. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2016, 80, 12-29 [cit. 2018-02-23]. DOI: 10.1016/j.trac.2016.02.022. ISSN 01659936. Dostępne z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993616300139>
- [17] MOEIN, M. M., A. ABDEL-REHIM a M. ABDEL-REHIM. Microextraction by packed sorbent (MEPS). *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2015, 67, 34-44 [cit. 2018-02-28]. DOI: 10.1016/j.trac.2014.12.003. ISSN 01659936. Dostępne z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993615000230>
- [18] KABIR, A., M. LOCATELLI a H. I. ULUSOY. Recent Trends in Microextraction Techniques Employed in Analytical and Bioanalytical Sample Preparation. *Separations* [online]. 2017, 4(4), 36- [cit. 2018-03-01]. DOI: 10.3390/separations4040036. ISSN 2297-8739. Dostępne z: <http://www.mdpi.com/2297-8739/4/4/36>
- [19] VALCÁRCEL, M., S. CÁRDENAS, B. M. SIMONET, Y. MOLINER-MARTÍNEZ a R. LUCENA. Carbon nanostructures as sorbent materials in analytical processes. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2008, 27(1), 34-43 [cit. 2018-03-02]. DOI: 10.1016/j.trac.2007.10.012. ISSN 01659936. Dostępne z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S01659936070023855>
- [20] PICHON, V. Immunosorbents: natural molecular recognition materials for sample preparation of complex environmental matrices. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 18(3), 219-235 [cit. 2018-03-02]. DOI: 10.1016/S0165-9936(98)00120-4. ISSN 01659936. Dostępne z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993698001204>
- [21] VASAPOLLO, G., R. Del SOLE, L. MERGOLA, M. R. LAZZOI, A. SCARDINO, S. SCORRANO a G. MELE. Molecularly Imprinted Polymers: Present and Future Prospective. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2011, 12(12), 5908-5945 [cit. 2018-03-02]. DOI: 10.3390/ijms12095908. ISSN 1422-0067. Dostępne z: <http://www.mdpi.com/1422-0067/12/9/5908>
- [22] CHANG, X., N. JIANG, H. ZHENG, Q. HE, Z. HU, Y. ZHAI a Y. CUI. Solid-phase extraction of iron(III) with an ion-imprinted functionalized silica gel sorbent prepared by a surface imprinting technique. *Talanta* [online]. 2007, 71(1), 38-43 [cit. 2018-03-02].

DOI: 10.1016/j.talanta.2006.03.012. ISSN 00399140. Dostupné z:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914006002116>

[23] HU, B., M. HE a B. CHEN. Nanometer-sized materials for solid-phase extraction of trace elements. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2015, 407(10), 2685-2710 [cit. 2018-03-02]. DOI: 10.1007/s00216-014-8429-9. ISSN 1618-2642. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00216-014-8429-9>

[24] CHIGOME, S. a N. TORTO. Electrospun nanofiber-based solid-phase extraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2012, 38, 21-31 [cit. 2018-03-02]. DOI: 10.1016/j.trac.2012.04.011. ISSN 01659936. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993612001793>

[25] PŁOTKA-WASYLKA, J., M. MARĆ, N. SZCZEPAŃSKA a J. NAMIEŚNIK. New Polymeric Materials for Solid Phase Extraction. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* [online]. 2017, 47(5), 373-383 [cit. 2018-03-01]. DOI: 10.1080/10408347.2017.1298987. ISSN 1040-8347. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408347.2017.1298987>

[26] KLAMTET, J., N. SUPHROM a C. WANWAT. A flow injection system for the spectrophotometric determination of lead after preconcentration by solid phase extraction onto Amberlite XAD-4. *Maejo Int. J. Sci. Technol.* [online]. 2008, 2, 408-417 [cit. 2018-04-10]. ISSN 1905-7873.

[27] dos SANTOS, É. J., A. B. dos SANTOS, A. B. HERRMANN, S. KULIK, L. M. BAIKA, L. TORMEN a A. J. CURTIUS. Simultaneous determination of Pb and Cd in seafood by ICP OES with on-line pre-concentration by solid phase extraction with amberlite XAD-4 after complex formation with DDTP. *Brazilian Archives of Biology and Technology* [online]. 2013, 56(1), 127-134 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1590/S1516-89132013000100017. ISSN 1516-8913. Dostupné z: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-89132013000100017&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132013000100017&lng=en&tlng=en)

[28] SHABANI, A. M. H., S. DADFARNIA, T. MOOSAVINEJAD a S. H. AHMADI. On-line preconcentration system using a microcolumn packed with Alizarin Red S-modified alumina for zinc determination by flame atomic absorption spectrometry. *Química Nova* [online]. 2009, 32(5), 1202-1205 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1590/S0100-40422009000500022. ISSN 0100-4042. Dostupné z: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422009000500022&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422009000500022&lng=en&nrm=iso&tlng=en)

[29] CHAMJANGALI, M. A., L. SHARIF-RAZAVIAN, B. BAHRAMIAN a G. BAGHERIAN. Synthesis and application of a functionalized polystyrene resin for on-line preconcentration and determination of cobalt(II) in water samples by flow injection/FAAS. *Journal of the Brazilian Chemical Society* [online]. 2010, 21(3), 525-



532 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1590/S0103-50532010000300019. ISSN 0103-5053. Dostupné z: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-50532010000300019&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532010000300019&lng=en&nrm=iso&tlng=en)

[30] WU, H., X. WANG, B. LIU, et al. Flow injection solid-phase extraction using multi-walled carbon nanotubes packed micro-column for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. 2010, 1217(17), 2911-2917 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1016/j.chroma.2010.02.040. ISSN 00219673. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967310002591>

[31] KOWALSKI, D., E. POBOŹY a M. TROJANOWICZ. Flow-Injection Preconcentration of Chloramphenicol Using Molecularly Imprinted Polymer for HPLC Determination in Environmental Samples. *Journal of Automated Methods and Management in Chemistry* [online]. 2011, 2011, 1-10 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1155/2011/143416. ISSN 1463-9246. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/jamc/2011/143416/>

[32] ALVES, V. N., S. S. O. BORGES, W. B. NETO a N. M. M. COELHO. Determination of Low Levels of Lead in Beer Using Solid-Phase Extraction and Detection by Flame Atomic Absorption Spectrometry. *Journal of Automated Methods and Management in Chemistry* [online]. 2011, 2011, 1-6 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1155/2011/464102. ISSN 1463-9246. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/jamc/2011/464102/>

[33] ALVES, V. N., S. S. O. BORGES a N. M. M. COELHO. Direct Zinc Determination in Brazilian Sugar Cane Spirit by Solid-Phase Extraction Using Moringa oleifera Husks in a Flow System with Detection by FAAS. *International Journal of Analytical Chemistry* [online]. 2011, 2011, 1-8 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1155/2011/765746. ISSN 1687-8760. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/ijac/2011/765746/>

[34] RAJABI, H. R., M. SHAMSIPUR, M. M. ZAHEDI a M. ROUSHANI. On-line flow injection solid phase extraction using imprinted polymeric nanobeads for the preconcentration and determination of mercury ions. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2015, 259, 330-337 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1016/j.cej.2014.08.025. ISSN 13858947. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894714010791>

[35] SHAKERIAN, F., S. DADFARNIA, A. M. HAJI SHABANI, M. SAEIDI a S. M. SADEGH HOSSEINI. Modified Bentonite with Dithizone as Nano Clay Mineral Adsorbent for Solid Phase Extraction of Silver Ions. *Croatica Chemica Acta* [online]. 2016, 89(3), 309-316 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.5562/cca2885. ISSN 00111643. Dostupné z: <http://hrcak.srce.hr/file/248643>

[36] ZAPPIELO, C. D., D. M. NANICUACUA, W. N. L. dos SANTOS, D. L. F. da SILVA, L. H. DALL'ANTÔNIA, F. M. de OLIVEIRA, D. N. CLAUSEN a C. R. T.

TARLEY. Solid Phase Extraction to On-Line Preconcentrate Trace Cadmium Using Chemically Modified Nano-Carbon Black with 3-Mercaptopropyltrimethoxysilane. *Journal of the Brazilian Chemical Society* [online]. 2016, 27, 1715-1726. [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.5935/0103-5053.20160052. ISSN 0103-5053. Dostupné z: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/0103-5053.20160052>

[37] SERRANO, M., M. BARTOLOMÉ, J. C. BRAVO, G. PANIAGUA, J. GAÑAN, A. GALLEGO-PICÓ a R. M. GARCINUÑO. On-line flow injection molecularly imprinted solid phase extraction for the preconcentration and determination of 1-hydroxypyrene in urine samples. *Talanta* [online]. 2017, 166, 375-382 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1016/j.talanta.2016.01.048. ISSN 00399140. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914016300492>

[38] BRUNETTO, M. del R., S. CLAVIJO, Y. DELGADO, W. OROZCO, M. GALLIGNANI, C. AYALA a V. CERDÀ. Development of a MSFIA sample treatment system as front end of GC-MS for atenolol and propranolol determination in human plasma. *Talanta* [online]. 2015, 132, 15-22 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1016/j.talanta.2014.08.056. ISSN 00399140. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914014007371>

[39] ŠATÍNSKÝ, D., H. S. SERRALHEIRO, P. SOLICH, A. N. ARAÚJO a M. C.B.S.M. MONTENEGRO. On-line coupling of sequential injection extraction with restricted-access materials and post-column derivatization for sample clean-up and determination of propranolol in human plasma. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2007, 600(1-2), 122-128 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1016/j.aca.2007.02.021. ISSN 00032670. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267007003194>

[40] BOONJOB, W., H. SKLENÁŘOVÁ, L. BARRON, P. SOLICH a N. SMITH. Renewable sorbent material for solid phase extraction with direct coupling of sequential injection analysis-bead injection to liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2015, 407(19), 5719-5728 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1007/s00216-015-8752-9. ISSN 1618-2642. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00216-015-8752-9>

[41] GHANI, M., M. F. FONT PICÓ, S. SALEHINIA, et al. Metal-organic framework mixed-matrix disks: Versatile supports for automated solid-phase extraction prior to chromatographic separation. *Journal of Chromatography A* [online]. 2017, 1488, 1-9 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1016/j.chroma.2017.01.069. ISSN 00219673. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967317301541>

[42] HORSTKOTTE ŠRÁMKOVÁ, I., CARBONELL ROZAS L., HORSTKOTTE, B., ŠATÍNSKÝ, D., Sequential injection analysis In screening of extraction properties of nanofibers, Conference: Analítica 2018, 9<sup>th</sup> Meeting of the Analytical Chemistry Division, 26. -27. 3.2018, Porto, Portugalsko, OC8, p. 22.

[43] HORSTKOTTE, B., P. CHOCHOLOUŠ a P. SOLICH. Large volume preconcentration and determination of nanomolar concentrations of iron in seawater using a renewable cellulose 8-hydroquinoline sorbent microcolumn and universal approach of post-column eluate utilization in a Lab-on-Valve system. *Talanta* [online]. 2016, 150, 213-223 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1016/j.talanta.2015.12.044. ISSN 00399140. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914015305725>

[44] GRAND, M. M., P. CHOCHOLOUŠ, J. RŮŽIČKA, P. SOLICH a C. I. MEASURES. Determination of trace zinc in seawater by coupling solid phase extraction and fluorescence detection in the Lab-On-Valve format. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2016, 923, 45-54 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1016/j.aca.2016.03.056. ISSN 00032670. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267016304068>

[45] GONZÁLEZ, A., J. AVIVAR, F. MAYA, C. PALOMINO CABELLO, G. TURNES PALOMINO a V. CERDÀ. In-syringe dispersive  $\mu$ -SPE of estrogens using magnetic carbon microparticles obtained from zeolitic imidazolate frameworks. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2017, 409(1), 225-234 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1007/s00216-016-9988-8. ISSN 1618-2642. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00216-016-9988-8>