

**UNIVERZITA PARDUBICE**  
**FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ**  
**KATEDRA ANALYTICKÉ CHEMIE**

**METODY KAPALINOVÉ MIKROEXTRAKCE**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**AUTOR PRÁCE: Markéta Štědrová**  
**VEDOUCÍ PRÁCE: Ing. Martin Adam, Ph.D.**

2009

**UNIVERSITY OF PARDUBICE**  
**FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY**  
**DEPARTMENT OF ANALYTICAL CHEMISTRY**

**LIQUID-PHASE MICROEXTRACTION**  
**METHODS**

**BACHELOR WORK**

**AUTHOR: Markéta Štědrová**  
**SUPERVIZOR: Ing. Martin Adam, Ph.D.**

2009

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Katedra analytické chemie  
Akademický rok: 2008/2009

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Markéta ŠTĚDROVÁ**  
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**

Název tématu: **Metody kapalinové mikroextrakce**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

- 1) Proveďte literární rešerši zabývající se mikroextrakčními technikami využívajícími kapalinou extrakční fází a jejich využití pro analýzu potravin.
- 2) Popište principy jednotlivých kapalinových mikroextrakčních metod, jakými jsou především mikroextrakce jednou kapkou (SDME), mikroextrakce využívající duté vlákno (HF LPME) a mikroextrakce založené na tvorbě dispersního systému (DLLME).
- 3) Diskutujte použitelnost uvedených mikroextrakčních metod pro analýzu potravin a tuto použitelnost demonstруйте pomocí aplikací publikovaných v odborné literatuře.

Rozsah grafických prací:  
Rozsah pracovní zprávy:  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**  
Seznam odborné literatury:  
**Podle pokynů vedoucího práce.**

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Martin Adam, Ph.D.**  
Katedra analytické chemie  
Konzultant bakalářské práce: **Ing. Petr Dobiáš**  
Katedra analytické chemie  
Datum zadání bakalářské práce: **23. února 2009**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **26. června 2009**

  
prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.  
děkan

L.S.

  
prof. Ing. Karel Vrána, DrSc.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 23. února 2009

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Přelouči dne 9. 6. 2009

Markéta Štědrová

## Poděkování

Mé poděkování patří vedoucímu bakalářské práce Ing. Martinu Adamovi, Ph.D., který mi pomáhal při zpracovávání bakalářské práce a věnoval mi odborné rady.

Dále bych chtěla poděkovat mým nejbližším za pomoc a podporu během studia.

## SOUHRN

Tématem této práce jsou metody kapalinové mikroextrakce. Zabývá se jednotlivými mikroextrakčními technikami a jejich praktickým využitím při analýze organických látek z různých vzorků, především potravin. Metody kapalinové mikroextrakce si získávají stále větší oblibu a jejich pomocí je analyzováno stále více látek. Jejich použití je výhodné, protože jsou jednoduché, časově a finančně nenáročné. Navíc automatizovatelné a extrakt je možné hned analyzovat chromatograficky.

## KLÍČOVÁ SLOVA

LPME

SDME

HF LPME

DLLME

potraviny

## SUMMARY

The topic of this work are methods of liquid phase microextraction. It deals with the individual microextraction techniques and their practical use in analysis of organics compounds from various samples, mostly from food. Methods of liquid phase microextraction are getting more popular and more and more matters could be analysed. Their use is beneficial because they are simple, faster and need less costs. In addition they are automatizable and it is possible to analyze the extract immediately by chromatography.

## KEY WORDS

LPME

SDME

HF LPME

DLLME

food



# OBSAH

<b>1. Úvod</b>	12
<b>2. Metody kapalinové mikroextrakce</b>	13
2.1. Vymezení pojmů	13
2.2. Mikroextrakce kapalnou fází	13
2.2.1. Princip LPME	14
2.2.2. Vlastnosti LPME	14
2.2.3. Výťažnost LPME	14
2.2.3.1. Volba extrakčního rozpouštědla	14
2.2.3.2. Volba množství extrakčního rozpouštědla	14
2.2.3.3. Vliv teploty	15
2.2.3.4. Vliv pH	15
2.2.3.5. Vliv iontové síly roztoku	15
2.2.3.6. Ostatní vlivy	15
2.2.4. Použití LPME	16
2.3. Mikroextrakce jednou kapkou	16
2.3.1. Principi DI-SDME	16
2.3.2. Vlastnosti DI-SDME	17
2.3.2.1. Výhody DI-SDME	17
2.3.2.2. Nevýhody DI-SDME	17
2.3.3. Princip HS-SDME	17
2.3.4. Vlastnosti HS-SDME	18
2.3.4.1. Výhody HS-SDME	18
2.3.4.2. Nevýhody HS-SDME	18
2.3.5. Použití HS-SDME	18
2.4. Mikroextrakce využívající duté vlákno	19
2.4.1. Princip HF LPME	19
2.4.2. Dvou- a tří-fázová HF LPME	20
2.4.3. U tvar HF LPME	21
2.4.4. Vlastnosti HF LPME	22
2.4.4.1. Výhody HF LPME	22
2.4.4.2. Nevýhody HF LPME	22
2.4.5. Použití HF LPME	22

2.5. Mikroextrakce založené na tvorbě disperzního systému .....	23
2.5.1. Princip DLLME .....	23
2.5.2. Mikroextrakce založená na tvorbě disperzního systému s tuhnoucí plovoucí organickou kapkou .....	23
2.5.3. Vlastnosti DLLME .....	24
2.5.3.1. Výhody DLLME .....	24
2.5.3.2. Nevýhody DLLME .....	24
2.5.4. Použití DLLME .....	24
<b>3. Kapalinové mikroextrakce v analýze potravin .....</b>	<b>25</b>
3.1. Využití jednotlivých metod kapalinové mikroextrakce při analýze potravin .....	25
3.1.1. Využití SDME .....	25
3.1.2. Využití HF LPME .....	25
3.1.3. Využití DLLME .....	25
3.2. Potravinářsky významné látky extrahované metodami kapalinové mikroextrakce .....	26
3.2.1. Pesticidy .....	26
3.2.1.1. Organofosforové pesticidy .....	26
3.2.1.2. Organochlorované pesticidy .....	27
3.2.1.3. Karbamáty .....	27
3.2.2. Ochratoxin A .....	27
3.2.3. Cholesterol .....	28
3.2.4. Fenolové herbicidy .....	28
3.2.5. Ftaláty .....	28
3.3. Analýza potravinářsky významných látek s využitím metod kapalinové mikroextrakce .....	29
3.3.1. Analýza organofosfátů .....	29
3.3.1.1. Stanovení organofosfátů v okurce a melounu .....	29
3.3.1.2. Stanovení organofosfátů v džusech .....	29
3.3.2. Analýza organochlorovaných pesticidů .....	30
3.3.3. Analýza karbamátů .....	30
3.3.4. Analýza ochratoxinu A .....	30
3.3.5. Analýza cholesterolu .....	31
3.3.6. Analýza herbicidů .....	31

3.3.7. Analýza ftalátů.....	31
3.4. Srovnání metod kapalinové mikroextrakce s jinými metodami .....	32
3.4.1. Metoda SDME.....	32
3.4.2. Metoda HF LPME.....	32
3.4.3. Metoda DLLME.....	33
<b>4. Závěr.....</b>	<b>34</b>

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

LLE	liquid-liquid extraction	extrakce kapalina-kapalina
SPE	solid phase extraction	extrakce tuhou fází
LPME	liquid phase microextraction	kapalinová mikroextrakce
SDME	single drop microextraction	mikroextrakce jednou kapkou
DI-SDME	direct immersion-single drop microextraction	mikroextrakce jednou kapkou využívající přímé vzorkování
HS-SDME	headspace-single drop microextraction	mikroextrakce jednou kapkou využívající headspace
HF LPME	hollow-fibre microextraction	mikroextrakce využívající duté vlákno
DLLME	dispersive liquid-liquid microextraction	mikroextrakce založené na tvorbě disperzního systému
DLLME-SFO	dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet	mikroextrakce založená na tvorbě disperzního systému s tuhnoucí plovoucí organickou kapkou
SPME	solid phase microextraction	mikroextrakce tuhou fází
SBSE	stir bar sorptive extraction	extrakce na magnetickém míchadle
OCP	organochlorine pesticides	organochlorové pesticidy
OPP	organophosphorus pesticides	organofosfátové pesticidy
OTA	ochratoxin A	ochratoxin A
GC	gas chromatography	plynová chromatografie
LC	liquid chromatography	kapalinová chromatografie
HPLC	high performance liquid chromatography	vysokorychlostní kapalinová chromatografie
FPD	flame photometric detection	plamenová fotometrická detekce
FID	flame ionization detection	plamenová ionizační detekce
MS	mass spectrometry	hmotnostní spektrometrie
FLD	fluorescence derivatization	fluorescenční detekce
UV	ultraviolet	ultrafialová oblast
WHO	World Health Organisation	Světová zdravotnická organizace

## 1. ÚVOD

Při analýze potravin je příprava vzorku nedílnou součástí vlastního stanovení. Analyzované látky jsou přítomny v komplikovaných maticích, jejichž komponenty mohou výrazně ovlivňovat stanovení. Proto se musí matrice před vlastním stanovením upravit tak, aby bylo možné analyzovat určitou látku. Toho lze docílit například zakoncentrováním analyzované látky ze vzorku pomocí extrakce kapalina-kapalina. V současné době, kdy je třeba snížit náklady na analýzu, se do popředí dostávají modifikace extrakce kapalina-kapalina, kterými jsou metody kapalinové mikroextrakce (LPME).

Kapalinová mikroextrakce v sobě zahrnuje všechny výhody extrakce kapalina-kapalina a navíc je třeba jen malého množství rozpouštědla ( $\mu\text{l}$ ), zatímco vzorek může mít objem několikanásobně větší. Technika LPME kombinuje extrakci a zakoncentrování vzorku. Další výhodou LPME je možnost automatizace.

## 2. METODY KAPALINOVÉ MIKROEXTRAKCE

Klasické extrakce kapalina-kapalina potřebují velká množství vysoce čistého rozpouštědla, čímž vznikne velké množství nebezpečného odpadu.<sup>1</sup> Navíc je tato extrakce zdlouhavá, únavná a pracovníci jsou vystaveni zdravotním rizikům. Z těchto důvodů pátrali analytičtí pracovníci po metodách s nižší spotřebou toxických organických rozpouštědel. Úsilí směřované k miniaturizaci extrakce kapalina-kapalina (LLE) vedlo k vývoji několika metod kapalinové mikroextrakce.<sup>2</sup>

### 2.1. Vymezení pojmů

#### a) Extrakce

Extrakce je metoda, při které se jedna či více kapalných nebo tuhých složek rozpouští v kapalině, která se s původní směsí nemísí, nebo se mísí pouze omezeně.<sup>3</sup>

#### b) Kapalinová mikroextrakce

Zmenšená alternativa úpravy vzorku kapalinovou extrakcí.<sup>4</sup>

#### c) Rozdělovací koeficient

Rozpouští-li se látka ve dvou vzájemně nemísitelných kapalinách, poměr její aktivity v obou fázích je při dané teplotě konstantní a nazývá se rozdělovací koeficient (rovnice 1)

$$K = a_i^I/a_i^{II}, \quad (1)$$

kde  $a_i^I$  a  $a_i^{II}$  jsou aktivity dané látky ve dvou vzájemně nemísitelných fázích. Jsou-li roztoky velmi zředěné, lze místo aktivit dosazovat koncentrace.<sup>5</sup>

### 2.2. Mikroextrakce kapalnou fází

Tyto metody překonávají mnoho nevýhod LLE a mikroextrakce tuhou fází (SPME).<sup>4</sup> Kapalinovou mikroextrakci představili v roce 1996 Jeannot a Cantwell.<sup>6</sup>

### 2.2.1. Princip LPME

Obecný princip LPME je založený na difuzi mezi vodným roztokem vzorku a organickým rozpouštědlem (extrahovadlem). Extrakce by měla být podpořena vysokým rozdělovacím koeficientem.<sup>4</sup>

### 2.2.2. Vlastnosti LPME

LPME je jednoduchá, rychlá, dostupná a spolehlivá metoda. Má široké uplatnění. LPME pracuje jen s velmi malým množstvím organického rozpouštědla (řádově mikrolitry). Metoda překonává nevýhody klasické extrakce a mikroextrakce tuhou fází.<sup>4</sup>

### 2.2.3. Výtěžnost LPME

Na výtěžnost LPME má vliv několik faktorů: poměr objemu vzorku a organického rozpouštědla, rozdělovací koeficient, teplota, pH obou roztoků, iontová síla vodného roztoku vzorku, doba extrakce, vlastnosti organických rozpouštědel a míchání vodného roztoku vzorku.<sup>4</sup> Výtěžek lze ovlivnit volbou vhodného organického rozpouštědla a jeho množství.<sup>7</sup>

#### 2.2.3.1. Volba extrakčního rozpouštědla

Pro LPME je vhodné použít takové extrakční činidlo, které má vhodný rozdělovací koeficient pro analyzovanou látku v systému voda-organické rozpouštědlo a jeho hustota je nižší, než hustota vody. Jako extrakční činidla se používají rozvětvené alkany nebo nižší chlorované uhlovodíky. V současnosti se používají n-pentan, n-hexan, dichlormetan – vhodné pro extrakci nepochlorných látek. Na extrakci polárních látek se používají polární rozpouštědla: metyl-terc.butylether, směsná rozpouštědla diethylether/n-pentan, nebo nepochlorná rozpouštědla s přísadkou NaCl.<sup>7</sup>

#### 2.2.3.2. Volba množství extrakčního rozpouštědla

Při volbě množství extrakčního činidla platí: čím vyšší je množství extrakčního činidla, tím vyšší je výtěžek extrakce, avšak klesá koncentrace analyzované látky a extrakt je nutné zkoncentrovat. Zkoncentrováním dochází ke ztrátám těkavějších látek a současně roste

koncentrace nečistot původně přítomných v rozpouštědle. Z toho plyne, že je vhodné použít menší množství extrakčního činidla a vyhnout se tak zkoncentrování jako při klasické extrakci.<sup>7</sup>

#### **2.2.3.3. Vliv teploty**

Čas, za který se ustaví rovnováha mezi analyzovanou látkou a extrakčním činidlem, je nepřímo úměrný teplotě. Vysoká teplota může nepříznivě ovlivnit rozpouštění organického rozpouštědla, které může způsobit zničení kapky při mikroextrakci jednou kapkou (SDME) nebo ztrátu rozpouštědla při mikroextrakci využívající duté vlákno (HF LPME). LPME metody by měly být optimalizované a ztráty rozpouštědla by měly být minimalizované zvolením vhodné teploty při extrakci, při níž je uspokojivá citlivost metody a přijatelný čas extrakce.<sup>8</sup>

#### **2.2.3.4. Vliv pH**

Změna pH ovlivňuje rozpustnost ve vodě a extrahovatelnost. Vztahem mezi pH a výtěžností extrakce se zabývalo mnoho studií. Z těchto studií vyplývá, že nelze obecně určit vhodnou hodnotu pH. Ovšem lze optimalizovat hodnotu pH pro extrakci jednotlivých skupin látek.<sup>8</sup>

#### **2.2.3.5. Vliv iontové síly roztoku**

Obecně platí, že přidáním soli se může snížit rozpustnost analyzované látky ve vodném roztoku vzorku a tím se zvýší jejich extrahovatelnost do rozpouštědla. Tento účinek se dostal do širokého pole zájmu a byly zjištěny protikladné výsledky. V LPME procedurách iontová síla buď nemá žádný efekt, nebo se může snížit extrakční efektivita jistých analyzovaných látek.<sup>8</sup>

#### **2.2.3.6. Ostatní vlivy**

Také je velmi důležitý vztah mezi strukturou analyzované látky a strukturou extrahovačla. Obecně platí, že čím je struktura analyzované látky podobnější struktuře extrahovačla, tím je výtěžnost vyšší.<sup>7</sup>



#### **2.2.4. Použití LPME**

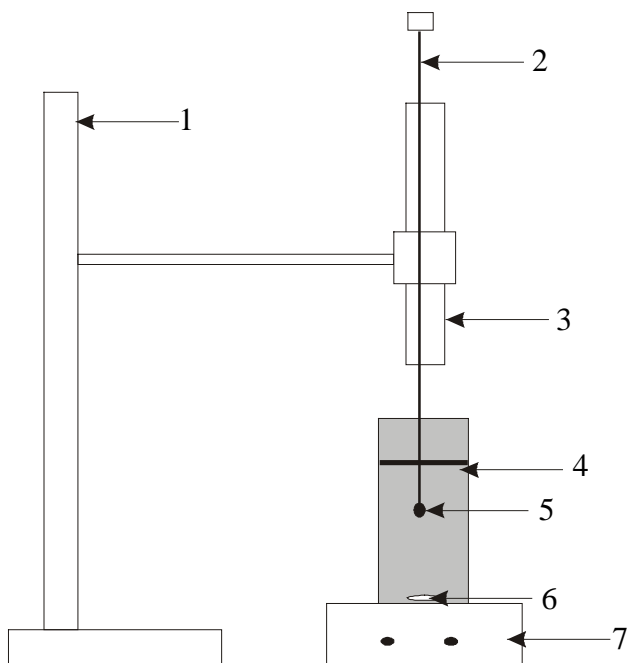
Z vodného roztoku vzorku lze výběrem vhodného rozpouštědla a při volbě vhodných podmínek izolovat širokou paletu organických látek.<sup>7</sup> V posledních letech jsou LPME techniky kombinované s plynovou chromatografií (GC) a kapalinovou chromatografií (LC) aplikovány na různé vzorky, včetně biologických, životního prostředí a potravinových.<sup>8</sup>

### **2.3. Mikroextrakce jednou kapkou**

SDME vyvinuli v roce 1996 Jeannot a Cantwell.<sup>6</sup> SDME je založena na extrakci analyzované látky do kapky rozpouštědla, které je vytlačeno z jehly mikrostříkačky, na jejímž konci se utvoří kapička rozpouštědla. Je-li kapka rozpouštědla přímo ponořená ve vodném roztoku vzorku, jedná se o mikroextrakci jednou kapkou využívající přímé vzorkování (DI-SDME). (Obr. 1) Nachází-li se kapka rozpouštědla v prostoru nad vzorkem (headspace), jedná se o mikroextrakci jednou kapkou využívající headspace (HS-SDME).<sup>9</sup> (Obr. 2)

#### **2.3.1. Princip DI-SDME**

Mikrokapka s vodou nemísitelného organického rozpouštědla je vtažena do jehly mikrostříkačky, která se ponoří do míchaného vodného roztoku vzorku, a z jehly je vytlačena kapička rozpouštědla po určitou dobu.<sup>10</sup> Mikrokapka organického rozpouštědla je vystavena vodnému roztoku vzorku, ze kterého se analyzovaná látka extrahuje. Po extrakci je mikrokapka vtažena zpět do jehly stříkačky a získaný extrakt použit k analýze na plynovém nebo kapalinovém chromatografu.<sup>11</sup>



- 1 – držák se svorkou
- 2 – píst
- 3 – mikrostříkačka
- 4 – vodný roztok vzorku
- 5 – kapka organického rozpouštědla
- 6 – míchadlo
- 7 – magnetické míchadlo

**Obr. 1** Schéma DI-SDME.<sup>12</sup>

## 2.3.2. Vlastnosti DI-SDME

### 2.3.2.1. Výhody DI-SDME

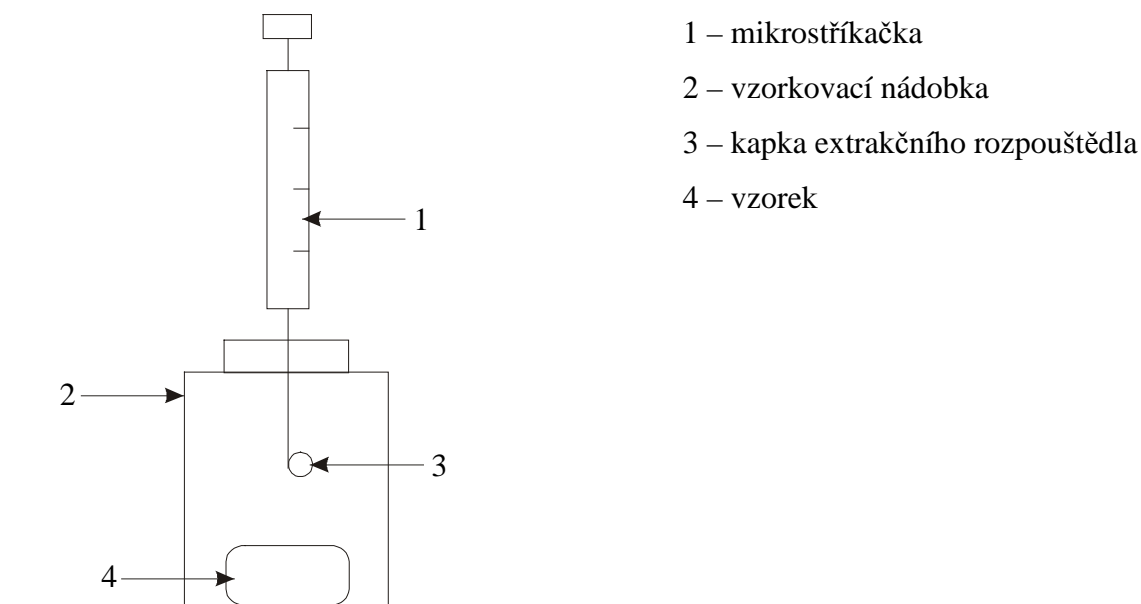
Je to rychlá a levná extrakční technika. Nabízí významné výhody oproti klasické extrakci kapalina-kapalina či SPME. Není nutné používat velké množství toxických rozpouštědel a vyžaduje běžné laboratorní vybavení.<sup>10</sup>

### 2.3.2.2 Nevýhody DI-SDME

Hlavní nevýhodou této techniky je stabilita visící kapky, která je často během extrakce ztracena.<sup>13</sup>

## 2.3.3. Princip HS-SDME

Při HS-SDME je do mikrostříkačky vtaženo organické rozpouštědlo. Jehlou je propíchnuto septum a vytlačena kapka organického rozpouštědla z jehly mikrostříkačky se nachází nad vzorkem v headspace prostoru (prostor mezi vzorkem a kapkou rozpouštědla).<sup>1</sup>



**Obr. 2** Schéma HS-SDME<sup>1</sup>

### 2.3.4. Vlastnosti HS-SDME

#### 2.3.4.1. Výhody HS-SDME

HS-SDME je levná a rychlá technika, která používá minimum organického rozpouštědla a odstraňuje možné paměťové efekty, které se objevují při SPME. HS-SDME nemá paměťové efekty, protože je používána vždy nová kapka rozpouštědla.<sup>1</sup>

#### 2.3.4.2. Nevýhody HS-SDME

Ačkoli organická rozpouštědla jsou obvykle používána jako extrakční činidla, následkem nízké viskozity a odpařování organického rozpouštědla je kapka nestabilní. Pro zakoncentrování headspace je nutné použít vyšší teploty, což také vede k odpařování kapky.<sup>14</sup>

### 2.3.5. Použití SDME

Obě metody DI-SDME a HS-SDME byly úspěšně použity pro extrakci těkavých látek z různých kapalných vzorků.<sup>10</sup> S pomocí SDME se analyzují dialkylftaláty<sup>10</sup>, organofosforové

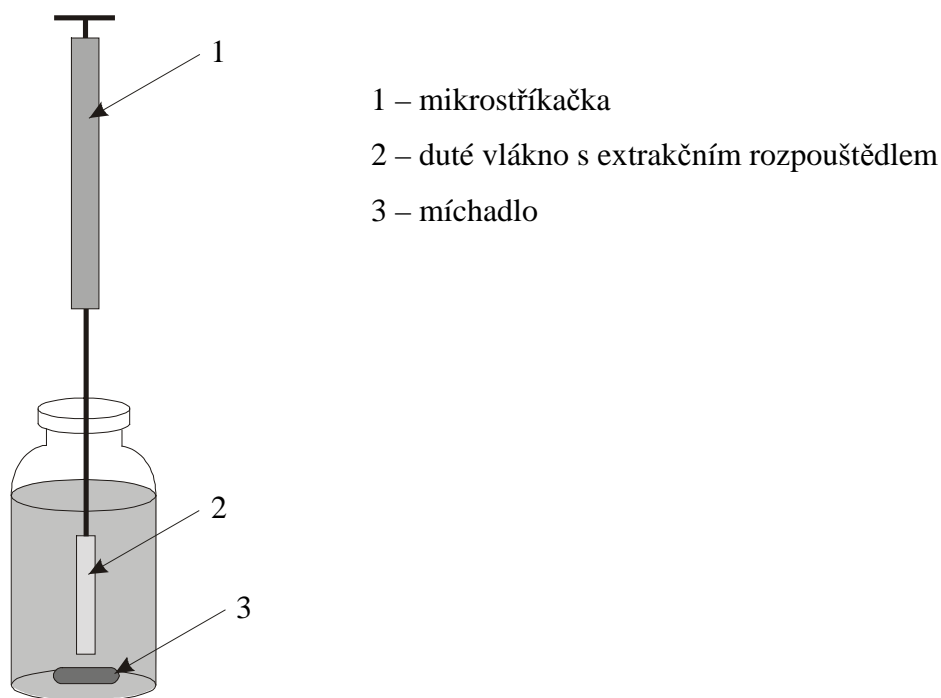
insekticidy<sup>15</sup>, aminokyseliny<sup>16</sup>, organochlorované<sup>17</sup> a organofosforové pesticidy<sup>18</sup> a antimikrobiální látky<sup>19</sup>.

## 2.4. Mikroextrakce využívající duté vlákno

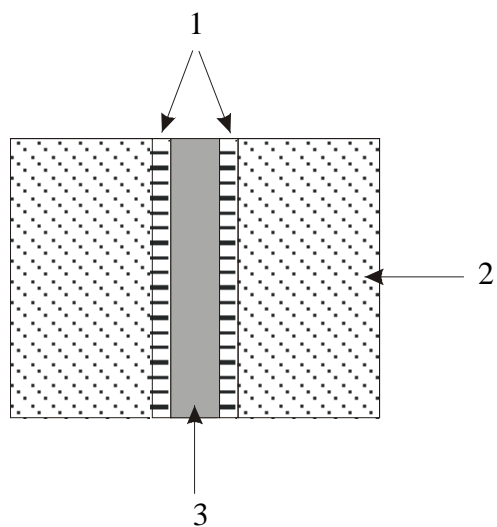
Tato metoda je zlepšením existujících LPME tím, že využívá duté vlákno jako ochranný film a může být použita pro extrakci biologických vzorků. Metoda HF LPME byla představena v roce 1999 Pedersen-Bjergaard a Rasmussen.<sup>20</sup>

### 2.4.1. Princip HF LPME

Analyzovaná látka je extrahována z vodného roztoku vzorku a tenkých vrstev organického rozpouštědla uvnitř pórovitých stěn dutého vlákna.<sup>13</sup> Duté vlákno je před samotnou extrakcí máčeno v organickém rozpouštědle, aby se nasatily póry vlákna rozpouštědlem.<sup>21</sup> Analyzovaná látka je dále extrahována do rozpouštědla umístěného uvnitř dutého vlákna. Po extrakci následuje analýza plynovou chromatografií.<sup>13</sup> (Obr .3 a 4)



Obr. 3 Schéma HF LPME<sup>22</sup>



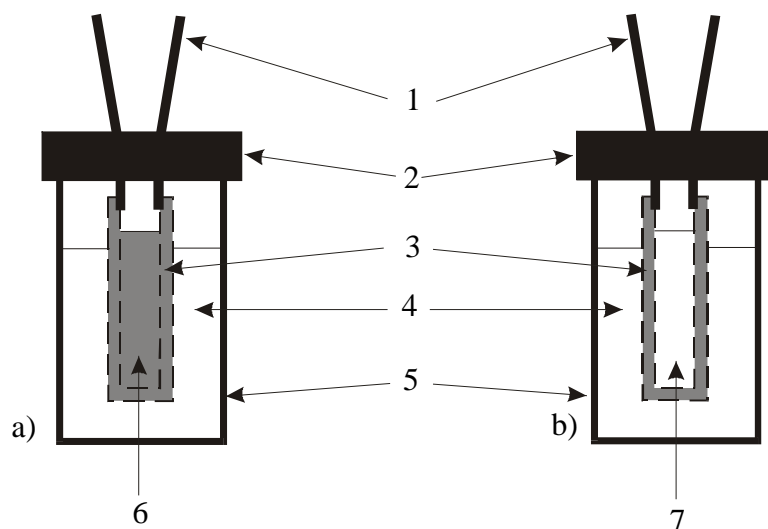
- 1 – stěny vlákna naplněné organickým rozpouštědlem
- 2 – vodný roztok vzorku
- 3 – organické rozpouštědlo uvnitř vlákna

**Obr. 4** Extrakční část dutého vlákna uvnitř vodného roztoku vzorku během mikroextrakce<sup>21</sup>

#### 2.4.2. Dvou- a tří-fázová HF LPME

V dvou-fázové HF LPME (Obr. 5.a) je analyzovaná látka vyextrahována do organického rozpouštědla a dále stanovena GC.<sup>23</sup>

V tří-fázové HF LPME (Obr. 5.b) je analyzovaná látka extrahována do vodného rozpouštědla a následně analyzována vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC).<sup>23</sup>

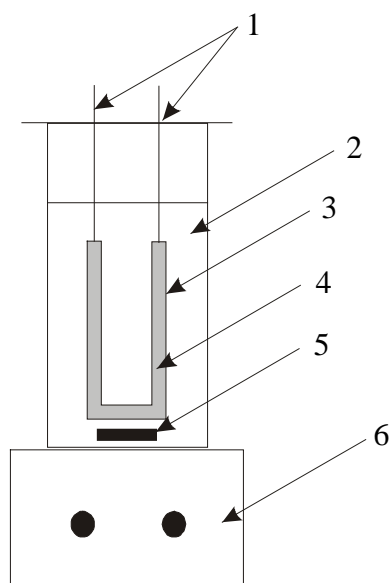


- 1 – opěrné tyčinky
- 2 – víčko
- 3 – duté vlákno s organickým rozpouštědlem
- 4 – vodný roztok vzorku
- 5 – vzorkovací nádobka
- 6 – organické rozpouštědlo
- 7 – vodné rozpouštědlo

**Obr. 5** a) Dvou-fázová HF LPME, b) Tří-fázová HF LPME<sup>23</sup>

### 2.4.3. U tvar HF LPME

Aby nedocházelo k oddělení dutého vlákna od mikrostríkačky, byla vyvinuta metoda používající dvě mikrostríkačky spojené dutým vláknem (U tvar).<sup>24</sup> Toto nastavení HF LPME zajišťuje větší plochu, na níž probíhá extrakce.<sup>25</sup> (Obr. 6)



- 1 – jehly mikrostríkaček
- 2 – vodný roztok vzorku
- 3 – duté vlákno
- 4 – organické rozpouštědlo
- 5 – míchadlo
- 6 – magnetické míchadlo

**Obr. 6** Schéma nastavení U tvaru HF LPME<sup>25</sup>

## **2.4.4. Vlastnosti HF LPME**

### **2.4.4.1 Výhody HF LPME**

HF LPME je velmi oblíbená metoda, protože poskytuje vysoký koeficient obohacení, spotřeba nebezpečných organických rozpouštědel je nízká a metoda je finančně nenáročná.<sup>13</sup> Metoda je také považována za další vývoj rozpouštědlových mikroextrakčních metod. Přidává ochranný rys mikrokapkovým systémům a pomáhá ke tvoření nemísitelného kapalného povlaku. Tato nová metoda je zajímavá alternativa k dalším mikroextrakčním metodám, protože krom toho, že je jednoduchá, levná, rychlá a prakticky bez toxických rozpouštědel, je i více citlivá díky použitému dutému vláknu, které také eliminuje příměsi při analýze.<sup>21</sup> Duté vlákno je kvůli pórům ve stěnách selektivní, předchází se tak extrakci molekul s vyšší molekulovou hmotností.<sup>18</sup> Díky použití dutého vlákna mohou být analyzovány vzorky jako plazma, moč, usazeniny bez jakékoli předběžné úpravy a vydrží i vysokorychlostní míchání.<sup>25</sup>

### **2.4.4.2. Nevýhody HF LPME**

U této metody bývá obtížné spojit jehlu mikrostríkačky s dutým vláknem, což může vést k oddělení dutého vlákna z jehly během extrakčního procesu a následnému selhání experimentu.<sup>24</sup>

## **2.4.5. Použití HF LPME**

Metoda byla úspěšně aplikována pro stanovení alkylfenolů, chlorfenolů a bisfenolu A ve vodných roztocích vzorku.<sup>22</sup> Dále byla využita při stanovení aromatických aminů<sup>26</sup>, ochratoxinu A<sup>18</sup>, fenolových herbicidů<sup>27</sup>, pesticidů<sup>23</sup>, Súdánských barviv<sup>25</sup>, polyaromatických uhlovodíků a polychlorovaných bifenylů<sup>23</sup>.

## **2.5. Mikroextrakce založené na tvorbě disperzního systému**

Při mikroextrakci založené na tvorbě disperzního systému (DLLME) je použita směs extrakčního činidla a disperzního rozpouštědla. Nejnovější metoda kapalinových mikroextrakcí je DLLME, kterou představil v roce 2006 Assadi<sup>28</sup> se spolupracovníky.

### **2.5.1. Princip DLLME**

Extrakce je provedena rychlým vstříknutím vhodné směsi s vodou nemísitelného extrakčního rozpouštědla (o vyšší hustotě než voda) a rozpouštědla disperzního (které je s vodou mísitelné a relativně polární) do vzorku. Aceton, methyllalkohol a acetonitril může být používán jako rozpouštědlo disperzní, zatímco chlorovaná rozpouštědla (například chlorbenzen, tetrachlormethan, tetrachlorethylen) jsou používána jako extrakční rozpouštědla, kvůli jejich vyšším hustotám než voda. Extrakční rozpouštědlo se rozptýlí do vodného roztoku vzorku ve formě kapiček, ve kterých se analyzovaná látka rozpustí.<sup>4</sup> Plocha povrchu mezi extrakčním činidlem a roztokem vzorku je nejprve nekonečně velká, protože dojde k vytvoření disperzního systému. Proto může být extrakční rovnováha dosažena rychle.<sup>2</sup> Po extrakci je kvůli disperznímu systému nutné oddělit extrahovanou fázi od roztoku vzorku centrifugací. Extrahovaná fáze obohacená analyzovanou látkou se usadí na spodu nádoby po odstředování a může být použita pro instrumentální analýzu.<sup>4</sup>

### **2.5.2. Mikroextrakce založená na tvorbě disperzního systému s tuhnoucí plovoucí organickou kapkou**

Mikroextrakce založená na tvorbě disperzního systému s tuhnoucí plovoucí organickou kapkou (DLLME-SFO) je modifikací DLLME. Při DLLME se extrakt získá v kapalně fázi, zatímco při DLLME-SFO se extrakt získá v tuhé fázi. Do nádoby se vzorkem je vstříknuta směs organického rozpouštědla a disperzního činidla. Po extrakci je nádoba se vzorkem centrifugována a poté vložena do ledové lázně. Organické rozpouštědlo s vyextrahovanou látkou ztuhne a může být odebráno k další analýze.<sup>2</sup>



### **2.5.3. Vlastnosti DLLME**

#### **2.5.3.1. Výhody DLLME**

Tato metoda je jednoduchá a spotřeba organických rozpouštědel je velmi nízká.<sup>2</sup> Díky vytvoření velké plochy mezi extrakčním a disperzním rozpouštědlem, je extrakce rychlá a má vysoký koeficient obohacení.<sup>29</sup>

Také metoda DLLME-SFO má četné výhody: je levná, rychlá, jednoduchá, vysoce účinná a spotřeba organických rozpouštědel je nízká.<sup>2</sup>

#### **2.5.3.2. Nevýhody DLLME**

Nevýhodou je, že extrakční činidlo má omezené využití v těch disperzních rozpouštědlech, které mají vyšší hustotu než voda, jako jsou monochlorbenzen, chloroform a tetrachlormetan. Všechna rozpouštědla jsou toxická a nebezpečná pro životní prostředí.<sup>2</sup> Další nevýhodou je nutnost odstředění, ačkoliv je to dostupné většině laboratoří, znamená to omezení možností přenosnosti techniky.<sup>4</sup>

### **2.5.4. Použití DLLME**

DLLME byla použita při stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků<sup>28</sup>, polárních organických sloučenin<sup>30</sup>, chlorofenolů<sup>31</sup>, karbamátů a organofosfátů<sup>32</sup>, cholesterolu<sup>33</sup>, ftalátů<sup>28</sup>.

### **3. KAPALINOVÉ MIKROEXTRAKCE V ANALÝZE POTRAVIN**

#### **3.1. Využití jednotlivých metod kapalinové mikroextrakce při analýze potravin**

##### **3.1.1. Využití SDME**

Doposud byla SDME aplikována na vzorky vody a vzorky životního prostředí. Limit detekce byl srovnatelný s tradiční kapalinovou extrakcí. Nedávno uveřejnili Psillakis a Kalogerakis<sup>21</sup> recenze SDME, které ve srovnání s jinými extrakčními technikami (stir bar sorptive extraction – extrakce na magnetickém míchadle (SBSE) a SPME), byly vynikající. Ačkoliv metoda má potenciál pro kapalně vzorky, tak využití pro analýzu potravin bylo malé.<sup>18</sup> Zhao a kolektiv představili využití SDME pro stanovení organofosfátů v pomerančovém džusu.<sup>11</sup> Dnes se SDME úspěšně využívá jak pro stanovení organofosfátů, tak i organochlorovaných pesticidů.<sup>17</sup> Stanovení pesticidů v tuhých potravinách bylo věnováno jen málo pozornosti.<sup>34</sup>

##### **3.1.2. Využití HF LPME**

Pouze několik málo článků bylo publikováno o analýze potravin a nápojů pomocí HF LPME.<sup>23</sup> Studie se zabývaly aplikací HF LPME na nepředčištěné vzorky půdy a jiných vzorků životního prostředí a vzorky biologického materiálu lidí. Potravinové aplikace jsou omezené, ačkoli HF LPME byla použita pro stanovení ochratoxinů A ve víně. Technika byla také aplikována na mateřské mléko<sup>18</sup> a stanovení fenolových herbicidů v kravském mléce<sup>8</sup>. HF LPME je velmi vhodná pro stanovení pesticidů a jiných toxických sloučenin, jak bylo publikováno pro vzorky životního prostředí. Nové studie jasně demonstrují potenciál HF LPME pro stanovení zbytků pesticidů v zelenině, jako jsou okurky, rajčata a papriky.<sup>23</sup>

##### **3.1.3. Využití DLLME**

V současné době je DLLME kombinovaná s vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií s fluorescenční detekcí (HPLC-FLD) úspěšně aplikována pro analýzu pesticidů

karbamátů a organofosfátů ve vodě a vzorcích džusu.<sup>32</sup> Další využití DLLME je při stanovení cholesterolu v potravinách. Ačkoli přímá analýza cholesterolu kapalinovou chromatografií je jednoduchá a velmi citlivá, přesto má stinné stránky jako dlouhý operační čas, zmýdelnění před analýzou a potřeba značného množství drahých a škodlivých organických rozpouštědel. K tomu, aby se dal rychle stanovit obsah cholesterolu v potravinách, je nutná rychlá metoda.<sup>33</sup>

## **3.2. Potravinářsky významné látky extrahované metodami kapalinové mikroextrakce**

### **3.2.1. Pesticidy**

Pesticidy jsou globálně používány pro ochranu zemědělských plodin. Jejich nadměrné a nesprávné použití, zvláště v rozvojových zemích, má za následek znečištění životního prostředí.<sup>35</sup> Pesticidy představují možné riziko lidskému zdraví.<sup>32</sup> Při zpracování plodin dochází k přenosu zbytků pesticidů do výsledných výrobků.<sup>35</sup>

Analýza zbytků pesticidů hraje důležitou roli v kvalitě potravin, především pro hodnocení potravinového bezpečí a možná rizika pro lidské zdraví.<sup>11</sup>

#### **3.2.1.1. Organofosforové pesticidy (organofosfáty)**

Organofosfáty (OPP) jsou široce používány v čínském zemědělství pro jejich vysokou účinnost a relativně nízkou cenu. Ve srovnání s organochlorovanými pesticidy přetrvávají OPP v životním prostředí relativně nízkou dobu, ale jsou velice toxické. Proto zbytky OPP v potravinách jsou striktně regulovány vládou ve všech zemích, aby koncentrace zbytků používaných pesticidů nepřevyšovaly maximální povolené koncentrace.<sup>11</sup> Evropská unie dovoluje maximální koncentraci pesticidů  $0,1 \text{ ng.ml}^{-1}$ . Kvůli tomuto zákonnému omezení je nutné použít citlivé a jednoduché metody, kterými je možno sledovat pesticidy ve stopovém množství.<sup>32</sup>

OPP a N-methylkarbamát se používají jako alternativy organochlorovaných pesticidů. Tyto sloučeniny prokazují vysokou toxicitu, jsou možnými karcinogeny, mutageny a narušují endokrinní žlázy. Jsou inhibitory enzymu acetyl-cholinesterázy.<sup>32</sup>

Vzrůstající používání těchto pesticidů představuje riziko pro vodní systémy a dále jsou nebezpečné lidskému zdraví.<sup>32</sup>

### **3.2.1.2. Organochlorované pesticidy**

Použití pesticidů ve výrobě potravin poskytuje četné výhody v rámci rostoucí produkce a kvality, ať tak nebo onak, jsou škodlivé pro lidské zdraví, pokud jsou aplikovány nevhodně. Organochlorované pesticidy (OCP) jsou spojovány s mnoha chronickými onemocněními. Navíc se tyto sloučeniny mohou chovat jako pseudohormony a narušovat tak endokrinní systém divokých zvířat, vodních živočichů a lidí. Mnoho zdravotních problémů bylo spojeno s těmito endokrinními poruchami jako neurologické poškození, Parkinsonova choroba, defekty novorozenců, dýchací onemocnění, brzký sexuální vývoj, změny chování, rakovina prsu, snížená plodnost mužů a dysfunkce imunitního systému.<sup>36</sup>

Dřívější hojně používání organochlorových pesticidů způsobilo znečištění životního prostředí. Pro ochranu zdraví a životního prostředí je nutné monitorovat i stopové množství OCP v potravinách a vodě, protože OCP jsou obtížně odbourávány, snadno se nahromadí a hlavně jsou velice toxické.<sup>36</sup>

### **3.2.1.3. Karbamáty**

Karbamáty jsou třída vysoce efektivních komerčních pesticidů, které se užívají místo OCP a OPP, a to především kvůli jejich rychlejšímu odbourávání. Karbamáty jsou podezřelé z karcinogenity a mutagenity. Rostoucí používání karbamátů představuje riziko pro vodní systémy a jsou potenciálním nebezpečím pro životní prostředí a zdraví člověka.<sup>8</sup>

## **3.2.2. Ochratoxin A**

Ochratoxin A (OTA) je sekundární metabolit produkovaný plísněmi *Penicillium verrocosum*, *Aspergillus ochraceus* a *Aspergillus niger*. OTA se vyskytuje v obilovinách, olejnatých semenech, v zelených semenech kávy, vlně, mase, kakau a koření. Ze zprávy Evropské komise o množství OTA v potravinách uveřejněné v roce 2002 vyplynulo, že hlavní zdroj lidského příjmu OTA je víno.<sup>37</sup> První zpráva o obsahu OTA ve vlně byla uveřejněná v roce 1995.<sup>38</sup>

OTA je spojován s patologickými jevy u laboratorních zvířat, způsobuje nádorová

onemocnění ledvin a jater. Mimo to má OTA teratogenní a kancerogenní účinky.<sup>39</sup> Proto kvůli možnému nebezpečí pro lidské zdraví je nutné monitorovat tento toxin v potravinách, především ve víně. V Evropské unii je maximální přípustná koncentrace OTA 2 µg na 1 litr vína. Snositelná úroveň OTA stanovená WHO je 100 ng na 1 kg tělesné hmotnosti.<sup>40</sup>

### **3.2.3. Cholesterol**

Cholesterol je steroidní alkohol. Je to nejvýznamnější steroidní sloučenina vyšších živočichů. U člověka je syntetizován téměř ve všech tkáních. Snižuje fluiditu membrán, a tím i jejich propustnost pro malé molekuly. Je prekurzorem biosyntézy steroidních hormonů. Jeho biodegradace probíhá v játrech, kde z něj vznikají tzv. žlučové kyseliny. Ukládání cholesterolu v cévách a tvorba žlučových kamenů jsou patologické, zvýšená hodnota koncentrace cholesterolu v krevní plasmě je jedním z ukazatelů rizika vzniku aterosklerozy, a tím i srdečních a cévních chorob (např. infarktu myokardu). Rizikový je zvláště LDL-cholesterol, zatímco HDL-cholesterol má naopak význam ochranný.<sup>41</sup>

### **3.2.4. Fenolové herbicidy**

Fenolové herbicidy jsou významná třída herbicidů používaných v zemědělství a lesnictví k regulaci růstu různých nežádoucích rostlin. Kvůli jejich velké míře aplikací se fenolové herbicidy dostaly do životního prostředí. Několik nedávných studií demonstrovalo výskyt přeměněných fenolových herbicidů v povrchové a podzemní vodě. Fenolové herbicidy se vyskytují i v kravském mléce.<sup>8</sup>

### **3.2.5. Ftaláty**

Ftaláty jsou známá přísada polymerů. Dále se využívají jako přísady pesticidů, barev a jako změkčovadla polymeriních materiálů. Hlavní nevýhoda ftalátů je, že se z materiálu, kde byly použity, dostanou snadno do životního prostředí a znečistí vodu, půdu, ovzduší a následně se dostanou i do potravin. Ftaláty a jejich metabolity jsou možné karcinogeny a narušují chod endokrinního systému, proto je důležité sledovat i stopové množství těchto látek.<sup>42</sup>

### **3.3. Analýza potravinářsky významných látek s využitím metod kapalinové mikroextrakce**

#### **3.3.1. Analýza organofosfátů**

Pro stanovení organofosfátů v kapalných vzorcích – povrchové vody, pitná voda, džusy, bylo využito SDME a HF LPME. Jako extrakční činidlo byl použit toluen nebo tetrachlormethan. Analýza byla provedena metodou GC s plamenovou fotometrickou detekcí (FPD) nebo hmotnostním detektorem (MS).<sup>8</sup>

##### ***3.3.1.1. Stanovení organofosfátů v okurce a melounu***

Pro stanovení organofosfátů v okurce a melounu byla použita DLLME, jako extrakční rozpouštědlo byl použit monochlorbenzen a jako disperzní činidlo acetonitril. Analýza byla provedena metodou GC-FPD.<sup>43</sup>

Před samotnou analýzou musely být vzorky nejdříve homogenizovány kuchyňským robotem. Z homogenizovaného vzorku bylo odebráno 10 g, které byly smíchány s acetonitrem, síranem manganatým a chloridem sodným. Tato směs byla centrifugována. Poté byl ke směsi přidán monochlorbenzen, směs byla ručně krátce protřepána a byla centrifugována 3 minuty při 4000 otáčkách za minutu. Poté byla sedlina s monochlorbenzenem na spodu zkumavky vstříknuta do plynového chromatografu s plamenovou fotometrickou detekcí.<sup>43</sup>

##### ***3.3.1.2. Stanovení organofosfátů v džusech***

K úpravě vzorku před analýzou organofosfátů ve vzorcích džusu byla použita SDME, jako extrakční činidlo byl použit toluen.<sup>11</sup>

Vzorek šťávy byl zředěn vodou a odstředován. Zředěný roztok vzorku byl míchán magnetickým míchadlem. Do jehly mikrostríkačky byl natažen příslušný objem toluenu. Mikrostríkačka je fixovaná ve stojanu a jehla je skrz septum umístěna do nádoby se zředěným vzorkem. Z mikrostríkačky byla vytlačena kapka, která byla po dokončení extrakce vtažena zpět do mikrostríkačky. Pro vlastní analýzu byl obsah mikrostríkačky analyzován metodou GC-FPD.<sup>11</sup>

### 3.3.2. Analýza organochlorovaných pesticidů

Obecně lze pro extrakci organochlorovaných pesticidů z vodných vzorků využít SDME a HF LPME. Extrakční rozpouštědla jsou často nepolární nasycené uhlovodíky jako n-hexan, isooktan. Osvědčil se i toluen.<sup>8</sup>

Pro zakoncentrování OCP z vodných vzorků byla využita SDME, extrakční rozpouštědlo byl toluen. Analýza byla provedena GC-MS.<sup>36</sup>

Aby nedocházelo k vytěkávání stanovované látky, byl vzorek připraven čerstvě před každou SDME. Vzorek byl umístěn v nádobce s magnetickým míchadlem a šroubovacím uzávěrem. Mikrostříkačka s toluenem byla umístěna tak, aby jehla byla ponořena pod hladinou vzorku. Z mikrostříkačky byla vytlačena kapka toluenu. Extrakce probíhala při pokojové teplotě a za stálého míchání magnetickým míchadlem. Po extrakci byla kapka toluenu vtažena zpět do mikrostříkačky a vstříknuta do GC-MS pro analýzu.<sup>36</sup>

### 3.3.3. Analýza karbamátů

Pro extrakci karbamátů z ovocných džusů byla použita DLLME, jako disperzní činidlo byl použit acetonitril, jako extrakční rozpouštědlo tetrachlorethan. K detekci karbamátů byla využita HPLC-FLD.<sup>32</sup>

Jablečný, hroznový a broskový džus byl 15 minut centrifugován, poté filtrován a zředěn. Odebraný zředěný vzorek byl umístěn do kuželové nádoby. Ke vzorku byl rychle vstříknut acetonitril s tetrachlorethanem. Po jemném protřepání se ve zkumavce vytvořil disperzní systém. Nádobka se vzorkem byla odstředována 3 minuty při 3500 otáčkách za minutu, čímž se kapičky tetrachlorethanu usadily na dně kuželové baňky. Sedlina byla odejmuta a vstříknuta do HPLC-FLD pro analýzu.<sup>32</sup>

### 3.3.4. Analýza ochratoxinu A

Extrakce OTA ze vzorků vína byla provedena pomocí HF LPME, jako extrakční činidlo byl použit oktan-1-ol. Analýza byla provedena metodou HPLC s fluorescenční detekcí.<sup>39</sup>

Do ampulky s uzávěrem byl nalit vzorek vína. Duté vlákno bylo umístěno do nádoby a k jeho koncům byly připevněny mikrostříkačky, které slouží jednak jako podpora dutého vlákna, jednak ke vstříknutí extrakčního činidla do dutého vlákna. Extrakce byla uskutečněna

za stálého míchání magnetickým míchadlem. Po extrakci bylo extrakční činidlo s extrahovanou látkou vstříknuto do HPLC s fluorescenční detekcí.<sup>39</sup>

### **3.3.5. Analýza cholesterolu**

Cholesterol byl stanovován ve vaječném žloutku, v mléce a olivovém oleji. Úpravy vzorků byly provedeny pomocí DLLME, jako disperzní činidlo byl použit ethanol, jako extrakční rozpouštědlo tetrachlormethan. K vlastnímu stanovení cholesterolu byl použit HPLC s detekcí v ultrafialové oblasti (UV).<sup>33</sup>

Vzorky byly homogenizovány, ředěny a několikrát odstředovány. Vzorek byl umístěn do uzavíratelné zkumavky s kuželovitou spodní částí. Byl přidán ethanol a tetrachlormethan. Směs byla protřepána a centrifugována. Po klesnutí kapek extrakčního rozpouštědla na dno zkumavky byla tato fáze převedena do další zkumavky. Extrakt byl vysušen při pokojové teplotě a rozpuštěn v ethanolu. Poté byl analyzován metodou HPLC-UV.<sup>33</sup>

### **3.3.6. Analýza fenolových herbicidů**

Lee a kolektiv zkoumali použití tří-fázové HF LPME kombinované s HPLC-UV pro stanovení fenolových herbicidů ve vzorcích kravského mléka.<sup>44</sup>

### **3.3.7. Analýza ftalátů**

Ftaláty lze extrahovat ze vzorku pomocí metody založené na LPME, jako extrakční činidlo se nejvíce osvědčil dodekan-1-ol. K analýze ftalátů se využívá GC-MS.<sup>42</sup>

K povrchu roztoku vzorku, který je neustále míchaný, byla umístěna kapička organického rozpouštědla, která zůstala na povrchu míchaného vzorku. Po extrakci byla nádobka se vzorkem vložena do ledové lázně. Ztuhnutá kapka rozpouštědla byla odebrána do kuželové nádoby a po roztátí vstříknuta do GC.<sup>42</sup>

Ftaláty byly také stanoveny pomocí SDME s následnou analýzou plynovou chromatografií s plamenovým ionizačním detektorem (GC-FID).<sup>10</sup>



## **3.4. Srovnání metod kapalinové mikroextrakce s jinými používanými metodami**

### **3.4.1. Metoda SDME**

Běžné úpravy vzorků před analýzou zbytků pesticidů zahrnují metody extrakce kapalina-kapalina, extrakce nadkritickými tekutinami, mikrovláknové extrakce a extrakce tuhou fází. Tyto techniky jsou sice jednoduché, ale jsou časově náročné a používá se u nich velké množství toxických rozpouštědel, která ohrožují zdraví pracovníků. Kontrolní a monitorovací laboratoře, které zpracovávají velká množství vzorků, přispívají k znečištění životního prostředí.<sup>34</sup>

Díky těmto aspektům došlo k miniaturizaci metod. K analýze pesticidů v potravinách byla použita SPME a v poslední době LPME techniky, z nichž se jako nejjednodušší ukázala SDME. Hlavními výhodami SDME je nízká cena (výhoda proti SPME), časová nenáročnost a nízké spotřeby vzorků i rozpouštědel.<sup>34</sup>

### **3.4.2. Metoda HF LPME**

Metoda našla uplatnění při analýze pesticidů a toxických látek v potravinách. Na rozdíl od LLE a SPE, které byly hojně používány k extrakcím těchto látek z potravin, je HF LPME levná a bezpečná, a to především kvůli nízké spotřebě organických rozpouštědel. K extrakcím pesticidů a toxických látek z potravin byla také využita SPME, která je dražší, kvůli speciálním vláknům. Také oblíbená metoda SDME je ve srovnání s HF LPME rizikovější, a to hlavně proto, že vytlačená kapka organického rozpouštědla z jehly mikrostríkačky může být během extrakce vlivem míchání ztracena.<sup>23</sup>

Pro stanovení OTA byla využita metoda HF LPME.<sup>39</sup> Konvenční metody extrakce OTA ve víně byly založeny na extrakci tuhou fází (SPE), která byla automatizována. Také SPME byla vyvinuta k extrakci OTA ze vzorků vína. Metoda je jednoduchá, citlivá a vzhledem k výdajům efektivní.<sup>40</sup> HF LPME má všechny požadované parametry a dostatečnou citlivost. Její cena je navíc nízká.<sup>39</sup>

### 3.4.3. Metoda DLLME

Nejčastější úpravy vzorků před analýzou OPP je LLE a SPE. Novější používané metody jsou SPME a LPME. Většina těchto metod byla upravena pro extrakce z kapalných vzorků, jako jsou šťávy a voda. Pro analýzu OPP v tuhých vzorcích byla použita DLLME.<sup>43</sup>

Pro analýzu karbamátů a OPP byla použita SDME, jejíž nevýhodou je ztracení kapky rozpouštědla. Další používanou metodou je HF LPME, která je těžko reprodukovatelná.<sup>32</sup>

## 4. ZÁVĚR

V posledních letech se do popředí všeobecného zájmu dostalo sledování kvality potravin a životního prostředí. Strava, kterou přijímáme a prostředí, v němž žijeme, mají velký vliv na naše zdraví. Aby bylo naše zdraví chráněno, je třeba soustavně kontrolovat množství škodlivých látek v potravinách a životním prostředí. Látky škodlivé zdraví se z životního prostředí do potravin dostanou snadno, protože jsou zpracovávány suroviny, které byly ošetřeny např. pesticidy. Také dochází ke kontaminacím při výrobě potravin. Je třeba také kontrolovat hladiny látek, které se v potravinách vyskytují přirozeně (cholesterol) a látek, které svědčí o mikrobiální kontaminaci buď surovin nebo hotového výrobku.

Potraviny jsou komplexními matricemi, které obsahují velké množství látek, které se při stanovení vzájemně ovlivňují. Proto je nutné vzorky potravin před samotným stanovením určité látky upravit. Protože je vzorků hodně a analýzu je potřeba provést rychle, musí se použít takové metody, které jsou rychlé, efektivní a levné. A takové jsou právě metody kapalinové mikroextrakce.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Hakkarainen M.: J. Biochem. Biophys. Methods 70, 229–233 (2007)
2. Xu H., Ding Z., Lili Lv., Song D., Feng Y.: Anal. Chim. Acta 636, 28–33 (2009)
3. Šnita D.: *Chemické inženýrství I*. 1. vyd. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 2006
4. Xu L., Basheer Ch., Lee H. K.: J. Chromatogr. A, 1216, 701–707 (2009)
5. Handlířová M., *Návody pro laboratorní cvičení z fyzikální chemie*, Univerzita Pardubice, Pardubice 1998
6. Jeannot M.A., Cantwell F.F.: Anal. Chem. 68, 2236–2240 (1996)
7. Kotianová M., Matisová E.: Chem. listy 94, 220–225 (2000)
8. Lambropoulou D.A., Albanis T.A.: J. Biochem. Biophys. Methods 70, 195–228 (2007)
9. Aguilera-Herrador E., Lucena R., Cárdenas S., Valcárcel M.: J. Chromatogr. A, 1209, 76–82 (2008)
10. Batlle R., Nerín C., J. Chromatogr. A, 1045, 29–35 (2004)
11. Zhao E., Han L., Jiang S., Wang O., Zhou Z.: J. Chromatogr. A, 1114, 269–273 (2006)
12. Nazari S.: Microchim. J. 90, 107–112 (2008)
13. Rodríguez A., Pedersen-Bjergaard S., Rasmussen K.E., Nerína C.: J. Chromatogr. A, 1198–1199, 38–44 (2008)
14. Liang P., Xu J., Li Q., Anal. Chim. Acta 609, 53–58 (2008)
15. Lambropoulou D.A., Psillakis E., Albanis T.A., Kalogerakis N.: Chim Acta 516, 205–11 (2004)
16. Fiamegos Y.C., Nanos C.G., Stalikas C.D.: J. Chromatogr B 813, 89–94 (2004)
17. Xiao Q., Hu B., Yu Ch., Xia L., Jiang Z.: Talanta 69, 848–855 (2006)
18. Ridgway K., Lalljie S.P.D., Smith R.M.: J. Chromatogr. A, 1153, 36–53 (2007)
19. Romero J., López P., Rubio C., Batlle R., Nerín C.: J. Chromatogr. A, 1166, 24–29 (2007)
20. Pedersen-Bjergaard S., Rasmussen K.E.: Anal. Chem. 71, 2650–2656 (1999)
21. Psillakis E., Kalogerakis N.: Trends Anal. Chem.: 22, 565 (2003)
22. Kawaguchi M., Ito R., Okanouchi N., Saito K., Nakazawa H.: J. Chromatogr. B, 870, 98–102 (2008)
23. Lee J., Lee H.K, Rasmussen K.E., Pedersen-Bjergaard S.: Anal. Chim. Acta 624, 253–268 (2008)
24. Wu H., Ku H. Yen J.: J. Sep. Sci., 31, 2288–2294 (2008)
25. Yu Ch., Liu Q., Lan L., Hu B.: J. Chromatogr. A, 1188, 124–131 (2008)

26. Zhao L., Zhu L., Lee H.K.: J. Chromatogr. A 963, 239–248 (2002)
27. Wu J., Ee K.H., Lee H.K.: J. Chromatogr. A 1082, 121–127 (2005)
28. Rezaee M., Assadi Y., Hosseini M.R.M., Aghaee E., Ahmadi F., Berijani S.: J. Chromatogr. A 1116, 1–9 (2006)
29. Guoa J., Li X., Caob X., Li Y., Wanga X., Xua X.: J. Chromatogr. A, 1216, 3038–3043 (2009)
30. Melwanki M.B., Fuh M.R.: J. Chromatogr. A 1207, 24–28 (2008)
31. Fattahi N., Assadi Y., M.R.M. Hosseini, E.Z. Jahromi: J. Chromatogr. A 1157, 23–29 (2007)
32. Fu L., Liu X., Hu L., Zhao X., Wang H., Wang X.: Anal. Chim. Acta 632, 289–295 (2009)
33. Daneshfar A., Khezeli T., Lotfi H.J.: J. Chromatogr. B, 877, 456–460 (2009)
34. Amvrazi E.G., Tsiropoulos N.G.: J. Chromatogr. A, 1216, 2789–2797 (2009)
35. Kaushik G., Satya S., Naik S.N.: Food Res. Int., 26–40, 42 (2009)
36. Cortada C., Vidal L., Tejada S., Romo A., Canals A.: Anal. Chim. Acta, 29–35, 638 (2009)
37. [http://ec.europa.eu/food/fs/scoop/3.2.7\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/scoop/3.2.7_en.pdf), staženo 11. června.2009
38. Soufleros E.H., Tricard Ch., Bouloumpasi E.C.: J. Sci. Food Agric. 83, 173–179 (2003)
39. González-Peñas E., Leache C., Viscarret M., Pérez de Obanos A., Araguás C., López de Cerain A.: J. Chromatogr. A, 1025, 163–168 (2004)
40. Aresta A., Vatinno R., Palmisano F., Zambonin C.G.: J. Chromatogr. A, 1115, 196–201 (2006)
41. Kodíček M. *Biochemické pojmy*, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha (2004)
42. Farahani H., Ganjali M.R., Dinarvand R., Norouzi P.: Talanta 76, 718–723 (2008)
43. Zhao E., Zhao W., Han L., Jiang S., Zhou Z.: J. Chromatogr. A, 1175, 137–140 (2007)
44. Zhu L., Ee K.H., Zhao L., Lee H.K.: J. Chromatogr. A, 963, 335–43 (2002)