

ON-LINE ÚPRAVA VZORKU V NESEPARAČNÍCH PRŮTOKOVÝCH METODÁCH

JITKA HUCLOVÁ a ROLF KARLÍČEK

*Katedra analytické chemie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
e-mail: Karlicek@faf.cuni.cz*

Došlo 27.2.02, přepracováno 8.10.02, přijato 12.12.02.

Klíčová slova: průtoková injekční analýza, sekvenční injekční analýza, úprava vzorku, extrakce na tuhou fázi, extrakce kapalinou, dialýza

Obsah

1. Úvod
2. Reaktory s tuhou fází
 - 2.1. Uspořádání reaktorů s tuhou fází
 - 2.2. Typy reaktorů
 - 2.2.1. Enzymové reaktory
 - 2.2.2. Oxidačně-redukční reaktory
 - 2.2.3. Iontově výměnné reaktory
 - 2.2.4. Adsorpční reaktory
 - 2.2.5. Imunoafinitní reaktory
3. Dialýza
4. Extrakce kapalina–kapalina
5. Současné trendy

1. Úvod

Úprava vzorku je klíčovým krokem řady analytických postupů. Před vlastní analýzou je většinou nutné analyt zakoncentrovat, případně jej částečně přecistit. Příprava vzorku zpravidla představuje časově nejnáročnější část celé analýzy a je zdrojem nepřesností a chyb¹. V současnosti je v instrumentální analýze patrná snaha o zavedení on-line úpravy vzorku, což umožňuje analytické metody automatizovat a miniaturizovat a snižuje riziko vnesení chyby do celého procesu analýzy.

Do skupiny neseparačních průtokových analytických metod patří dobře známá a popsaná průtoková injekční analýza² (FIA) a z ní vycházející novější sekvenční injekční analýza (SIA). Tyto techniky umožňují racionalizovat a automatizovat složité postupy při analýze velkých sérií vzorků instrumentálními metodami, a tak podstatným způsobem zvyšovat produktivitu zejména rutinních stanovení³. Možnosti úprav vzorku přímo v průtokových systémech byly studovány od vyvinutí těchto technik². Předložený článek si klade za cíl podat přehled o různých způsobech úpravy vzorků v průtokových metodách, které nacházejí uplatnění v rozmanitých odvětvích analytické praxe.

2. Reaktory s tuhou fází

Souhrnný přehled o použití reaktorů s tuhou fází v průtokové injekční analýze a o jejich přípravě podal Šatínský⁴.

On-line zapojením reaktorů s tuhou fází (solid phase reactors – SPR) do systému průtokového analyzátoru se významně rozšiřuje potenciál průtokových metod zvýšením základních analytických parametrů, jako jsou citlivost a selektivita. SPR se používají pro svou schopnost reagovat s analyzovanou látkou na svém povrchu, chovat se jako extrakční sorbenty, nebo uvolňovat reakční činidla.

K nejčastěji využívaným reakcím patří enzymatické, oxidačně-redukční, iontové výměnné nebo imunochemické reakce.

Extrakční sorbenty slouží k odstranění interferencí a balastních látek z matrice vzorku před vlastním stanovením analytu nebo k zakoncentrování analytu a tím zvýšení citlivosti stanovení. Tato technika extrakce na tuhou fázi (SPE – solid phase extraction) byla původně zavedena do separačních průtokových metod pro úpravu vzorku před stanovením vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC).

2.1. Uspořádání reaktorů s tuhou fází

Z hlediska uspořádání jsou v praxi nejčastěji používány plněné kolonové reaktory, které vyžadují jednoduchou přípravu a vykazují velký povrch, čímž dosahují vyšší reaktivity. Tyto kolony jsou většinou připravovány přímo na pracovišti pro daný druh analýzy.

Způsob zapojení reaktorů do systému vyplývá především z účelu jejich použití a z použité analytické techniky⁴ (SIA, FIA). Pro urychlení analýzy metodou FIA je možno použít dvě mikrokolony, na nichž střídavě probíhá prekoncentrace a eluce, takže se vzájemně doplňují.

V SIA nachází v poslední době uplatnění tzv. „jet-ring“ cela. Aktivní náplň reaktoru je navázána na větší částice, většinou skleněné, polystyrenové nebo polyakrylamidové, které se zachytí ve štěrbině mezi celou a detektorem. Měření koncentrace analytu probíhá ve fázi, kdy je analyt přítomen v cele, přímo při jeho interakci s náplní reaktoru, nebo po jeho eluci. Po ukončení měření jsou částice odstraněny obrácením toku nosného proudu nebo zvětšením štěrby mezi pohyblivým tělem cely a detektorem. Při každém měření tak vzniká nový reaktor přímo v systému dávkováním suspenze obsahující částice s navázanou aktivní látkou. Odpadá tak nutnost promývání reaktoru, jeho reaktivity a riziko zkřížené kontaminace vzorků⁵. Nejčastěji se tento typ reaktoru používá pro imunochemické reakce^{6–10}.

Jiný typ průtokového reaktoru s obnovitelným povrchem využívá paramagnetické částice s navázanou aktivní náplní reaktoru, které jsou v systému imobilizovány pomocí magnetického pole. Jedná se o tzv. techniku MSPE¹ (magnetic solid phase extraction – extrakce na magnetickou tuhou fázi). Po odstranění magnetického pole se paramagnetické částice vyplaví do odpadu. V dalším cyklu měření se reaktor znovu vytvoří nasátím aktivních paramagnetických částic a vložením

magnetického pole^{9,11}. Částice je možno opakovaně uvolňovat do roztoku při sání pumpou a vychytávat zpět do kolony při obrácení směru toku. Prekoncentrace analytu z roztoku je tak efektivnější, protože je podporována pohybem částic v systému¹¹.

2.2. Typy reaktorů

2.2.1. Enzymové reaktory

Enzymatické reakce slouží v průtokových systémech k převedení analytu na detegovatelný produkt^{12–14}, kterým může být i reakcí změněný kofaktor enzymatické reakce^{15,16}. Díky substrátové specifitě enzymů lze stanovit jednotlivé enantiomery^{14–16}. Je možné i stanovení analytu na základě jeho inhibičních vlastností^{17–20}.

Zapojením reaktorů s imobilizovanými enzymy se díky snížení spotřeby enzymů snižuje výše nákladů na rutinní analýzu, zjednodušuje se průtokový systém a zvyšuje se citlivost stanovení⁴. V případě metody SIA se navíc zkracuje doba potřebná na jednu analýzu, protože odpadá dávkování enzymu jako činidla v roztoku. Enzymy je možné uvnitř systému opakovaně aktivovat³.

Na druhé straně je použití enzymových reaktorů omezeno několika faktory. Patří mezi ně například postupné klesání aktivity reaktoru v závislosti na čase (omezená životnost), použitých reakčních činidlech a teplotě, desorpce enzymu a omezené použití drastických reakčních podmínek.

Stejněměrná aktivita enzymu a reprodukovatelnost měření je udržována temperováním reaktoru na konstantní teplotu³.

Reaktory se uplatní při stanovení látek, k nimž existuje enzym se substrátovou specifitou, nebo látek, které jsou známe jako inhibitory některé enzymatické reakce. Nejčastěji se využívají v potravinářství a při sledování fermentačních procesů.

Přehled stanovení s využitím enzymových reaktorů je uveden v tabulce I.

2.2.2. Oxidačně-redukční reaktory

Mikrokolonky obsahující oxidační nebo redukční materiál se v průtokových analytických systémech používají za účelem převedení analytu na vhodný oxidační stav pro následnou derivatizační reakci nebo za účelem oxidace či redukce analytu na požadovanou sloučeninu. Reakci lze urychlit temperováním reaktoru na požadovanou teplotu²¹.

Tyto kolonky nejsou schopny odstranit interferující látky ze vzorků se složitým pozadím, a proto se uplatňují zejména při analýze vod, kde umožňují současně stanovení různých oxidačních stavů prvků^{21–25}. Ve farmaceutické analýze se využívají pro stanovení účinných látek v léčivých přípravcích^{26–33}.

Příklady aplikací jsou uvedeny v tabulce II.

2.2.3. Iontově výměnné reaktory

I když se povrch těchto reaktorů účastní chemické reakce s analytem, funkcí většinou patří tyto reaktory k reaktorům extrakčním. Používají se pro prekoncentraci analytu nebo za účelem odstranění interferencí z matrice vzorku. Iontově výměnné reaktory se připravují přímo na pracovišti z komerčně dodávaných měničů iontů pro SPE úpravu vzorku před stano-

vením HPLC. Největší kapacitou se vyznačují porézní pryskyřice s organickou maticí, menší kapacitu mají měniče chemicky vázané na porézním silikagelu.

Iontoměničové fáze je možné vložit přímo do průtokové cely nedestruktivních optických detektorů. Na iontoměnič pak může být vychytáván buď reakční produkt, nebo analyt či činidlo, které se teprve reakce zúčastní.

Do systému SIA je možno zapojit i komerčně dodávané SPE disky obsahující iontoměnič, jak ukázali LeThanh a Lendl při stanovení organických kyselin a cukrů v nealkoholických nápojích³⁴.

Iontově výměnné reaktory často slouží k zakoncentrování analytu před stanovením s detekcí AAS (cit.^{35–37}).

Speciální iontově výměnný reaktor byl použit pro stanovení některých radioaktivních prvků v jaderném odpadu pomocí SIA (cit.^{38–40}).

Díky rozmanitosti iontově výměnných fází najdou tyto reaktory široké uplatnění od analýzy vod přes potravinářský průmysl a farmaceutickou analýzu až po analýzu jaderného odpadu (viz tabulka III).

2.2.4. Adsorpční reaktory

Adsorpční reaktory slouží především pro prekoncentraci analytů. Znáčná výhoda spočívá v jejich použití při analýzách vzorků se složitou maticí, kdy je kromě prekoncentrace analytu požadováno odstranění balastních látek.

Jako adsorbenty se opět používají materiály běžně užívané při SPE.

Pro dosažení maximální odezvy je potřeba náhlá eluce analytu z kolony pomocí organických rozpouštědel nebo kyselin a zásad. Snížená možnost použití koncentrovanějších organických rozpouštědel (methanol, ethanol, acetonitril) jako elučních činidel, jež byla hlavním limitujícím faktorem použití SPE ve FIA, odpadá v systému SIA z důvodu přítomnosti pouze teflonových materiálů a pístových, nikoliv peristaltických pump⁴. Zde však eluce analytu organickým rozpouštědlem komplikuje spektrofotometrickou detekci, především v UV oblasti. Detektor reaguje na průchod jednotlivých zón a dává odezvu na samotné eluční činidlo; odezva je způsobena změnou indexu lomu. To představuje problém zejména v případě, kdy analyt přichází do detektoru na čele zóny elučního činidla, a základní linie odezvy detektoru se tak nestačí nastavit na procházející eluční činidlo.

V posledních několika letech se v odborné literatuře objevují zmínky o tzv. materiálech s omezeným přístupem⁴¹ (restricted access materials – RAM). Tyto materiály umožňují přímý nástřik biologického vzorku do analytického systému bez jeho předchozí úpravy. Existuje několik různých strukturálních typů těchto materiálů, avšak jejich separační mechanismus je stejný.

Nízkomolekulární lipofilní analyt je na principu molekulových sít zachytáván v pórech sorbentu s limitovanou velikostí 60 Å zamezující vstupu makromolekulárních látek. Hydrofilní vrstva na povrchu sorbentu zamezí precipitaci proteinů, které se díky velikosti své molekuly do pórů nedostanou a jsou vymyty z kolony vodnou fází s mrtvým objemem této kolony. Uvnitř pórů se nachází hydrofobní vrstva (alkylové řetězce vázané na vnitřní povrch), na níž jsou nízkomolekulární látky děleny na principu adsorpční nebo iontově výměnné chromatografie.

Tabulka I
Příklady použití enzymových reaktorů

Analyt	Typ vzorku	Průtoková technika	Lit.
D-laktát	fermentační médium	SIA	15,79
	extrakt z vepřového masa	FIA	16
L-laktát	víno	SIA	80
Glukóza	fermentační médium	SIA	12–14,79,81,82
	víno, pivo	SIA	83
Penicilin	fermentační médium	SIA	12,13
Ethanol	víno, pivo	SIA	83
	fermentační médium	SIA	84
L-fenylalanin	sérum	FIA	85
Močovina	sérum, moč	FIA	86
Chloramin	vodný roztok	FIA inhibice	17
Formaldehyd	pitná voda	FIA inhibice	18
Galaktóza	vodný roztok	FIA	87
Glycerol	vodný roztok	FIA	87
Neostigmin	vodný roztok	FIA inhibice	19
Galantamin	vodný roztok	FIA inhibice	19
Hypoxanthin	maso	FIA	88
Acetát	fermentační médium	FIA inhibice	20
Glutamát	potraviny	FIA	89

Tabulka II
Příklady použití oxidačně-redukčních reaktorů

Analyt	Typ vzorku	Průtoková technika	Lit.
Fe ²⁺ , Fe ³⁺	přírodní a odpadní vody	SIA	22
NO ₃ ⁻ , NO ₂ ⁻	přírodní a odpadní vody	SIA	22,23
	pitná, mořská, minerální voda	SIA	24
Mn ²⁺	pitná voda	SIA	21
Adrenalin	léčivé přípravky	FIA	26
Sulfadiazin	léčivé přípravky	FIA	27
N-substituované fenothiaziny	léčivé přípravky	FIA	28
Askorbová kyselina	léčivé přípravky	FIA	29
Sulfidy	odpadní vody	FIA	25

V literatuře je uveden přehled typů RAM, jejich výhody a použití. Materiály s omezeným přístupem byly v analytické praxi použity především jako náplně předkolon při HPLC analýze biologického materiálu, která byla provedena přímým nástřikem lidského séra do chromatografického systému s přepínáním kolon^{42–44}. Seznam aplikací s použitím těchto materiálů není zatím v odborné literatuře rozsáhlý, což je pravděpodobně způsobeno cenou těchto materiálů a nutností náročného přístrojového vybavení. Na druhé straně životnost RAM sorbentů v porovnání s konvenčními SPE sorbenty je až extrémně vysoká (je udávána teoretická životnost 2000 nástřiků 50 µl lidské plazmy bez změny separační účinnosti kolonky a změny zpětného tlaku)⁴⁵. Navíc se tyto sorbenty vyznačují menší velikostí částic, než mají klasické SPE sorbenty, a lépe zadržují analyt na kolonce.

Příklady uplatnění adsorpčních reaktorů v průtokových neseparačních metodách jsou uvedeny v tabulce IV.

2.2.5. Imunoafinitní reaktory

Tyto typy reaktorů se uplatňují zejména při stanovení antigenních materiálů makromolekulárního charakteru^{46–49}. Je tak možné stanovit buňky⁵⁰, ale i látky s relativně malou molekulou⁴⁹.

Afinitní ligandy (protilátky) imobilizované na stěnu reaktoru nebo na inertní nosič tvoří selektivní stacionární fázi. Po dávkování vzorku se analyt specificky váže na imobilizovanou protilátku a ostatní komponenty vzorku jsou bez zadržení eluovány.

Tvorba těchto biospecifických komplexů je velice citlivá na prostředí a je podmíněna nejen vhodným pH, iontovou silou, teplotou, ale i koncentrací kovových iontů, případně kofaktorů nebo jiných důležitých látek. Při změně reakčních podmínek můžeme analyt následně eluovat a detegovat.

Jako afinitní ligand pro izolaci biologicky aktivních látek

Tabulka III

Příklady použití iontově výměnných reaktorů

Analyt	Typ vzorku	Průtoková technika	Lit.
Theofylin	roztok kofeinu	SIA	90
Cu ²⁺	vodný roztok	SIA	91
	mořská voda	SIA	92
Tl	geochemické vzorky	SIA	36
Ni	odpadní vody	SIA	35
	moč	SIA	35
	mořská voda	SIA	92
Al, As, Co, Mn, Mo, Pb	mořská voda	SIA	92
Fe ³⁺	přírodní vody	SIA	37
Butan-2,3-diol a glycerol	bílé i červené víno	SIA	93
⁹⁰ Sr	jaderný odpad	SIA	38
⁹⁹ Tc	jaderný odpad	SIA	39
Am, Pu, Cm	jaderný odpad	SIA	40
Salbutamol	moč	FIA	94
Cd	odpadní vody	FIA	95
Monochloroctová kyselina	reakční směs při výrobě betainu	FIA	96
Zn, Cd, Pb	pitná voda	FIA	97
Fe	povrchové vody, léčivé přípravky	FIA	98
Kaptopril	léčivé přípravky	FIA	99

Tabulka IV

Příklady použití adsorpčních reaktorů

Analyt	Typ vzorku	Průtoková technika	Lit.
NO ₂ ⁻	pitná voda	SIA	100
Cd	mořská voda	SIA	101
Cr ⁴⁺ , Cr ²⁺	voda	SIA	102
Polyaromatické uhlovodíky	voda	SIA	103
Pesticid naptalam	povrchové vody	FIA	104
Zn	biologický materiál	FIA	105
Pseudoefedrin	plazma	FIA	106
Polyfenoly	víno	FIA	107
Cd, Co, Cu, Mn, Pb	povrchové vody	FIA	108
Cd, Pb, Cu	voda	FIA	109
Kaptopril	léčivé přípravky	FIA	99
Salicylová kyselina	sérum	FIA	110

je vhodná každá sloučenina, která s těmito látkami tvoří bio-specifické, pevné a reverzibilní komplexy.

Nevýhodou imunoafinitních reaktorů je jejich náročná příprava, která spočívá ve složité imobilizaci afinitních ligan-dů na nosič⁴.

V případě SIA jsou tyto reaktory často uspořádány jako „jet-ring“ cela^{6,7,10,51–55}. Toto uspořádání reaktoru umožňuje detekci analytu přímo navázaného na specifickou protilátku. SIA průtokový systém s kolonkou s obnovitelným povrchem byl aplikován dokonce na izolaci a čištění nukleových kyselin před jejich amplifikací a detekcí pomocí polymerasové řetězové reakce⁵⁶ (PCR). Růžička vyzkoušel i „jet-ring“ celu v „lab-on-valve“ uspořádání celého systému pro stanovení G proteinu⁵⁷.

Další příklady využití imunoafinitních reaktorů uvádí ta-bulka V.

3. Dialýza

Dialýza je separační metoda založená na diferenciálním transportu rozpuštěných látek přes semipermeabilní membrá-nu v závislosti na velikosti jejich molekul nebo iontů. Selektivní transport analytů v dialyzační jednotce je řízen membrá-nou, která působí jako molekulové síto⁵⁸.

Dialyzační jednotka se do průtokových systémů zařazuje za účelem oddělení analytu od interferujících složek matrice vzorku nebo pro jeho zředění^{59,60}.

Tabulka V
Příklady použití imunoafinitních reaktorů

Analyt	Typ vzorku	Průtoková technika	Lit.
BHK buňky	pufr	SIA	111
IgG1	pufr	SIA	6,9,10
Lidský sérový albumin	pufr	SIA	7
Insulin	pufr	SIA	8
2,4-Dichlorfenoxyoctová kyselina	voda	SIA	112
Biotin	pufr	SIA	10
Digoxin	pufr	SIA, FIA	113
Trijodthyronin	sérum	SIA, FIA	114
2,4-Dichlorfenoxyoctová kyselina, atrazin, simazin	roztok v pufru	SIA	49
Aflatoxin B1	potraviny	SIA	115
<i>E. coli</i>	potraviny	SIA	50
L-fenylalanin	sérum	FIA	85
Insulin	pufr	FIA	48

Tabulka VI
Příklady použití dialýzy

Analyt	Typ vzorku	Průtoková technika	Lit.
Fe	léčivé přípravky	SIA	116
Glukóza	krev	SIA	117
Cl ⁻	mléko	SIA	59
L-laktát	víno	SIA	71
Redukující cukry	víno	SIA	60
N ₂	siláž	SIA	61
NH ₃	fermentační médium	SIA	62
	odpadní vody, extrakt z atmosférického aerosolu	SIA	65
	odpadní vody	SIA	66
	povrchové vody, moč	FIA	118
Azidy	přírodní vody	SIA	68
SO ₂	víno	SIA	63
L-laktát	mléko, jogurt	FIA	119
Mléčná a jablečná kyselina	víno	FIA	120,121
Ca	krev	FIA	122

Používá se při stanovení plyných látek^{60–63} nebo látek, z nichž plyn vzniká v průtokovém systému chemickou reakcí^{61,64–68} při stanovení iontů^{58,69} nebo malých neutrálních molekul^{59,70}.

Nevýhodou této techniky je omezená životnost dialyzační membrány^{59,62}. Pro její prodloužení se membrána proplachuje, případně regeneruje pomocí enzymů⁶¹.

Množství analytu difundovaného přes membránu závisí na typu stanovení. Maxima dosáhli Oms a spol. při stanovení amonných iontů ve vodě, kdy přes membránu procházelo 15 % analytu přítomného ve vzorku⁶⁴. Na účinnost dialýzy má kromě obecně známých faktorů (typ a plocha membrány, pohyb kapalin) vliv i objem vzorku – u FIA platí, že s rostoucím objemem vzorku roste množství látky difundované mem-

bránou. U SIA, v případě, kdy přes membránu difunduje látka teprve vznikající v systému chemickou reakcí, je objem vzorku limitován požadavkem kompletního překryvu zón vzorku a reakčního činidla⁶⁵.

Pro zvýšení výtěžnosti procesu dialýzy se využívá opakované obrácení toku proudu donoru při zastavení toku akceptoru^{65,67,69}.

Průtokové metody se zapojením dialyzační jednotky nacházejí uplatnění v kontrole životního prostředí^{65,67}, v potravinářském průmyslu^{58,62,63,66}, v kontrole fermentačních procesů⁶¹ a v dalších analytických laboratořích. Mikrodialýzery ve spojení s průtokovými metodami se využívají při *in vivo* sledování některých krevních parametrů⁷¹, v rozpouštěcích studiích pak nahrazují filtraci^{71,72}. Příklady uvádí tabulka VI.

Tabulka VII

Příklady použití extrakce kapalina–kapalina

Analyt	Typ vzorku	Průtoková technika	Lit.
V ⁴⁺ , V ⁵⁺	vodný roztok	SIA	75
Mo ⁶⁺	vodný roztok	SIA	77
Cr ³⁺ , Cr ⁴⁺	vodný roztok	SIA	76
Fenobarbital, amobarbital, secobarbital, pentobarbital, venlafaxin, sertralin, norsertralin, paroxetin	moč	SIA	123
Fe ³⁺ , celk. Fe	víno	SIA	124
Cd	povrchové vody	SIA	125
⁹⁰ Sr	voda, mléko, půda	SIA	78
CN ⁻ , SCN ⁻	sliny, roztok pralidoximu	FIA	126
Al	voda	FIA	127
Ranitidin	léčivé přípravky	FIA	128
Amfetamin	moč	FIA	129
Nitrofenoly	vodný roztok	MSFIA	130
O ₂	voda	FIA	131
Pd	částice ve vzduchu, katalyzátory výfukových plynů	FIA	132
Ni	Ni–Cu slitiny, galvanizační roztoky	FIA	133

4. Extrakce kapalina–kapalina

Extrakce kapalina–kapalina (LLE) patří k nejčastěji užívaným separačním a prekoncentračním technikám. Jejím zavedením do průtokových metod je možno tuto techniku automatizovat a snížit spotřebu rozpouštědel a množství vznikajícího organického odpadu.

Bylo popsáno několik způsobů provedení extrakce v průtokových metodách. Klasické provedení SE-FI (solvent extraction – flow injection)⁷³ vyžadující segmentor, extrakční cívku a separátor je u SIA nahrazováno extrakcí analytu do stacionárního filmu tvořeného organickým rozpouštědlem na vnitřním povrchu extrakční cívky^{74–77}.

Protože povrch kontaktní plochy mezi fázemi je vzhledem k objemu organické fáze velký, transfer analytů do organické fáze je rychlý a po určité době kontaktu i kvantitativní⁷⁴.

Existují tři způsoby transportu extrahovaného analytu do detektoru:

1. eluce dalším segmentem organického rozpouštědla, které tvoří film⁷⁵,
2. eluce jiným organickým rozpouštědlem⁷⁶,
3. zpětná extrakce analytu⁷⁷.

Druhé dva způsoby eluce jsou efektivnější, v prvním případě dochází k ustavení rovnováhy mezi vymývaným a nově tvořeným filmem a ke ztrátě analytů⁷⁴.

Tato technika extrakce se zařazuje do průtokových metod za účelem zvýšení jejich citlivosti a selektivity. Její výhodou je jednoduchost a nízká spotřeba organických rozpouštědel. Pro každé stanovení je tvořen nový film organické fáze, který je po každém cyklu odstraněn. Nedochozí tu k opakovanému použití organické fáze nebo k její regeneraci, a je tak zamezeno vzájemné kontaminaci vzorků. Přínosem tohoto způsobu extrakce oproti klasickému zpracování vzorku je i provedení

v uzavřeném systému a snížení kontaminace ovzduší parami organických rozpouštědel.

Většina publikovaných prací se zaměřuje na extrakci iontových párů nebo chelátů za účelem odstranění interferujících látek při stanovení kovových iontů^{75–77}, ale bylo popsáno i stanovení radioisotopu touto technikou⁷⁸. Přehled využití extrakce kapalina–kapalina je uveden v tabulce VII.

5. Současné trendy

V současné analytické praxi je třeba naplňovat zvyšující se požadavky na citlivost a selektivitu analytických metod, na snížení spotřeby činidel a na zjednodušení přípravy vzorku před stanovením. Z důvodu jednoduchosti, rychlosti, flexibility, plné automatizace a snížení možnosti chyby vnesené do analýzy lidským faktorem jsou moderní analytické postupy charakterizovány co nejjednodušší úpravou vzorku, zejména přímo v analytickém systému.

Byla popsána řada způsobů úprav analytických vzorků, které lze provádět on-line ve spojení s průtokovými metodami. Toto spojení umožňuje přímé stanovení bez manuální úpravy vzorku, a splňuje tak požadavky současné analytické praxe. Stanovení je možno automatizovat, často se snižuje spotřeba činidel a rozpouštědel a množství vznikajícího odpadu. Zkracuje se doba potřebná k provedení analýzy. Pracovníci laboratoří jsou v mnohem menší míře vystaveni kontaktu se zdraví škodlivými látkami a biologickým materiálem.

Výběr konkrétní techniky závisí na typu analytu a povaze vzorku.

V současné době se nejvíce rozvíjí použití reaktorů s tuhými fázemi, především s obnovitelným povrchem. Poslední novinkou je tzv. „lab-on-valve“ uspořádání SIA systému, které přináší

výrazné snížení spotřeby vzorku a činidel a umožňuje použití tvorbu reaktorů s obnovitelným povrchem přímo v systému, opět s velmi nízkou spotřebou náplně reaktoru⁵⁷. Významnou charakteristikou této techniky, která nachází uplatnění zejména při monitorování biotechnologických procesů a při stanoveních založených na imunologických reakcích, je miniaturizace a zvýšení citlivosti stanovení.

Spojení průtokových metod s on-line úpravou vzorku zjednodušuje analýzu velkých sérií vzorků (rutinní analýzy vod, potravin, krve a moči) a sledování změn koncentrace analytů v průběhu různých procesů (řízení a optimalizace biotechnologických výroby, monitorování hladin léčiv a jejich metabolitů v tělních tekutinách) zejména tam, kde je analyt součástí složité matrice. Tyto techniky také pronikají do oblasti imunoanalýzy, kde využitím komerčních imunosorbentů a „jet-ring“ cely výrazně zrychlují a zlevňují tyto velmi selektivní a citlivé analytické postupy.

Z uvedených skutečností vyplývá, že potenciál on-line úprav vzorku v průtokových metodách je značný a tyto techniky podstatně ovlivňují analytickou praxi.

Tato práce vznikla v rámci řešení výzkumného záměru MSM 111600001 a grantu FRVŠ č. 2247/G4.

LITERATURA

- Šafaříková M., Šafařík I.: *J. Magn. Magn. Mater.* 194, 108 (1999).
- Růžicka J., Hansen E. H.: *Flow Injection Analysis*. Wiley, New York 1988.
- Paseková H., Polášek M., Solich P.: *Chem. Listy* 93, 354 (1999).
- Šatínský D., Karlíček R.: *Chem. Listy* 95, 150 (2001).
- Růžicka J., Scampavia L.: *Anal. Chem. News Features* 4, 257A (1999).
- Pollema C. H., Růžicka J.: *Anal. Chem.* 66, 1825 (1994).
- Willumsen B., Christian G. D., Růžicka J.: *Anal. Chem.* 69, 3482 (1997).
- Růžicka J., Ivaska I.: *Anal. Chem.* 69, 5024 (1997).
- Pollema C. H., Růžicka J., Christian G. D.: *Anal. Chem.* 64, 1356 (1992).
- Růžicka J.: *Analyst (Amsterdam)* 123, 1617 (1998).
- Chandler D. P., Brockman F. J., Holman D. A., Grate J. W., Bruckner-Lea C. J.: *Trends Anal. Chem.* 19, 314 (2000).
- Min R. W., Nielsen J., Villadsen J.: *Anal. Chim. Acta* 312, 149 (1995).
- Min R. W., Nielsen J., Villadsen J.: *Anal. Chim. Acta* 320, 199 (1996).
- Liu X., Hansen E. H.: *Anal. Chim. Acta* 326, 1 (1996).
- Shu H., Hakanson H., Mattiasson B.: *Anal. Chim. Acta* 300, 277 (1995).
- Shu H., Hakanson H., Mattiasson B.: *Anal. Chim. Acta* 283, 727 (1993).
- Buck S., Stein K., Schwedt G.: *Anal. Chim. Acta* 390, 141 (1999).
- Kiba N., Sun L. M., Yokose S.: *Anal. Chim. Acta* 378, 169 (1999).
- Ghous T., Townshend A.: *Anal. Chim. Acta* 372, 379 (1998).
- Tservistas M., Weigel B., Schuegerl K.: *Anal. Chim. Acta* 316, 117 (1995).
- Naidoo E. B., Van Staden J. F.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 370, 776 (2000).
- Galharo C. X., Masini J. C.: *Anal. Chim. Acta* 438, 39 (2001).
- Lapa R. A. S., Lima J. L. F. C., Pinto I. V. O. S.: *Analisis* 28, 295 (2000).
- Cerda A., Oms M. T., Forteza R. M., Cerda V.: *Anal. Chim. Acta* 371, 63 (1998).
- Staden J. F., Kleuver L. G.: *Anal. Chim. Acta* 369, 157 (1998).
- Kojlo A., Calatayud J. M.: *Anal. Chim. Acta* 308, 334 (1995).
- Romero A. M., Benito C. G., Calatayud J. M.: *Anal. Chim. Acta* 308, 451 (1995).
- Kojlo A., Calatayud J. M.: *Talanta* 42, 909 (1995).
- Pereira A. V., Filho O. F.: *Anal. Chim. Acta* 366, 55 (1998).
- Fatibello F. O., Marcolino J. L. H., Pereira A. V.: *Anal. Chim. Acta* 384, 167 (1999).
- Barnett N. V., Bowser T. A., Gerardi R. D., Smith B.: *Anal. Chim. Acta* 318, 309 (1996).
- Calatayud J. M., Mateo G. J. V.: *Anal. Chim. Acta* 264, 283 (1992).
- Rivas G. A., Calatayud J. M.: *Talanta* 42, 1285 (1995).
- LeThanh H., Lendl B.: *Anal. Chim. Acta* 422, 63 (2000).
- Wang J., Hansen E. H.: *Anal. Chim. Acta* 435, 331 (2001).
- Zhang-Run X., Shu-Kun X., Zhao-Lun F.: *At. Spectrosc.* 21, 17 (2000).
- Rubí E., Jiménez M. S., De Mirabó F. B., Forteza R., Cerda V.: *Talanta* 44, 553 (1997).
- Grate J. W., Fadeff S. K., Egorov O.: *Analyst (Amsterdam)* 124, 203 (1999).
- Egorov O., O'Hara M. J., Růžicka J.: *Anal. Chem.* 71, 345 (1999).
- Grate J. W., Egorov O. B., Fiskum S. K.: *Analyst (Amsterdam)* 124, 1143 (1999).
- Boos K. S., Grimm K. H.: *Trends Anal. Chem.* 18, 175 (1999).
- Mislanová C., Stefancová A., Oravcová J., Horecký J., Trnovec T., Lindner W.: *J. Chromatogr., B: Biomed. Appl.* 739, 151 (2000).
- Lamprecht G., Kraushofer T., Stoschitsky K., Lindner W.: *J. Chromatogr., B: Biomed. Appl.* 740, 219 (2000).
- Mullett W. M., Pawlizsyn J.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 26, 899 (2001).
- Boos K. S., Rudolphi A., Vielhauer S., Walfort A., Lubda D., Eisebeiss F.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 352, 684 (1995).
- Kiba N., Itagaki A., Furusawa M.: *Talanta* 44, 131 (1997).
- Ruhn P. F., Taylor G. D., Hage D. S.: *Anal. Chem.* 66, 4265 (1994).
- Khokhar M. Y., Miller J. N., Seare N. J.: *Anal. Chim. Acta* 290, 154 (1994).
- Fránek M., Deng A., Kolář V.: *Anal. Chim. Acta* 412, 19 (2000).
- Chandler B. P., Brown J., Call D. R.: *Int. J. Food Microbiol.* 70, 143 (2001).
- Christian G. D.: *Analyst (Amsterdam)* 119, 2309 (1994).

52. Egorov O., Růžicka J.: *Analyst* (Amsterdam) **120**, 1959 (1995).
53. Lindfors T., Lähdesmäki I., Ivaska A.: *Anal. Lett.* **29**, 2257 (1996).
54. Mayer M., Růžicka J.: *Anal. Chem.* **68**, 3808 (1996).
55. Garden S. R., Strachan N. J. C.: *Anal. Chim. Acta* **444**, 187 (2001).
56. Chandler D. P., Schuck B. L., Brockman F. J., Bruckner-Lea C. J.: *Talanta* **49**, 969 (1999).
57. Růžicka J.: *Analyst* (Amsterdam) **125**, 1053 (2000).
58. Silva F. V., Souza G. B., Ferraz L. F. M., Nogueira A. R. A.: *Food Chem.* **67**, 317 (1999).
59. Araújo A. N., Lima J. L. F. C., Rangel A. O. S. S., Segundo M. A.: *Talanta* **52**, 59 (2000).
60. Silva F. V., Nogueira A. R. A., Souza G. B., Cruz G. M.: *Anal. Sci.* **16**, 361 (2000).
61. Lukkari I., Růžicka J., Christian G. D.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* **346**, 813 (1993).
62. Segundo S. A., Rangel A. O. S. S.: *Anal. Chim. Acta* **427**, 279 (2001).
63. Mataix E., Luque de Castro M. D.: *Analyst* (Amsterdam) **123**, 1547 (1998).
64. Oms M. T., Cerda A., Cladera A., Forteza R.: *Anal. Chim. Acta* **318**, 251 (1996).
65. Oms M. T., Cerda A., Cerda V.: *Electroanalysis* (N.Y.) **8**, 387 (1996).
66. Decnop-Weever L., Kraak J. C.: *Anal. Chim. Acta* **337**, 125 (1997).
67. Echols R. T., James R. R., Aldstadt J. A.: *Analyst* (Amsterdam) **122**, 315 (1997).
68. Silva F. V., Nogueira A. R. A., Souza G. B., Reis B. F., Araújo A. N., Montenegro M. C. M. B. S., Lima J. J. F. C.: *Talanta* **53**, 331 (2000).
69. Van Staden J. V., Du Plessis H., Taljaard R. E.: *Anal. Chim. Acta* **357**, 141 (1997).
70. Araújo A. N., Lima J. L. F. C., Saraiva M. L. M. F. S., Zagatto E. A. G.: *Am. J. Enol. Vitic.* **48**, 428 (1997).
71. Zhao-Lun F.: *Anal. Chim. Acta* **400**, 233 (1999).
72. Zhao-Lun F., Qun F., Xue-Zhu L., Heng-Wu Ch., Chun-Lei L.: *Trends Anal. Chem.* **18**, 261 (1999).
73. Valcárcel M., Luque de Castro M. D.: *Flow-Injection Analysis. Principles and Applications*. Ellis Horwood, Chichester 1987.
74. Luo Y., Al-Othman R., Růžicka J., Christian G. D.: *Analyst* (Amsterdam) **121**, 601 (1996).
75. Nakano S., Luo Y., Růžicka J., Christian G. D.: *Microchem. J.* **55**, 392 (1997).
76. Luo Y., Nakano S., Holman D. A., Růžicka J., Christian G. D.: *Talanta* **44**, 1563 (1997).
77. Nakano S., Luo Y., Holman D. A., Růžicka J., Christian G. D.: *J. Flow Injection Anal.* **13**, 148 (1996).
78. Miró M., Gómez E., Estela J. M.: *Anal. Chem.* **74**, 826 (2002).
79. Schuhmann W., Wohlschläger H., Huber J.: *Anal. Chim. Acta* **315**, 113 (1995).
80. Araújo A. N., Lima J. L. F. C., Saraiva M. L., Zagatto E. A.: *Am. J. Enol. Vitic.* **48**, 428 (1997).
81. Lancaster H. L., Christian G. D., Růžicka J.: *J. Flow Injection Anal.* **9**, 20 (1992).
82. Lindfors T., Lähdesmäki I., Ivaska A.: *Anal. Lett.* **29**, 2257 (1996).
83. Mayer M., Růžicka J.: *Anal. Chem.* **68**, 3808 (1996).
84. Hedenfalk M., Mattiasson B.: *Anal. Lett.* **29**, 1109 (1996).
85. Kiba N., Itagaki A., Furusawa M.: *Talanta* **44**, 131 (1997).
86. Solich P., Polášek M., Karlíček R.: *Anal. Chim. Acta* **218**, 151 (1989).
87. Vega F. A., Nunez C. G., Weigel B.: *Anal. Chim. Acta* **373**, 57 (1998).
88. Numata M., Funazaki N., Ito S.: *Talanta* **43**, 2053 (1996).
89. Stalikas C. D., Karayannis M. I., Tzouwara-Karayanni S. M.: *Talanta* **41**, 1561 (1994).
90. Dockendorff B., Holman D. A., Christian G. D., Růžicka J.: *Anal. Commun.* **35**, 357 (1998).
91. Oliveira C. C., Zagatto E. A. G., Růžicka J., Christian G. D.: *Anal. Lett.* **33**, 929 (2000).
92. Jiménez M. S., Velarte R., Castillo J. R.: *Spectrochim. Acta, Part B* **57**, 391 (2002).
93. Luca G. C., Reis B. F., Zagatto E. A. G.: *Anal. Chim. Acta* **366**, 193 (1998).
94. Šatínský D., Karlíček R., Svoboda A.: *Anal. Chim. Acta* **455**, 103 (2002).
95. Couto C. M., Lima J. L., Conceicao M., Montenegro B.: *Anal. Chim. Acta* **366**, 155 (1998).
96. Puig-Lleixa C., Bartoli J., Del-Valle M.: *Anal. Chim. Acta* **359**, 311 (1998).
97. Elsholz O., Schulze G.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* **353**, 119 (1995).
98. Staden J. F., Kluever L. G.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* **362**, 319 (1998).
99. Karlíček R., Solich P.: *Pharmazie* **53**, 549 (1998).
100. Miró M., Cladera A., Estela J. M., Cerda V.: *Analyst* (Amsterdam) **125**, 943 (2000).
101. Zhang-Run X., Hong-Yan P., Shu-Kun X., Zhao-Lun F.: *Spectrochim. Acta, Part B* **55**, 213 (2000).
102. Marqués M. J., Morales-Rubio A., Salvador A., Guardin M.: *Talanta* **53**, 1229 (2001).
103. Erustes J. A., Andrade-Eiora A., Cladera A., Forteza R., Cerda V.: *Analyst* (Amsterdam) **126**, 451 (2001).
104. Diaz G. T., Valenzuela A. M. I., Salinas F.: *Anal. Chim. Acta* **384**, 185 (1999).
105. Jesus D. S., Cassella R. J., Ferreira S. L. C.: *Anal. Chim. Acta* **366**, 263 (1998).
106. Chen H. V., Fang Z. L.: *Anal. Chim. Acta* **394**, 13 (1999).
107. Arce L., Tena M. T., Rios A.: *Anal. Chim. Acta* **359**, 27 (1998).
108. Nickson R. A., Hill S. J., Worsfold P. J.: *Anal. Chim. Acta* **351**, 311 (1997).
109. Fang Z., Guo T., Welz B.: *Talanta* **38**, 613 (1991).
110. Karlíček R., Gargoš M., Solich P.: *J. Flow Injection Anal.* **13**, 45 (1996).
111. Růžicka J., Pollema C. H., Scudder K. M.: *Anal. Chem.* **65**, 3566 (1993).
112. Wilmer M., Trau D., Renneberg R.: *Anal. Lett.* **30**, 515 (1997).
113. Dreveny D., Michalowski J., Seidel R.: *Analyst* (Amsterdam) **123**, 2271 (1998).
114. Dreveny D., Klammer C., Michalowsky J.: *Anal. Chim. Acta* **398**, 183 (1999).
115. Garden S. R., Strachan J. R. C.: *Anal. Chim. Acta* **444**, 187 (2001).
116. Van Staden J. F., Du Plessis H., Taljaard R. E.: *Anal. Chim. Acta* **357**, 141 (1997).

117. Fang Z. L.: *Anal. Chim. Acta* 400, 233 (1999).
118. Mana H., Spohn U.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 366, 825 (2000).
119. Palmisano F., Quinto M., Rizzi R., Zambonin P. G.: *Analyst (Amsterdam)* 126, 866 (2001).
120. Mataix E., De Castro M. D. L.: *Anal. Chim. Acta* 428, 7 (2001).
121. Lima J. L. F. C., Lopes T. I. M. S., Rangel A. O. S. S.: *Anal. Chim. Acta* 366, 187 (1998).
122. Huang Y., Zhang Z., Lv J.: *Anal. Chim. Acta* 419, 175 (2000).
123. Peterson K. L., Logan G. D., Christian G. D., Růžička J.: *Anal. Chim. Acta* 337, 99 (1997).
124. Costa R. C. C., Araújo A. N.: *Anal. Chim. Acta* 438, 227 (2001).
125. Wang J., Hansen E. H.: *Anal. Chim. Acta* 456, 283 (2002).
126. Themelis D. G., Tzanavaras P. D.: *Anal. Chim. Acta* 452, 295 (2002).
127. Alonso A., Almendral M. J., Porras M. J.: *Anal. Chim. Acta* 447, 211 (2001).
128. Pérez-Ruiz T., Martínez-Lozano C., Tomás V.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 26, 609 (2001).
129. Maurí-Aucejo A. R., Pascual-Martí M. R., Llobat M.: *Microchem. J.* 69, 199, (2001).
130. Miró M., Cladera A., Estela J. M.: *Anal. Chim. Acta* 438, 103 (2001).
131. Sakai T., Takio H., Teshima N.: *Anal. Chim. Acta* 438, 117 (2001).
132. Anthemidis A. N., Themelis D. G., Stratis J. A.: *Talanta* 54, 37 (2001).
133. Chimpalee N., Chimpalee D., Keawpasert P.: *Anal. Chim. Acta* 408, 123 (2000).

J. Huclová and R. Karlíček (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Králové*): **On-line Sample Pretreatment in Nonseparating Continuous-Flow Analytical Methods**

The review deals with principles and applications of various methods of on-line sample pretreatment (SPE, LLE, dialysis, derivatization) in flow systems. The article concentrates on the advances in the development of sample analysis and enumerates the advantages of a combination of on-line sample preparation and determination using FIA and SIA. It involves 133 references covering the period from 1987 to 2001.



10. ročník mezinárodního veletrhu chemie a plastů

7.–9. října

Areál Výstaviště Praha

www.chemtecpraha.cz

Tradičně na podzim proběhne v Průmyslovém paláci na pražském Výstavišti v Holešovicích jubilejní 10. ročník mezinárodního veletrhu chemie a plastů – CHEMTEC PRAHA. Svaz chemického průmyslu ČR je v letošním roce odborným garantem i doprovodného programu.

Význam veletrhu dokládá každoroční účast předních společností českého chemického průmyslu. Za dobu své existence veletrh potvrdil, že je užitečným přínosem pro konfrontaci výsledků chemického výzkumu, vývoje výroby a také v obchodu a službách v této oblasti. Stal se vrcholným místem střetnutí výrobců a obchodníků z oblasti chemie, laboratorní a měřicí techniky, technologických postupů a ekologie, i výzkumné ústavy a školy zde prezentují výsledky vědy a výzkumu.

Doprovodný program je oproti minulosti orientován více na průřezová a souhrnná odborná témata a větší prostor bude věnován prezentaci chemických firem. Jeho základním cílem je přispět k přípravě chemického průmyslu na území České republiky na vstup do EU. Nosná témata budou tvořit

- strategie chemického průmyslu
- výzkum a vývoj chemického průmyslu na území ČR a zapojení chemických subjektů do 6. rámcového programu EU
- chemická legislativa
- prezentace: chemických firem
významných studentských a doktorandských prací
- ochrana zdraví, bezpečnost a životní prostředí
- logistika a transport chemických látek.

Informace o doprovodném programu naleznete na www.chemtecpraha.cz. Kontakt na garanta: SPCH ČR, Kodaňská 46, 100 10 Praha 10, Ing. Otakar Podroužek, tel.: 234 064 133, fax: 234 064 130, e-mail: mail@schp.cz.

Incheba Praha Vás tímto srdečně zve k návštěvě a pevně věří, že i přes složitou ekonomickou situaci podnikatelských subjektů v oblasti chemie splní veletrh očekávání návštěvníků i vystavovatelů.

INCHEBA PRAHA

tel.: 220 103 476, 493, fax: 233 378 225, e-mail: chemtec@incheba.cz