

POKROKY A VYUŽITIE MIKROEXTRAKČNÝCH TECHNÍK NA ANALÝZU REZÍDUÍ PESTICÍDOV V POTRAVINÁCH

SVETLANA HROUZKOVÁ, AGNEŠA SZARKA
a SILVIA ZICHOVÁ

Ústav analytickej chémie, Fakulta chemickej
a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita
v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava
svetlana.hrouzkova@stuba.sk

Došlo 28.4.17, prijaté 10.8.17.

Kľúčové slová: extrakcia, mikroextrakcia kvapalina-kvapalina, mikroextrakcia tuhou fázou, pesticídy, rezíduá, potraviny

Obsah

1. Úvod
2. Mikroextrakcie kvapalinou
 - 2.1. Extrakcia jednou kvapkou (Single-drop micro-extraction)
 - 2.2. Disperzná mikroextrakcia kvapalina-kvapalina (Dispersive liquid-liquid microextraction)
 - 2.3. Mikroextrakcia dutým vláknom (Hollow-fiber microextraction)
3. Sorpčné mikroextrakčné techniky
 - 3.1. Mikroextrakcia tuhou fázou (Solid phase micro-extraction)
 - 3.2. Miešadlová mikroextrakcia (Stir bar sorptive microextraction)
 - 3.3. Mikroextrakcia sorbentom naplneným v striekačke (Microextraction by packed sorbent)
4. Spojenie konvenčných techník s mikroextrakciami
 - 4.1. Mikroextrakčné techniky a QuEChERS
 - 4.2. Mikroextrakčné techniky a konvenčné inštrumentálne extrakčné techniky
 - 4.3. Mikroextrakčné techniky a konvenčné sorpčné techniky
5. Výhody, obmedzenia a trendy rozvoja mikroextrakčných techník
6. Záver

1. Úvod

Pesticídy majú významnú úlohu v poľnohospodárstve, kde sa používajú na ochranu, zvýšenie produkcie a kvality rastlín. Napriek ich priaznivým účinkom v poľnohospodárstve a potravinárstve, ich nevhodné a nadmerné

používanie môže ohroziť bezpečnosť a zdravie spotrebiteľov¹. Ich rozsiahle používanie môže predstavovať potenciálne zdravotné riziko pre ľudí z dôvodu, že niektoré z pesticídov majú vysoko toxické, mutagénne, karcinogénne a tiež endokrinnodisrupčné účinky. Vzhľadom na tieto riziká sú rezíduá pesticídov sledované a kontrolované v potravinách. Pre zabezpečenie ochrany zdravia spotrebiteľov boli zavedené rôzne regulácie a boli stanovené maximálne reziduálne limity pesticídov v týchto produktoch. Aby bolo možné limity overiť, je potrebné vyvíjať citlivé a selektívne analytické metódy na stanovenie pesticídov na nízkych koncentračných hladinách².

Pri analýze potravín sa najviac využívajú chromatografické techniky v spojení s rôznymi extrakčnými metódami. Úprava vzorky zahŕňa mechanické spracovanie a homogenizáciu vzorky, izoláciu a zakoncentrovanie analytov a odstránenie interferujúcich zložiek, aby matrica bola kompatibilná so separačným a detekčným systémom. Vzhľadom na povahu a cieľ úpravy vzoriek je zrejmé, že táto časť analytického procesu má zásadný vplyv na celkový čas procesu a kvalitu získaných výsledkov³. Ideálna metóda úpravy vzorky má byť rýchla, jednoduchá na použitie, lacná a kompatibilná s analytickou inštrumentáciou, preto v súčasnej dobe trendy vo vývoji smerujú k miniaturizácii, zjednodušeniu jednotlivých krokov a zníženiu spotreby toxických rozpúšťadiel⁴. Na úpravu potravín sa používajú tradičné konvenčné techniky ako extrakcia v systéme kvapalina-kvapalina (LLE), extrakcia tuhou fázou (SPE), technika disperzie matrice vzorky na tuhej fáze (MSPD) a disperzná extrakcia tuhou fázou (dSPE). V porovnaní s extrakciou kvapalinou, SPE a MSPD vyžadujú menšie objemy extrakčných rozpúšťadiel, ale tak isto sú časovo náročné. Na rozdiel od spomenutých techník je dSPE jednoduchá a nie je časovo náročná, ale napriek tomu sorbenty používané na odstránenie nečistôt z matrice môžu adsorbovať aj cieľové analyty⁵. Ďalšou veľkou nevýhodou konvenčných techník je nízky alebo žiadny predkoncentračný faktor⁶. Preto je potrebný vývoj nových, jednoduchých extrakčných techník, ktoré sú vhodné pre multireziduálnu analýzu pesticídov v komplexných vzorkách ako sú potraviny.

Používanie veľkých objemov toxických rozpúšťadiel predstavuje zdravotné riziko pre zamestnancov, vysoké náklady na likvidáciu odpadu a negatívny vplyv na životné prostredie. Obavy z vplyvu toxických rozpúšťadiel na životné prostredie viedli k vývoju ekologickejších extrakčných metód. V posledných rokoch boli vyvinuté rôzne mikroextrakčné techniky, ktoré sú v súlade so zásadami „zelenej chémie“⁷, ako napr. mikroextrakcia tuhou fázou (SPME), sorpčná extrakcia na miešadlách (SBSE), mikroextrakcia jednou kvapkou (SDME) a mikroextrakcia sorbentom naplneným v striekačke (MEPS), ktoré majú výhodu opro-

ti konvenčnej LLE a SPE v malej spotrebe organického rozpúšťadla, rýchlosti a jednoduchosti.

Cieľom článku je poskytnúť literárny prehľad o súčasných trendoch z oblasti mikroextrakčných metód používaných pri stanovení rezíduí pesticídov z rôznych typov potravín. Prehľad je rozdelený do kapitol podľa typu mikroextrakčných techník. Samostatná kapitola sa venuje mikroextrakčným technikám kvapalinou a ďalšia sorpčným mikroextrakčným technikám. V ďalšej časti článku sú zhodnotené spojenia konvenčných techník s mikroextrakciami. Sú diskutované výhody a obmedzenia mikroextrakčných techník.

2. Mikroextrakcie kvapalinou

Extrakcia kvapalinou s využitím miešania je založená na rozdelení analytov medzi tuhú a kvapalnou fázou (v prípade klasickej LLE medzi dve nemiešateľné kvapaliny), pričom cieľové analyty postupujú zo vzorky do správne zvoleného rozpúšťadla. Pri posudzovaní tejto techniky existuje mnoho výrazných nevýhod ako napr. prácnosť a časová náročnosť, tvorba emulzií, potreba odparovania veľkých objemov rozpúšťadiel, likvidácia toxických a horľavých látok a cenová náročnosť. Ďalším nedostatkom tejto metódy je potreba relatívne veľkého množstva matrice (vzorky), pričom používanie menších množstiev je dôležité z hľadiska riešenia problémov bežného života, ako sú napr. sťažnosti spotrebiteľov alebo možná chemická kontaminácia. V dnešnej dobe je použitie organických rozpúšťadiel regulované, a práve preto je LLE nevhodnou technikou, lebo spotrebuje veľké objemy rozpúšťadiel⁸.

Vysoká pozornosť sa venuje mikroextrakciám kvapalnou fázou (LPME), ktoré zahŕňajú mikroextrakčné techniky využívajúce kvapalnú rozpúšťadla na extrakciu a zakoncentrovanie sledovaných analytov z rôznych vzoriek, pričom objemy extrakčného rozpúšťadla sú rádovo v mikrolitroch. LPME techniky boli opísané v nedávno publikovaných prácach viacerých výskumných skupín^{9–15}.

Podstatou LPME techník je prenos analytov z vodnej fázy do malého objemu s vodou nemiešateľného rozpúšťadla. Extrakčné rozpúšťadlo môže byť v priamom styku so vzorkou (priama extrakcia) alebo umiestnené vhodným spôsobom nad vzorku („headspace“ extrakcia). Objem výsledného extraktu sa pohybuje v mikro- až v submikrolitrovom rozsahu. V dôsledku pomeru objemov vzorky a signifikantne nižšieho objemu extrakčnej fázy je možné dosiahnuť vysoké obohacovacie faktory analyzovaných látok. Na základe rôznych prístupov možno LPME techniky klasifikovať do viacerých skupín, ako sú SDME, disperzná mikroextrakcia v systéme kvapalina-kvapalina (DLLME – dispersive liquid-liquid microextraction), mikroextrakcia kvapalinou využívajúca duté vlákno (HF-LPME – hollow-fiber liquid phase microextraction). Techniky majú niekoľko ďalších variánt v rámci každého druhu, čo jasne poukazuje na ich variabilitu.

2.1. Extrakcia jednou kvapkou (Single-drop micro-extraction)

Mikroextrakcia jednou kvapkou (SDME) je založená na distribúcii pesticídov (analytov) medzi kvapalnou vzorkou obsahujúcou analyty a mikrokvapkou extrakčného rozpúšťadla s objemom niekoľkých mikrolitrov, ktorá je suspendovaná na špičke ihly mikrostriekačky. Ihla mikrostriekačky sa v prvom kroku použije na prepichnutie septa vialky so vzorkou. V momente ako je ihla mikrostriekačky umiestnená vo vhodnej pozícii (priamo vo vodnej vzorke, v „headspace“ priestore nad vzorkou, prípadne v kontinuálnom toku vzorky) sa stlačením piestu mikrostriekačky vytvorí kvapka extrahovadla na špičke ihly a analyty prechádzajú cez fázové rozhranie do kvapky rozpúšťadla. Po ukončení extrakcie sa kvapka extrahovadla s analytmi nasaje naspäť do mikrostriekačky reverzným pohybom piesta a následne sa objem kvapky použije na analýzu. Uvedený postup zodpovedá statickému módu extrakcie. V dynamickom móde je vzorka a rozpúšťadlo navzájom v pohybe, čo vedie ku kontinuálnej obnove ich povrchu a tým zvýšeniu účinnosti extrakcie v prípade, že extrakčná rýchlosť je vysoká. Dynamická mikroextrakcia kvapalnou fázou sa realizuje umiestnením kvapky extrahovadla v prietoku prúdajúcej vzorky, prípadne pohybom filmu vzorky a rozpúšťadla v ihle striekačky alebo vnútri úzkej rúrky¹⁶. Keďže problematika SDME je v poslednej dobe intenzívne riešená vedeckou komunitou, bolo už publikovaných aj niekoľko prehľadových článkov o využití SDME^{17–19}.

Základ pre úspešné uplatnenie danej techniky spočíva v zabezpečení stability kvapiek počas extrakcie. Prenos molekúl analytu z vodného roztoku vzorky do mikrokvapky je obmedzený pomalou difúziou molekúl analytu vo vodnej alebo organickej fáze. Hlavnou výhodou techniky je, že na realizáciu SDME postačuje laboratórna mikrostriekačka a niekoľko mikrolitrov čistého extrakčného rozpúšťadla. V porovnaní s SPME sa každá extrakcia realizuje novou extrakčnou fázou, ktorá v porovnaní s SPME fázou nie je zaťažovaná pamäťovými efektami. Nevýhodou SDME je prchavosť rozpúšťadla a stabilita kvapky na hrote.

SDME bola pôvodne použitá na izoláciu pesticídov z kvapalných vzoriek, ako je napr. odvar z čaju²⁰, džús²¹, víno²². Na rozdiel od vody, pre vzorky zeleniny a ovocia sa vyžaduje pred priamou extrakciou určité predbežné spracovanie, alebo sa používa SDME v „headspace“ móde²³.

Pri extrakcii pesticídov zo vzorky kokosového mlieka sa ako extrakčné činidlo testoval toluén, cyklohexán a izooktán²⁴. Toluén najčastejšie poskytuje optimálne výsledky obohacovacieho faktora a dobrú stabilitu kvapky, prípadne v kombinácii s ďalším rozpúšťadlom ako je octan etylatý²³. Uplatňujú sa však aj ďalšie rozpúšťadlá. Wu a spol. študovali použitie chloroformu, tetrachlórmetánu, chlórbenzenu a dichlórmetánu, pričom tetrachlórmetán vykazoval najvyššiu účinnosť extrakcie pre sledované organofosforečné pesticídy (OPP) vo vzorkách čaju²⁵. Na analýzu alkoholických vzoriek sa ako extrakčné činidlo

použil izooktán, pretože je vo vode najmenej rozpustný v porovnaní s ostatnými rozpúšťadlami, ako *n*-hexán, toluén, chloroform. Izoooktán poskytuje dobré výťažnosti pesticídov²².

Účinnosť extrakcie je možné zvýšiť viacerými spôsobmi. Príkladom je dynamická mikrovapka a extrakcia realizovaná v rúrke s úzkym vnútorným priemerom za asistencie vzduchovej bubliny na stopovú analýzu niektorých triazolov v ovocných džúsoch²¹. V roku 2015 bola publikovaná práca, v ktorej bola SDME použitá v kombinácii s dynamickou mikroextrakciou podporenou mikrovlnným žiarením na stanovenie 7 OPP vo vzorkách čaju²⁵.

2.2. Disperzná mikroextrakcia kvapalina-kvapalina (Dispersive liquid-liquid microextraction)

V roku 2006 bola po prvýkrát predstavená nová miniaturizovaná extrakčná procedúra nazvaná disperzná mikroextrakcia v systéme kvapalina-kvapalina (DLLME) kolektívom Rezaee a spol.²⁶. DLLME je založená na trojfázovom rozpúšťadlovom systéme (vodná vzorka, disperzné rozpúšťadlo, extrakčné rozpúšťadlo). Zmes extrakčného rozpúšťadla (organické rozpúšťadlo) a disperzného rozpúšťadla (s vodou miešateľné organické rozpúšťadlo) sa rýchlo vstrekuje do vodnej vzorky, následne sa vytvorí zakalený roztok obsahujúci veľké množstvo malých kvapôčok, čím sa zvýši účinnosť extrakcie. Organická fáza sa po určitom čase usadí alebo sa použije centrifugácia. Po centrifugácii sú analyty izolované a zakoncentrované v usadenej organickej fáze²⁶. V konvenčnej DLLME sa najčastejšie používajú rozpúšťadlá ťažšie ako voda, spravidla halogénované, ktoré sú toxické. Táto nevýhoda viedla k hľadaniu riešení a modifikácií, ako je metóda stuhnutia plávajúcej organickej kvapky, riešenia odberu extraktu získaného extrakciou s rozpúšťadlami ľahšími ako voda a použitie iónových kvapalín²⁷. Najnovší vývoj, pokroky a aplikácie DLLME boli zhrnuté v nedávnych prehľadových publikáciách^{11,27,28}.

DLLME je často používaná metóda, ktorá poskytuje množstvo výhod oproti klasickej LLE, ako je používanie malých objemov organického rozpúšťadla, jednoduchosť operácií, rýchlosť, nízka nákladovosť, dosahovanie vysokých obohacovacích faktorov a jednoduchšie prepojenie s analytickými metódami. DLLME sa aplikovala pri analýze kvapalných vzoriek, ako ovocné džúsy²⁹, vína^{30,31} alebo na analýzu rezíduí pesticídov v zložitejšej matrici, ako je med, pričom DLLME predchádzalo zriedenie vzorky³². Najčastejšie používané mechanizmy asistencie disperzie klasifikoval Ahmad a spol.²⁷ a to disperzia za pomoci ultrazvuku/vortexu, mikrovlnného ohrevu, vzduchu a externého rozpúšťadla. Farajzadeh a Khoshmaram vyvinuli novú LME metódu s asistenciou vzduchu na analýzu triazolov vo vzorkách uhoriek, paradajok a grapeových džúsov s dosiahnutím vysokých obohacovacích faktorov v rozmedzí od 713 do 808 (cit.³³). Viaceré mechanizmy asistencie disperzie sa študovali pri extrakcii viacerých skupín pesticídov zo vzoriek obsahujúcich alkohol³⁴.

Analýza tuhých a polotuhých matric je možná iba po

predošlej extrakcii cieľových analytov z matrice a následnom zriedení extraktu vodou. V tomto prípade je DLLME využívaná najmä ako predkoncentračná a/alebo čistiaca technika. V prípade tuhých vzoriek potravín bola DLLME úspešne aplikovaná v kombinácii s QuEChERS technikou^{35–37}. Kombinácia DLLME s technikou SPE sa aplikovala na stanovenie pesticídov vo vode, mlieku, mede a ovocnom džúse. Metóda poskytovala vysoké obohacovacie a predkoncentračné faktory³⁸. V prípade stanovenia rezíduí pyretroidov v rastlinných olejoch sa použila DLLME technika po predchádzajúcom delení v systéme kvapalina-kvapalina³⁹. Krok k zlepšeniu a priblíženiu sa k „zelenému“ spôsobu extrakcie sa uskutočnil výskumnou skupinou Farajzadeh a spol. na príklade stopovej analýzy skupiny OPP vo vzorkách ovocného džúsu. Analytická metóda používa kocku rafinovaného cukru a acetónu (objemy poriadkovo v ml) ako disperzant a ko-disperzant na zjednodušenie tvorby zakaleného roztoku a zrýchlenie prenosu analytov z vodného roztoku do organickej fázy⁴⁰.

2.3. Mikroextrakcia dutým vláknom (Hollow-fiber microextraction)

Mikroextrakcia dutým vláknom (HF-LPME) bola vyvinutá ako náhrada SDME, aby sa predchádzalo nestabilite kvapky⁴¹. Princíp techniky spočíva v extrakcii analytov do kvapalnej membrány, ktorá sa nachádza v póroch hydrofóbneho HF a neskôr analyty prechádzajú do akceptorovej fázy nachádzajúcej sa v dutine vlákna. Hlavnou výhodou HF-LPME je, že vzorka sa počas extrakcie môže miešať bez straty extrakčného rozpúšťadla. Extrakcia sa uskutočňuje v dvoch módoch, ako dvojfázová alebo trojfázová HF-LPME. V dvojfázovom systéme sa analyty extrahujú z vodnej vzorky do organickej fázy, ktorá sa nachádza v póroch a dutinách HF, analyty sú extrahované do organickej fázy, ktorá je kompatibilná s GC. V prípade trojfázového systému v póroch membrány je organická fáza a dve vodné fázy sú na vonkajších stranách membrány. Jednou z významných hnacích síl celého procesu je rozdiel v pH donorovej a akceptorovej fázy. Trojfázový systém je vhodný na extrakciu polárnych látok⁴².

Pri stanovení rezíduí pesticídov sa najčastejšie použíla dvojfázová HF-LPME. Táto technika našla svoje uplatnenie aj pri analýze vzoriek potravín, avšak vo väčšine prípadov pred samotnou extrakciou je potrebná úprava tuhých potravín homogenizáciou, filtráciou, centrifugáciou⁴³. Ma a spol. aplikovali HF-LPME na extrakciu karbamátov z ovocia. Pri extrakcii využili výhody grafénového vlákna, ktoré má veľkú styčnú plochu a vysokú stabilitu⁴⁴. Dvojfázová HF-LPME sa použila na izoláciu troch pyretroidov z ovocných a zeleninových džúsov. Pri optimalizácii metódy sa zistilo, že rýchlosť miešania vzorky, čas extrakcie a prídavok soli majú výrazný vplyv na extrakciu⁴⁵. Výber 13 OPP a ich metabolitov sa stanovil metódou HF-LPME v cereálnych výrobkoch a v múke, ako extrakčné rozpúšťadlo sa použil 1-oktanol a desorpčné rozpúšťadlo acetonitril⁴³. Wang a spol. aplikovali polyvinylidén fluoridovú membránu (PVDF) na extrakciu

7 pesticídov z uhoriek. Táto membrána poskytla vyššiu extrakčnú účinnosť vďaka vysokej porozite⁴⁶. HF-LPME sa ďalej použila pri analýzach reziduí pesticídov vo vzorkách potravín, ako napr. OPP v nápojoch⁴⁷, fungicídy v pomarančovej štave⁴⁸, chlórované pesticídy v paradajkách a jahodách⁴⁹, OPP v tkanivách rýb⁵⁰, OPP v alkoholických nápojoch⁵¹, karbamátové pesticídy v ovocných vzorkách⁵² a organochlórované pesticídy v ekologických textíliách⁵³.

3. Sorpčné mikroextrakčné techniky

Sorpčné techniky používajú sorbenty na zachytenie a zakonzentrovanie cieľových analytov zo vzorky na základe afinity medzi sorbentom a analytmi. Tradičnou sorpčnou extrakčnou technikou je SPE, ktorá je široko akceptovanou alternatívou k LLE. V prípade SPE sa vzorka aplikuje na sorbent a analyty sa sorbujú na tuhej fáze. Na elúciu analytov sa používajú organické rozpúšťadlá. Adsorpcia analytov spravidla v závislosti od sorbentov nie je selektívna, a výťažnosti sú nízke a premenlivé⁵⁴. Ďalšou nevýhodou SPE je, že kolónka môže byť použitá len raz a spotreba vzorky a rozpúšťadiel je veľká, čo znamená, že metóda spotrebou rozpúšťadiel a tvorbou odpadu nie je šetrná k životnému prostrediu. V súčasnosti získali vo vedeckej komunite veľkú pozornosť sorpčné mikroextrakčné techniky. S cieľom eliminácie nevýhod SPE sa začali vyvíjať nové techniky, ktoré spotrebujú menšie objemy extrakčných rozpúšťadiel (niekoľko μl) a menší objem vzorky. Jednou z prvých navrhnutých mikroextrakčných techník, ktorá našla svoje uplatnenie v analýze potravín, bola SPME. Táto technika je rýchla, citlivá, presná a je prístupná na úplnú automatizáciu, ale má aj isté nevýhody, ako je krátka životnosť vlákna. To viedlo k vývoju ďalších mikroextrakčných techník. Najnovšou metódou je MEPS, ktorá sa začala používať v roku 2004 a v poslednej dobe našla svoje uplatnenie aj pri stanovení pesticídov v potravinách.

3.1. Mikroextrakcia tuhou fázou (Solid phase micro-extraction)

Mikroextrakcia tuhou fázou (Solid phase microextraction, SPME) bola uvedená výskumnou skupinou profesora Pawliszyna v roku 1990 ako bezrozpušťadlová predkonzentračná technika, ktorá je založená na sorpcii analytov na stacionárnu fázou umiestnenú na vlákne⁵⁵. Stacionárnou fázou môže byť kvapalnú polymér (absorbent), alebo tuhá fáza (adsorbent). Vlákno so sorpčným materiálom sa vloží priamo do vzorky alebo do priestoru nad kvapalinou na určitú dobu, označovanú ako extrakčný čas. Zvýšenie selektivity možno dosiahnuť aplikáciou membrány, ktorá ochraňuje vlákno a slúži na selektívne prepustenie cieľových analytov. Postupne sa vyvíjajú nové techniky a ich modifikácie a variácie, ako je in-tube SPME, alebo in-needle SPME, ktoré majú stacionárnu fázou zachytenú na vnútorných stenách kapilárnej rúrky, prípadne na stenách

ihly striekačky⁵⁶.

V závislosti od distribučného koeficienta sa dosiahne rovnováha medzi koncentráciou analytu vo vzorke a koncentráciou analytu sorbovaného na vlákno. Po sorpcii analytov na vlákno je potrebné realizovať desorpciu látok a to buď termodesorpciou v priestore vyhrievaného injektora plynového chromatografu, alebo sú analyty desorbované rozpúšťadlom a to najmä vtedy, keď sa následne analyty separujú kvapalinovou chromatografiou⁵⁷. SPME je alternatívnou extrakčnou technikou k tradičným technikám s výhodami, ako je nízka spotreba rozpúšťadiel, zníženie množstva rušivých kontaminantov a tým redukcia pozadia, zníženie času extrakcie. SPME je rovnovážna technika, nevyžaduje kompletne odstránenie analytu zo vzorky. Môže byť použitá pre širšie rozpätie analytov ako pri použití iných techník, napr. SPE. SPE však vyžaduje dosiahnutie kvantitatívneho odstránenia analytu z matrice vzorky⁵⁸. Pokroky a aplikácie SPME boli o vývoji a využití nových aplikácií SPME na analýzu reziduí v pesticídoch zhodnotené v prehľadovom článku⁵⁹.

Hlavnými výhodami SPME je miniaturizácia metódy, automatizácia zariadení a jednoduché spojenie s následne použitou chromatografickou inštrumentáciou na separáciu a detekciu analytov. Aby sa dosiahlo maximálne využitie výhod metódy v spojení s pokročilou inštrumentáciou, je potrebná dôsledná optimalizácia parametrov, ktoré ovplyvňujú extrakčnú účinnosť, najmä zloženie stacionárnej fázy na vlákne, extrakčný mód, spôsob miešania, úprava vzorky (pH, iónová sila, obsah organických rozpúšťadiel), teplota vzorky, extrakčný čas a podmienky desorpcie⁶⁰.

Zásadným parametrom na rozhodnutie, či je stacionárna fáza pre určitý analyt vhodná, je polarita fázy a jej selektivita k analytom, samozrejme s prihliadnutím na vlastnosti ďalších zložiek matrice. Vlastnosti sorpčnej fázy sú hlavným parametrom ovplyvňujúcim účinnosť extrakcie, keďže SPME je rovnovážna technika⁶¹.

Komerčne je dostupných niekoľko stacionárnych fáz, ako polydimetylsiloxán (PDMS), polyakrylát (PA), divinylbenzén (DVB), carboxén (CAR), carboxax (CW) a ich kopolyméry⁶². Najčastejšie sa používa PDMS, je vhodný najmä na extrakciu nepolárnych analytov. Často sa používajú zmesné vlákna, z nich najrozšírenejšie pre oblasť analýzy reziduí pesticídov v ovocí a zelenine je PDMS/DVB vlákno, konkrétne na stanovenie multipesticídnych zmesí v rajčinách⁶³ a ovocných džúsoch⁶⁴. CW v kombinácii s templátovou živinicou sa aplikovali na stanovenie mnohozložkových zmesí pesticídov v šaláte⁶⁵. PA vlákno sa ukázalo byť vhodné na stanovenie 11 OPP v kapuste a horčici⁶⁶.

Souza-Silva a spol.⁶¹ v kritickom prehľadovom článku o situácii v SPME komplexných potravinových matic poukázali na fakt, že dôležitým smerom vo vývoji SPME je príprava nových extrakčných fáz. Aktuálnym trendom, ako vytvoriť extrakčné fázy „šité na mieru“, je príprava založená na sol-gel technológii. Takto pripravené vlákna majú vyššiu tepelnú stabilitu až do 350 °C (cit.⁶⁷). Ai a spol.⁶⁸ použili nanoštruktúrne polyanilino-poly(propylén-oxidové) (PANI-PPO) kompozitné fázy, ktoré boli

syntetizované elektrochemicky na nerezovom vlákne. Vlákno sa použilo na stanovenie karbamátových pesticídov. Ďalším príkladom použitia novej fázy je polystyrénová nanoštruktúrna fáza, ktorá sa aplikovala na nerezové vlákno a použila sa na odseparovanie viacerých skupín pesticídov zo vzoriek medu⁶⁹. Ďalšou skupinou nových fáz sú polyméry s odtlačkom molekuly (molecularly imprinted polymers, MIP), napr. calixarénové vlákno pripravené technológiou sol-gel. Použilo sa na separáciu 4 OPP v ovoci^{70,71}. Song a spol.⁷² vyvinuli metódu na stanovenie karbamátových pesticídov, pričom použili uhlíkové nanorúrky a metódu SPME kombinovali s použitím dutého vlákna. Uhlíkové nanorúrky sa dispergovali vo vode za pomoci prídavku surfaktantu, následne sa zachytili v póroch dutého vlákna, pričom sa udržiavali v póroch kapilárnymi silami. SPME zariadenie, zmáčané 1-oktanolom, sa umiestnilo do miešanej vzorky, kde prebiehala extrakcia cieľových analytov.

Špeciálnym materiálom, ktorý sa s výhodou používa ako nová sorpčná fáza v SPE, sú iónové kvapaliny (Ionic liquids, IL). IL sú soli, kvapalné pri laboratórnej teplote (25 °C) a ich bod topenia je spravidla nižší ako 100 °C. Pozostávajú z organického kationu odvodeného z Lewisovej bázy, ako imidazolium, pyrrolidinium, pyridinium, tetraalkyl ammonium, tetraalkyl fosfonium a sulfonium a z polyatomických aniónov obsahujúcich rôzne anorganické alebo organické anióny (napr. tetrafluoroboritan, hexafluorofosforečnan, bromid)^{73,74}. Zhang a spol.⁷⁵ publikovali štúdiu o aplikácii novej IL použitej ako sorpčná fáza na SPME na selektívnu extrakciu pyretroidových pesticídov. Nová IL, 1-vinyl-3-hexadecylimidazolium hexafluorofosforečnan (ViHDIm+ PF6⁻) sa aplikovala na stanovenie 7 pyretroidov v zelenine. Pesticídy sa najprv extrahovali hexánom, následne sa aplikovala SPME v móde priameho ponorenia, pesticídy sa detegovali pomocou GC s detektorom elektrónového záchytu. Tian a spol.⁷⁶ použili IL vlákno na stanovenie triazínov v ovoci a zelenine. Použitie IL vo funkcii extrakčnej fázy je v rámci vývoja SPME na vzostupe.

3.2. Miešadlová mikroextrakcia (Stir Bar Sorptive Extraction)

Miešadlová mikroextrakcia (Stir Bar Sorptive Extraction, SBSE) je ďalšou technikou založenou na sorpčnom princípe, ktorá môže fungovať ako úplne bezrozpušťadlová technika. Technika bola prvýkrát uvedená výskumnou skupinou profesora Sandru z Belgicka v roku 1999 (cit.⁷⁷). Typický SBSE experiment používa magnetické miešadlo pokryté stacionárnou fázou. Miešadlo sa vloží priamo do kvapalnej vzorky, alebo do extraktu vzorky (priama SBSE), alebo do „headspace“ vrstvy nad vzorkou (headspace sorptive extraction). Extrakcia prebieha optimalizovaný extrakčný čas, ktorý je spravidla veľmi dlhý (desiatky až stovky minút). Následne sú analyty zo stacionárnej fázy miešadla termicky desorbované s pomocou termodesorpčného dávkovacieho nadstavca, prípadne v upravenom injekčnom porte chromatografu, alebo sú

desorbované organickým rozpušťadlom a dávkované do chromatografického systému⁷⁸.

SBSE funguje na rovnakom sorpčnom princípe ako SPME. Hlavný rozdiel medzi technikami je v tom, že SBSE používa objemy extrakčnej fázy 50–250krát vyššie ako SPME, čo umožňuje dosiahnuť vyššie absolútne výťažnosti a fáza na miešadle poskytuje vyššiu sorpčnú kapacitu. SBSE má teda viacero podstatných čít, ako je vysoký obohacovací faktor, dobrá reprodukovateľnosť, vysoká adsorpčná kapacita, možnosť bezrozpušťadlovej aplikácie. SBSE bola úspešne aplikovaná na extrakciu mnohých organických látok z rôznych typov vzoriek⁷⁹. S témou SBSE boli publikované viaceré prehľadové články. Prieto a spol. sa zamerali na vybrané aspekty SBSE, ako je zhodnotenie relevantných parametrov, ktoré je potrebné brať do úvahy pri vývoji a optimalizácii analytickej metódy, venujú sa nevýhodám, riešeniu problémov a uvádzajú prehľad nových aplikácií SBSE⁸⁰. Prehľad hlavných pokrokov a inovácií zhodnotil Nogueira⁸¹. Kawaguchi a spol.⁸² a David⁸³ publikovali prehľad použitia SBSE v analýze potravín. Nedávno publikované aplikácie, nevýhody a víziu budúcich trendov diskutovali v prehľadovom článku Camino-Sánchez a spol.⁸⁴. Hlavný trend vo vývoji SBSE sa fokusuje na prípravu nových extrakčných materiálov, čo poskytuje technike väčšiu všestrannosť a aplikovateľnosť vo viacerých odvetviach analytickej praxe. Nové aplikácie materiálov použiteľných na SBSE sa sústreďujú na riešenia v dvoch oblastiach – fázy na extrakciu polárnych látok, napr. polyakrylátové fázy a etylénglykolové fázy a vývoj selektívnych sorbentov, ako sú molekulovo značené polyméry⁸⁴. Takisto sa nové fázy pripravujú technikou sol-gel, napr. pri stanovení množozložkových zmesí pesticídov v ovoci a zelenine⁸⁵ a monolitové fázy⁸⁶.

Výťažnosť polárnych analytov je možné zvýšiť aplikáciou vhodného polárneho rozpušťadla, ktoré sa použije na napučanie polydimetylsiloxánovej fázy. Ako príklad takejto rozpušťadlom podporenej SBSE je stanovenie pesticídov s hodnotami $\log K_{ow} < 3,0$ vo víne⁸⁷.

3.3. Mikroextrakcia sorbentom naplneným v striekačke (Microextraction by packed sorbent)

Mikroextrakcia sorbentom naplneným v striekačke (Microextraction by packed syringe, MEPS) je relatívne nový formát miniaturizovanej SPE. Originálne bola vyvinutá Abdel-Rehim a spol.⁸⁸ na prácu s malými objemami vzorky približne 10–250 μ l. Problematika použitia MEPS bola nedávno opísaná v prehľadových článkoch^{89–91}. Malé množstvo sorbentu (približne 1–4 mg) sa naplní priamo do tela mikrostriekačky alebo do malej patróny umiestnenej medzi telom a ihlou striekačky. Bežné inštrumentálne usporiadanie používa 100 μ l plynotesnú striekačku s patrónou pripojenou k ihle, tak aby výmena sorbentu bola jednoduchým krokom výmeny ihly. Naberanie vzorky je možné realizovať dvoma spôsobmi – viacnásobne (optimalizovaný počet cyklov) naberať vzorku stále v tom

istom alikvóte vzorky a nespotrebovanú časť vrátiť naspäť do daného alikvótu (mód naberania vzorky „draw-eject“) alebo opakovane набраť vzorku z daného alikvótu a následne ju vždy vypustiť do odpadu (mód naberania vzorky „extract-discard“)⁹². V porovnaní s SPE, pri ktorej prechádza vzorka cez vrstvu sorbentu len raz, v prípade MEPS je prechod vzorky v závislosti od počtu cyklov viacpočetný, pričom pri jednom cykle prechádza vzorka cez sorbent dvakrát. Modifikáciou miniaturizovanej SPE je mikroextrakcia sorbentom naplneným v špičke pipety, ktorá sa podľa oblasti použitia a náplne označuje rôznymi názvami – in-tip SPME, pipette-tip SPE, packed tips MEPS.

Technika MEPS sa primárne používa na analýzu biologických vzoriek, objavujú sa však aj aplikácie techniky na analýzu vzoriek potravín. Salami a Queiroz⁹³ využili techniku MEPS v kombinácii s extrakciou kvapalina-kvapalina na analýzu vzoriek medu. Med je veľmi komplexná matrica, a preto bol potrebný aj krok predúpravy vzorky. Uvedená metóda využívala na MEPS zmesný sorbent silikagél modifikovaný C18 kombinovaný s katexom. Sorbent bolo možné použiť opakovane až 40krát. Stanovenie 22 pesticídov sa realizovalo metódou GC-MS. Bagheri a spol.⁹⁴ vyvinuli metódu založenú na MEPS s polydifenylnámom kombinovaným s uhlíkovými nanorúrkami v off-line kombinácii s GC-MS na stanovenie pesticídov zo skupiny triazínov, organofosforečných pesticídov, a pesticídov na báze kyseliny aryloxyfenoxypropionovej. MEPS sa použila aj na extrakciu 6 pesticídov z trstinového sirupu. Spolahlivé výťažnosti sa získali v prípade použitia sorbentu C18-Chromabond. Porovnaním „draw-eject“ a „extract-discard“ módu sa zistilo, že „draw-eject“ mód je vhodnejší na naberanie vzorky⁹⁵. Naproti tomu, Di Ottavio a spol.⁹⁶ používali „extract-discard“ mód pri extrakcii 25 pesticídov z múky. Vzorky bolo treba upravovať pred samotnou extrakciou riedením acetonitriľom a centrifugáciou. Na extrakciu sa použil ako sorbent polystyrén-divinylbenzén. Výhodou vyvinutej metódy bola vysoká životnosť sorbenta až na 50 extrakcií.

4. Spojenie konvenčných techník s mikroextrakciami

Moderné extrakčné postupy využívajú kombináciu extrakčných techník, pričom každá metóda poskytuje svoje výhody, čím sa dosahuje zníženie spotreby rozpúšťadla, vysoká výťažnosť a kratší čas analýzy. Aplikácia mikroextrakčných techník v analýze potravín, ktoré sú tuhé alebo polotuhé, vyžaduje použitie predbežného izolačného extrakčného kroku⁹. Najmä v prípadoch, keď matrica je komplexná a pri prvom extrakčnom kroku sa do extraktu dostáva veľké množstvo koextraktantov, je aplikácia mikroextrakcie nielen krokom zakoncentrovania, ale aj čistiacim krokom⁶⁵. Veľkú pozornosť si získali metódy, v ktorých jednou z kombinovaných extrakčných techník je DLLME.

4.1. Mikroextrakčné techniky a QuEChERS

Prístup k analýze vzoriek potravín v literatúre označovaný ako QuEChERS, čo znamená „quick, easy, cheap, effective, rugged and safe“ (rýchly, jednoduchý, lacný, účinný, robustný a bezpečný), bol v literatúre predstavený prvýkrát Anastassiadesom a spol.⁹⁷ v roku 2003. Aj keď tento prístup je relatívne nový, metóda sa začala rýchlo rozširovať a je dobre akceptovaná analytikmi, o čom svedčí bohatá publikačná aktivita v oblasti modifikácií, štúdií a rozšírenia aplikačných oblastí na rôzne analyty a vzorky. S témou QuEChERS sa už publikovali viaceré všeobecné alebo tématické prehľadové články, napr. González-Curbelo a spol.⁹⁸ spracovali prehľad vývoja a aplikačných oblastí, vrátane analýzy pesticídov, Hercegová a spol.⁹⁹ sa venovali prehľadu analýzy stravy pre dojčatá, Wilkowska a Biziuk¹⁰⁰ publikovali prehľad aplikácií QuEChERS na analýzu potravín.

QuEChERS je založená na extrakcii/distribúcii analytov medzi vzorku a organické rozpúšťadlo, spravidla acetonitril. Acetonitril je s vodou dobre miešateľný, na oddelenie fáz sa používajú soli ako MgSO₄ a NaCl, ktoré podporia vysofovací a sušiaci efekt. Oddelený acetonitrilový extrakt sa následne čistí dSPE. V literatúre sa objavuje viacero postupov, ktoré časť čistenia dSPE nahrádzajú postupom založeným na mikroextrakcii tak, aby sa dosiahol vysoký predkoncentračný faktor, zvýšila sa selektivita čistenia extraktu, prípadne ide o úspornejšie riešenia.

Kombinácia QuEChERS metódy s DLLME na stanovenie reziduí pesticídov sa s výhodou používa na analýzu ovocia^{37,101}, zeleniny^{34,101,102} alebo semiačok s vysokým obsahom tuku³⁶.

4.2. Mikroextrakčné techniky a konvenčné inštrumentálne extrakčné techniky

Z inštrumentálnych techník je najjednoduchšou technikou extrakcia rozpúšťadlom podporená ultrazvukom (Ultrasound Assisted Solvent Extraction, UASE). UASE umožňuje lepší kontakt medzi pevnou fázou a rozpúšťadlom z dôvodu zvýšenia tlaku v oboch fázach (priaznivé ovplyvnenie penetrácie a distribúcie) a zvýšenia teploty, zlepšenie rozpustnosti a difúzie. Kombináciu UASE a DLLME využili Bidari a spol.¹⁰³ na stanovenie 13 OPP v paradajkách, Pirsahaeba a spol.¹⁰⁴ stanovili 4 OPP v letných plodinách. V oboch prípadoch sa použil acetón ako extrakčné činidlo v prvom kroku, ktoré následne slúžilo ako disperzné činidlo v DLLME.

Dynamická extrakcia podporená mikrovlnným žiarením (Dynamic Microwave – Assisted Extraction, DMAE) bola kombinovaná so SDME technikou a aplikovala sa na extrakciu OPP zo vzoriek čaju²⁵. V kombinácii s kontinuálnou prietokovou mikroextrakciou (CFME) sa DMAE aplikovala na stanovenie OPP v zelenine¹⁰⁵. V tejto kombinácii sú extrahované zložky veľmi rýchlo odvádzané z extrakčnej nádoby, čo je veľmi dôležité, aby sa zabránilo degradácii a kontaminácii analytov. Metóda je výhodná hlavne pre tepelne nestále zložky,

pretože sa znižuje riziko ich rozkladu.

4.3. Mikroextrakčné techniky a konvenčné sorpčné techniky

SPE v porovnaní s klasickou LLE poskytuje niekoľko výhod, ako je napr. zníženie spotreby organických rozpúšťadiel, rýchly priebeh a možnosť kombinácie s rôznymi detekčnými metódami buď on-line alebo off-line zapojení. Analytickú metódu využívajúcu kombináciu SPE a DLLME vyvinuli Shamsipur a spol.³⁸ na stanovenie viacerých pesticídov v mlieku, mede a ovocných džúsoch. Výhodou tejto kombinovanej metódy je aj fakt, že rozpúšťadlo použité na elúciu v SPE je ďalej aplikované ako disperzné rozpúšťadlo v DLLME, čím sa znižuje objem použitých organických rozpúšťadiel.

Kombinácia dSPE s DLLME dáva možnosť prvého extrakčného kroku s využitím vhodných sorbentov na selektívnu extrakciu určitej skupiny pesticídov. S výhodou sa kombinácia použila pri stanovení neonikotínoidových insekticídov v obilninách¹⁰⁶.

5. Výhody, obmedzenia a trendy rozvoja mikroextrakčných techník

V posledných rokoch došlo k nárastu záujmu o mikroextrakčné techniky v multireziduálnej analýze pesticídov. Trendy v úprave vzoriek vedú k ďalšej miniaturizácii a automatizácii a k použitiu bezrozpúšťadlových techník, zvyšuje sa záujem o časovo nenáročnejšie techniky a je snaha o zníženie kontaminácie vzoriek počas úpravy. SPME sa považuje za široko akceptovanú techniku, v súčasnej dobe sa sústreďuje na vývoj nových vlákien, ktoré zvyšujú citlivosť tejto techniky³. Pri výrobe nových vlákien sa využívajú IL, MIP, ale aj kovové vlákna. V prípade MEPS je limitácia vo variabilite sorbentov, ale dnešnej dobe sa dostávajú do popredia tiež MIP, materiály s obmedzeným prístupom (RAM), a nanomateriály. Nevýhodou MEPS je závislosť výťažnosti pesticídov od rýchlosti nasávania vzorky. Táto nevýhoda sa dá odstrániť úplnou automatizáciou MEPS. Výhodou MEPS je časová nenáročnosť a používanie malých množstiev sorbentov (1–4 mg). Na elúciu pesticídov postačujú malé objemy extrakčných rozpúšťadiel. SBSE poskytuje podobné detekčné limity ako MEPS, ale časovo je oveľa náročnejšia a automatizácia je komplikovanejšia.

DLLME je jedna z najnovších mikroextrakčných techník, ale aj napriek tomu v posledných rokoch došlo k mnohým vylepšeniam tejto techniky. S cieľom odstrániť nevýhodu tejto techniky, ktorou je používanie toxických chlórovaných rozpúšťadiel, sa začali používať extrakčné rozpúšťadlá s menšou hustotou ako voda, alebo IL. Výhodou je aj možnosť automatizácie DLLME metódy v on-line spojení s inštrumentálnou technikou. SDME poskytuje vysoké predkoncentračné faktory, je jednoduchá a nezaťažuje životné prostredie. Pre vysokú aplikovateľnosť SDME je výhodou veľká variabilita extrakčných roz-

púšťadiel a začali sa používať aj IL, ktoré poskytujú stabilnejšie a väčšie kvapky. Nevýhodou tejto techniky je nízka opakovateľnosť extrakcie, a pri veľkej rýchlosti miešania je kvapka extrakčného rozpúšťadla nestabilná¹⁰⁷.

6. Záver

V ostatných rokoch bolo publikované značné množstvo vedeckých prác zaoberajúcich sa novými mikroextrakčnými technikami na prípravu rôznych typov vzoriek na stanovenie rezíduí pesticídov. Nové techniky majú ambíciu eliminovať nevýhody komerčne zavedených metód a priniesť ekologický rozmer analytickej metóde, ktorý sa prejavuje najmä v znížení objemu alebo optimálne v eliminácii extrakčných činidiel, v znížení tvorby toxických odpadov, v urýchlení metódy, a možnosti automatizácie pri kombinovaní predkoncentračnej a izolačnej techniky s následnou separačnou a detekčnou technikou.

Dlhšie sú v praxi etablované sorpčné mikroextrakčné techniky, ktoré sa postupne vyvíjajú ako formou realizácie, tak aj novými prístupmi k príprave selektívnejšieho a účinnejšieho sorpčného materiálu. Nízka účinnosť SPME sa postupne vylepšila miešadlovou extrakciou, nevýhodou však je veľký čas analýzy. Z klinickej praxe sa postupne s výhodou uvádzajú metódy mikroextrakcie sorbentom naplneným v mikrostriekačke alebo v špičke pipety, významné uplatnenie má najmä pre čistenie extraktov.

Búrlivým rozvojom, čo sa týka metodologickej stránky, prechádzajú mikroextrakčné techniky s využitím kvapaliny na extrakciu. Vyznačujú sa takmer nulovou vstupnou investíciou a vysokou možnosťou automatizácie. Mikroextrakcia jednou kvapkou je použiteľná v „headspace“ verzii najmä pre sledovanie prchavých látok, vo verzii s ponorením kvapky do vzorky prináša možnosť zakoncentrovania pesticídov v primárnom extrakte. Disperzná mikroextrakcia kvapalina-kvapalina je výhodnou najmä tam, kde je potrebný vyšší obohacovací faktor. Významná je publikačná aktivita pri vývoji metód kombinujúcich konvenčné metódy s mikroextrakčnými, ako významné je potrebné predstaviť spojenie metódy QuEChERS a DLLME.

V blízkej budúcnosti sa predpokladá vysoká výskumná aktivita v oblasti vývoja analytických metód využívajúcich mikroextrakcie v oblasti extrakcie a stanovenia rezíduí pesticídov vo vzorkách potravín.

Práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. SK-SRB-2016-0006, Programom na podporu excelentných tímov mladých výskumníkov STU a Programom na podporu mladých vedeckých pracovníkov STU.

LITERATÚRA

1. Qin Y., Chen L., Yang X., Tang Y., Li S., Liu C.: *Chromatographia* 79, 875 (2016).
2. Farajzadeh M. A., Feriduni B., Mogaddam M. R. A.:

- Talanta 146, 772 (2016).
3. Ramos L.: J. Chromatogr. A 1221, 84 (2012).
 4. Farajzadeh M. A., Mogaddam M. R. A.: J. Chromatogr. A 1431, 8 (2016).
 5. Wang Y., Miao X., Wei H., Liu D., Xia G., Yang X.: Food Anal. Methods 9, 2133 (2016).
 6. Mousavi M. M., Nemati M., Nabili A. A. A., Mahmoudpour M., Arefhosseini S.: J. Iran. Chem. Soc. 13, 2211 (2016).
 7. Galuszka A., Migaszewski Z., Namiesnik J.: TrAC, Trends Anal. Chem. 50, 78 (2013).
 8. Beyer A., Buziuk M.: Food Chem. 108, 669 (2008).
 9. Asensio-Ramos M., Ravelo-Pérez L. M., González-Curbelo M. Á., Hernández-Borges J.: J. Chromatogr. A 1218, 7415 (2011).
 10. Sarafraz-Yazdi A., Amiri A.: TrAC, Trends Anal. Chem. 29, 1 (2010).
 11. Andraščíková M., Matisová E., Hrouzková S.: Sep. Purif. Methods 44, 1 (2015).
 12. Spietelun A., Marcinkowski Ł., de la Guardia M., Namieśnik J.: Talanta 119, 34 (2014).
 13. Lawal A., Tan G. H., Alsharif A. M. A.: J. AOAC Int. 99, 1383 (2016).
 14. Kokosa J. M., v kniže: *Comprehensive Analytical Chemistry*, (Ibanez E., Cifuentes A., ed.) zv. I., in press, Elsevier, Amsterdam 2017.
 15. Yilmaz E., Soylak M.: Turk. J. Chem. 40, 868 (2016).
 16. Alexovič M., Horstkotte B., Solich P., Sabo J.: Anal. Chim. Acta 906, 22 (2016).
 17. Tan G. H., Chai M.-K., v kniže: *Strategies for pesticides analysis*, (Stoycheva M., ed.), zv. I., InTech Croatia, Rijeka 2011.
 18. Jeannot M. A., Przyjazny A., Kokosa J. M.: J. Chromatogr. A 1217, 2326 (2010).
 19. Kokosa J. M.: TrAC, Trends Anal. Chem. 71, 194 (2015).
 20. Liu D., Min S.: J. Chromatogr. A 1235, 166 (2012).
 21. Farajzadeh M. A., Djozan D., Khorram P.: Talanta 85, 1135 (2011).
 22. Garbi A., Sakkas V., Fiamegos Y. C., Stalikas C. D., Albanis T.: Talanta 82, 1286 (2010).
 23. Amvrazi E. G., Tsiropoulos N. G.: J. Chromatogr. A 1216, 2789 (2009).
 24. Pereira J. A., de Andrade J. B.: Microchem. J. 112, 119 (2014).
 25. Wu L., Hu M., Li Z., Song Y., Zhang H., Yu A., Wang Z.: J. Chromatogr. A 1407, 42 (2015).
 26. Rezaee M., Assadi Y., Milani Hosseini M. R., Aghaee E., Ahmadi F., Berijani S.: J. Chromatogr. A 1116, 1 (2006).
 27. Ahmad W., Al-Sibaai A. A., Bashammakh A. S., Alwael H., El-Shahawi M. S.: TrAC, Trends Anal. Chem. 72, 181 (2015).
 28. Rezaee M., Yamini Y., Faraji M.: J. Chromatogr. A 1217, 2342 (2010).
 29. Fu L., Liu X., Hu J., Zhao X., Wang H., Wang X.: Anal. Chim. Acta 632, 289 (2009).
 30. Rodríguez-Cabo T., Rodríguez I., Ramil M., Cela R.: J. Chromatogr. A 1218, 6603 (2011).
 31. Chen B., Wu F. Q., Wu W. D., Jin B. H., Xie L. Q., Feng W., Ouyang G.: Microchem. J. 126, 415 (2016).
 32. Zacharis C. K., Rotsias I., Zachariadis P. G., Zotos A.: Food Chem. 134, 1665 (2012).
 33. Farajzadeh M. A., Khoshmaram L.: Food Chem. 141, 1881 (2013).
 34. Hrouzková S., Brišová M., Szarka A.: J. Chromatogr. A 1506, 18 (2017).
 35. Cunha S. C., Fernandes J. O.: J. Chromatogr. A 1218, 7748 (2011).
 36. Andraščíková M., Hrouzková S.: Food Anal. Methods 9, 2182 (2016).
 37. Andraščíková M., Hrouzková S., Cunha S. C.: Food Addit. Contam., Part A 30, 286 (2013).
 38. Shamsipur M., Yazdanfar N., Ghambarian M.: Food Chem. 204, 289 (2016).
 39. Farajzadeh M. A., Khoshmaram L., Alizadeh Nabil A. A.: J. Food Compos. Anal. 34, 128 (2014).
 40. Farajzadeh M. A., Khorram P., Alizadeh Nabil A. A.: J. Food Compos. Anal. 43, 96 (2015).
 41. Pedersen-Bjergaard S., Rasmussen K. E.: Anal. Chem. 71, 2650 (1999).
 42. Farajzadeh M. A., Sorouraddin S. M., Mogaddam M. R. A.: Microchim. Acta 181, 829 (2014).
 43. González-Curbelo M. Á., Hernández-Borges J., Borges-Miquel T. M., Rodríguez-Delgado M. Á.: J. Chromatogr. A 1313, 166 (2013).
 44. Ma X., Wang J., Wu Q., Wang C., Wang Z.: Food Chem. 157, 119 (2014).
 45. Arvand M., Bozorgzadeh E., Shariati S.: J. Food Compos. Anal. 31, 275 (2013).
 46. Wang J., Du Z., Yu W., Qu S.: J. Chromatogr. A 1247, 10 (2012).
 47. Xiong J., Hu B.: J. Chromatogr. A 1193, 7 (2008).
 48. Barahona F., Gjelstad A., Pedersen-Bjergaard S., Rasmussen K. E.: J. Chromatogr. A 1217, 1989 (2010).
 49. Bedendo G. C., Carasek E.: J. Chromatogr. A 1217, 7 (2010).
 50. Sun X., Zhu F., Xi J., Lu T., Liu H., Tong Y., Ouyang G.: Mar. Pollut. Bull. 63, 102 (2011).
 51. Bolaños P. P., Romero-González R., Frenich A. G., Vidal J. L. M.: J. Chromatogr. A 1208, 16 (2008).
 52. Ma X., Wang J., Wu Q., Wang C., Wang Z.: Food Chem. 157, 119 (2014).
 53. Cai J. A., Chen G., Qiu J., Jiang R., Zeng F., Zhu F., Ouyang G.: Talanta 146, 375 (2016).
 54. Sorouraddin S. M., Mogaddam M. R. A.: J. Iran. Chem. Soc. 13, 1093 (2016).
 55. Arthur C., Pawliszyn J.: Anal. Chem. 62, 2145 (1990).
 56. Kataoka H.: Anal. Bioanal. Chem. 396, 339 (2010).
 57. Pereira V. L., Fernandes J. O., Cunha S. C.: Trends Food Sci. Technol. 36, 96 (2014).
 58. Kataoka H., Ishizaki A., Nonaka Y., Saito K.: Anal.

- Chim. Acta 655, 8 (2009).
59. Andraščíková M., Hrouzková S.: Acta Chim. Slov. 8, 178 (2015).
 60. Risticvevic S., Niri V. H., Vuckovic D., Pawliszyn J.: Bioanal. Chem. 393, 781 (2009).
 61. Souza-Silva É. A., Gionfriddo E., Pawliszyn J.: TrAC, Trends Anal. Chem. 71, 236 (2015).
 62. Luo Y. B., Yuan B. F., Yu, Q. W., Feng Y. Q.: J. Chromatogr. A 1268, 9 (2012).
 63. Ravelo-Pérez L. M., Hernandez-Borges J., Rodriguez-Delgado M. A.: J. Chromatogr. A 1211, 33 (2008).
 64. del Castillo M. L. R., Rodriguez-Valenciano M., de la Peña Moreno F., Blanch G. P.: Talanta 89, 77 (2012).
 65. Melo A., Aguiar A., Mansilha C., Pinho O., Ferreira I. M. P. L. V. O.: Food Chem. 130, 1090 (2012).
 66. Sapahin H. A., Makahleh A., Saad B.: Arab. J. Chem. 2015, 1.
 67. Kumar A., Gaurav, Malik A. K., Tewary D. K., Singh B.: Anal. Chim. Acta 610, 1 (2008).
 68. Ai Y., Zhang J., Zhao F., Zeng B.: J. Chromatogr. A 1407, 52 (2015).
 69. Zali S., Jalali F., Es-haghib A., Shamsipura M.: J. Chromatogr. B 1002, 387 (2015).
 70. Wang Y. L., Gao Y. L., Wang P. P., Shang H., Pan S. Y., Li X. J.: Talanta 115, 920 (2013).
 71. Li J. W., Wang Y. L., Yan S., Li X. J., Pan S. Y.: Food Chem. 192, 260 (2016).
 72. Song X. Y., Shi Y. P., Chen J.: Food Chem. 139, 246 (2013).
 73. Fontanals N., Borrull F., Marcé R. M.: TrAC, Trends Anal. Chem. 41, 15 (2012).
 74. Vidal L., Riekkola M. L., Canals A.: Anal. Chim. Acta 715, 19 (2012).
 75. Zhang Y., Wang X., Lin C., Fang G., Wang S.: Chromatographia 75, 789 (2012).
 76. Tian M., Cheng R., Ye J., Liu X., Jia Q.: Food Chem. 145, 28 (2014).
 77. Baltussen E., David F., Sandra P., Janssen H. G., Cramers C.: J. Microcolumn Sep. 11, 471 (1999).
 78. Picó Y., Fernandez M., Ruiz M. J., Font G.: J. Biochem. Biophys. Methods 70, 117 (2007).
 79. He M., Chen B., Hu B.: Anal. Bioanal. Chem. 406, 2001 (2014).
 80. Prieto A., Basauri O., Rodil R., Usobiaga A., Fernandez L. A., Etxebarria N., Zuloaga O.: J. Chromatogr. A 1217, 2642 (2010).
 81. Nogueira J. M. F.: TrAC, Trends Anal. Chem. 71, 214 (2015).
 82. Kawaguchi M., Takatsu A., Ito R., Nakazawa H.: TrAC, Trends Anal. Chem. 45, 280 (2013).
 83. David F., v knihe: *Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*, (Reedijk J., ed.) zv. IV., kap. 4.21, Elsevier, Astedrdam 2015.
 84. Camino-Sánchez F. J., Rodríguez-Gómez R., Zafra-Gómez A., Santos-Fandila A., Vilchez J. L.: Talanta 130, 388 (2014).
 85. Liu W., Hu Y., Zhao J., Xu Y., Guan Y.: J. Chromatogr. A 1095, 1 (2005).
 86. Gilart N., Marcé R. M., Borrull F., Fontanals N.: TrAC, Trends Anal. Chem. 54, 11 (2014).
 87. Ochiai N., Sasamoto K., David F., Sandra P.: J. Chromatogr. A 1455, 45 (2016).
 88. Abdel-Rehim M., Altun Z., Blomberg L.: J. Mass Spectrom. 39, 1488 (2004).
 89. Abdel-Rehim M.: Anal. Chim. Acta 701, 119 (2011).
 90. Moein M. M., Abdel-Rehim A., Abdel-Rehim M.: TrAC, Trends Anal. Chem. 67, 34 (2015).
 91. Páleníková A., Hrouzková S.: Monatsh. Chem. 145, 537 (2014).
 92. Abdel-Rehim M.: J. Chromatogr. A 1217, 2569 (2010).
 93. Salami F. H., Queiroz M. E. C.: J. Chromatogr. Sci. 51, 899 (2012).
 94. Bagheri H., Yamini Y., Safari M., Asiabi H., Karimi M., Heydari A.: J. Supercrit. Fluids 107, 571 (2016).
 95. Fumes B. H., Andrade F. N., dos Santos Neto Á. J., Lanças M.: J. Sep. Sci. 39, 2823 (2016).
 96. Di Ottavio F., Della Pelle F., Montesano C., Scarponne R., Escarpa A., Compagnone D., Sergi M.: Food Anal. Methods 10, 1699 (2017).
 97. Anastassiades M., Lehotay S. J., Štajnbaher D., Schenck F. J.: J. AOAC Int. 86, 412 (2003).
 98. González-Curbelo M. Á., Socas-Rodríguez B., Herrera-Herrera A. V., González-Sálamo J., Hernández-Borges J., Rodríguez-Delgado M. Á.: TrAC, Trends Anal. Chem. 71, 169 (2015).
 99. Hercegová A., Dömötöróvá M., Matisová E.: J. Chromatogr. A 1153, 54 (2007).
 100. Wilkowska A., Biziuk M.: Food Chem. 125, 803 (2011).
 101. Zhao E., Zhao W., Han L., Jiang S., Zhou Z.: J. Chromatogr. A 1175, 137 (2007).
 102. Melo A., Mansilha C., Pinho O., Ferreira I. M. P. L. V. O.: Food Anal. Methods 6, 559 (2013).
 103. Bidari A., Ganjali M. R., Norouzi P., Hosseini M. R. M., Assadi Y.: Food Chem. 126, 1840 (2011).
 104. Pirsabeha M., Fattahib N., Shamsipur M.: Food Control. 34, 378 (2013).
 105. Wu L., Hu M., Li Z., Song Y., Yu C., Zhang H., Wang Z.: Food Chem. 192, 596 (2016).
 106. Wang P., Yang X., Wang J., Cui J., Dong A. J., Zhao H. T., Zhang L. W., Wang Z. Y., Xu R. B., Li W. J., Zhang Y. C., Zhang H., Jing J.: Food Chem. 134, 1691 (2012).
 107. Hrouzková S., Páleníková A., v knihe: *Endocrine Disrupting Chemicals: Occurrence, Exposures and Health Risks*. (Johnston S., ed), zv. I., kap. 1., Nova Science Publishers, New York 2016.

S. Hrouzková, A. Szarka, and S. Zichová (*Institute of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology in Bratislava*): **Advances and Utilization of Microextraction Techniques for Analysis of Pesticide Residues in Food**

The paper deals with the progress and applicability of microextraction methods in pesticide residues analysis. The major common objectives of new microextraction techniques are to isolate the analyte of interest from the sample, to remove potential interferences from the sample

matrix, and, if necessary, to increase the concentration of the target compounds at a level detectable by the subsequent analytical instrumentation, with the special focus on avoiding any toxic solvent or using it at low volumes only, simplicity, ease of operation, and the ecological aspect of the method. The techniques are classified according to the main extraction principle to the liquid phase microextractions and those based on the sorption principle. Combinations of conventional and microextraction techniques are evaluated.