

## POLYMERNÍ NANOVLÁKNA A MIKROVLÁKNA: NOVÝ FORMÁT MATERIÁLŮ POUŽÍVANÝCH V CHROMATOGRAFII PRO PŘÍPRAVU VZORKŮ EXTRAKCÍ TUHOU FÁZÍ

Věnováno nano týmem ke 100. výročí založení Katedry analytické chemie na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze a profesorovi Jiřímu Barkovi z této katedry u příležitosti jeho 75. narozenin.

FRANTIŠEK ŠVEC<sup>a</sup>, PETR CHOCHOLOUŠ<sup>a</sup>, LUCIE CHOCHOLOUŠOVÁ HAVLÍKOVÁ<sup>a</sup>, JIŘÍ CHVOJKA<sup>b</sup>, JAKUB ERBEN<sup>b</sup>, MARTINA HÁKOVÁ<sup>a</sup>, ANETA KHOLOVÁ<sup>a</sup>, IVONA KOLICHOVÁ<sup>a</sup>, LENKA MARTINOVÁ<sup>b</sup>, HEDVIKA RAABOVÁ<sup>a</sup> a DALIBOR ŠATÍNSKÝ<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Katedra analytické chemie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova, Akademičtí Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, Česká republika, <sup>b</sup> Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů, Fakulta textilní, Technická univerzita Liberec, Studentská 1402/2, 46001 Liberec, Česká republika  
svecfr@faf.cuni.cz

Došlo 22.10.24, přijato 30.10.24.

K tradiční přípravě vzorků metodou extrakce tuhou fází před HPLC separací se hojně používají plastové či kovové předkolonky naplněné částicemi sorbentu nebo v poslední době též monolitické kolonky. Daleko méně se dosud pro tento účel používají sorbenty ve formě vláken. Tento článek si klade za cíl seznámit čtenáře s možnostmi, jaké nabízejí vláknité sorbenty v oblasti analytické chemie. Popsány jsou metody výroby nanovláken a mikrovláken s použitím technologií elektrického zvlákňování (elektrospinning), zvlákňování z taveniny (meltblown) a jejich společnou kombinací. Ty jsou uvedeny i krátkým pohledem na historii jejich vývoje. Vyjmenovány jsou i příklady polymerů, z nichž jsou vlákna připravována, a jejich charakteristiky, které musí být vzaty do úvahy při výběru polymeru pro extrakci požadovaných analytů. Závěrem jsou popsány některé příklady extrakcí látek zveřejněné v našich publikacích se zvláštním zaměřením na vzorky, jež mají komplexní charakter, jako jsou ty ze životního prostředí či vzorky biologické.

**Klíčová slova:** kapalinová chromatografie, příprava vzorků, polymery, nanovlákná, mikrovlákná

### Obsah

1. Úvod
2. Příprava vzorků
3. Extrakce tuhou fází
4. Nanovláknenné a mikrovláknenné sorbenty a jejich příprava
  - 4.1. Elektrické zvlákňování
  - 4.2. Zvlákňování z taveniny
  - 4.3. Kombinace technologií elektrického zvlákňování a zvlákňování z taveniny
5. Extrakce vzorků vláknou před HPLC analýzou
  - 5.1. Extrakce insekticidů z vody a půdy
  - 5.2. Extrakce nízkomolekulárních látek z komplexních vzorků
6. Závěry

### 1. Úvod

Chromatografie patří mezi nejpoužívanější analytické metody hned za konduktometrickou kontrolou kvality deionizované vody prakticky v každé analytické laboratoři a za potenciometrickým měřením pH. Bez ohledu na tento údaj, chromatografie se od jejího vynálezu na začátku minulého století stala bezesporu nejrozšířenější separační technikou. Nalezneme ji v chemických laboratořích, kde se používá k analýze, izolaci a purifikaci, ale běžně se aplikuje i v průmyslu, např. při výrobě léčiv. Pokud jde o měřítka, v prvním případě se při analýze dělí a identifikují nepatrná množství látek, zatímco v druhém, tedy v preparativní chromatografii, to mohou být i kilogramy materiálu za hodinu, které se zpracovávají na konečné produkty. Právě všestrannost chromatografie v jejích mnoha podobách, spolu s její relativní jednoduchostí v moderním přístrojovém vybavení, v němž se jednotlivé chromatografické metody realizují, stojí za jejím všudypřítomným postavením v oblastech separací široké škály látek.

Soustředíme-li se na laboratorní měřítka kapalinově chromatografických separací, pak lze oddělit čistě akademické výzkumy od aplikací používaných v reálném světě. Do první skupiny patří dělení složek vzorků připravených rozpuštěním čistých látek v definované koncentraci, z nichž každá je dobře známá. Takový „čistý“ vzorek pak lze bez obtíží mnohokrát přímo nadávkovat do chromatografické kolony, aniž by hrozilo nebezpečí jejího fyzikálního nebo chemického znehodnocení. Jiná situace však nastane, je-li třeba rozdělit a kvantifikovat složky reálných směsí ve vzorcích získaných např. ze životního prostředí, potravin, z pevných tkání či z biologických tekutin, jako jsou krevní plazma, sliny a moč. Tyto vzorky kromě látek, které se mají stanovit, mnohdy obsahují značné množství dalších součástí, které významně zvyšují složitost matrice vzorku. Obsah těchto interferentů většinou značně převyšuje nízké koncentrace hledaných analytů i schopnost chromatografického zařízení je spolehlivě rozdělit a stanovit. Takové vzorky je tedy třeba před vlastní chromatografickou analýzou upravit vhodnou extrakční technikou.

## 2. Příprava vzorků

Příprava vzorků bývá většinou tím složitějším a časově náročnějším krokem v chromatografické analýze a její nevhodné provedení může vnést do konečného výsledku značné množství chyb. Vhodná metoda úpravy by měla zaručit kvantitativní získání hledaného analytu či analytů z původní matrice komplexního vzorku, zahrnovat co nejmenší počet operací, pokud možno umožnit automatizaci a eliminovat tak případné lidské chyby při manuálních operacích, umožnit rychlé zpracovávání velkého počtu vzorků, a v neposlední řadě být i v souladu s principy zelené analytické chemie. Kvantitativní a reprodukovatelné získávání (extrakce) cílových analytů ze vzorku pak zvyšuje celkovou citlivost, přesnost a selektivitu metodiky.

Je zřejmé, že volba vhodné metody přípravy vzorku závisí na jeho typu a povaze extrahovaných analytů. Extrakce léčiva z malého množství vzorku tkáně či lidského séra bude zcela odlišná od extrakce kontaminantů z říční vody, která je k dispozici v téměř neomezeném objemu. Mezi běžnější metody přípravy vzorků patří extrakce tuhou fází (Solid Phase Extraction, SPE), extrakce kapalina-kapalina (Liquid-Liquid Extraction, LLE), ředění, výměna rozpouštědla, filtrace, precipitace, dialýza a mnohé další. Detaily lze nalézt v četných monografiích a přehledných člancích (např. v cit.<sup>1–3</sup>). Vzhledem k omezenému rozsahu tohoto článku je naším cílem zaměřit se pouze na jednu z nich, a to konkrétně SPE.

## 3. Extrakce tuhou fází

Tato metoda do jisté míry kopíruje svým fyzikálně-chemickým principem samotnou kapalinovou chromatografii. Roztok vzorku protéká přes lože tuhé, obvykle porézní stacionární fáze, jejíž adsorpční selektivita je přizpů-

sobená typu látky/látek, které se mají zachytit. Tuhá fáze je většinou umístěna ve schránce, kterou může být kolona či koloně tvarem podobná trubice, speciálně vyrobený kontejner, nebo též plastická špička do pipety a další. Výhodou SPE proti LLE je kompletnější extrakce analytu a efektivnější odstranění interferencí, menší spotřeba organických rozpouštědel, což je zejména důležité v souvislosti se současným trendem „ozeleňování“ analytických metod, snazší uvolnění zachycených analytů, prostší manuální manipulace a jednodušší přechod k automatizaci<sup>4</sup>. Při výběru způsobu provedení této metody se může přihlídnout i k otázce, zda je výhodnější separovat hledanou látku jejím zadržením na SPE kolonce a kontaminanty nechat volně protéct do odpadu, či naopak zachytit nežádoucí komponenty a jímat protékající roztok obsahující hledanou látku. První přístup je běžnější, neboť obsah cílových analytů je obvykle významně menší než těch, které jsou nežádoucí. Alternativně lze volný sorbent prostě do vzorku ponořit a po uplynutí doby sorpce ho ze vzorku vyjmout, např. mechanicky, filtrace nebo magnetem, je-li sorbent magnetický. V tomto případě je třeba počítat s rovnováhou distribuce látek mezi oběma fázemi podobně jako u LLE.

Typické formáty SPE sorbentů zahrnují většinou porézní částice, ať již pravidelné sférické či nepravidelné různých velikostí od mikrometrů po milimetry, monolity a vlákna<sup>5</sup>. Materiály, z nichž jsou připravovány, jsou jak anorganického původu, jako je silika a její modifikované deriváty, tak původu organického, zahrnující přírodní a syntetické polymery. To znamená, že výběr sorbentů je prakticky neomezený. Je zřejmé, že pro jeden typ SPE většinou existuje celá řada sorbentů a výběr záleží jenom na jejich dostupnosti, selektivitě pro analyty, o něž je zájem a sorpční kapacitě. Formát a objem kontejneru, v němž má být sorbent obsažen, hraje nepochybně rovněž důležitou roli, zejména při provedení v off-line, či on-line módu přímo v analytické instrumentaci.

## 4. Nanovláknenné a mikrovláknenné sorbenty a jejich příprava

Příprava nanovláken a mikrovláken je již poměrně dobře propracovaná a zahrnuje techniky, mezi něž patří samsouspořádání (self-assembly), příprava s použitím templátu (template-based preparation), separace fází, odstředivé zvlákňování (force spinning), zvlákňování z taveniny (meltblown) a elektrické zvlákňování (elektrospinning). Kombinace některých metod, např. elektrického zvlákňování a zvlákňování z taveniny pak dává možnost připravit vlákna se synergickou kombinací vlastností obou materiálů neboli tzv. kompozitní vlákna.

Zejména polymerní nanovláknna a mikrovláknna jsou dnes široce používána v mnoha oborech včetně tkáňového inženýrství, přípravě lékových forem, obvazových materiálů, v čidlech, filtračních zařízeních, jako samočisticí povrchy, v biotechnologiích a strojírenství, jakož i v „zelené“ chemii<sup>6</sup>. Jsou to především unikátní vlastnosti v podobě vysokého

měrného povrchu a velmi malých průměrů jednotlivých pórů v kombinaci s vysokou mírou celkové porozity, široké škály využitelných materiálů pro jejich přípravu a snadné funkcionalizace, které propůjčují těmto vláknům uživatelskou atraktivitu. Není tedy divu, že své uplatnění našla i v analytické chemii, a to speciálně jako sorbenty pro přípravu vzorků cestou extrakce tuhou fází, o níž pojednává tento článek.

#### 4.1. Elektrické zvlákňování

Díky svým atraktivním vlastnostem spojeným s možností získání dlouhých vláken o průměru od nanometrů do mikrometru, schopnosti vyrábět nanovlákná a snadné manipulaci se složením a vlastnostmi vytvořených vláken, je elektrické zvlákňování v současnosti častým předmětem výzkumu i produkce pokročilých materiálů na bázi vláken. Elektrické zvlákňování je v současnosti oblíbeným nástrojem ve výzkumu i průmyslové produkci pokročilých materiálů na bázi vláken s průměry v řádu desítek až stovek nanometrů, jehož princip umožňuje snadnou manipulaci s jejich složením a koncovými vlastnostmi. Ve srovnání s ostatními metodami výroby nanovláken uvedenými výše je elektrické zvlákňování považováno za škálovatelnou, nákladově efektivní a snadno automatizovanou metodu s nízkými nároky na pracovní sílu.

Jinými slovy, získat nanovlákná je relativně snadné a cenově velmi přístupné. Proto se v posledních letech elektrické zvlákňování začalo významně prosazovat a je jednoznačně nejrozšířenější technologií výroby nanovláken<sup>6</sup>.

Jakkoliv se to může zdát nepravděpodobným, první zmínku o něčem, co dnes připomíná elektrické zvlákňování, lze nalézt v Gilbertově práci napsané v latině na počátku sedmáctého století (obr. 1). Gilbert byl osobním lékařem královny Alžběty I. Ve své práci popsal elektrickou přitažlivost kapaliny pozorovanou jako pohyb drobných vodních kapiček ve formě kužele z kapky vody směrem k jantaru s povrchovým nábojem<sup>7</sup>. Tento jev byl o 300 let později detailně prostudován Taylorem a stal se významným milníkem na cestě k matematickému popisu tvaru kužele vytvářeného kapičkami kapaliny vlivem elektrického pole<sup>8</sup>. Tento tvar je nyní po něm nazýván Taylorovým kuželem a stal se základem pro popis elektrického zvlákňování.

První patent na skutečnou přípravu vláken pomocí elektrického zvlákňování získal v roce 1900 ve Velké Británii Cooley, který navrhnul čtyři typy nabitých spřádacích hlav<sup>9</sup>. Svůj proces demonstroval na zvláknění nitrocelulosity rozpuštěné v diethyletheru. Prakticky ve stejné době podal Morton patentovou přihlášku ve Spojených státech amerických, v níž použil podobný roztok nitrocelulosity ve směsi diethylether-ethanol<sup>10</sup>. Skutečného rozmachu



Obr. 1. Portrét Williama Gilberta a titulní stránka jeho traktátu „O magnetu a magnetických tělesech a také o tom, že země je velký magnet“ (upraveno z cit.<sup>7</sup>)

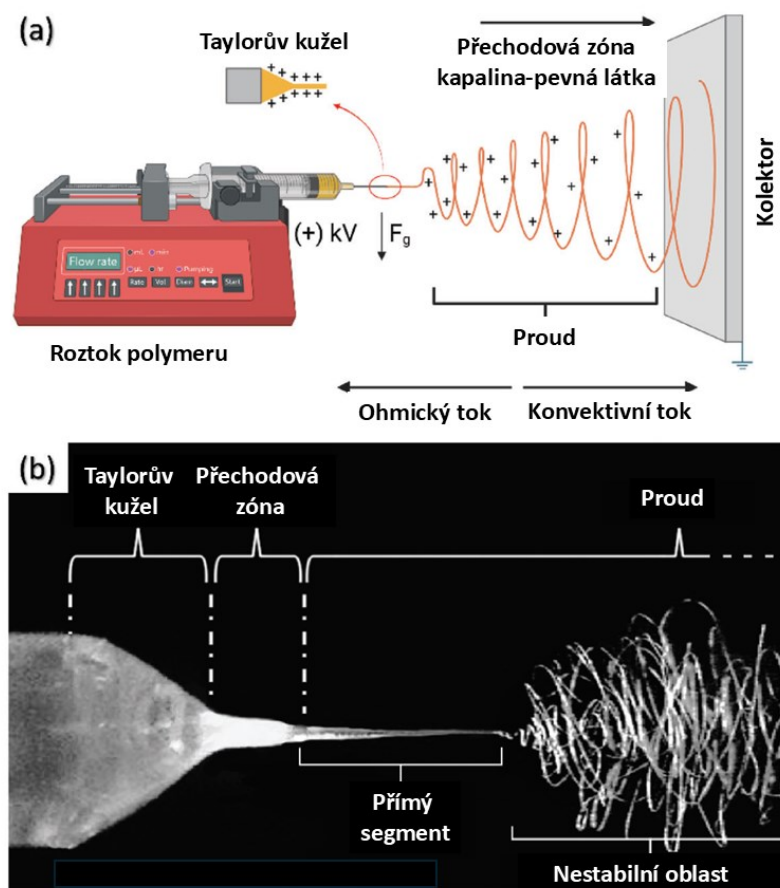


dozvalo elektrické zvlákňování teprve na počátku tohoto století, o čemž svědčí exponenciální nárůst počtu publikovaných prací v této oblasti<sup>6</sup>. Mnohé studie se týkají parametrů elektrického zvlákňování, jakož i toho, jak lze zpracovávat různé roztoky polymerů do formy vláken. Bouřlivý je i vývoj nových zařízení pro elektrické zvlákňování, včetně koaxiálních, odstředivých, korónových, bublinkových, vysokorychlostních či třidimenzionálních. Je třeba připomenout, že na tomto rozmachu se nemalou měrou podílela i Česká republika. Jirsák se spolupracovníky na Technické univerzitě v Liberci (TUL) vynalezli proces zvlákňování z volné hladiny roztoku polymeru, který umožnil vznik celosvětově první technologie umožňující průmyslovou produkci<sup>11</sup>. Tuto technologii na výrobu nanovláknenné vrstvy, která se stala celosvětovým hitem, pak komercializovala firma Elmarco. Detailní popis výzkumu a technologie výroby nanovláknenných materiálů podává nedávná česká monografie<sup>12</sup>.

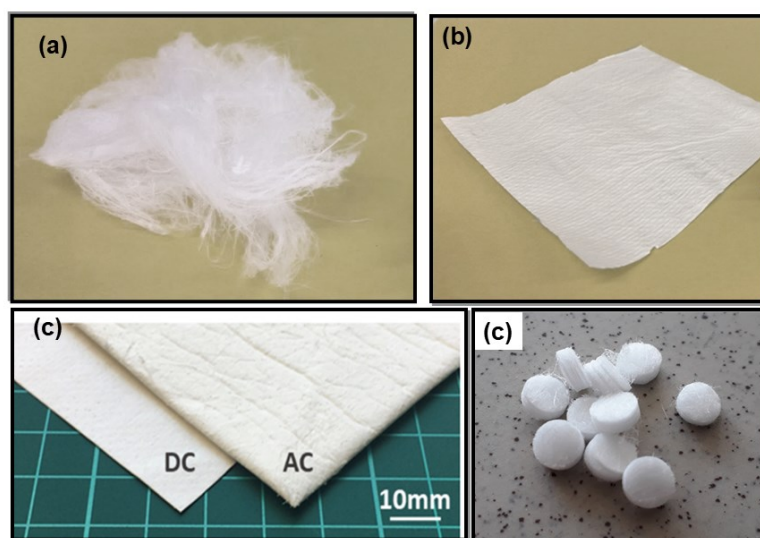
Elektrické zvlákňování využívá pro výrobu nanovláken ve většině případů roztokový prekurzor složený z polymeru rozpuštěného v organickém rozpouštědle nebo směsi rozpouštědel. Samotný princip je založen na půso-

bení silného elektrodynamického pole na polymerní roztok, kde je v polymeru indukován náboj a v rozpouštědle dochází k odpuzování náboje. Tuto nestabilitu představují rostoucí stacionární kapilární vlny s formujícími se Taylorovými kužely přecházející do polymerního roztoku v tryskách, které se štěpí za intenzivního odpařování rozpouštědla. Zformované proudy roztoku se pohybují od elektricky aktivní zvlákňovací trysky (spinnerety) směrem k elektricky nabitému kolektoru, kde jsou jako nanovláknena náhodně ukládána do podoby netkané textilie.

Schéma přípravy nanovláken je ukázáno na obr. 2. Vlákenné vrstvy se dají připravovat s použitím jak stejnosměrného (DC), tak i střídavého (AC) napětí. Obě varianty umožňují tvorbu kompaktních vláknenných vrstev plošného charakteru, z kterých lze vykrajovat disky. Avšak střídavé napětí umožňuje navíc tvorbu objemnějších struktur ve formě ne nepodobné běžné vatě (obr. 3). Obojí je pak možné plnit do kolonek určených pro SPE. Plnění prostými vlákny je snadné, vyžaduje ale jistou zkušenost v odhadu, jaké množství vláken se musí do kolonky vtlačit, aby nevykazovala vysoký odpor k toku proudící kapaliny. Použití disků tento problém eliminuje, leč je třeba



Obr. 2. Znázornění elektrického zvlákňování. (a) Schéma principu a (b) fotografie zobrazující tvorbu Taylorova kužele, lineárního segmentu proudy polymerního roztoku, následovaného nestabilní oblastí proudy (upraveno z cit.<sup>6</sup>)



Obr. 3. Fotografie (a) volných vláken a (b) vlákenné vrstvy připravené elektrickým zvlákňováním s použitím stejnosměrného napětí. (c) Porovnání vrstev připravených s použitím stejnosměrného (DC) a střídavého (AC) napětí a (d) fotografie disků vykrojených z vlákenné vrstvy

správně zvolit jejich průměr, aby nedocházelo k obtoku zpracovávaného vzorku podél stěn. Disky lze také použít přímo ponořením do vzorku a jeho mícháním urychlit vlastní extrakci. Při použití střídavého (AC) napětí lze snadno získat silnější vrstvy (rovněž ukázané na obr. 3) vhodné pro produkci vlákenných disků. Diskový formát je vhodnější pro extrakci po ponoření do větších objemů vzorku nebo pro jejich filtraci pomocí odstředivé síly či vakua.

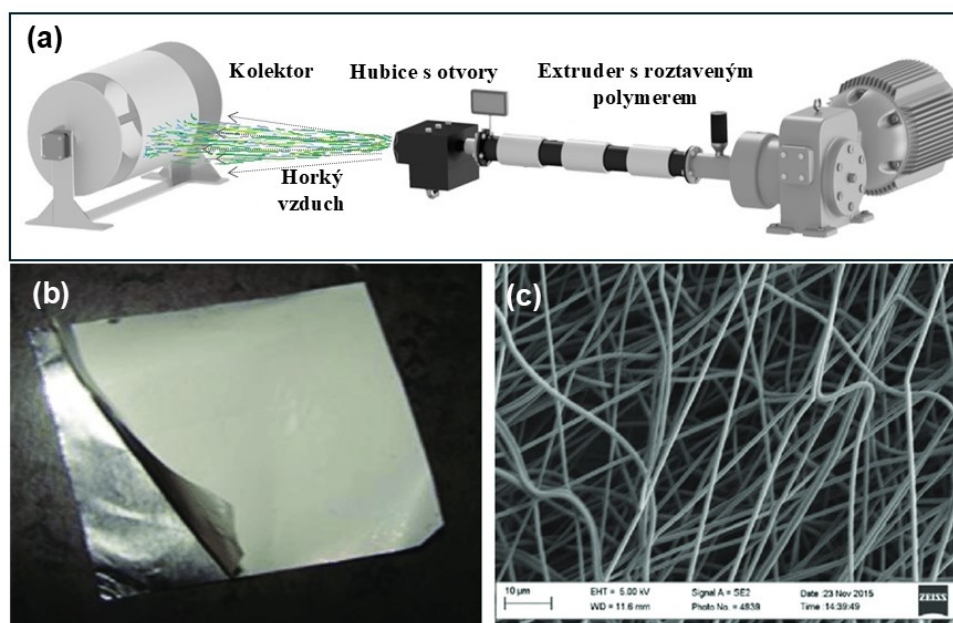
#### 4.2. Zvlákňování z taveniny

Historie technologie zvlákňování rozfukováním z taveniny, též zvané meltblown, je daleko kratší než historie elektrického zvlákňování, o němž bylo pojednáno výše. Wentz z Naval Research Laboratories ve Washingtonu, D.C. vyvíjel na počátku padesátých let minulého století vlákenné materiály předurčené k zachycování radioaktivních částic ve vrchních vrstvách atmosféry za účelem monitorování testů jaderných zbraní. Svůj postup Wentz zveřejnil v běžně dostupném časopise v roce 1956 (cit.<sup>13</sup>). Spočíval v tom, že protlačoval roztavený polymer řadou jemných trysek mezi dva proudy ohřátého vzduchu. V chladném okolním vzduchu pak jemná vlákna ztuhla a vytvářela vlákenné rouno, které mělo významný objem mezivlákněného prostoru. K účelu, pro něj Wentz vlákna vyvíjel, však nikdy použita nebyla.

Na přelomu šedesátých a sedmdesátých let minulého století se společnost Exxon Research pokoušela využít svůj nově komercializovaný polypropylen k výrobě syntetického papíru. Jeho pracovníci se dozvěděli o Wentzově

pracích, a ty pak posloužily jako výchozí bod pro několikaletý projekt v hodnotě několika milionů dolarů. Exxon také zavedl název nového procesu „Melt Blowing Process“. Nicméně, celý projekt vyvrcholil návrhem firmy tuto technologii nekomercializovat, ale raději licencovat. Avšak přidružená společnost firmy Exxon v Japonsku si ponechala právo komercializovat tuto technologii, což také učinila, a začala úspěšně vyrábět a uvádět na trh produkty „Tapyrus melt blown“. Tak se Exxon stal první společností, která začala tuto technologii používat. Původní Wentzova velmi praktický jednostupňový proces vedl k výrobě mnoha jedinečných produktů.

Technologie zvlákňování z taveniny zahrnuje proces, při kterém je nejčastěji termoplastický polymer ve formě taveniny vytlačován extrudérem přes lineární trysku, obsahující obvykle několik tisíc zvlákňovacích otvorů kruhového průřezu. Konvergentní proudy horkého vzduchu vystupující z horní a dolní části čela zvlákňovací trysky rapidně zeslabí a zformují vytlačovaný proud polymerní taveniny na jemná vlákna, typicky o průměru 1–7  $\mu\text{m}$ . Takto formovaná vlákna jsou následně proudem chladnoucího vzduchu ukládána na dopravníkový kolektor, čímž je formován pás netkané textilie z náhodně orientovaných vláken, která nejsou ve většině případů dále dodatečně propojena<sup>14</sup>. Schéma procesu a snímky výsledné struktury jsou na obr. 4. Takovýto materiál, který je průmyslově vyráběn i v České republice (PFNonwovens, Znojmo), nachází mnohá použití. Nejčastěji jsou to filtry k odstranění velmi jemných částic ze vzduchu, odstraňování ropných havárií, ale i tepelná izolace. Uplatnění nacházejí i v medicíně či v oblasti sorpce včetně SPE.



Obr. 4. Znázornění zvlákňovací technologií zvlákňování z taveniny. (a) Schéma principu, (b) fotografie vrstvy polymerních vláken a (c) skenovací elektronová mikrofotografie vláken

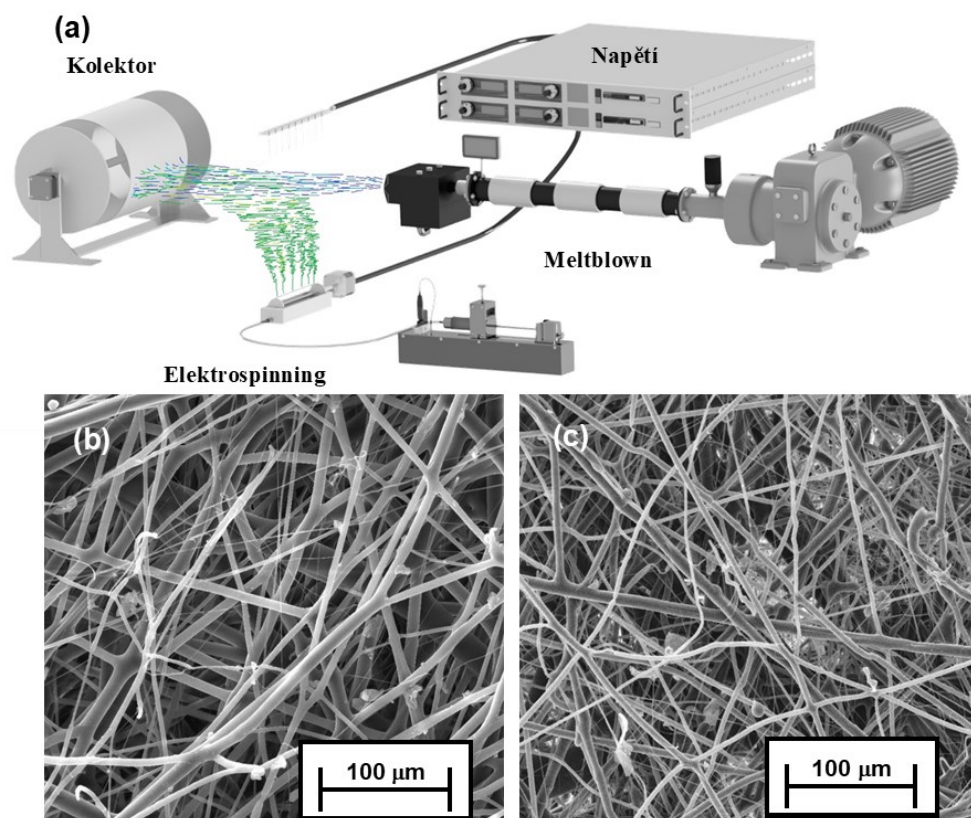
#### 4.3. Kombinace technologií elektrického zvlákňování a zvlákňování z taveniny

Zatímco velmi jemná nanovlákná produkovaná první technologií jsou charakterizována relativně velkým povrchem vztaženým na jednotku hmotnosti, díky jejich malému průměru jsou poměrně málo mechanicky pevná. Naproti tomu druhá technologie produkuje povětšinou mikrovlákná s větším průměrem, a tedy s menším povrchem, která jsou však mechanicky daleko odolnější. Jeví se proto logickým spojit obě technologie, tedy elektrické zvlákňování a zvlákňování z taveniny, jak ukazuje obr. 5, a vyrobit kompozit, v němž mikrovlákná tvoří mechanicky odolnou třídídimenzionální vláknitou kostru. V ní chráněná nanovlákná pak zvyšují velikost aktivního povrchu požadovaného pro účinné adsorpce v SPE. Další výhodou této technologické kombinace je rapidní zvýšení produktivity výroby vycházející z technologické charakteristiky procesu zvlákňování z taveniny. Tato metoda byla rovněž vyvinuta v TUL<sup>15</sup> a její produkty byly využity v produkci experimentálních sorbentů pro přípravu vzorků před analýzou.

### 5. Extrakce vzorků vlákniny před HPLC analýzou

Důležitou součástí celého procesu výběru vláken pro SPE je též volba polymeru, z něhož se vlákna připravují. Pravdou je, že výběr polymerů je obrovský a je proto třeba zvážit, jaké látky se jimi mají extrahovat a zda je vybraný

polymer vhodný ke zvlákňování. Polymery jako polyolefiny (polyethylen, polypropylen), poly(vinyliden difluorid) (PVDF) či polystyren (PS) jsou vysloveně nepolární (hydrofobní). Naproti tomu polyamidy nebo poly-ε-kaprolakton (PCL) mají mírně nepolární charakter zatímco polymery jako poly(mléčná kyselina), polyhydroxybutyrát (PHB) a poly(vinyl alkohol) jsou vysloveně polární (hydrofilní), což má vliv jak na selektivitu sorbentu, tak na jeho smáčivost vzorkem. Polarita je však jenom jednou z vlastností, které je třeba vzít v potaz při výběru vláken. Důležitá je též teplota skelného přechodu ( $T_g$ ), která je teplotou, při níž polymer přechází ze skelného stavu, tedy z tuhé, křehké, sklovité formy na měkkou, ohebnou formu termoplastickou. Například PS má  $T_g$  při +90 °C zatímco PVDF při –40 °C. Za normální teploty jsou tedy vlákna z PS tuhá na rozdíl od PVDF vláken, která jsou měkká a ohebná. Tento rozdíl se pak projeví i při jejich aplikaci v SPE. Kolonka naplněná PS vlákny může být opakovaně použita v in-line zařízení SPE-HPLC, v němž se používá relativně vysoký tlak, aniž by byly zřejmé změny v tlaku. Nicméně stabilita PS vláken v organických rozpouštědlech používaných pro extrakce je poměrně nízká. Naproti tomu, samotná PVDF vlákna naplněná v kolonce jsou po 300 extrakcích již zcela zkomprimovaná, jak ukazuje obr. 6, což vedlo ke zvýšení tlaku v celém systému díky snížení celkové porozitě sorbentu. Naopak tomu je, pokud se PVDF vhodně kombinuje do kompozitního materiálu s PCL využitím spojení elektrického zvlákňování a zvlákňování z taveniny při současném zvlákňování obou polymerů. Vzniká tak chemicky i mechanicky velmi odol-



Obr. 5. Znázornění zvlákňování kombinací technologií elektrického zvlákňování a zvlákňování z taveniny. (a) Schéma principu, (b) skenovací elektronová mikrofotografie původních poly- $\epsilon$ -kaprolaktonových vláken a (c) mikrofotografie těchto vláken po 300 extrakcích

ný kompozitní materiál vhodný pro extrakce i za vysokých tlaků, které jsou v HPLC běžné. Prakticky žádná změna není na vláknech viditelná ani po 300 extrakcích (obr. 5).

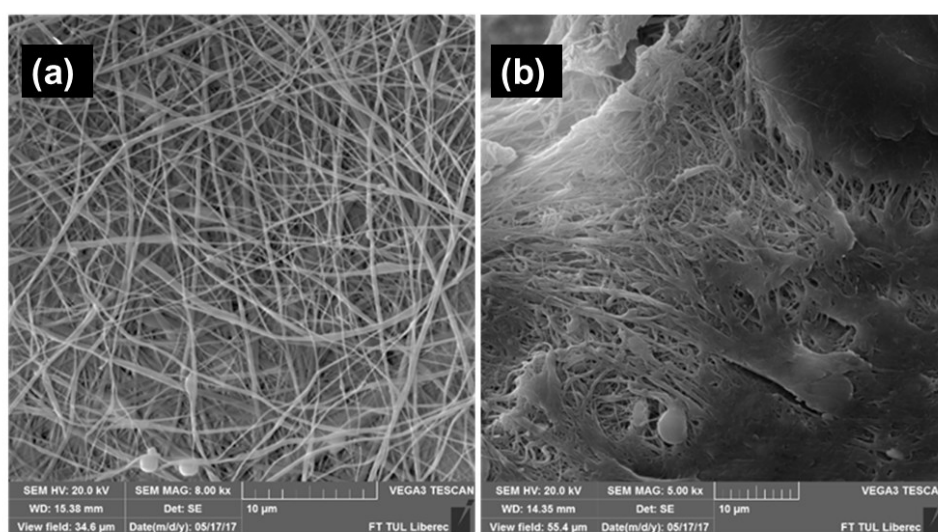
### 5.1. Extrakce insekticidů z vody a půdy

Kontaminace povrchových i spodních vod a půdy přípravky na ochranu rostlin je významným problémem dneška. Aby se zamezilo ohrožení zdraví populace a hospodářských zvířat jejich přítomností, je nutná kontrola množství toxických látek v životním prostředí. Běžná metodika spočívá v použití HPLC, které předchází příprava vzorku extrakcí a prekoncentrací s použitím „klasických“ SPE zařízení. Použití vlákenných sorbentů bylo významně méně časté. Naše experimenty prokázaly, že ne všechna vlákna připravená z mnohých výše uvedených polymerů a naplněná do kolonek jsou vhodná pro tento účel<sup>16</sup>. Zatímco např. polyamidová a polystyrenová vlákna v in-line SPE-HPLC systému tolerují běžná rozpouštědla typicky používaná v HPLC, jako je voda, methanol či acetonitril, aplikace PCL vláken vyžaduje práci při nižší teplotě, neboť se při vyšších teplotách v acetonitrilu rozpouštějí.

Nicméně, účinnost těchto vláken pro SPE insekticidů, jako jsou carbaryl, fenoxycarb, kadethrin, deltamethrin, transpermethrin a cis-permethrin, přidávaných do vody odebrané z Labe v Hradci Králové a do půdních extraktů, byla plně srovnatelná s mnohem dražší komerční monolitickou SPE kolonkou<sup>17</sup>. Směsná PCL nano/mikrovlákná popsána v sekci 4.3. se rovněž ukázala vhodná pro SPE chlorofenolů a nitrofenolů z téže vody<sup>16</sup> a v potravinové analýze např. ochratoxinu A z piva<sup>18</sup>.

Systémy pracující v in-line módu vyžadují použití SPE sorbentu naplněného v kolonce. Naproti tomu aplikace disků ukázaných na obr. 3 je velmi jednoduchá a spočívá v jejich ponoření do většího objemu míchaného vzorku. Vyžaduje však manuální manipulaci při přenosu disku s extrahovanými látkami do nádoby naplněné elučním rozpouštědlem, z níž se pak přímo odebírá vzorek pro nástřik do HPLC kolony. Tyto disky o průměru 10 mm a tloušťce 1 mm byly připraveny z výše uvedených polymerů a testovány pro extrakce bisfenolů a insekticidů opět z říční vody. Nejúčinnějších extrakcí bylo dosaženo s použitím disků z polyurethanu, PHB a PCL (cit.<sup>19</sup>).





Obr. 6. Skenovací elektronové mikrofotografie (a) původních polyvinylidfluoridových vláken a (b) těchto vláken po 300 extrakcích

Dalšího rozšíření palety sorbentů lze docílit elektrickým zvlákněním roztoku polymeru obsahujícího uhlíkové nanočástice. Námí vyvinutá metoda např. umožnila zabudování významného množství grafenových nanodestiček do PCL vláken. S nimi pak bylo dosaženo výborných výsledků při extrakci bisfenolů a insekticidů<sup>20</sup>.

Na rozdíl od modifikace vláken přidávkou aditiv do zvlákněvaného roztoku polymeru je možné měnit povrchové vlastnosti vláken rovněž jejich potahováním (angl. coating). Výběr látek pro chemickou modifikaci je poměrně široký. V našich experimentech jsme vyzkoušeli oxidovaný grafen, polyfenoly tanin, hesperidin, dopamin, a směs dopaminu a heparinu. Např. potahování polyfenoly zvýšilo smáčivost vláken vodou a výtěžnost polárnějších látek<sup>16</sup>.

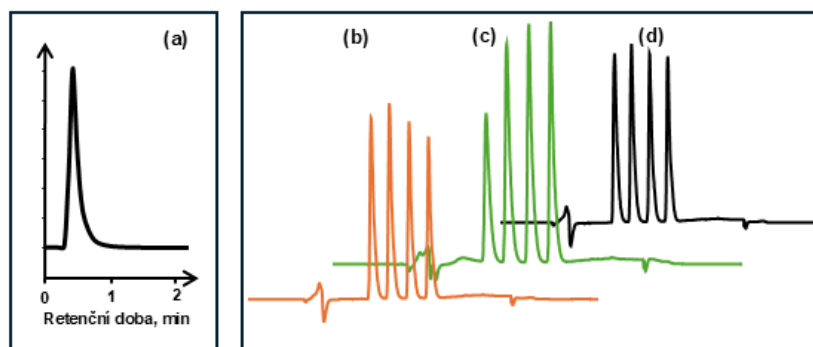
## 5.2. Extrakce nízkomolekulárních látek z komplexních vzorků

HPLC separace hydrofobních látek, např. léčiv z komplexní matrice, jako je krevní plazma či sérum, je obtížný úkol, neboť obsahují kromě cílových analytů i značné množství bílkovin, lipidů a lipoproteinů. Obě tyto skupiny látek mají tendenci se adsorbovat na použitém sorbentu a jejich oddělení je většinou nedokonalé. Proto byly vyvinuty sorbenty, v nichž jsou porézní silikové částice, jejichž poměrně malé póry jsou pokryty např. hydrofobními C18 skupinami, opatřeny na vnějším povrchu hydrofilním povlakem. Pinkerton byl první, kdo vyvinul tyto sorbenty, které umožnily přímý nástřik komplexní biologické matrice do kolony pro stanovení léčiv a metabolitů bez jakýchkoliv předúprav a zároveň zabránily hromadění sorbovaných bílkovin či jejich precipitaci způsobující ucpání kolony<sup>21</sup>.

Proteiny jsou z nich eluovány v mrtvém objemu kolony a v dalším kroku s využitím organického rozpouštědla jsou následované separovanými zkoumanými analyty. Po této počáteční práci bylo vyvinuto několik dalších typů těchto médií, které nesou obecný název materiály s omezeným přístupem (Restricted Access Media, RAM)<sup>22–24</sup>. Jejich společnou charakteristikou je kromě jiného i vysoká cena.

K našemu překvapení bylo zjištěno, že např. kompozitní PCL nano/mikrovlákná mohou rovněž nahradit sofistikované RAM kolony. Bílkoviny se na těchto vláčkách ani po přímém nástřiku nesorbovaly<sup>25</sup>. Obr. 7 představuje eluci hydrofobní bílkoviny hovězího sérového albuminu z kolony naplněné vlákny, ke které dochází při jejím mrtvém objemu. Domníváme se, že vysvětlení tohoto neočekávaného jevu spočívá v morfologii vláken. Pozorovaný účinek pravděpodobně souvisí se zakřivením nanovláken, takže velké molekuly bílkovin nemají dostatečnou flexibilitu, aby se mohly multibodově adsorbovat na povrchu vysoce zakřivených nanovláken, a frikční síla proudící mobilní fáze je snadno odtrhne. Naproti tomu toto není problém pro adsorpci malých molekul. Kromě toho může určitou roli hrát i míra hydrofobicity samotného PCL. Extrakce modelových parabenů následovaná HPLC separací je rovněž demonstrována na obr. 7. Podobné eliminace nežádoucích komponent byly dosaženy i při separacích nesteroidních protizánětlivých léčiv<sup>26</sup> a nitrofenolů a chlorofenolů<sup>16</sup> v séru, jakož i bisfenolů v mléce<sup>27</sup>. Na rozdíl od původních RAM kolon, kde odstranění bílkovin a separace probíhají v jediné koloně, použití vláken vyžaduje aplikaci SPE kolony a HPLC kolony spojených v tandemu.





Obr. 7. Eluční profil vodného roztoku hovčího albuminu dávkovaného na kolonku o délce 10 mm a průměru 4,6 mm naplněnou kompozitními poly- $\epsilon$ -kaprolaktonovými nano/mikrovláknými (a). HPLC chromatogramy methyl-, ethyl-, propyl- a butyl parabenu extrahovaných na téže kolonce ze séra (b), mléka (c) a z 50% vodního methanolu (d) (cit.<sup>25</sup>)

## 6. Závěry

Je třeba zdůraznit, že tento článek si neklade za cíl být vyčerpávajícím přehledem dané problematiky. K tomuto účelu byly publikovány mnohé kvalitní přehledné referáty, kde lze nalézt řadu detailních informací, nedávno např.<sup>28–32</sup>. Tato práce je myšlena jako úvod, který by měl čtenáře vtáhnout do říše polymerních vláken a jejich použití v SPE přípravě komplexních vzorků před chromatografickou separací. Ve prospěch sorbentů ve formě vláken hovoří řada nesporných výhod. Díky řadě použitelných polymerů i jejich kombinací nebo doplněním o další materiály lze připravit širokou škálu vláken, navíc v různé morfologii a uspořádání tak, aby co nejvíce vyhovovaly zamýšlené aplikaci. Dobře zvládnutý technologický postup umožňuje výrobu vláken ve větším množství. Jejich cena je nízká, neboť většinou nevyžadují žádné zvláštní vstupy kromě mnohdy běžných polymerů široce se lišících chemickou strukturou. Kromě vláken připravených ze samotných polymerů je možné sortiment vláknitých sorbentů znásobit zvlákněním roztoků obsahujících různé přísady, jako jsou nanočástice, oxidy kovů a pigmenty, či jejich pokrýváním tenkou vrstvou jiného materiálu. Lze se tedy domnívat, že díky těmto možnostem se vláknité sorbenty budou v SPE uplatňovat čím dál častěji.

*Tento článek vznikl za podpory projektem NETPHARM „New Technologies for Translational Research in Pharmaceutical Sciences“ (Projekt ID CZ.02.01.01/00/22\_008/0004607) co-financovaného Evropskou unií.*

## LITERATURA

- Pawliszyn J.: *Handbook of Sample Preparation*. Wiley, New York 2010.
- Kanu A. B.: *J. Chromatogr. A* 1654, 462444 (2021).
- Wieczorek M. N., Zhou W., Pawliszyn J.: *Adv. Sample Prep.* 10, 100114 (2024).
- Snyder L. R., Kirkland J. J., Dolan J. W.: *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, 4. vyd. J. Wiley & Sons, Hoboken 2010.
- Castañeda N., Prince D. L., Peirano S. R., Giovannoni S., Echevarría R. N., Keunchkarian S., Reta M.: *TrAC, Trends Anal. Chem.* 180, 117924 (2024).
- Keirouz A., Wang Z., Reddy V. S., Nagy Z. K., Vass P., Buzgo M., Ramakrishna S., Radacsi N.: *Adv. Mater. Technol.* 8, 2201723 (2023).
- Gilbert W.: *De Magnete Magnetcisque Corporibus, et de Magno Magnete Tellur (On the Magnet and Magnetic Bodies, and on that Great Magnet the Earth)*, The Chiswick Press, London 1628.
- Taylor G. I.: *Proc. R. Soc. London, Ser. A* 280, 383 (1964).
- Cooley J. F.: GB patent 6385 (1900) US patent US692631A. <https://patents.google.com/patent/US692631A/en>
- Morton W. J.: US patent 705691 (1902).
- Jirsák O., Sanetrník, F., David, L., Kotek, V., Martinová, L., Chaloupek J.: Český patent 20032421A3 (2004).
- David L. a spol.: *Nanovlákná: Teorie, technologie a použití*. Academia, Praha 2023.
- Wente V. A.: *Ind. Eng. Chem. Res.* 48, 1342 (1956).
- Wadsworth L., Malkan S. R.: *International Nonwovens Bulletin* 2, 46 (1991).
- Erben J. a 11 spoluautorů: *Mater. Lett.* 143, 172 (2015).
- Kholová A., Lhotská I., Erben J., Chvojka J., Švec F., Solich P., Šatínský D.: *Talanta* 269, 125449 (2024).
- Háková M., Havlíková Chocholoušová L., Chvojka J., Švec F., Solich P., Šatínský D.: *Anal. Chim. Acta* 1018, 26 (2018).
- Háková M., Havlíková Chocholoušová L., Chvojka J., Erben J., Solich P., Švec F., Šatínský D.: *Anal. Chim. Acta* 1023, 44 (2018).

19. Zatrochová S., Lhotská I., Erben J., Chvojka J., Švec F., Chocholouš P., Šatínský D.: *Talanta* 263, 124688 (2023).
20. Lhotská I., Háková M., Erben J., Chvojka J., Švec F., Šatínský D.: *Talanta* 266, 124975 (2024).
21. Hagestam I. H., Pinkerton T. C.: *Anal. Chem.* 57, 1757 (1985).
22. Haginaka J.: *TrAC, Trends Anal. Chem.* 10, 17 (1991).
23. Queiroz M. E. C., Souza I. D., v knize: *Solid-Phase Extraction* (Poole C. F., ed.), str. 129. Elsevier, Amsterdam 2020.
24. Yang S. H., Fan H., Classon R. J., Schug K. A.: *J. Sep. Sci.* 36, 2922 (2013).
25. Raabová H., Háková M., Havlíková Chocholoušová L., Erben J., Chvojka J., Solich P., Švec F., Šatínský D.: *Anal. Chem.* 92, 6801 (2020).
26. Raabová H., Chocholoušová Havlíková L. C., Erben J., Chvojka J., Švec F., Šatínský D.: *Nanomaterials* 11, 2669 (2021).
27. Kholová A., Lhotská I., Erben J., Chvojka J., Švec F., Solich P., Šatínský D.: *Talanta* 252, 123822 (2023).
28. Lhotská I., Kholová A., Švec F., Šatínský D.: *TrAC, Trends Anal. Chem.* 180, 117912 (2024).
29. Czyż E., Švec F., Šatínský D.: *TrAC, Trends Anal. Chem.* 180, 117970 (2024).
30. El-Aswar E. I., Ramadan H., Elkik H., Taha A. G.: *J. Environ. Manage.* 301, 113908 (2022).
31. Háková M., Chocholoušová Havlíková L., Solich P., Švec F., Šatínský D.: *TrAC, Trends Anal. Chem.* 110, 81 (2019).
32. Torabi E., Moghadasi M., Mirzaei M., Amiri A.: *J. Chromatogr. A* 1689, 463739 (2023).

**F. Švec<sup>a</sup>, P. Chocholouš<sup>a</sup>, L. Chocholoušová Havlíková<sup>a</sup>, J. Chvojka<sup>b</sup>, J. Erben<sup>b</sup>, M. Háková<sup>a</sup>, A. Kholová<sup>a</sup>, I. Kolichová<sup>a</sup>, L. Martinová<sup>b</sup>, H. Raabová<sup>a</sup>, and D. Šatínský<sup>a</sup>** (<sup>a</sup> Department of Analytical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Králové, Czech Republic, <sup>b</sup> Department of Nonwovens and Nanofibrous Materials, Faculty of Textiles, Technical University of Liberec, Liberec, Czech Republic): **Polymeric Nanofibers and Microfibers: New Formats of Materials Used in Chromatography for Sample Preparation Using Solid Phase Extraction**

For traditional sample preparation by solid phase extraction prior to HPLC separation, plastic or metal pre-columns filled with sorbent particles or, more recently, monolithic columns are commonly used. To a much lesser extent, fibrous sorbents are used for this purpose. This article aims at introducing the reader to the possibilities offered by fibrous sorbents in the field of analytical chemistry. Methods for the production of nanofibers and microfibers using electrospinning, meltblown, and their combination are described. These are also presented with a brief look at the history of their development. Examples of the polymers which the fibers are prepared from and their characteristics, which must be considered when selecting the polymer for extraction of the desired analytes, are also listed. Finally, some examples of extraction of substances presented in our publications are described, with a particular focus on samples that are complex in nature, such as the environmental and biological samples.

**Keywords:** liquid chromatography, sample preparation, polymers, nanofibers, microfibers



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoliv média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.