



ISLN

Quarterly, 2018

Volume2, Number 4

Pages:5 -10

Print ISSN: 2538-4910

Online ISSN: 2588-641X

Easy sample preparation with advanced methods of solid phase extraction in quality control labs

Javad Feizy^{1*}, Seyed Hossein Rajabnejad²

Abstract

Traditional extraction methods for food samples, such as liquid-liquid extraction and Soxhlet extraction, are often time consuming and require large amounts of organic solvents. To reduce operating costs and maximize profits, food safety and environmental laboratories must become much more efficient in terms of materials, labor, and time. Solid-phase extraction (SPE), which can be automated, produces more consistent results than manual labor techniques and streamlines the process to increase sample throughput. In SPE, the sample passes over the stationary phase (solid phase). The analytes separate according to the degree to which each component is partitioned or adsorbed by the stationary phase. Analytical laboratories use solid phase extraction to concentrate and purify samples for analysis. On an evolutionary scale, solid-phase extraction using short columns was introduced as a laboratory-scale technique in the late 1970s and came to prominence in the 1980s. Disc technology, by comparison, was first introduced in 1989, and is still evolving as a competitive technique to short packed columns. Here, we discuss recent SPE developments such as the evolution to multi-modal disks that accommodate complex chemistry in a single pass, the move toward anion exchange resins, and future directions such as the trend toward field sampling.

Key Words:

Analytical technique,
Quality control,
Extraction,
Solid-phase extraction,
Sample preparation,

(*) Corresponding author

1. Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

E-mail: j.feizy@rifst.ac.ir

Tel: 05135425371

2. Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

E-mail: h.rajabnejad@rifst.ac.ir

Tel: 05135425317

آماده‌سازی آسان نمونه با روش‌های نوین استخراج فاز جامد در آزمایشگاه‌های کنترل کیفی



شاعا
فصلنامه علمی
سال دوم، شماره ۴
صفحات ۵ - ۱۰، ۱۳۹۷
شاپای چاپی: ۲۵۳۸-۴۹۱
شاپای الکترونیکی: X-۶۴۱۸-۲۵۸۸

جواد فیضی^{۱*}، سید حسین رجب نژاد^۲

به منظور کاهش هزینه‌های آماده‌سازی، کاهش مصرف حلال‌های شیمیایی، افزایش سرعت و راندمان در آنالیز نمونه‌ها در آزمایشگاه‌های کنترل کیفی و محیط زیست، تکنیک استخراج فاز جامد منجر به حصول نتایج دقیق‌تر و موثرتری نسبت به سایر روش‌های زمان‌بر و هزینه‌بر استخراج نمونه شده است. استخراج فاز جامد که از کروماتوگرافی معمولی مشتق گردیده است از یک محیط جاذب برای جداسازی نمونه‌ها بر اساس اختلاف در برقراری تعادل با محیط جاذب استفاده می‌کند. سابقه تاریخی استخراج فاز جامد حداقل به اوایل دهه ۱۹۷۰ برمی‌گردد که در آن زمان ستون‌های انباشته شده با ذرات رزین XAD بر روی هم و به منظور تغلیظ غلظت‌های بسیار کمی از آلاینده‌های آلی موجود در آب مورد استفاده قرار گرفتند. در دهه ۱۹۸۰ شرکت‌های تولیدکننده فازهای جامد، مواد پرکننده متنوع با ستون‌هایی با اندازه و حجم‌های متفاوت را به بازار عرضه کردند. پس از این تاریخ جاذب‌های ترکیبی برای آنالیز داروها و ترکیبات شیمیایی معرفی شدند. تحقیقات جدید در استخراج فاز جامد به سمت استفاده از دیسک‌ها، میکروفیبرها و خودکارسازی بسیاری از محصولات استخراج فاز جامد سوق پیدا کرده است. این روند برای تولید بسترهای جاذب جدید استخراج فاز جامد نیز ادامه دارد. در این مقاله پیشرفت‌های اخیر در زمینه استخراج فاز جامد از قبیل مدل چند دیسکی برای استخراج مواد شیمیایی پیچیده، توسعه رزین‌های تعویض یونی و نیز نمونه‌برداری و استخراج در محل، مورد بحث قرار می‌گیرند.

چکیده



سید حسین رجب نژاد



جواد فیضی

واژگان کلیدی:

روش آنالیز،
کنترل کیفی،
استخراج،
فاز جامد،
جداسازی

(*) مسئول مکاتبات.

۱. رئیس آزمایشگاه مرکزی و استادیار گروه ایمنی و کنترل کیفیت مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

ایمیل: j.feizi@rifst.ac.ir

تلفن: ۰۵۱۳۵۴۲۵۳۷۱

۲. آزمایشگاه مرکزی مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

ایمیل: h.rajabnezhad@rifst.ac.ir

تلفن: ۰۵۱۳۵۴۲۵۳۱۷

بافت نمونه‌ها هم می‌تواند بطور چشم‌گیری متفاوت بوده و از آب آشامیدنی سالم تا نمونه‌های نیمه تمیز مثل آب‌های زیرزمینی یا خیلی کثیف مثل فاضلاب‌ها متغیر باشد. بنابراین اغلب آزمایشگاه‌های کنترل کیفی دائماً در حال تلاش برای کاهش هزینه‌های آماده‌سازی و افزایش بهره‌وری در کنار حفظ سرعت و دقت بالا برای انجام آزمون می‌باشند (۲).

از دیگر چالش‌ها در این زمینه می‌توان به مهارت فنی تکنسین‌ها و کارشناسان و آموزش کارشناسان جدید که اغلب باید بصورت دوره‌ای نیز انجام شود، اشاره کرد. علاوه بر این تکنسین‌ها معمولاً مهارت‌های متفاوتی در آماده‌سازی نمونه‌ها دارند که این اختلاف‌ها باید مورد توجه مسوولین فنی قرار گیرد. این تنوع روش ممکن است منجر به بروز مشکلاتی در دقت و صحت نتایج بدست آمده شود. بسیاری از تکنیک‌های آماده‌سازی نمونه‌ها که هنوز هم استفاده می‌شوند، سال‌ها پیش براساس فناوری‌هایی که در آن زمان در دسترس بوده طراحی شده‌اند و حتی توسط نهادهای نظارتی مثل آژانس حفاظت از محیط زیست آمریکا نیز دیکته می‌شده‌اند و برخی نیز بر اساس سایر آزمون‌های محیطی تنظیم و تایید شده‌اند. با این حال آماده‌سازی نمونه اغلب شامل بسیاری از روش‌های دستی است که می‌تواند موجب کاهش بهره‌وری و دقت نتیجه آزمون گردد (۱).

کاهش چالش‌ها با استخراج فاز جامد

یکی از مزایای مهم استخراج فاز جامد کاهش قابل ملاحظه حجم حلال مصرفی در خلال استخراج آنالیت می‌باشد. هم‌چنین تشکیل ناخواسته امولسیون را که یکی از مشکلات رایج در استخراج مایع-مایع می‌باشد را برطرف می‌کند. مخلوط کردن یک نمونه آبی با یک حلال غیرقطبی مثل هگزان نرمال با تکان دادن شدید که برای انجام استخراج آنالیت از آب ضروری است، معمولاً منجر به تشکیل یک امولسیون می‌شود که در این صورت امولسیون تشکیل شده باید شکسته شود تا حلال آلی به عنوان عصاره استخراجی بدست آید (۲).

ایمنی مواد غذایی از نگرانی‌های مهم در سطح جامعه بوده و بطور کلی نگرانی فزاینده‌ای در مورد ایمنی غذای مصرفی مردم که هر روزه نیز در حال افزایش است در سطح جامعه وجود دارد. بطوری که بروز و گزارش آلودگی در محصولات کشاورزی و خوراکی بطور گسترده‌ای خبرساز می‌شود و به جامعه و مقامات هشدار را می‌دهد که مطالعه و تحقیقات بیشتر در این زمینه مورد نیاز است. به دلیل غلظت فوق العاده پایین این آلاینده‌ها و بافت پیچیده مواد غذایی حتی با وجود روش‌ها و دستگاه‌های شناسایی نوین و کارآمد، روش‌های آماده‌سازی موثرتری مورد نیاز می‌باشد. روش‌های کلاسیک استخراج برای نمونه‌های غذایی و زیست محیطی از قبیل استخراج مایع-مایع یا استخراج به روش سوکسله در اکثر مواقع زمان‌بر بوده و نیاز به حجم زیادی حلال آلی دارند (۱). بنابراین یکی از ماموریت‌ها در زمینه مطالعات تجزیه‌ای و کنترل کیفی مواد غذایی، توسعه روش‌های جدید استخراج است که بتواند دقت و صحت نتایج آنالیز را ارتقاء داده و هم‌چنین روند آنالیز را تسهیل کند. در استخراج فاز جامد نمونه از داخل یک فاز ساکن (فاز جامد) عبور می‌کند و آنالیت‌ها براساس میزان تمایلی که هر مولکول بطور فیزیکی به فاز جامد دارد جدا می‌شوند. آنالیت‌ها ممکن است با تمایل بالا به فاز ثابت جذب شوند و یا در فاز مایع باقی بمانند. اگر آنالیت‌ها جذب فاز جامد شوند، با یک محلول شویش با تمایل بالاتر به آنالیت (نسبت به جاذب) جمع‌آوری می‌شوند و اگر آنالیت در محلول باقی بماند، با جذب مولکول‌های مزاحم توسط جاذب برای آزمایشات بعدی آماده می‌شود. جداسازی موثر توسط استخراج فاز جامد با انتخاب مناسب جاذب و محلول شستشو امکاپذیر است (۱). این روش بطور گسترده‌ای برای آنالیز نمونه‌های زیست محیطی، دارویی، زیستی، بالینی، علوم جزایی و قانونی، غذایی و نوشیدنی استفاده می‌شود. در ادامه پیشرفت‌های اخیر در زمینه استخراج فاز جامد شامل مدل چند دیسکی برای استخراج مواد شیمیایی پیچیده، رزین‌های تعویض یونی و همچنین نمونه‌برداری و استخراج در محل (in-situ) مورد بحث قرار می‌گیرند.

چالش‌های جدید آزمایشگاه‌های محیط زیست در زمینه آماده‌سازی نمونه

آزمایشگاه‌های محیط زیست و کنترل کیفی با چالش‌های زیادی در زمینه آزمایشات روبرو هستند. بطور خاص تقاضا برای آزمایشات و تعداد زیاد نمونه‌ها و هم‌چنین زمان کم آنالیز و تحلیل داده‌ها از جمله این مشکلات است. در برخی موارد این نکته مهم است که یک نمونه را تا چه زمانی قبل از شروع آزمون می‌توان نگهداری کرد و آیا امکان نمونه‌برداری مجدد از آن وجود دارد یا خیر. بنابراین آزمایشگاه‌ها باید سرعت، دقت و کارایی بالایی در پردازش نمونه‌ها داشته باشند.

*Liquid-liquid chromatography (LLC)

‡Solid phase extraction (SPE)



تحت تاثیر قرار دهند که جداسازی این مواد جامد از بافت نمونه اجازه می‌دهد تا حلال بدون تداخل با آن‌ها از بافت نمونه عبور کند، و این کار بدون مصرف حلال بیش‌تر موجب افزایش دقت و تکرارپذیری فرآیند استخراج می‌شود. در فیلترهای جدید همچنین از جاذب‌های نسبتاً ارزان قیمت استفاده می‌شود و اغلب با اندازه‌های مختلف با نمونه‌های مختلف انطباق دارند.

همراه با توسعه انواع مختلف دیسک‌های استخراج، انواع مختلفی از بسترهای جاذب نیز برای افزایش دامنه ترکیبات قابل آنالیز توسعه یافته‌اند. این موارد شامل رزین‌های تعویض یونی و دیسک‌های چند حالت (multi mode disks) بوده که فقط به چند نمونه خاص محدود می‌شوند و حاوی ترکیبی از رزین‌ها با توانایی جذب جداگانه انواع مختلفی از ترکیبات، با ظرفیت‌های متنوع آن هم فقط در یک مرحله استخراج و نه انجام استخراج‌های جداگانه برای هر ترکیب می‌باشد. همچنین اخیراً دیسک‌هایی برای خشک کردن نمونه‌ها طراحی شده‌اند که وسیله‌ای بسیار راحت‌تر برای حذف باقیمانده آب از حلال‌های آلی عصاره‌های استخراجی قبل از تغلیظ آن‌ها را فراهم می‌آورد. قبل از طراحی این نوع دیسک‌ها، روش خشک کردن معمولاً شامل استفاده از سولفات سدیم بود که دارای معایبی از جمله نگهداری و ماندگاری این ماده بود.

استفاده از دیسک‌های یکبار مصرف با کاهش زمان آماده‌سازی و شستشو و نیز عدم ریسک امکان انتقال اثرات نمونه قبلی به نمونه جدید، نسبت به دیسک‌های چند بار مصرف، باعث افزایش سرعت و نیز کارایی، برای آزمایشگاه‌هایی که نیاز به حداکثر بهره‌وری و دقت دارند فراهم می‌کند.

مثالی از یک برنامه کاربردی خاص

توسعه دیسک Atlantic® One Pass که یک دیسک چند حالت با قابلیت استخراج صدها ترکیب با یک بار عبور نمونه از آن را می‌توان به عنوان مثالی از پیشرفت‌های نوین در حوزه SPE بیان کرد. این محصول برای مقابله با چالش‌های استخراج ترکیبات آلی نیمه فرار از فاضلاب‌ها بر اساس روش EPA ۸۲۷۰ طراحی شد. این روش شامل لیستی از ۳۰۰ ترکیب آلی نیمه فرار را شامل می‌شود که به حدود ۱۴ گروه مختلف با خواص متنوع اسیدی، بازی و خنثی تقسیم‌بندی می‌شوند. با استفاده از این دیسک به همراه یک کارتریج کربنی، همه این ترکیبات با یک استخراج تک مرحله‌ای، قابل جذب توسط بستر جاذب دیسک می‌باشند. این روش از نظر سرعت و کارایی با روش استخراج مایع-مایع غیرقابل مقایسه است. هم‌چنین تلاش برای استخراج ترکیبات لیست ۳۰۰ تایی روش EPA که شامل ترکیبات هیدروفیل نیز می‌باشد با روش استخراج مایع-مایع در عمل غیرممکن است.

در استخراج فاز جامد، آنالیت‌های موجود در نمونه با عبور از یک بستر جاذب - که می‌تواند بصورت یک دیسک باشد- و عدم تداخل با هیچ حلالی، استخراج شده و بنابراین هیچ امولسیون تشکیل نمی‌گردد. علاوه بر این با قابلیت خودکار شدن باعث دستیابی به نتایج مطمئن‌تری نسبت به روش‌های دستی از جمله استخراج مایع-مایع می‌گردد. از طریق خودکار شدن هم‌چنین زمان مورد نیاز برای استخراج نمونه و حجم حلال مصرفی کاهش می‌یابد (۲). استخراج فاز جامد می‌تواند ترکیبات هدف را تنها با یک عبور از بستر جاذب جداسازی کند در حالی که روش استخراج مایع-مایع نیاز به چند مرحله جداسازی بر اساس تعادل حجم محلول‌ها را دارد.

تکامل روش‌های استخراج فاز جامد

نیازهای مختلف، تکنیک‌های استخراج فاز جامد را به منظور رفع احتیاجات بازار، درخواست‌های مراجع نظارتی مثل غذا و دارو، ایزو، سازمان حفظ محیط زیست و نیازهای تحقیقاتی به جهات مختلفی سوق داده است.

در تکنیک‌های به روز استخراج فاز جامد، تکامل از استفاده از کارتریج‌های مرسوم به دیسک دیده می‌شود. از آنجایی که معمولاً یک لیتر نمونه برای استخراج اختصاص داده می‌شود، عبور یک لیتر نمونه از یک کارتریج با سرعت جریان ۱۰ میلی‌لیتر بر دقیقه به دلیل سطح فعال کوچک کارتریج محدود است و این محدودیت با یک سطح فعال بزرگتر در دیسک‌های تجاری با سرعت جریانی تا ۲۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه افزایش می‌یابد. بنابراین عبور یک لیتر نمونه از کارتریج می‌تواند تا بیش از ۱۰۰ دقیقه زمان بر باشد، در حالی که استفاده از یک دیسک استخراج فاز جامد زمان این فرایند را به ۵ تا ۱۰ دقیقه کاهش می‌دهد. هم‌چنین دیسک‌های استخراج فاز جامد با اندازه‌های استاندارد ۴۷ تا ۹۰ میلی‌متر برای کاربری‌های مختلف طراحی شده‌اند تا ظرفیت شیمیایی آن‌ها افزایش یابد. افزایش در اندازه فیزیکی و ظرفیت شیمیایی می‌تواند بطور خاص برای استخراج نمونه‌هایی با بافت پیچیده مثل انواع روغن‌ها و محصولات پروتئینی مفید باشد. در این موارد ممکن است استخراج چند میلی‌گرم (در مقابل میکروگرم) آنالیت که با هگزان نرمال واجد و سپس تبخیر شده بصورت سنجش وزنی قابل اندازه‌گیری باشد. از طرفی توسعه‌ی پیش فیلترهای سفارشی کمک شایانی در استخراج نمونه‌های حاوی مقادیر بالای ذرات جامد می‌کند. هنگام استخراج ترکیبات از نمونه‌های محیطی، ذرات و مواد جامد معلق می‌توانند با تداخل بر مواد جاذب، کارایی جداسازی را



محیطی شده است. جمع‌آوری نمونه‌ها از محیط منجر به کشف این موضوع شد که دیسک‌ها بخاطر ماهیت‌شان قابلیت ذخیره و نگهداری طولانی مدت نمونه بدون آسیب رسیدن به آنالیت‌ها را دارد (۳). از آنجایی که ترکیبات مستقیماً به داخل رزین‌های متخلل به دام می‌افتند، با پایداری و ماندگاری بیشتری برای انتقال به آزمایشگاه آماده می‌شوند. همچنین اندازه منافذ موجود در دیسک‌ها می‌تواند متفاوت باشد. اما اگر کمتر از ۹۰ آنگستروم باشد (بسیاری از مواد مبتنی به رزین)، باکتری‌های موجود در نمونه اصلی قادر به ورود به فضای متخلل رزین نبوده و بنابراین تجزیه و آسیب به نمونه حاصل از فعالیت و مصرف باکتری‌ها بطور قابل توجهی کاهش یافته و کیفیت نمونه رسیده به آزمایشگاه بطور چشمگیری افزایش می‌یابد (۳).

نتیجه‌گیری

روش‌های مرسوم از قبیل استخراج سوکسله، استخراج مایع-مایع با کیف دکانتور شیکردار، زمان‌بر بوده و با مصرف زیاد حلال، نیازمند مراحل متعدد استخراج هستند و از این نظر کاربری‌های محدودی پیدا کرده‌اند. روش‌های پیشرفته استخراج از قبیل روش‌هایی که در این مقاله اشاره شد دارای مزایای قابل توجهی نسبت به روش‌های سنتی از جمله کوتاه شدن زمان استخراج، کاهش مصرف انرژی و حلال‌های شیمیایی و افزایش راندمان استخراج می‌باشند. این روش‌ها همچنین معمولاً به عنوان تکنیک‌های سبز و دوست‌دار محیط زیست بطور گسترده برای شناسایی و تعیین مقدار آلاینده‌ها و مواد مضر موجود در فرآورده‌های زیستی و کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

منابع

1. Abd-Talib, Norfahana, Siti Hamidah Mohd-Setapar, and Aidee Kamal Khamis. "The benefits and limitations of methods development in solid phase extraction: mini review." *Jurnal Teknologi* 69.4
2. Buldini, Pier Luigi, Loretta Ricci, and Jawahar Lal Sharma. "Recent applications of sample preparation techniques in food analysis." *Journal of Chromatography A* 975.1 (2002): 47-70.

^۱Perfluorooctanoic acid

^۲Perfluorooctane sulfonate

همچنین مثال‌هایی برای درصد بازیافت ترکیبات کلیدی در روش EPA ۸۲۷۰ از قبیل ترکیبات سرطان‌زا موجود هست که عدد بدست آمده برای این ترکیبات با روش استخراج مایع-مایع بسیار پایین است. این در حالی است که استخراج توسط دیسک Pass One که حاوی بسترهای جاذب با سه نوع مکانیسم بازداری مختلف است کاملاً موفق عمل کرده است. این دیسک‌ها شامل مخلوطی از رزین‌های تبادل یونی و یک رزین HLB است تا خواص آبگریزی و آبدوستی را همزمان برای دیسک به ارمغان آورد. در شرایط اسیدی (pH=۲) این دیسک‌ها توانایی حفظ آنالیت‌های اسیدی، بازی و خنثی مشخص شده در روش EPA ۸۲۷۰ را دارند. به منظور جذب ترکیبات فوق‌العاده آبدوست (معمولاً ترکیبات فرار با نقطه جوش پایین)، نمونه بعد از عبور از این دیسک وارد کارتریج کربنی می‌شود. دیسک Pass One و کارتریج کربنی برای رسیدن به سرعت بالای جریان حلال طراحی شده و این مزیت امکان آماده‌سازی سریع تعداد زیاد نمونه در آزمایشگاه‌های کنترل کیفی را فراهم می‌کند.

چشم‌انداز استخراج فاز جامد

آینده استخراج فاز جامد در دو حوزه قابل ارزیابی است. در حال حاضر ترکیبات پرفلورینات و ترکیبات واسط آنها بصورت روزافزون در طبیعت در حال افزایش است. این ترکیبات جانبی از موادی که در ساخت ظروف نجسب تفلون و مواد پیش‌گیرنده آتش استفاده می‌شوند حاصل می‌شوند. روش‌های فعلی استخراج سازمان حفظ محیط زیست آمریکا برای برخی از این ترکیبات مثل پرفلوروکاتیونیک اسید و پرفلورواتان سولفونات، رزین‌های فاز معکوس (استایرن دی وینیل بنزن) است (۴). استایرن دی وینیل بنزن برای جذب ترکیبات آبگریز ایده‌آل است. با این وجود قوانین استفاده از پرفلوروکاتیونیک اسید و پرفلورواتان سولفونات را ممنوع کرده است و بنابراین تولید کنندگان برای تولید مواد واسط خود مجبور به استفاده از ترکیبات کربنی با زنجیر کوچک شده‌اند که این ترکیبات برای محیط زیست سالم‌تر هستند. با این حال مشخص شده است که این ترکیبات کوتاه زنجیر درست شبیه پرفلورینات‌های بلند زنجیر در محیط زیست حضور دارند و در حال افزایش بوده و بررسی و تعیین مقدار آنها در محیط زیست ضروری می‌نماید. اما مشکل این ترکیبات جدید این است که آنها به خوبی توسط روش‌های سنتی و رزینی، قابل جذب و استخراج نیستند زیرا خواص کربنی و آبگریزی این ترکیبات کم‌تر از آن است که توسط رزین‌های فاز معکوس معمولی بطور موثری به دام بیفتند. بنابراین استفاده از روش‌های جدید استخراج فاز جامد از قبیل رزین‌های تعوض یونی ضعیف نوع WAX که ترکیبات آنیونی را بطور موثرتری جذب می‌کنند ضروری است (۳).

استفاده‌ی در محل از دیسک‌های استخراج نیز از دیگر چشم‌اندازهای آینده استخراج فاز جامد می‌باشد که توجه زیادی به استفاده از آن در نمونه‌برداری



3. Lawal, Abubakar, Guan Huat Tan, and Ali Mohammed Ali Alsharif. "Recent advances in analysis of pesticides in food and drink samples using LPME techniques coupled to GC-MS and LC-MS: a review." *Journal of AOAC International* 99.6 (2016): 1383-1394.
4. U.S. EPA. 2014. "Method 8270E (SW-846): Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS)," Washington, DC.

