NAISL
Volume 2, Number 3, 2018
Pages:29-47
Print ISSN: 2588-6401
Online ISSN: 2588-641X
Website: shaajournal.msrt.ir

A Review on Solid Phase Micro Extraction—High Performance Liquid Chromatography (SPME-HPLC) Analysis of Pesticid

Marjan Moeinfar*

Abstract

Pesticides are an important and diverse environmental and agricultural species. Their determination in formulations, in feed and food, and in complex environmental matrices (e.g., water, soil, sludge, sediments, etc.) often requires separation methods capable of high efficiency, unique selectivity, and high sensitivity. Because pesticides (organophosporus, organochlorine, carbamate, dithiocarbamate, etc.) are carcinogenic, they are problematic for humans in the course of the food chain. Residual analyses have been performed to find out the concentration and type of pesticides and their metabolites left in food at the time of consumption. This ultimately helps in production of better and human-friendly pesticides. A new and effective sampling technique, Solid-Phase microextraction (SPME), was developed in 1990 using a fused silica fiber coated on the outside with appropriate stationary phase in which analyte in the sample is directly

extracted to the fibber coating. Two types of fiber techniques can be used to extract analytes: Headspace (HS-SPME), where the fiber is exposed to the vapor phase above a gas, and Direct immersion (DI-SPME), where the fiber is directly immersed in the samples. More advanced in-tube SPME recently has been developed, which uses open tubular fused-silica capillary column instead of SPME fiber. SPME in combination with HPLC, GC, GC-MS, LC-MS is getting a wide acceptability as an analytical technique. These have great advantages over the classical sampling techniques, which are time consuming and require larger samples and solvents. This review discusses the various advantages and disadvantages of the SPME for the extraction of the pesticides and their analysis by HPLC.

Key Words:

Pesticides,
Solid-Phase microextraction,
Headspace,
Direct immersion,
in-tube SPME

(*) Corrosponding athour
Expert on chromatography, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran.
Tel: 06133360016

نشریه رویکردهای نوین در آزمایشگاه‌های علمی ایران
سال دوم، شماره ۳, ۱۳۹۷
صفحات ۴۷-۲۹
شاپای چاپی: ۲۵۸۸-۶۴۰۱
شاپای الکترونیکی: ۲۵۸۸-۶۴۱X
وب‌سایت: shaajournal.msrt.ir

مروری بر میکرواستخراج فاز جامد – کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (SPME-HPLC) در آنالیز آفت‌کش‌ها

مرجان معین‌فر*

چکیده

مرجان معین‌فر

آفت‌کش‌ها یک گونه مهم و متنوع زیست محیطی و کشاورزی هستند. تعیین فرمولاسیون آن‌ها، در محصولات غذایی و در ماتریکس‌های محیطی پیچیده (مانند آب، خاک، لجن، رسوبات و غیره) اغلب نیازمند روش‌های توانمند جداسازی با کارایی بالا، انتخاب‌گری و حساسیت بالا است. چون آفت‌کش‌ها (ارگانوفسفره، ارگانوکلره،کاربامات، دی تیوکاربامات و غیره) سرطان‌زا هستند، برای انسان‌ها در طول دوره زنجیره غذایی مشکل‌ساز می‌باشند. آنالیز باقی مانده برای پیدا کردن غلظت و نوع آفت‌کش‌ها و متابولیت‌های آن‌ها در مواد غذایی انجام می‌شود. این در نهایت به تولید آفت‌کش‌های بهتر و سازگارتر با انسان کمک می‌کند. یک روش نمونه‌گیری جدید و موثر، میکرواستخراج فاز جامد است که با استفاده از یک فیبر سیلیکای پیوندی پوشش داده شده در سطح بیرونی یک فاز ثابت مناسب، آنالیت در نمونه به طور مستقیم بر روی پوشش فیبر استخراج می‌شود. دو نوع از روش‌های فیبر برای استخراج آنالیت‌ها، فضای فوقانی و غوطه‌وری مستقیم است. اخیراً میکرواستخراج فاز جامد در لوله (In-tube SPME) توسعه یافته، که از یک ستون سیلیکای مویینه باز به جای فیبر SPME استفاده می‌کند. میکرو استخراج فاز جامد در ترکیب با HPLC، GC، GC–MS، LC–MS به عنوان یک روش آنالیز، گسترش وسیعی یافته است. این روش، مزایای زیادی نسبت به روش‌های نمونه‌برداری کلاسیک زمان بر و نیازمند مقدار نمونه و حلال زیاد، دارد. این بررسی در مورد مزایا و معایب مختلف میکرواستخراج فاز جامد برای استخراج آفت‌کش‌ها و آنالیز آنها با استفاده از HPLC است.

واژگان کلیدی:

آفت‌کش‌ها،
میکرواستخراج فاز جامد،
فضای فوقانی،
غوطه‌وری مستقیم،
میکرواستخراج فاز جامد در لوله

(*) مسئول مکاتبات.
۱.کارشناس کروماتوگرافی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران.
ایمیل: moeinfar.m@scu.ac.ir
تلفن: ۰۶۱۳۳۳۶۰۰۱۶

۱ مقدمه

اکثر آفت‌کش‌ها ترکیبات ارگانیک با گروه‌های عاملی متفاوت هستند که باعث ایزومرهای هندسی و اپتیکی می‌شوند. اکثر آفت‌کش‌ها در یونیزاسیون، قطبیت و حلالیت در آب درجات متفاوتی دارند. این ترکیبات، هنگام اسپری شدن در محیط زیست، تخریب و تجزیه می‌شوند. بنابراین، تجزیه و تحلیل آفت‌کش‌ها و متابولیت‌های آن‌ها در محیط زیست بسیار مهم است و روش‌های با قدرت تعیین و شناسایی بالا، کارایی تفکیک بالا، حساسیت زیاد و انتخاب‌گری منحصر بفرد برای آنالیز و جداسازی آن‌ها نیاز است. نیاز به فراهم کردن غذا برای جمعیت رو به رشد، افزایش استفاده از آفت‌کش‌ها و کودها را به دنبال دارد. در حالی‌که آفت‌کش‌هایی مانند تریازین، فنیل اوره، فنولیک اسید، کاربامات‌ها و غیره موجب افزایش تولید محصول گردیدند، حضورشان در هوا، خاک و آب نیز افزایش قابل توجهی داشته است. در طبیعت، بیش‌تر مواد شیمیایی تمایل به تجزیه به ترکیبات نسبتاً بی ضرر دارند، با این حال، برخی از آفت‌کش‌ها به اندازه کافی در برابر تجزیه شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی پایدار هستند. تداوم پایداری آفت‌کش‌ها با پارامتر $T_{1/2}$ مشخص می‌شود که مدت زمانی که محتوای مربوط به آفت‌کش‌ها در یک نمونه، در مقایسه با مقدار اولیه نصف شده است را نشان می‌دهد. پایداری آفت‌کش در طبیعت تحت تأثیر عواملی نظیر نوع آفت‌کش‌ها، نوع خاک، میزان رطوبت و دما است. تجزیه و تحلیل میزان باقی مانده آن‌ها در مواد غذایی، معیاری برای میزان پایداری آفت‌کش‌ها است. این‌ها پس از استفاده و مصرف، متحمل فرآیندهای مختلفی از قبیل تبخیر، جذب سطحی در خاکی با مواد آلی و رس زیاد، شستشه شدن و ورود به زمین و آب‌های سطحی و تجزیه شیمیایی، میکروبی، گرمایی و شکست نوری می‌شوند.

روش‌های تحلیلی باید بر اساس موارد زیر باشد:

چالش‌ها و مسائل:

۱. ضرورت تجزیه و تحلیل غلظت‌های بسیار پایین؛

۲. نیاز به استانداردهای تجزیه‌ای حاوی ترکیب هدف (آنالیت) در سطح قابل مقایسه با غلظت آن در نمونه‌های واقعی؛

۳. آماده سازی نمونه برای آنالیز نهایی نباید موجب افزایش آلودگی محیط زیست شود.

هدف از این بررسی، ارائه یک مقدمه برای همراستا کردن میکرو استخراج فاز جامد با کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) و کاربرد آن در تجزیه و تحلیل آفت‌کش‌ها در نمونه‌های مختلف است. در حالی که بررسی‌های قبلی بر روی SPME انجام گرفته بود، توجه بسیار کمی به ارتباط بین SPME با HPLC برای تجزیه و تحلیل آفت‌کش‌ها داده شده بود. اکثر کارها مربوط به SPME–GC است. بررسی فوق، یک مطالعه جامع از SPME–HPLC (جدول ۱) و کاربرد آن برای تجزیه و تحلیل آفت‌کش‌ها را ارائه می‌دهد.

TABLE 1
SPME-HPLC characteristics of pesticides

Pesticide analysed	Sample type	Amount of NaCl	Type of fiber	Extraction time	Type and time of desorption and solvent used	Column used LC/HPLC	Mobile phase	Rate of flow (mL/min)	Wave-length	Reference
PAH	Water sample	NR	7 μm PDMS	30 min	Static, Acetoni-trile/Water (90/10)	ODS phase, 5 μm, 250 mm, 2.1 mm i.d.	Acetonitrile/Water (90/10)	0.2 mL/min	254 nm	12
Diethylphthalates, phthalic acid and diethyl ester	Water	0.25 g/mL	60 μm PDMS/ DVB	15 min	Acetonitrile	Nucleosil C_{18}-50 dp coulmn, 0.5 μm, 250 mm, 3 mm i.d.	Acetonitrile/Water (52.5/47.5)	0.5 mL/min	226 nm	17
Phenothiazine	Blood and urine	NR	PA, 40°C	1 hr	10 min, (0.1% formic acid sol in 10mM ammonium acetate)/ actonitrile (7:3)	Capcell Pak C_{18}UG 120 column, 5 μm, 150 mm, 2 mm i.d.	(0.1% formic acid sol in 10 mM ammonium ac-etate)/actonitrile with gradient flow	0.2 mL/min	MS	19
Triazine herbicide, carbamate	Air dried soil extracted with HNO_3	.25 g/mL, pH 4	CW/TPR	24 hr	Dynamic, 5 min Methanol	Supelcosil LC-18, 150 mm, 2.1 mm i.d.	Water/methanol with gradient flow	0.2 mL/min	225 nm	21
Carbamates, carbaryl, propham, methiocarb, promecarb, chlorpropham, barban	NA	NA	In tube	NA	NA	Nova-pak C_{18}, 4 μm, 100 mm, 8 mm i.d.	Acetronitrile/water (50:50)	1.4 mL/min	220	33
Trimethyllead &triethyllead	Water sample	NA	In tube	NA	NA	NA	NA	450 μL/min	MS	35
Organophosphorus	Spiked water sample	NA	PA	NA	Supercritical fluid-CO_2	NA	Methanol/water (4/1)	NA	NA	37

(Continued on next page)

جدول ۱. خصوصیات SPME-HPLC آفت‌کش‌ها

TABLE 1
SPME-HPLC characteristics of pesticides *(Continued)*

Pesticide analysed	Sample type	Amount of NaCl	Type of fiber	Extraction time	Type and time of desorption and solvent used	Column used LC/HPLC	Mobile phase	Rate of flow (mL/min)	Wave-length	Reference
Chlorinated phenoxy acid herbicides	River water sample	NR	In-tube, DB-WAX coated silica capil-lary	NR	Acetronitrile	C-18 column	Acetronitrile/water containing 5 mmol/l of dibutyleamine acetate	LC/ESI-MS	MS	40
Alachlor	Water sample	NA	60 μm, PDMS/DVB		Static, 15 min Methanol/water (1:1)	C-18, 4 μm, 150 mm, 3.9 mm	Water/methanol (20/80)	1 mL/min	220 nm	41
Benzodiazepines (BZAZ), nitrazepam, flunitrazepam, fludiazepam, & medazepam	Urine (neutral weak alkaline pH)	Sat salt conc.	NR	60 min, 60°C	30 min, Acetroni-trile	Superiorex ODS Column, 150 mm, 1.5 mm i.d.	Acetronitrile/Water (35/65)	0.1 mL/min	220 nm	42
Thiocarbamate, herbicide, fungicide	Surface water	0.27 g/mL, NaCl	PA	3 hr, 60°C	30 min, Ace-tonitrile	LC, Superiorex ODS coulmn, 250 mm, 4.6 mm i.d.	Acetonitrile/water (9:11)	1 mL/min	220 nm	43
Bensulide, chlorothalonil, simazine, thiobencarb	Spiked water sample	0.0–0.3 g/mL	PA	30–240 min, 30–75°C	Static 10 min, dynamic 10 min, Super-critical CO_2	Luna ODS column, 5 μm, 150 mm, 4.6 mm i.d.	Acetonitrile/water (60:40)	1 mL/min	DAD	44
Methiocarb, napropamide fenoxycarb, bupirimates	Strawbarries	NR	60 μm, PDMS/DVB	45 min, room temp	Dynamic, 20 min, acetoni-trile/water (55/45)	Pinnacle ODS Amine column, 5 μm, 250 mm, 4.6 mm	Acetonitrile/water (55/45)	1 mL/min	DAD/200 nm	45

Alprenolol, atenolol, oxeprenolol, pindolol, propranolol and timolol	Urine and plasma sample	NR	85 μm, PA	2 hr, 30°C	0.05 M phosphoric acid/ methanol (55:45)	Capcell pack SG 120 column, 5 μm, 150 mm, 4.6 mm i.d.	0.05 M phosphoric acid/ methanol (55:45)	0.8 mL/min	280 nm	46
Avermictin & hydramethylnon	Water	NR	CW/TPR, PDMS/ DVB	10 min	methanol: water (90:10) or Acetron-trile/water/ triethy-lamine	NA	NA	NA	245/296	47
Carbendazim, diethofencarb, azoxystrobine napropamide, bupirimate	Strawberries	50 mg Na_2HPO_4,	60 μm, PDMS/ DVB	45 min	Acetrontrile/ water/ methanol (30:50:20)	Ultra IBD column, 5 μm, 250 mm, 4.6 mm i.d.	Acetrontrile/water/ methanol, (30:50:20)	1 mL/min	200–300 nm	48
Propham, siduron, linuron, chlorpham, barban & neburon	Water sampleg	NR	60 μm, PDMS/ DVB	40 min	Static extraction 5 min Acetroni-trile/water (13:7)	LC, supelcocil LC-8 column, 0.5 μm, 150 mm, 4.6 mm i.d.	Acetronitrile/water with gradient flow	2 mL/min	240 nm	49
Carbofuran	Water sampling	NaCl	60 μm, PDMS/ DVB	30 min	Static	C_{18} column, 0.5 μm, 150 mm, 4.6 mm i.d	Methanol/ ammonium acetate 0.1 M aqueous sol (40:60)	1.5 ml/min	200–380 nm	50

NA: Not available; NR: Not reported.

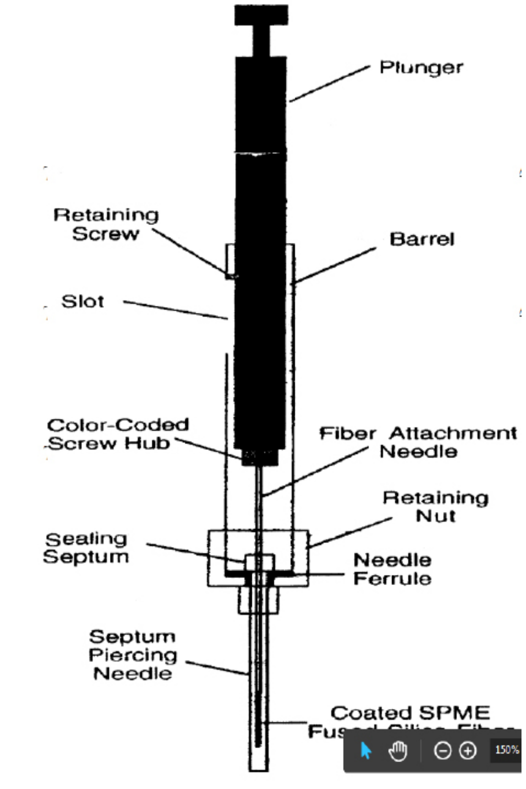
روش میکرواستخراج فاز جامد

روش‌های سنتی تجزیه و تحلیل باقی مانده آفت‌کش‌ها شامل استخراج آن‌ها توسط حلال قبل از تجزیه و تحلیل آن‌ها است. این استخراج زمان‌بر بوده و مصرف زیاد حلال را در پی دارد. به دلیل استفاده از حلال‌های آلی که باعث ایجاد مشکلات مربوط به آلودگی می‌شوند، نیاز به توسعه یک روش بدون حلال و حساس است. علاوه بر این، حلال‌های آلی هزینه زیادی دارند و نیاز فرایندهای زمان‌بر هستند. میکرواستخراج فاز جامد یک روش ابداع شده جدید در دانشگاه واترلو (انتاریو، کانادا) توسط Pawliszyn و همکاران می‌باشد و توسط شرکت ساپلکو (۱،۲) توسعه یافته است. این روش شامل جذب تعادلی آنالیت‌ها بر روی یک میکروفیبر کوچک می‌باشد که از فیبر نوری سیلیکای پیوندی با یک پوشش پلیمری آب‌گریز ساخته شده است. آنالیت‌ها، در هوا و یا در یک نمونه آب، با توجه به تمایل آن‌ها به فاز جامد، بر روی فیبر به تعادل می‌رسند. میکرو فیبر به دستگاه HPLC ملحق شده و ترکیبات هدف از فیبر، واجذب و به ستون برای جداسازی تحویل داده می‌شوند.

میکرواستخراج فاز جامد جفت شده با روش‌های کروماتوگرافی به عنوان یک تکنیک تحلیلی کاربرد گسترده‌ای به دست می‌آورند. این روش، بر اساس توزیع ترکیب هدف بین بافت پیچیده نمونه و فاز ثابت (پلی اکریلات، پلی دی متیل سیلوکسان و غیره) پوشش داده شده بر روی فیبر سیلیکای پیوندی است. ضریب توزیع، به تعادل حاصل شده بین غلظت ترکیب هدف در نمونه و مقدار جذب شده آن بر روی فیبر بستگی دارد.

طراحی میکرو استخراج فاز جامد

میکرو استخراج فاز جامد یک ابزار اصلاح شده شبیه به سرنگ است (شکل ۱). فیبر سیلیس پیوند شده دارای اندازه کوچک و استوانه‌ای شکل است که به یک لوله فولادی ضد زنگ متصل شده و مورد استفاده قرار می‌گیرد که استحکام مکانیکی بیش‌تری برای نمونه‌برداری‌های مکرر فیبر فراهم می‌کند. این لوله فولادی ضد زنگ به یک ابزار شبیه به سرنگ طراحی شده خاص، متصل است. فیبر سیلیکای پیوندی با یک فیلم نسبتاً نازک از چندین فاز ثابت پلیمری پوشش داده شده است. فیبر مونتاژ شده قابل استفاده مجدد و قابل تعویض است. شرکت ساپلکو (www.sigmaaldrich.com) هفت نوع مختلف از فیبرها را ارائه می‌دهد.



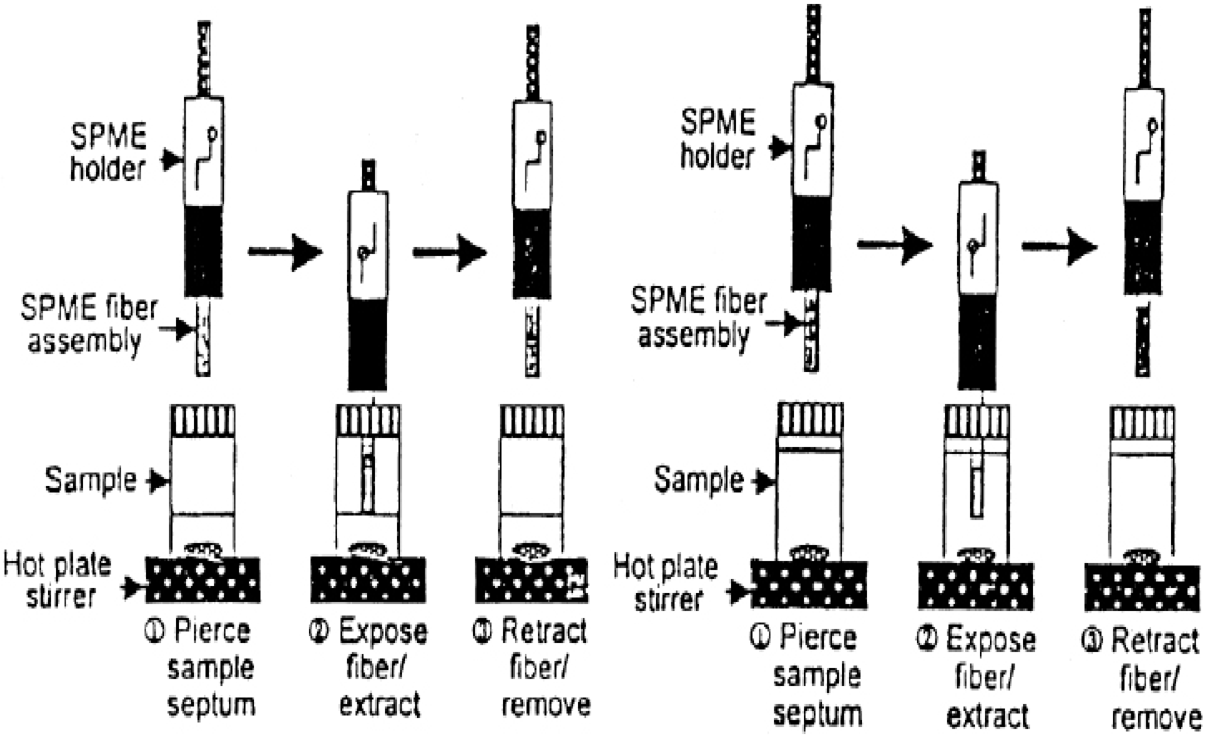
شکل ۱. دستگاه SPME

اندازه کوچک و شکل هندسی استوانه‌های فیبر دارای چندین مزیت مانند قرار دادن آسان فیبر پوشش داده شده با جاذب، درون نمونه یا در فضای فوقانی بالای نمونه برای استخراج آنالیت‌ها است؛ همچنین می‌تواند به راحتی در محفظه واجذب GC یا رابط HPLC بدون هیچ تغییر و اصلاحی در GC یا HPLC قرار گیرد.

برای عملکرد جذب و واجذب صحیح، حرکت و زمان‌بندی پیستون سرنگ باید به دقت کنترل شود. این امر، اهمیت زیادی در نمونه‌برداری و ممانعت از اتلاف آنالیت در حین انتقال دارد. برای انجام این کار، سوزن SPME طراحی شده باید با استفاده از یک سپتوم و یا سرد کردن سرنگ محکم شود.

کار با میکرواستخراج فاز جامد (SPME)

در طی فرایند میکرواستخراج فاز جامد (SPME)، فیبر ابتدا به درون سوزن سرنگ کشیده می‌شود و سپس به داخل ویال (که با یک سپتوم مهر و موم شده است) با فشار دادن پیستون پایین می‌رود. از فیبر سیلیکای پیوند شده با پوشش مناسب استفاده می‌شود که بستگی به ماهیت آنالیت دارد. فیبر باید قبل از آنالیز هر نمونه تمیز شود به طوری که آلاینده‌هایی که پس‌زمینه‌های بالا را در کروماتوگرافی ایجاد می‌کنند، حذف شوند. تمیز کردن می‌تواند در اتاقک واجذب دستگاه HPLC با استفاده از گذردهی حلال انجام شود. اکنون پوشش فیبر تمیز شده، در معرض یک ماتریکس نمونه برای یک دوره زمانی ثابت از قبل تعیین شده قرار می‌گیرد که نتیجه آن، جذب آنالیت بر روی پوشش فیبر است (شکل ۲).



شکل ۲. فضای فوقانی(Headspace) و غوطه‌ورسازی SPME

این استخراج را می‌توان در دو مرحله انجام داد (۳):

۱) میکرواستخراج فاز جامد در فضای فوقانی (HS-SPME)که در آن فیبر در معرض فاز بخار بالای یک نمونه گاز، مایع یا جامد قرار دارد و ۲) میکرواستخراج فاز جامد مستقیم (DI-SPME)، که در آن فیبر به طور مستقیم در نمونه‌های مایع فرو برده می‌شود.

چندین روش برای بهبود استخراج با گذشت زمان پیشرفت کرده است، از جمله نمک‌زنی، خنک‌سازی داخلی فیبر (٤)، مشتق‌سازی (٥، ٦)، ارتعاش زمین (۷) / چرخش فیبر (۸).

الف) حلالیت آنالیت مورد نظر را می‌توان با افزودن نمک در نمونه‌های مایع کاهش داد. این باعث بهبود استخراج فضای فوقانی و در نتیجه کلی، ضریب توزیع نمونه/SPME می‌شود.

ب) افزایش دمای نمونه باعث افزایش دانسیته بخار آنالیت می‌شود، اما افزایش درجه حرارت بر روی پوشش فیبر تأثیر می‌گذارد. جایی که درجه حرارت نمونه افزایش می‌یابد، خنک‌سازی داخلی فیبر انجام می‌شود. این رویکرد، تضمین افزایش حساسیت به دلیل افزایش ضریب توزیع فضای فوقانی/ نمونه (با توجه به افزایش دمای نمونه) و فیبر/ فضای فوقانی (به علت کاهش دمای فیبر) است.

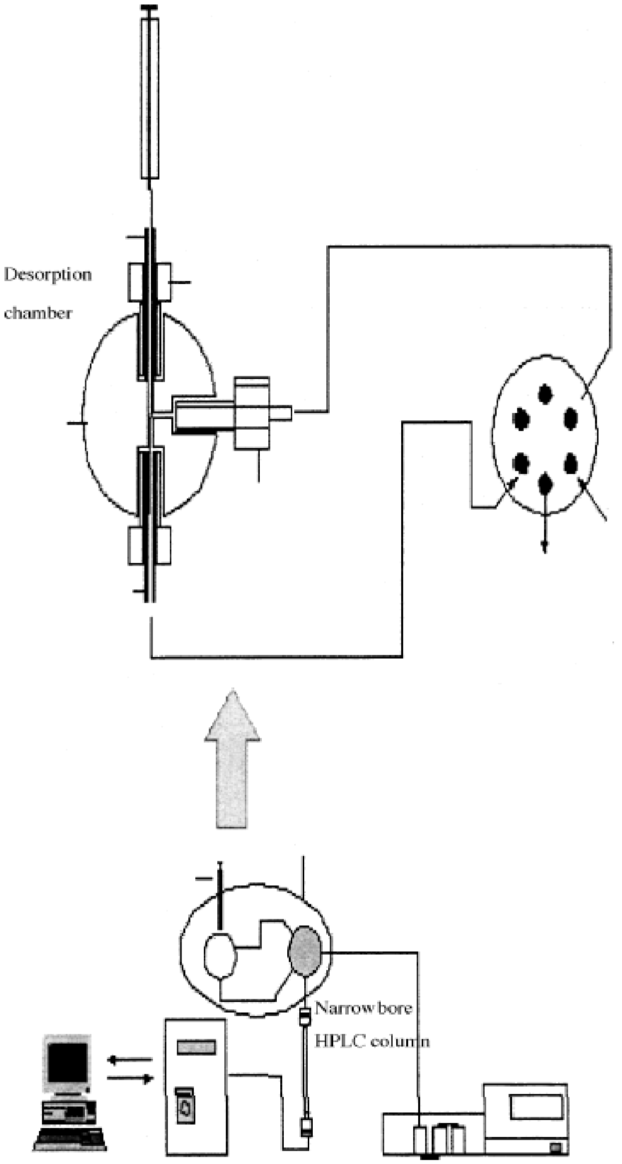
ج) مشتق‌سازی بر مبنای تبدیل آنالیت به ترکیب دیگری به وسیله واکنش با یک واکنش‌گر خاص انتخاب شده (مشتق‌سازی ماتریکس نامیده می‌شود) و یا با فرو بردن پوشش فیبر در واکنش‌گر مناسب می‌باشد به طوری که فیبر برای آنالیت مورد نظر گزینش‌پذیری بیش‌تری می‌یابد. مشتق‌سازی، آنالیت را برای میکرواستخراج فاز جامد (SPME) مناسب‌تر می‌سازد (٥ و٦).

اگر چه SPME دارای حداکثر حساسیت در تقسیم تعادلی است، یک رابطه متناسب بین دو مقدار آنالیت جذب شده توسط فیبر SPME و غلظت اولیه آن در ماتریکس نمونه قبل از رسیدن به تقسیم تعادلی بدست می‌آید (۹و۱۰)، که بدان معنی است برای آنالیز کمّی توسط SPME تعادل کامل لازم نیست. هم‌چنین جذب بسیاری از گونه‌های شیمیایی خاص مانند PCBs (۱۱) بر روی فیبر، فرایند آهسته‌ای است و نمونه‌برداری ممکن است چند روز طول بکشد. یک مدل دینامیک توسط Ai پیشنهاد شده است (۹) که یک نتیجه مدل این است مقدار آنالیت جذب شده در فیبر متناسب با غلظت اولیه آنالیت در ماتریکس نمونه، هنگامی که شرایط همزدن و زمان نمونه‌برداری ثابت نگه داشته می‌شود، خواهد بود.

و از این رو، مشتق‌سازی SPME قبل از جذب به تعادل رسیده باشد، امکان‌پذیر است. پس از نمونه‌برداری کامل، فیبر به طور مستقیم به رابط مخصوص طراحی شده متصل به HPLC جهت واجذب آنالیت منتقل شده و سپس آنالیز انجام می‌شود.

ارتباط SPME با HPLC

یک نوع ویژه رابط شش پورت (۱)، که SPME با HPLC جفت می‌کند، توسط پائولوشین توسعه یافته و توسط شرکت ساپلکو فروخته شد (شکل ۳) (۱۲)



شکل ۳. ارتباط SPME با HPLC (باز تولید با مجوز شرکت ساپلکو).

استفاده از حداقل مقدار حلال انجام شود. بخشی از آب حاوی آفتکش‌های پروفام، سیدیورون، لینیورون، کلروپروفام، باربان و نبورون تا مقدار حداقل ppb ۱/۵ (۱۴) اندازه‌گیری می‌شوند هنگامی که فیبر SPME پوشش داده شده با پلی دی متیل سیلوکسان /دی وینیل بنزن در معرض آن قرار داشته باشد.

انتخاب فیبر

میکرواستخراج فاز جامد (SPME) دارای مزایای سادگی، هزینه کم، سهولت استفاده، پیش تغلیظ و استخراج سریع در مقایسه با دیگر روش‌های آماده‌سازی نمونه می‌باشد. این روش، به دلیل عدم دسترسی به فیبرهایی که در حلال‌های قوی آلی پایدار و با دوام باشند، به برنامه HPLC محدود شده است. انتخاب فیبر مناسب برای استخراج کارآمد آنالیت از نمونه اهمیت دارد، و باید بر اساس ماهیت آنالیت باشد. هفت نوع مختلف فیبرهای در دسترس شرکت ساپلکو (Supelco) وجود دارد: پلی دی متیل سیلوکسان (PDMS) (۱۶و۱۵)، پلی دی متیل سیلوکسان / دی وینیل بنزن (PDMS / DVB) (۱۷و۱۴)، پلی دی متیل سیلوکسان / دی وینیل بنزن (PDMS / DVB) انعطاف‌پذیر پایدار، پلی آکریلات (PA) (۲۱و۲۰و۱۹و۱۸)، کربوکسن/ پلی دی متیل سیلوکسان (CAR/PDMS)، کربووکس/ دی وینیل بنزن (CV/ DVB) (۲۲،۲۳،۲۴،۲۵)، دی وینیل بنزن/ کربوکسن/ پلی دی متیل سیلوکسان (DVB/ CAR/PDMS) انعطاف‌پذیر پایدار.

معمولا ترکیبات با وزن مولکولی کم یا فرّار به فیبر پوشش داده شده با PDMS ۱۰۰ میکرومتری نیاز دارند. ترکیبات با وزن مولکولی بیش‌تر و یا نیمه فرّار با فیبر PDMS ، ۷ یا ۳۰ میکرومتری بهتر استخراج می‌شوند. به منظور استخراج آنالیت‌های بسیار قطبی از نمونه‌های عموماً قطبی، از یک فیبر ۸۵ میکرومتری با پوشش PA استفاده می‌شود. آنالیت‌های قطبی بسیار فرّار، مانند الکل‌ها یا آمین‌ها به طور مؤثری بر روی فیبر پوشش داده شده با PDMS/DVB به ضخامت ۶۵ میکرومتر جذب می‌شوند و به سرعت نیز آزاد می‌شوند. یک فیبر ۶۰ میکرومتری پوشش داده شده از PDMS/DVB به طور کلی یک فیبر هدف برای HPLC است. برای آنالیز مقادیر کم ترکیبات فرّار، استفاده از فیبر ۷۵ میکرومتری PDMS/Carboxen توصیه می‌شود.

برای طیف وسیعی از آنالیت‌ها (C_3-C_{20})، بر روی فیبر PDMS، از پوشش DVB/Carboxan با نسبت ترکیب ۵۰/۳۰ استفاده شود. اکثر این فیبرها با حلال‌های HPLC سازگاری دارند، اما فیبرهای پوشش داده شده PDMS با ضخامت‌های ۱۰۰، ۳۰ و ۷ میکرومتری را نمی‌توان با حلال هگزان استفاده کرد. برخی از اصلاحات فیبر شرح داده شده با استفاده از فرایند سل- ژل صورت می‌گیرد (۲۶)، این فیبرها در حلال‌های آلی قوی (زایلن و متیلن کلرید) و نیز محلول‌های اسیدی و بازی پایدار هستند. پایداری هیدرولیتیکی این فیبرهای میکرواستخراج (SPME) تهیه شده با فرایند سل-ژل، در برابر حلال‌های آلی و محلول‌های با pH بالا و پایین می‌تواند به این واقعیت اشاره داشته باشد که پیوند پوشش با سطح بستر سیلیکای پیوندی، شیمیایی است. این فیبرها به ترتیب برای استخراج اورگانو-آرسنیک، اورگانو-جیوه و ترکیبات اورگانو-قلع از محلول‌های آبی سپس جداسازی با استفاده از HPLC با تشخیص میزان جذب UV انجام می‌شود. SPME کاهش جزئی یکی از کاربردهای SPME است که در آن بخش ناچیزی از کنستانترهای که آزادنه حل شده استخراج می‌شود. بنابراین، می‌تواند برای اندازه‌گیری کنسانتره حل شده به صورت آزاد (۲۸) و ضریب تقسیم (۲۹) مورد استفاده قرار گیرد. یک روش جایگزین که بوسیله آراندا و همکارانش توسعه داده شده است (۳۰) استفاده از گرافیت‌های پلی کریستالی (مغزی مداد و کربن شیشه‌ای) به عنوان جاذب برای میکرواستخراج فاز جامد (SPME) یک سورفاکتانت غیر یونی آلکیل فنول اتوکسیلات (تریتون X-100) است. آنالیز با استفاده از HPLC فاز معکوس با تشخیص میزان فلورسانس انجام شد. حضور حلقه بنزنی مزدوج در تریتون X-100، تشخیص مستقیم آن‌ها در طول موج نشری ۱۳۰ نانومتر (برانگیختگی در ۲۳۰نانومتر) را امکان پذیر می‌سازد. نتایج بدست آمده، با نتایج حاصل از استفاده فیبرهای پلیمری مانند PDMS / DVB و Carbowax/TPR مقایسه گردید. مقاومت شیمیایی و هزینه کم گرافیت‌های پلی کریستالی، بیش از فیبرهای در دسترس تجاری، دارای مزیت است.

لیائو و همکاران (۱۳) روشی گزارش دادند که در آن فیبر سیلیکای پیوندی پس از فعال شدن در متاکریلوکسی پروپیل تری متوکسی سیلان و از طریق فرو بردن آن در بافر فسفات سدیم با غلظت ۰/۰۵ مولار با pH =۷ حاوی ۵۰ درصد اسید اکریلیک، آمونیوم پرسولفات و N'N'NN-تترا متیل اتیلن دی آمین برای ۱۲ ساعت با اسید پلی اکریلیک پوشش داده شد.

PAH (Polycyclic Aromatic Hydrocarbon) در آب با استفاده از یک فیبر۱۰۰ میکرومتری پلی دی متیل سیلوکسان (۱۶) و نیز با فیبر پلی (دی متیل سیلان) (۱۴،۱) تعیین گردید.

این رابط کاربردی مزایای SPME را به عنوان یک روش نمونه‌برداری سریع، بدون حلال، قابل حمل، و ارزان حفظ می‌کند. علاوه بر این، امکان آنالیز ترکیبات آلی نیمه فرّار و غیر فرّار در آب را که آنالیز آن‌ها با کروماتوگرافی گازی (GC) بسیار مشکل است، فراهم می‌کند. به عنوان مثال، برخی از آفت‌کش‌های ارگانوفسفره، فرّاریت کمی داشته که این رابط کاربردی گزینه خوبی برای آنالیز آن‌ها فراهم می‌کند.

رابط SPME-HPLC شامل سه بخش زیر است:

۱) ابزار SPME 2) رابط ۳) دستگاه HPLC

SPME مونتاژ شده مشابه آنچه در بالا بحث شده، است. نوع فیبر انتخاب شده بستگی به قطبیت آنالیت و زمان مورد نیاز برای واجذب دارد. زمان به نوبه خود به ضخامت پوشش فیبر بستگی دارد (۱۲) ($TIME=L^2 / 2D$)، که L ضخامت پوشش و D ضریب نفوذ یک آنالیت است.

یک رابط معمول SPME-HPLC (۱۳) توسط پائولوشین و همکارانش گزارش داده شده بود (۱۲) اصلاح گردید به طوری که فیبر در محفظه تزریق درون یک قطعه لوله مانند گسترش یافته است. این لوله در طول واجذب (به طور مداوم یا با جرقه حرارتی) با استفاده از یک سیم پیچ حرارتی در اطراف محفظه با منبع تغذیه D.C یا سیستم تخلیه خازنی حرارتی سریع گرم می‌شود.

واجذب آنالیت

دو نوع از روش‌های واجذب که براساس نوع برهمکنش بین آنالیت و فیبر استفاده می‌شود واجذب استاتیک (۱۴، ۱۵) و واجذب دینامیک است. هنگامی که آنالیت به طور قوی در فیبر جذب نشده است، حالت واجذب دینامیک کافی است؛ در اینجا آنالیت می‌تواند با جریانی از فاز متحرک جدا شود. اما هنگامی که آنالیت‌ها به طور قوی بر روی فیبر جذب می‌شوند، فیبر برای زمان مشخصی در فاز متحرک یا حلال قوی دیگری فرو برده می‌شود. واجذب انجام شده در این روش، به عنوان استاتیک شناخته می‌شود. پس از واجذب، فیبر در ستون دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) تزریق می‌شود هر نوع از واجذب باید با استفاده از حداقل مقدار حلال انجام شود. بخشی از آب حاوی آفت‌کش‌های پروفام، سیدیورون، لینیورون، کلروپروفام، باربان و نبورون تا مقدار حداقل ۱/۵ BPP (۴۱) اندازه‌گیری می‌شوند هنگامی که فیبر EMPS پوشش داده شده با پلی دی متیل سیلوکسان /دی وینیل بنزن در معرض آن قرار داشته باشد.

انتخاب فیبر

میکرواستخراج فاز جامد (SPME) دارای مزایای سادگی، هزینه کم، سهولت استفاده، پیش تغلیظ و استخراج سریع در مقایسه با دیگر روش‌های آماده‌سازی نمونه می‌باشد. این روش، به دلیل عدم دسترسی به فیبرهایی که در حلال‌های قوی آلی پایدار و با دوام باشند، به برنامه HPLC محدود شده است. انتخاب فیبر مناسب برای استخراج کارآمد آنالیت از نمونه اهمیت دارد، و باید بر اساس ماهیت آنالیت باشد. هفت نوع مختلف فیبرهای در دسترس شرکت ساپلکو (SUPELCO) وجود دارد: پلی دی متیل سیلوکسان (PDMS) (۱۶و۱۵)، پلی دی متیل سیلوکسان / دی وینیل بنزن (PDMS/DVB) (۱۷و۱۴)، پلی دی متیل سیلوکسان / دی وینیل بنزن (PDMS / DVB) انعطاف‌پذیر پایدار، پلی آکریلات (PA) (۱۲و۲۰و۱۹و۱۸)، کربوکسن/ پلی دی متیل سیلوکسان (DVB/PDMS)، کربووکس/ دی وینیل بنزن (CW/ DVB) (۲۲،۲۳،۲۴،۲۵)، دی وینیل بنزن/ کربوکسن/ پلی دی متیل سیلوکسان (DVB/CAR/PDMS) انعطاف‌پذیر پایدار.

معمولا ترکیبات با وزن مولکولی کم یا فرّار به فیبر پوشش داده شده با PDMS ۱۰۰ میکرومتری نیاز دارند. ترکیبات با وزن مولکولی بیش‌تر و یا نیمه‌فرّار با فیبر PDMS ، ۷ یا ۳۰ میکرومتری بهتر استخراج می‌شوند. به منظور استخراج آنالیت‌های بسیار قطبی از نمونه‌های عموماً قطبی، از یک فیبر ۸۵ میکرومتری با پوشش PA استفاده می‌شود. آنالیت‌های قطبی بسیار فرّار، مانند الکل‌ها یا آمین‌ها به طور مؤثری بر روی فیبر پوشش داده شده با PDMS/DVB به ضخامت ۶۵ میکرومتر جذب می‌شوند و به سرعت نیز آزاد می‌شوند. یک فیبر ۶۰ میکرومتری پوشش داده شده از PDMS/DVB به طور کلی یک فیبر هدف برای HPLC است. برای آنالیز مقادیر کم ترکیبات فرّار، استفاده از فیبر ۷۵ میکرومتری PDMS/CARBOXEN توصیه می‌شود. برای طیف وسیعی از آنالیت‌ها (C_3-C_{20})، بر روی فیبر PDMS، از پوشش DVB/CARBOXAN با نسبت ترکیب ۵۰/۳۰ استفاده شود. اکثر این فیبرها با حلال‌های HPLC سازگاری دارند، اما فیبرهای پوشش داده شده PDMS با ضخامت‌های ۱۰۰، ۳۰ و ۷ میکرومتری را نمی‌توان با حلال هگزان استفاده کرد. برخی از اصلاحات فیبر شرح داده شده با استفاده از فرایند سل- ژل صورت می‌گیرد (۶۲)، این فیبرها در حلال‌های آلی قوی (زایلن و متیلن کلرید) و نیز محلول‌های اسیدی و بازی پایدار هستند. پایداری هیدرولیتیکی این فیبرهای میکرواستخراج (SPME) تهیه شده با فرایند سل-ژل، در برابر حلال‌های آلی و محلول‌های با PH بالا و پایین می‌تواند به این واقعیت اشاره داشته باشد که پیوند پوشش با سطح بستر سیلیکای پیوندی، شیمیایی است. این فیبرها به ترتیب برای استخراج اورگانو-آرسنیک،

اورگانو-جیوه و ترکیبات اورگانو-قلع از محلول‌های آبی سپس جداسازی با استفاده از HPLC با تشخیص میزان جذب UV انجام می‌شود. SPME کاهش جزئی یکی از کاربردهای SPME است که در آن بخش ناچیزی از کنستانترهای که آزادنه حل شده استخراج می‌شود. بنابراین، میتواند برای اندازه‌گیری کنسانتره حل شده به صورت آزاد (۲۸) و ضریب تقسیم (۲۹) مورد استفاده قرار گیرد.

یک روش جایگزین که بوسیله آراندا و همکارانش توسعه داده شده است (۳۰) استفاده از گرافیتهای پلی کریستالی (مغزی مداد و کربن شیشه‌ای) به عنوان جاذب برای میکرواستخراج فاز جامد (SPME) یک سورفاکتانت غیر یونی آلکیل فنول اتوکسیلات (تریتون X-100) است. آنالیز با استفاده از HPLC فاز معکوس با تشخیص میزان فلورسانس انجام شد. حضور حلقه بنزنی مزدوج در تریتون X-100، تشخیص مستقیم آنها در طول موج نشری ۳۱۰ نانومتر (برانگیختگی در ۲۳۰ نانومتر) را امکان پذیر می‌سازد. نتایج بدست آمده، با نتایج حاصل از استفاده فیبرهای پلیمری مانند PDMS / DVB و Carbo-wax / TPR مقایسه گردید. مقاومت شیمیایی و هزینه کم گرافیت‌های پلی کریستالی، بیش از فیبرهای در دسترس تجاری، دارای مزیت است.

لیائو و همکاران (۳۱) روشی گزارش دادند که در آن فیبر سیلیکای پیوندی پس از فعال شدن در متاکریلوکسی پروپیل تری متوکسی سیلان و از طریق فرو بردن آن در بافر فسفات سدیم با غلظت ۰/۰۵ مولار با pH =۷ حاوی ۵۰ درصد اسید اکریلیک، آمونیوم پرسولفات و N'N'NN-تترا متیل اتیلن دی آمین برای ۱۲ ساعت با اسید پلی اکریلیک پوشش داده شد.

در آب با استفاده از یک فیبر ۱۰۰ میکرومتری پلی دی متیل سیلوکسان (۶۱) و نیز با فیبر پلی (دی متیل سیلان) (۱،۴۱) تعیین گردید.

پلی دی متیل سیلوکسان/ دی وینیل بنزن (PDMS/DVB)

HAP (Polycyclic Aromatic Hydrocarbon) یک فیبر پلی دی متیل سیلوکسان/ دی وینیل بنزن (PDMS/DVB) ۶۰ میکرومتری آماده‌سازی شده با استونیتریل برای تعیین دی اتیل فتالات (۱۷) و دیگر سموم دفع آفات کلروپروفام، سیدرون، لینیورون، ، باربان و نبورون استفاده شد

پلی آکریلات (PA) Polyacrylate

سیمازین، تیرام، کلروتالونیل، بنسولید، تیوبنکارب و EPN در آب با استفاده از فیبر پلی آکریلات تعیین و اندازه‌گیری گردید. بازیابی و انتخاب‌گری میکرواستخراج فاز جامد (SPME) برای آفتکش‌های بسیار قطبی مانند سیمازین و کاربامات‌ها (۲۱) پایین است. فنوتیازین در مایعات بدن انسان (۹۱)، آفتکش‌های قطبی در خاک (۱۲) و سایر آفتکش‌ها (۲۰) با استفاده از یک فیبر با پوشش پلی اکریلات آنالیز می‌شوند. حد تشخیص با ستون با قطر داخلی ۴/۶، ppb ۸ -۰/۵ و با ستون با قطر داخلی ۱/۵، ppb ۵ -۰/۱ (۲۰) بود.

کربووکس (Carbowax)

کوئینولون‌ها در نمونه‌های اسید هیومیک / بافر بر روی فیبرهای میکرواستخراج فاز جامد کربووکس/ رزین پلیمری قالب بندیشده (Carbowax/Templated Polemr Resin) استخراج می‌شوند، سپس در یک ستون C-18 ، ۵ میکرومتری با شویش گرادیانی و با فاز متحرک H_2O/Metanol/H_3PO_4 (2mM) در طول موج جذبی ۲۶۰ نانومتر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (۷۲).

رزین قالبی کربووکس (CAR/TPR)

میکرواستخراج فاز جامد با استفاده از فیبر Carbowax / Template Resin برای تعیین مایکوتوکسین سیکلوپیازونیک اسید (CPA) (۲۲) و ترکیبات فنلی آلاینده در نمونه‌های آب (۲۳) بهینه شده است. تحت شرایط بهینه شده، حد تشخیص از ۱تا۱۰ میکروگرم در لیتر بدست آمده است.

کاربردهای SPME-HPLC برای آفت‌کش‌های مختلف

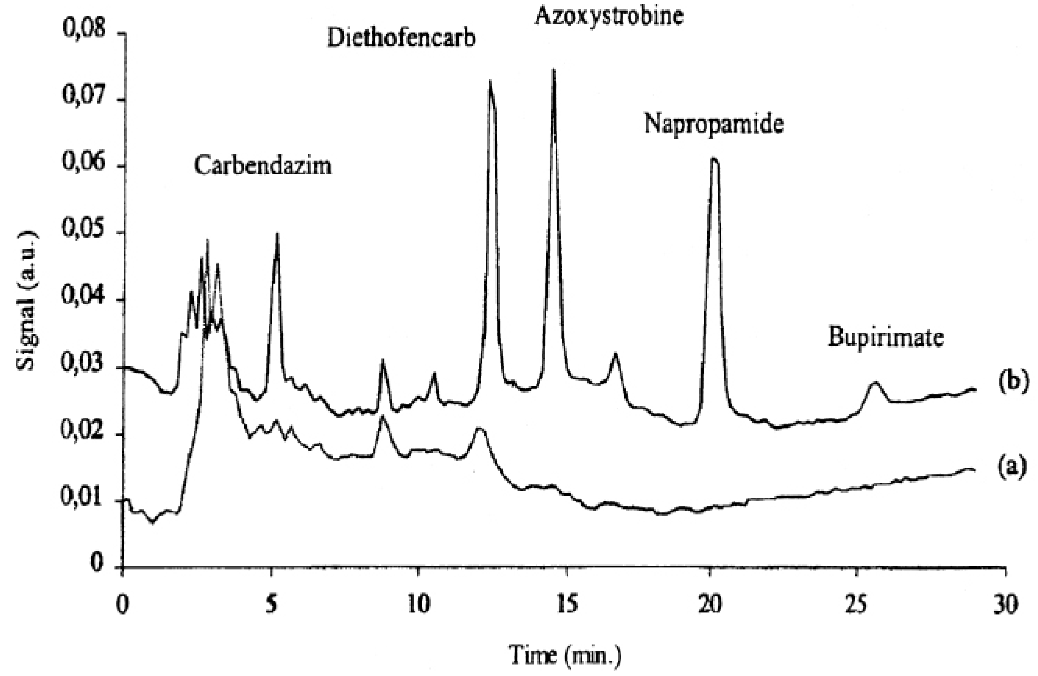
کارباماتها

کاربامات‌ها گروهی از حشره‌کش‌ها هستند که دارای فعالیت آنتی کولین استراز هستند. سه زیر گروه اصلی وجود دارد: زیر گروه A شامل کارباریل، پروپوکسور، متالکامات، متیوکارب؛ زیر گروه B شامل کاّربوفوران، پیریمیکارب و زیر گروه C شامل آلدیکارب، اگزامیل، متومیل است. حشره‌کش‌های کاربامات به ویژه برای مقابله با شته‌ها و آفات دیگری که در برابر ترکیبات ارگانوفسفره مقاومت دارند مفید هستند، یا آنکه به دلایل دیگری کنترل آنها دشوار است. مگس سفید ، مینوزهای برگ، مورچه‌ها، شپشک آرد آلود، حشرات فلس‌دار، سوسک‌ها، آب دزدک‌ها و زنبورها جزء جانورانی هستند که توسط کاربامات‌های مختلف کنترل می‌شوند.

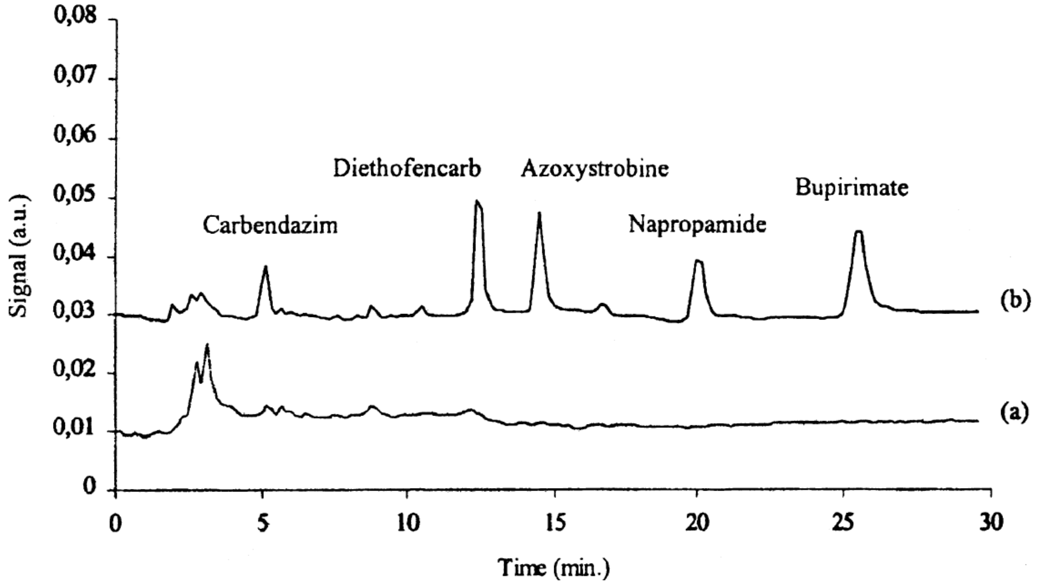
مقایسه دو نمونه ساخته شده تجاری نمونه‌بردار خودکار برای اتصال همزمان میکرواستخراج فاز جامد در لوله (In tube SPME) با HPLC ، برای آنالیز

کاربامات‌ها در نمونه‌های آب مقایسه شدند (۲۳). In-tube SPME یک روش جدید آماده‌سازی نمونه همزمان است که به راحتی بر روی نمونه‌بردار خودکار (اتوسمپلر) HPLC متداول نصب می‌شود و قبلاً با نمونه‌بردار کاملاً اتوماتیک شده LC Packings بدون آنکه اصلاحی در خود نمونه‌بردار اتوماتیک صورت گیرد (FAMOS)، استفاده گشت. به طور کامل فرایندهای استخراج و واجذب با این سیستم برای گروهی از آفت‌کش‌های کاربامات در نمونه‌های آب مورد مطالعه قرار گرفتند. در طول توسعه روش، شباهت‌ها و تفاوت‌های موجود در In-tube SPME با دو نمونه از نمونه‌بردارهای خودکار مختلف، FAMOS و Hewlett Packard، مقایسه شدند (۲۳).

In-tube SPME یک نوع خودکار از SPME است که می‌تواند به راحتی به یک نمونه‌بردار خودکار متداول HPLC برای آماده‌سازی، جداسازی و اندازه‌گیری کمّی همزمان نمونه متصل شود. این نوع، SPME «in-tube» نامیده می‌شود، زیرا فاز استخراج در داخل یک بخش از لوله سیلیکای پیوندی پوشش داده شده است به جای آنکه پوشش بر روی سطح یک میله سیلیکای پیوندی مانند سرنگ معمول SPME قرار گیرد. روش جدید به عنوان یک روش استخراج بسیار کارآمد برای آنالیز نمونه‌های قطبی و ناپایدار گرمایی نشان داده شده است. روش In-tube SPME-HPLC با نمونهبردار اتوماتیک FAMOS از LC Packings مورد استفاده قرار گرفت و برای شناسایی آفت‌کش‌های کاربامات قطبی در نمونه‌های آب تمیز توسعه داده شد. پارامترهای اصلی مربوط به فرایندهای استخراج و واجذب در روش In-tube میکرواستخراج فاز جامد (SPME) (شامل انتخاب پوشش‌ها، مراحل تخلیه/ توزیع، انتخاب حلال‌های واجذب و کارایی حلال واجذب و غیره) مورد بررسی قرار گرفتند. این روش، با توجه به تکرارپذیری، محدوده خطی و حد تشخیص مورد ارزیابی قرارگرفت. این روش، ساده، موثر، قابل تکرارپذیر و حساس است. انحراف استاندارد نسبی برای همه کاربامات‌های مورد بررسی، بین ۱/۷ درصد و ۵/۳ درصد بود. برای کاربامات‌های مورد مطالعه، حد تشخیص مشاهده شده کمتر یا مشابه با آژانس حفاظت از محیط زیست .U.S و یا روش‌های بین‌المللی بررسی آفت‌کش‌ها است. تشخیص کاربارِیل موجود در نمونه‌های آب تمیز تا ۱ نانوگرم در لیتر امکان‌پذیر بود (۳۳). استخراج با کمک مایکروویو متمرکز (FMAE) و میکرواستخراج فاز جامد (SPME) متصل شده به کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) برای تعیین آفت‌کش‌ها در توت فرنگی (شکل ٤) برای پنج ترکیب (کربندازیم، دیاتوفنکارب، آزوکسی استروبین، ناپروپامید و بوپریمات) که آنها را نمی‌توان به راحتی بوسیله کروماتوگرافی گازی (GC) آنالیز نمود، استفاده گردید.

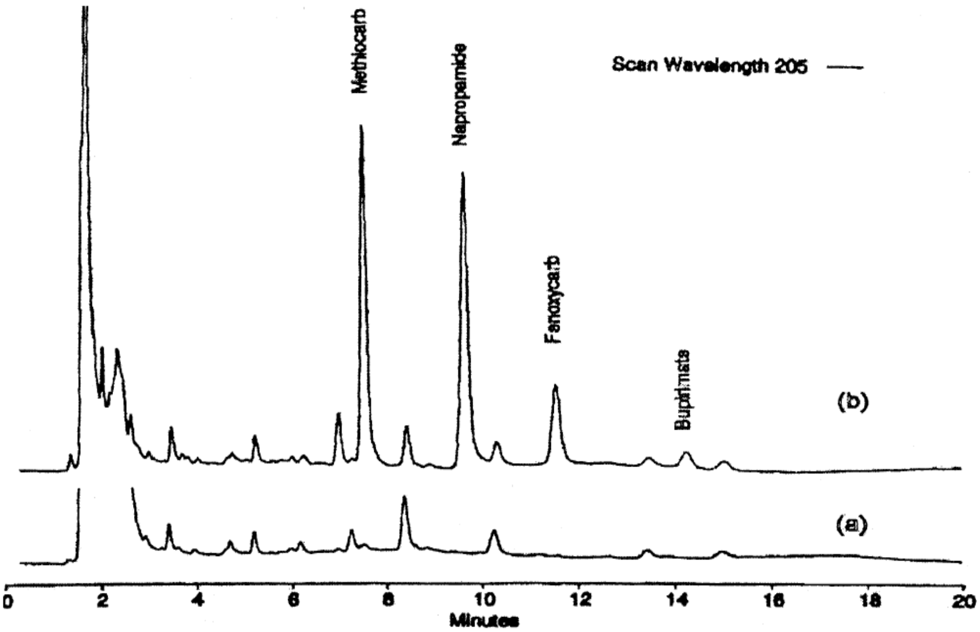


شکل ۴A. کروماتوگرام‌های SPME/HPLC عصاره توت‌فرنگی شناسایی شده در طول موج ۵۰۲ نانومتر: a) توت‌فرنگی شاهد؛ b) توت‌فرنگی spike شده در ۰/۳ میلی‌گرم/ کیلوگرم. باز تولید با مجوز زامبونین و همکاران (۲۲).

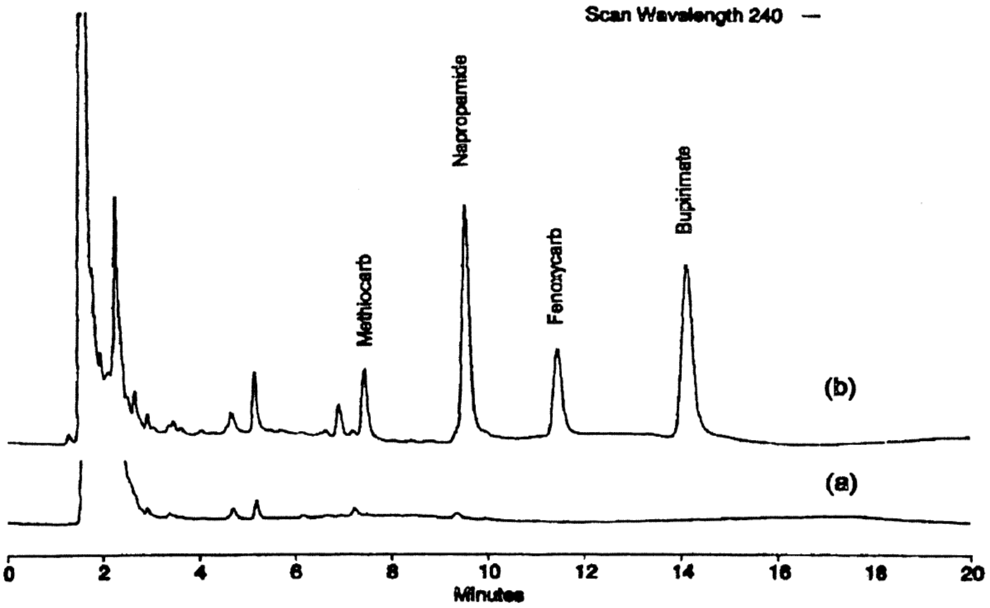


شکل ۴B. کروماتوگرام‌های SPME/HPLC عصاره توت‌فرنگی شناسایی شده در طول موج ۰۴۲ نانومتر: a) توت‌فرنگی شاهد؛ b) توت‌فرنگی spiked شده در ۰/۳ میلی‌گرم/ کیلوگرم. باز تولید با مجوز زامبونین و همکاران (۲۲).

متیوکارب، ناپروپامید، فنوکسیکارب و بوپریمات (٥٤) (شکل ٥) از نمونه‌های توت فرنگی spiked شده، با استفاده از فیبر سیلیکای پوشش داده شده با پلی دی متیل سیلوکسان/دی وینیل بنزن و تشخیص با آشکارساز فوتو دیود اری در طول موج ٥٠٢ نانومتر و ٠٤٢ نانومتر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. حد تشخیص برای متیوکارب، ناپروپامید، فنوکسیکارب و بوپریمات در طول موج ٥٠٢ نانومتر، به ترتیب ٥١، ٠١، ٥٢ و ٠٥ میلیگرم بر کیلوگرم و در طول موج ٠٤٢ نانومتر، به ترتیب ٠٥، ٢١، ٥٢ و ٢١ میلیگرم بر کیلوگرم بود.



شکل ٥A. کروماتوگرام‌های SPME/HPLC عصاره توت‌فرنگی شناسایی شده در ٥٠٢ نانومتر: a) توت‌فرنگی شاهد؛ b) توت‌فرنگی spiked شده در ٠/٥ میلی‌گرم/ کیلوگرم. باز تولید با مجوز وانگ و همکاران (٥٤).



شکل 5B. کروماتوگرام‌های SPME/HPLC عصاره توت‌فرنگی شناسایی شده در ۲۴۰ نانومتر: a) توت‌فرنگی شاهد؛ b) توت‌فرنگی spiked شده در ۰/۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم. باز تولید با مجوز وانگ و همکاران (۵٤).

هم‌چنین میکرواستخراج فاز جامد (SPME) برای استخراج و آنالیز کاربامات و کود اوره با استفاده از فیبر پلی دی متیل سیلوکسان/ دی وینیل بنزن بکار رفت. شکل ٦ به وضوح استخراج آفت‌کش‌ها پس از پیش تغلیظ در سطوح پایین را نشان میدهد.

مختل کننده‌های غدد درون‌ریز

سیستم غدد درون‌ریز در انسان و دیگر حیوانات هورمون‌هایی تولید می‌کند که فرآیندهای مختلف بدن مانند متابولیسم و تکثیر را تنظیم می‌کنند که برای شیمی زندگی، حیاتی هستند (به عنوان مثال، انسولین شکر را تجزیه می‌کند، آدرنالین باعث افزایش هیجان و سطح هوشیاری ما شده بنابراین ما می‌توانیم با استرس یا خطر برخورد کنیم) تحقیقات نشان داده است که مقادیر بالا برخی از فتالات‌ها مانع رشد جنسی موش‌های نر می‌شود.

یک روش آنلاین خودکار برای آنالیز اختلالات غدد درون ریز توسط Kataoka و همکاران (۳٤) توسعه یافت. مختل کننده‌های احتمالی غدد درون ریز، بیس فنول، آلکیل فنول‌ها و استرهای فتالات در این مطالعه، به خوبی با یک ستون ODS Hypersil، با آشکارساز دیود اری و با استفاده از استونیتریل/آب به عنوان فاز متحرک از هم جدا شدند. تعیین مقادیر بسیار کم از دی اتیل فتالات (۱۷) در مایعات آبی به وسیله میکرواستخراج فاز جامد-کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (SPME-HPLC) با استفاده از یک فیبر ٦۰ میکرومتری آماده‌سازی شده با استونیتریل پلی دی متیل سیلوکسان/دی وینیل بنزن انجام شد. پس از استخراج، فیبر خارج شده و در رابط بین دریچه‌های سیستم سوئیچ ستون، قرار گرفت. فیبر به طور مستقیم درون ستون HPLC قرار گرفت. دی اتیل فتالات در یک ستون ۵ میکرومتری C-18 Nucleosil آنالیز شد.

آفت‌کش‌های آلی فلزی

ترکیبات آلی فلزی به طور عمده به عنوان قارچ‌کش‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. هم‌چنین یک احتمال برای آلودگی ریشه‌ها از رشته‌های ریشه قارچ‌ها (هیف‌ها) وجود دارد. بنابراین قارچ‌کش‌ها باید مقداری دوام داشته باشند. یک روش آنالیز برای تعیین گونه‌های تری متیل سرب (TML) و تری اتیل سرب (TEL) در نمونه‌های آبی توسعه یافته است (۳۵). میکرو استخراج فاز جامد در لوله (In-tube-SPME) و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) به یک طیف‌سنج جرمی چهارقطبی (MS) که از یک الکترواسپری (ES) به عنوان رابط یونیزاسیون استفاده می‌کند، متصل شده‌اند. عنصر سرب ۲۰۸- (pb^+) و اشکال مولکولی TML و TEL (m/z) به طور همزمان برای فراهم آوردن اطلاعات تکمیلی کامل مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از آزمایش In-tube SPME-HPLC-ESMS نشان داد جداسازی کامل و تشخیص TML و TEL را می‌توان

کم‌تر از ۵ دقیقه بدست آورد. میزان دقت، بزرگ‌تر از ۵ درصد بود و حد تشخیص ۱۱/۳ و ۱۲/۶ نانوگرم/ میلی‌لیتر به ترتیب برای TML و TEL برآورد شد. یک روش ساده و حساس برای تعیین تری بوتیل قلع (TBT) در نمونههای آبی و نمونههای محیطی توسعه یافت (۶۳). میکرواستخراج فاز جامد در لوله (In-tube SPME) خودکار و HPLC به یک طیف سنج جرمی چهار قطبی (MS) با الکترواسپری (ES) به عنوان یک منبع یونیزاسیون متصل شدند. برای رسیدن به عملکرد مطلوب ، شرایط برای هر دوی In-tube SPME و تشخیص الکترواسپری برای آنالیز TBT بهینه‌سازی شد. یک لوله موئینه در دسترس تجاری Supel-Q PLOT، کارایی بهتری برای استخراج TBT نشان داد و به همین دلیل آن (لوله موئینه) برایIn-tube SPME انتخاب گردید. روش In-tube SPME-HPLC-ESMS یک رابطه خطی بین غلظت آنالیت و شدت سیگنال در دامنه ۰۰۲- ۰/۵ نانوگرم بر میلیلیتر TBT با یک حد تشخیص ۰/۵۰ نانوگرم بر میلیلیتر فراهم آورد. عملکرد این روش با تعیین مقدار TBT در ماده مرجع یک رسوب ارزیابی گردید.

کاربرد SPME-HPLC-Electrospray MS(SPME-HPLC-ESMS) برای آنالیز ترکیبات آلی سرب در محیط آبی توسط Mester و همکاران شرح داده شده است (۷۳). محلولهای ذخیره اولیه آلی سرب بوسیله حل کردن کلرید تری متیل سرب و کلرید تری اتیل سرب در متانول بدست آمد. استانداردهای کاری از این استانداردهای ذخیره تهیه شد. فیبرهای سل-ژل توسط Gbatu و همکاران (۶۲) برای استخراج ارگانو آرسنیک، ارگانو جیوه و ترکیبات ارگانو قلع از محلولهای آبی و سپس جداسازی با استفاده از HPLC با تشخیص جذب UV متعاقباً استفاده شد.

آفت‌کش‌های ارگانوفسفره

مکان اولیه فعالیت ترکیبات ارگانوفسفره، آنزیم کولین استراز است که در سیستم عصبی وجود دارد. گروههای شیمیایی اصلی حشرهکشهای ارگانوفسفره: اورتوفسفاتها، تیون فسفاتها، تیول فسفات، دي تيو فسفاتها، فسفوناتها، پیرو فسفر آمید هستند. اینها پایداری کمتری در مقایسه با آفتکشهای ارگانوکلره دارند. آفتکشهای ارگانوفسفره افزوده شده در محلولهای نمونههای آب، با روش SPME استخراج و قبل از اینکه به صورت آنلاین به سیستم HPLC تزریق شوند، توسط سیال فوق بحرانی کربن دی اکسید ($SFCO_2$) واجذب شد. همه SFCO2 تزریق شده به درون سیستم HPLC درون فاز متحرک متانول/ آب بدون تأثیر بر روی خط پایه سیگنال آشکارساز UVحل شد (۷۳).

علف‌کش‌ها (Herbicides)

از بین بردن کلرتولورون (۸۳) در فرآیندهای ضد عفونی آب انجام شد. سینتیک واکنش بین کلرتولورون، یک علفکش فنیل اوره N´ (۲-هیدروکسی ٤- متیل-۵- کلروفنیل)-NN- دی‌متیل اوره و هیپوکلریت، گونه‌های فعال در فرآیندهای ضد عفونی آب شامل کلر، بوسیله HPLC-UV و HPLC-ESI-MS (HPLC-ELECTROSPRAY-MS) مورد بررسی قرارگرفتند. به طور خاص، غلظت اصلی محصولات جانبی کلرتولورون به عنوان تابعی از زمان توسط HPLC-ESI-MS مورد بررسی قرار گرفتند و یک مدل سینتیکی برای انطباق منحنی‌های مربوطه توسعه یافت. نتایج نشان داد که تخریب کلرتولورون با دو مسیر موازی، یعنی کلره و هیدروکسیله شدن حلقه آروماتیک شروع می‌شود که بعد با واکنش‌های کلره شدن متوالی دنبال شده و پس از تقریباً دو هفته با باز شدن حلقه و معدنی شدن جزئی بوسیله SPME-GC-MS خودکار و اندازه‌گیری کربن آلی کل تایید گردید. ثابت‌های سینتیکی برای واکنش‌های اولیه فرایند کلی، تحت شرایط شبه درجه اول (هیپوکلریت اضافی)، گزارش شده است. کاربرد رابط دستی SPME-HPLC برای آنالیز آنالیت‌های ناپایدار حرارتی در مزارع سیل زده برنج برای اثبات قابلیت آن برای استخراج حقیقی علفکش پروفوکسدیم مورد بحث قرار گرفته است (۳۹). فیبرهای منتقل شده به آزمایشگاه بوسیله تحویل فشاری آنالیت هدف از فیبر واجذب شده و بوسیله HPLC-UV اندازه‌گیری میشود. روش SPME دارای استحکام قابل توجهی است در حالی که تکنیک‌های متداول مانند استخراج مایع مایع و SPE نیاز به حمل اضافی و هزینه‌های حمل و مراحل آماده‌سازی زمانبر چند مرحله‌ای نمونه دارند. به طور کلی هر گونه تاخیر در حمل نمونه‌های آبی به آزمایشگاه موجب تخریب نمونه و از بین رفتن دقت در استفاده از تکنیک‌های استخراج خارج از محل خواهد شد. مناسب‌ترین پوشش، رزین قالبی کربووکس ۵۰ میکرومتری برای اتصال SPME به HPLC به منظور دستیابی به حساسیت بالا برای آنالیت‌های قطبی خواهد بود. روش SPME بوسیله حساسیت خوب و یک دقت با انحراف استاندارد نسبی (RSD) کم‌تر از ۱۰ مشخص شده است. روش SPME-LC-UV بیش‌تر از سه درجه بزرگی، خطی است. و یک حد تشخیص کم‌تر از میکروگرم/ لیتر بدست می‌آورد. روش میکرواستخراج فاز جامد در مکان، به طور قابل توجهی افزایش در دقت را نشان می‌دهد. پروفکسیدم در غلظت‌های مشابه ۱۸۰ میکروگرم/لیتر در یک حوزه خاکی سیل زده تعیین شد.

علف‌کش‌های ارگانوکلره:

حشره‌کش‌های ارگانو کلره معمولاً به سه دسته تقسیم می‌شوند. خانواده اصلی شامل ترکیبات مربوط به DDT، γ-BHC و ترکیبات مرتبط با آلدرین است.

پایداری زیاد این حشره‌کش‌ها منجر به ممنوعیت برخی اعضای آن‌ها می‌شود. اثرات سمّی سه خانواده از ترکیبات ارگانو کلره متمایز هستند اما همه آن‌ها مواد عصبی و محرک سیستم عصبی مرکزی می‌باشند.

یک روش برای تعیین علف‌کش‌های فنوکسی اسید کلره (٤٠) در آب رودخانه، با استفاده از IN-TUBE SPME به همراه LC/ESI-MS توسعه یافت. برای تمام علفکش‌های آزمایش شده در این مطالعه، طیف جرمی ساده با سیگنال‌های قوی منطبق با [M−H] و [M−RCOOH] مشاهده شد. بهترین جداسازی برای این ترکیبات، با یک ستون C18 با استفاده از شویش گرادیانی خطي با فاز متحرک استونیتریل-آب، حاوی ٥ میلی‌مول/لیتر دي بوتیل آمین استات (DBA) بدست آمد.

بهینه‌سازی SPME برای استخراج علفکش آلاکلر از نمونه‌های آب، به طور گسترده‌ای توسط BARREIRO GONZALEZ و همکاران انجام گرفت (٤١). زمان استخراج و حجم نمونه تنها فاکتورهای قابل توجه آماری در این مطالعه بودند. در شرایط بهینه شده نهایی، روش آنالیز SPME-HPLC برای آلاکلر که به طور دستی به نمونه‌های آب شیرین افزوده شده بود، با ارقام خوب شایستگی به کار برده شد.

نتیجه‌گیری

آنالیت‌های با فرّاریت کم، با کروماتوگرافی گازی (GC) به سختی آنالیز می‌شوند اما می‌توان به راحتی با استفاده از ارتباط SPME با HPLC تخمین زده شوند. این ارتباط، نسبتاً جدید و بسیار محدود است. کار اولیه، مربوط به جداسازی و شناسایی ترکیبات هیدروکربنی آروماتیک چند حلقهای (PAHS) توسط PAWLISZYN و همکاران گزارش شد (١). مرحله استخراج برای هر دو ارتباط با GC و HPLC یکسان است. اما تفاوت بین آن‌ها در روش واجذب آنالیت از فیبر است؛ در GC، محفظه تزریق یک میانگین برای واجذب گرمایی آنالیت فراهم میکند، در حالی‌که در HPLC، آنالیت با استفاده از فاز متحرک از فیبر واجذب میشود. حد واسطهای خاص طراحی شدهای که به این منظور در اتصال استفاده شدهاند بسیار ساده و سریع هستند اما برای آنالیتهایی که از نظر دمایی ناپایدار هستند، نتایج خوبی نمیدهند. پتانسیل برای استخراج REAL TIME را می‌توان از این واقعیت تجسم کرد که برای استخراج در محل پروفوکسدیم در مزارع سیل زده برنج استفاده شده است و پس از واجذب از فیبر با استفاده از HPLC آنالیز انجام میشود (٣٩). ادامه اصلاحات که در SPME وجود دارد، in-tube SPME بسیار امیدوار کننده می‌باشد. بنابراین، SPME را میتوان به عنوان یک روش استخراج برای آینده در نظر گرفت.

مراجع

[1]. Ai J. (1997). Headspace solid phase microextraction-dynamics and quantitative analysis before reaching partition equilibrium. *Analytical Chemistry*, 69, 3260–3266.

[2]. Ai, J. (1997). Solid phase microextraction for quantitative analysis in nonequilibrium situations. *Analytical Chemistry*, 69, 1230– 1236.

[3]. Aranda, R., Kruus, P., & Burk, R. C. (2000). Assessment of polycrystalline graphites as sorbents for solid-phase microextraction of nonionic surfactants. *Journal of Chromatography A*, 888, 35–41.

[4]. Arthur, C. L., & Pawliszyn, J. (1990). Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry*, 62, 2145–2148.

[5]. Ceglarek, U., Efer, J., Schreiber, A., Zwanziger, E., & Engewald, W. (1999). Determination of linear alkylbenzenesulfonates in communal wastewater by means of solid phase microextraction coupled with API-MS and HPLC-FLD. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 365, 674–681.

[6]. Chen, J. & Pawliszyn, J. (1995). Solid phase coupled to high-performance liquid Chromatography. *Analytical Chemistry*, 67, 2530–2533.

[7]. Daimon, H., & Pawliszyn, J. (1997). Effect of heating the interface on chromatographic performance of solid-phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography. *Analytical Communications*, 34, 365–369.

[8]. Eisert, R., Jackson, S., & Krotzky, A. (2001). Application of profoxydim in rice. *Journal of Chromatography A*, 909, 29-3.

[9]. Falqui-Cao, C., Wang, Z., Urruty, L., Pommier, J. J., &

Montury, M. (2001). Focused microwave assistance for extracting some pesticide residues from strawberries into water before their determination by SPME/HPLC/DAD. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 5092–5097.

[10]. Gbatu, T. P., Sutton, K. L., & Caruso, J. A. (1999). Development of new SPMEfibers by sol-gel technology for SPME-HPLC determination of organometals. *Analytica Chimica Acta*, 402, 67–79.

[11]. Geppert, H. (1998). Solid-phase microextraction with rotation of the microfiber. *Analytical Chemistry*, 70, 3981–3982.

[12]. Gonzalez-Barreiro, C., Lores, M., Casais, M. C., & Cela, R. (2000). Optimization of alachlor solid-phase micro-extraction from water samples using experimental design. *Journal of Chromatography A*, 896, 373–379.[13]. Gonzalez-Toledo, E., Prat, M. D., & Alpendurada, M. F. (2001). Solidphase microextraction coupled to liquid chromatography for the analysis of phenolic compounds in water. *Journal of Chromatography A*, 923, 45–52.

[14].Gora-Maslak, G., & Mani, V. (1997). Solid-phase microextraction for HPLC analysis of pesticides. *Supelco Reporter*, 16, 5.

[15]. Gou, Y., Eisert, R., & Pawliszyn, J. (2000). Automated in-tube solid-phase microextraction-high-performance liquid chromatography for carbamate pesticide analysis. *Journal of Chromatography A,* 873,137–147.

[16]. Gou, Y., Tragas, C., Lord, H., & Pawliszyn, J. (2000). Online coupling of in-tube solid phase microextraction (SPME) to HPLC for analysis of carbamates in water samples: Comparison of two commercially available autosamplers. *Journal of Microcolumn Separations*, 12,125–134.

[17]. Haag, I. (1996). Potential applications of coupled solid-phase microextraction-HPLC. *LaborPraxis*, 20, 66–68, 71.

[18]. Jinno, K., Muramatsu, T., Saito, Y., Kiso, Y., Magdic, S., & Pawliszyn, J. (1996). Analysis of pesticides in environmental water samples by solid-phase micro-extraction high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 754, 137–144.

[19]. Jinno, K., Muramatsu, T., Saito, Y., Kiso, Y., Magdic, S., & Pawliszyn, J. (1996). Analysis of pesticides in environmental water samples by solid-phase micro-extraction high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 754, 137– 144.

[20]. Jinno, K., Taniguchi, M., & Hayashida, M. (1998). Solid-phase micro extraction coupled with semi microcolumn high-performance liquid chromatography for the analysis of benzodiazepines in human urine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 17, 1081–1091.

[21]. Kataoka, H., Ise, M., & Narimatsu, S. (2002). Automated online in-tube solid-phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography for the analysis of bisphenol A, alkylphenols, and phthalate esters in foods contacted with plastics. *Journal of Separation Science*, 25, 77–85.

[22]. Kataoka, H., Lord, H. L., & Pawliszyn, J. (2000). Application of solidphase microextraction in foodnanalysis. *Journal of Chromatography A*, 880, 35–62.

[23]. Katayama, M., Matsuda, Y., Shimokawa, K., Tanabe, S., Hara, I., Sato, T., Kaneko, S., & Daimon, H. (2001). Determination of -blockers by high-performance liquid chromatography coupled with solid-phase microextraction from urine and plasma samples. *Analytical Letters*, 34, 91–101.

[24]. Kelly, M. T., & Larroque, M. (1999).Trace determination of diethyl phthalate in aqueous media by solid phase microextraction-liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 841,177–185.

[25]. Kumazawa, T., Seno, H., Watanabe-Suzuki, K., Hattori, H. , Ishii, A., Sato, K., & Suzuki, O. (2000). Determination of phenothiazines in human body fluids by solid-phase microextraction micro-extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of Mass Spectrometry, 35, 1091–1099.

[26]. Liao, J. L., Zeng, C. M., Hjerten, S., & Pawliszyn, J. (1996). Solid-phase microextraction of biopolymers, exemplified with adsorption of basic proteins onto a fiber coated with polyacrylic acid. Journal of Microcolumn Separations, 8, 1–4.

[27]. Llompart, M., Li, K., & Fingas, M. (1998). Solid-phase microextraction and headspace solid-phase microexraction for the determination of polychlorinated biphenyls in water samples. Analytical Chemistry, 70, 2510–2515.

[28]. Losito, H., Zambonin, C. G., & Palmisano, F. (2000). Degradation of chlortoluron in water disinfection processes: A kinetic study. Journal of Environmental Monitoring, 2, 582–586.

[29]. Louch, D. S., Motlagh, S., & Pawliszyn, J. (1992). Dynamics of organic compound extraction from water using liquid-coated fused silica fibers. Analytical Chemistry, 64, 1187–1199.

[30]. Lutzhoft, H. C. H., Vaes, W. H. J., Freidig, A. P., Halling-Sorenson, B., & Hermens, J. L. M. (2000). Influence of pH and other modifying factors on the distribution behaviour of 4-quinolones to solid phases and humic acids studied by "negligible-depletion" SPME-HPLC. Environmental Science and Technology, 34, 4989–4994.

[31]. Martos, P. A., & Pawliszyn, J. (1998). Sampling and determination of formaldehyde using solid-phase microextraction with on–fiber derivatization. Analytical Chemistry, 70, 2311–2320.

[32]. Mester, Z., Lord, H., & Pawliszyn, J. (2000). Speciation of trimethyllead and triethyllead by in-tube solid-phase microextraction highperformance liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 15, 595–600.

[33]. Moder, M., Popp, P., Eisert, R., & Pawliszyn, J. (1999). Determination of polar pesticides in soil by solid phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry, 363, 680–685.

[34]. Pan, L., & Pawliszyn, J. (1997). Derivatization/Solid-phase microextraction: new approach to polar analytes. Analytical Chemistry, 69, 196– 205.

[35]. Penton, Z., Geppert, H., & Betz, V. (1997). GIT spez. Chromatr, 776, 293–303.

[36]. Reyzer, M. L., & Brodbelt, J. S. (2001). Analysis of fire ant pesticides in water by solid-phase microextraction and gas chromatography/ mass spectrometry or high-performance liquid chromatography/ mass spectrometry. Analytica Chimica Acta, 436, 11–20.

[37]. Salleh, S. H., Saito, Y., & Jinno, K. (2000). Anapproach to solventless sample preparation procedure for pesticides analysis using solid-phase microextraction/supercritical-fluid extraction technique. Analytica Chimica Acta, 418, 69–77.

[38]. Salleh, S. H., Saito, Y., Kiso, Y., & Jinno, K. (2001). Solventless sample preparation procedure for organophosphorus pesticides analysis using solid phase microextraction and on-line supercritical fluid extraction/high-performance liquid chromatography technique. Analytica Chimica Acta, 433, 207– 215.

[39]. Selleh, S. H., Saito, Y., & Jinno, K. (1999). Study on solventless sample preparation of pesticides with SPME-SFE technique. Chromatography, 20,126–127.

[40]. Takino, M., Daishima, S., & Nakahara, T. (2001). Automated on-line intube solid-phase microextraction followed by liquid chromatography/ electrospray ionization-mass spectrometry for the determination of chlorinated phenoxy acid herbicides in environmental waters. Analyst, 126, 602–608.

[41]. Vaes, W. H. J., Urrestarazu Ramos, E., Hamwijk, C., Holsteijn, I. V., Blaauboer, B. J., Seinen, W., Verhaar, H. J. M., & Hermens, J. L. M. (1997). Solid phase microextraction as a tool to determine embrane/water partition coefficients and bioavailable concentrations in vitro systems. Chemical Research in Toxicology, 10, 1067–1072.

[42]. Vaes, W. H. J., Urrestarazu Ramos, E., Verhaar, H. J. M., Seinen, W., & Hermens, J. L. M. (1996). Measurement of the free concentration using solid-phase microextraction: Binding to protein, Analytical Chemistry, 68, 4463–4467.

[43]. Wang, C. Y., Tao, J. Q., Li, B. F., Ma, Z. L., & Li, G. K. (2002). Determination of trace chrysene in environmental water by solid-phase microextraction coupled with high-performance liquid chromatography. Sepu, 20, 59–62.

[44]. Wang, Z., Hennion, B., Urruty, L., & Montury, M. (2000). Solid-phase microextraction coupled with high-performance liquid chromatography: a complementary technique to solid-phase microextractiongas chromatography for the analysis of pesticide residues in strawberries. Food Additives and Contaminants, 17, 915–923.

[45]. Wu, J. C., Mester, Z., & Pawliszyn, J. (2001). Determination of tributyltin by automated in-tube solid-phase microextraction coupled with HPLC-electrospray MS. Journal of Analytical Atomic Spectrometry,16,159–165.

[46]. Wu, L., Almirall, J. R., & Furton, K. G. (1999). An improved interface for coupling solid-phase microextraction (SPME) to high performance liquid chromatography (HPLC) applied to the analysis of explosives. Journal of High Resolution Chromatography, 22, 279– 282.

[47]. Zambonin, C. G., Monaci, L., & Aresta, A. (2001). Determination of cyclopiazonic acid in cheese samples using solid-phase microextraction with high performace liquid chromatography. Food Chemistry, 75, 249–254.

[48]. Zhang, Z., & Pawliszyn, J. (1995). Quantitative extraction using an internally cooled solid phase microex traction device. Analytical Chemistry, 67, 34–43.

[49]. Zhang, Z., Yang, M. J., & Pawliszyn, J. (1994). Solid-phase microextraction: A new solvent-free alternative for sample preparation. Analytical Chemistry, 66, 844A–853A.