نشریهٔ پژوهش در آموزش علوم تجربی
سال نخست، شماره ۳، بهار ۱۴۰۱
Journal of Research in Science Education
Volume 1, Issue 3, Spring, 2022

مروری بر روشهای نوین میکرو استخراج: مقایسه تکنیک ها و کاربردها

فاطمه یزدانخواه[۱] علیرضا غیاثوند[۲]

چکیده *روش های میکرو استخراج فاز جامد (SPME) و میکرو استخراج فاز مایع (LPME)، به دلیل حذف استفاده از حلال های سمی و مضر برای محیط زیست و سلامت انسان، مورد توجه قرار گرفته اند. به همین علت، اصلاح و تقویت روشهای میکرو استخراج نیز از موضوعات مهم مورد توجه در تحقیقات است. روش‌های میکرو استخراج، علاوه بر حذف حلالهای سمی، کارآئی، دقت و صحت را افزایش و زمان و هزینه آنالیز را کاهش داده اند. اما این روشها دو محدویت جدی دارند. اول اینکه در نمونه های جامد مانند خاک و مواد غذایی یا داروئی، آنالیت ها محکم به بافت نمونه متصل شده و براحتی جدا نمی شود. دوم اینکه گیراندازی مواد خیلی فرار با این روشها مشکل یا غیرممکن است. بهترین رهیافت برای رفع این محدویت ها، سرد کردن جاذب و گرم کردن همزمان بافت نمونه است که این تکنیک باعث افزایش چشمگیر راندمان و کارایی استخراج می شود. روش دیگر برای افزایش کارایی استخراج تکنیک میکرو استخراج تقویت یافته با خلاء است. در این سیستم فشار درون ظرف بشدت کاهش یافته و سرعت و راندمان استخراج را نسبت به SPME معمولی، بطور چشمگیری افزایش داده و منجر به افزایش حساسیت و کوتاه شدن زمان نمونه‌برداری می شود. با این دستگاه، براحتی می توان انواع نمونه ها جامد و مایع را بدون دستکاری و تغییر در نمونه بطور مستقیم مورد استخراج و آنالیز قرار داد. در این پژوهش مروری بر روشهای میکرو استخراج و تکنیک های تقویت یافته آنها و مقایسه کلی بین این تکنیک‌ها خواهیم داشت.*

واژه‌های کلیدی: *میکرواستخراج فاز جامد تقویت یافته با خلاء (VA-SPME)، میکرواستخراج فاز جامد تقویت یافته با سرمایش(CA-SPME)، جداسازی، استخراج، آلاینده های زیست محیطی.*

A Review of New Micro-Extraction Methods: A Comparison of Techniques and Applications

Fatemeh.Yazdankhah, Alireza. Ghiasvand

Received: 18 May 2022, Accepted: 16 Nov 2022

Abstract *Solid phase microextraction and liquid phase microextraction methods have been considered due to the elimination of the use of toxic and harmful solvents for the environment and human health. For this reason, modification and enhancement of micro-extraction methods is also one of the important topics in research. Microextraction methods, in addition to removing toxic solvents, have increased efficiency, accuracy, and greatly reduced the time and cost of analysis. But these methods have two serious limitations. First, in solid samples such as soil and medicine, the analytes are firmly attached to the tissue and do not separate easily. it is difficult or impossible to catch highly volatile materials with these methods. The best approach to overcome these limitations is to cool the adsorbent and simultaneously heat the sample tissue, a technique that dramatically increases the extraction efficiency. Another method to increase the extraction efficiency is vacuum-enhanced micro-extraction technique. In this system, the pressure inside the vessel is drastically reduced and the extraction speed and efficiency are significantly increased compared to normal SPME, leading to an increase in sensitivity and a shorter sampling time. With this device, all types of solid and liquid samples can be easily extracted and analyzed directly*

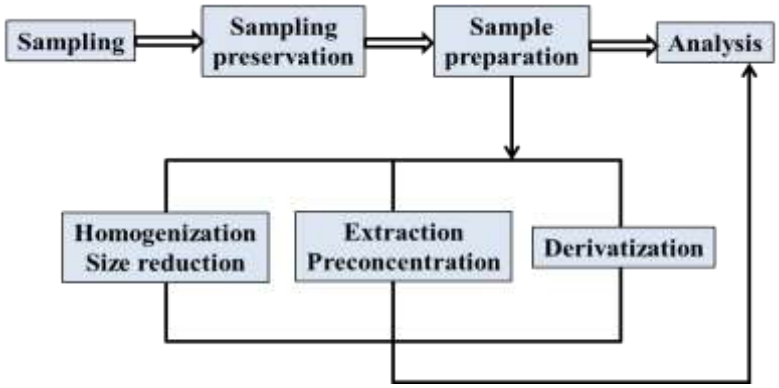
★ تاریخ دریافت مقاله ۱۴۰۱/۰۲/۲۸ و تاریخ پذیرش آن ۱۴۰۱/۰۸/۲۵ می‌باشد.
[۱] دبیر شیمی، اداره آموزش و پرورش، ویسیان، لرستان، ایران (نویسنده مسئول). F.Yazdankhah95@yahoo.com
[۲] استاد مدعو گروه شیمی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، لرستان، ایران

without manipulation and change in the sample. In this research, we will have an overview of micro-extraction methods and their enhanced techniques and a general comparison between these techniques

Keywords*: Microextraction methods, vacuum-enhanced micro-extraction technique.*

مقدمه

اندازه گیری صحیح و دقیق ترکیبات فرار در گیاهان، غذاها، داروها، تنفس و مایعات بیولوژیک بدن انسان، هوا، آب و خاک اهمیت بسزائی دارد. بویژه تعیین مقدار آلاینده های محیط به خاطر نگرانی روزافزون زیست محیطی و بهداشتی و اثرات سرطان زایی و بیماری زایی بسیاری از این ترکیبات، یک موضوع مهم و مورد علاقه دانشمندان رشته های مختلف می‌باشد. در سال های اخیر روش‌های انجام آنالیزهای شیمیایی کیفی و کمی پیشرفت کرده‌اند و تأکید بیشتری بر روی ایجاد روش های جداسازی سبز با عملکرد بالا شده است. هر روش آنالیز شامل چندین مرحله می‌باشد که همه مراحل به عملکرد کلی فرآیند کمک می‌کنند. مراحل اصلی یک فرآیند تجزیه ای در شکل (۱) نشان داده شده است که این مراحل شامل نمونه برداری، آماده سازی نمونه، جداسازی، کمی سازی، ارزیابی آماری از نتایج و تجزیه و تحلیل بر اساس این نتایج می‌باشد. مهمترین و وقت گیرترین مرحله، مرحله "آماده سازی نمونه" است. لذا توسعه فرآیند های آماده‌سازی نمونه سریع، ساده و کم هزینه یک نیاز بحرانی برای اجرای روش‌های آنالیز جدید می‌باشد (Alpendurada., 2000). علاوه بر این، انتخاب یک روش آماده سازی مناسب بیش‌ترین تأثیر را بر گزینش‌پذیری، حساسیت، دقت و صحت یک روش تجزیه‌ای دارد. استخراج یک فرآیند آماده‌سازی نمونه است که تعیین مقادیر بسیار کم گونه‌های شیمیایی را در محیط تضمین می‌کند.



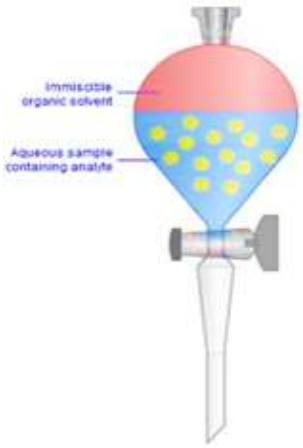
شکل ۱-مراحل اصلی یک فرآیند تجزیه ای.

در مرحله آماده سازی نمونه آنالیت های هدف از ماتریکس نمونه جداسازی و استخراج می شوند. سپس آنالیت خالص استخراج شده توسط دستگاههای بسیار گزینش پذیر و حساس مثل کروماتوگرافی گازی اندازه گیری می شوند. تکنیک های استخراج مرسوم مثل استخراج مایع-مایع، مقادیر زیادی حلال های آلی سمی مصرف می کنند و در نتیجه باعث ایجاد خطرات زیست محیطی و افزایش ابتلا به سرطان و کاهش ضخامت لایه اوزون می شوند. همچنین در این روش ها مقدار نمونه زیادی مورد

نیاز است و زمان آماده سازی نمونه طولانی می باشد. آگاهی از آلودگی و خطرات ناشی از این حلال ها باعث توسعه روش هایی برای حذف این حلال‌ها و ایجاد یک تحول بزرگ در روش های آماده‌سازی نمونه شده است. استخراج فاز جامد (SPE) و میکرواستخراج فاز جامد (SPME) از جمله روش های جایگزین مناسب می باشند (Pawliszyn, 2002).

استخراج مایع-مایع (LLE)

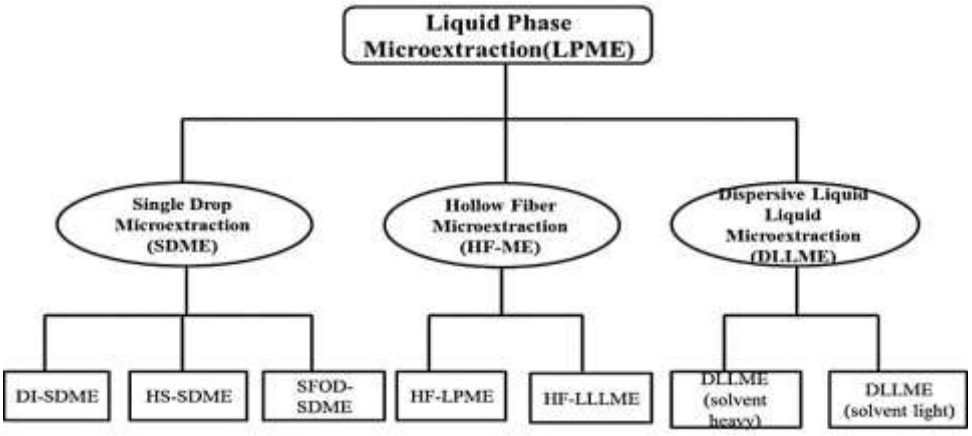
استخراج یک فرآیند جداسازی، براساس تفاوت های شیمیایی اجزای ماتریکس در نمونه می‌باشد .استخراج مایع-مایع (LLE) شامل مخلوطی از یک محلول با دو حلال غیر قابل امتزاج است. گونه هایی که نیاز به جداسازی دارند در یک حلال (معمولا آب) حل می شوند، پس از اختلاط به دلیل اختلاف در چگالی، دو فاز تشکیل می شود. استخراج کننده ها در اثر پدیده‌ای مثل حلال پوشی، تشکیل ترکیبات شیمیایی و تبادل یون، گونه مورد نظر را از فاز آبی به فاز آلی منتقل می کنند. باید در انتخاب حلال مناسب به منظور اطمینان از میل بهتر آنالیت به سمت حلال اضافه شده، دقت نمود. در این روش، برای رسیدن به انتقال جرم رضایت بخش گونه های حل شونده و در نتیجه بازده استخراج بالاتر فرآیند استخراج نیاز به دو یا سه بار تکرار دارد. استخراج مایع-مایع معمولا با استفاده از یک قیف جدا کننده که گونه مورد نظر درآن بین دو حلال توزیع می شود انجام می گیرد (شکل ۲). موفقیت این روش بستگی به تفاوت حلالیت یک گونه در حلال های مختلف دارد. اگر چه استخراج مایع-مایع یکی از قدیمی‌ترین و پرکاربرد ترین روش های استخراج می باشد و این روش استخراج در بسیاری از روش های استاندارد تجزیه ای به کار رفته است، اما معایبی دارد که سبب کاهش کاربرد این تکنیک در سالیان اخیر شده است. استخراج های متوالی با حجم زیادی از حلال های آلی با خلوص بالا، گران قیمت، سمی و وقت گیر می باشد. همچنین تشکیل امولسیون اجازه خودکار سازی روش را نمی دهد. بنا به دلایل ذکر شده، نیاز به روش‌های سریع، آسان و مقرون به صرفه که به کمترین مقدار حلال آلی نیازمند باشند، ضروری به نظر می‌رسد (Krüger *et al.*, 2011). از این رو تکنیک های میکرو استخراج به عنوان جایگزین نوید بخشی برای روش های LLE در سال های اخیر معرفی شده اند.



شکل ۲- استخراج مایع-مایع.

میکرو استخراج فاز مایع(LPME)

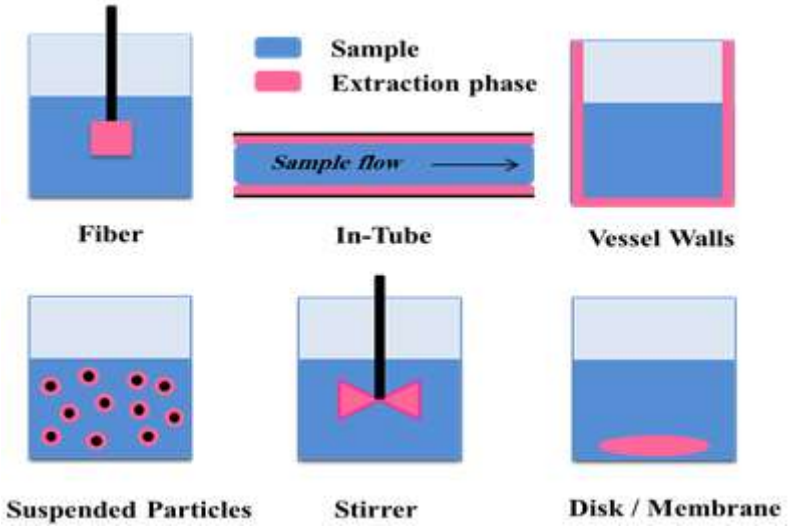
نیاز به غلبه بر مشکلات LLE سنتی، منجر به کوچک‌سازی آن و توسعه سریع‌تر تکنیک های آماده‌سازی نمونه ساده تر و ارزان‌تر شده است. این تکنیک‌ها نمونه اولیه کوچکتری را به کار می گیرند و توانایی تشخیص غلظت های خیلی کم آنالیت را دارند. در این تکنیک های ناکامل، آنالیت توسط حجم کوچکی از یک مایع استخراج می شود. تکنیک های مینیاتوری شده LLE، میکرو استخراج فاز مایع نامیده می شوند. عبارت"میکرو استخراج فاز مایع" اولین بار برای توصیف سیستم های دو فازی در میکرو استخراج حلال معرفی شد. این تکنیک بر پایه توزیع آنالیت بین فاز استخراجی (قطره ای از حلال آلی) و نمونه می‌باشد که در سال ۱۹۹۶ توسط جی نات و همکارانش معرفی شد (Jeannot et 1996, al.). در این روش، اندازه نمونه کوچک تر شده و توانایی تشخیص و اندازه گیری آنالیت های با غلظت بسیار کم فراهم شده است. توسعه تکنیک‌های LPME منجر به کاهش بزرگ نسبت حجمی فاز گیرنده به دهنده شد. این حالت با استفاده از فازهای مایع غیر قابل امتزاج (میکرو استخراج حلال) یا یک غشا (استخراج با غشا) برای جداسازی فازهای گیرنده- دهنده بدست می آید. راه های مختلف کوچک سازی LLE باعث ایجاد انواع حالت های LPME شده است. برخی از این حالت‌ها SDME (میکرو استخراج تک قطره)، DLLME (میکرو استخراج مایع- مایع پخشی)، LLLME (میکرو استخراج مایع- مایع- مایع)، LPME-SFO (میکرو استخراج فاز مایع مبتنی بر قطره آلی منجمد شناور)، میکرو استخراج با استفاده از فیلم مایع غیر قابل امتزاج شامل میکرو استخراج مایع- مایع (سیستم دو فازی)، میکرو استخراج مایع- مایع- مایع با استفاده از استخراج برگشتی (سیستم سه فازی)، SLM (غشای حمایت شده مایع)، MMLLE (استخراج مایع- مایع با غشای متخلخل) و VALLME (میکرو استخراج مایع-مایع تقویت شده با چرخش) می باشند. شکل ۳ شماتیک کلی از روش‌های LPME را نشان می دهد(Jeannot *et al*., 1996).



شکل ۳- دسته بندی کلی از روشهای LPME.

میکرو استخراج فاز جامد (solid-phase microextraction (SPME))

میکرواستخراج فاز جامد (SPME) در سال ۱۹۹۰ بعنوان یک روش آماده سازی نمونه بدون حلال ابداع شد و تا به امروز در بسیاری از زمینه ها ازجمله آنالیز غذا، دارو و محیط زیست جایگاه خاصی را بدست آورده است(Pawliszyn,2000) . SPME ترکیبی از نمونه برداری، جداسازی و تغلیظ در یک مرحله می باشد. در این تکنیک یک مقدار کوچک از فاز استخراجی که بر روی یک پایه ی جامد مانند سیلیکای گداخته پوشش داده شده است، برای یک مدت زمان مشخص در معرض نمونه قرار می گیرد، و آنالیت بین فاز استخراجی و ماتریکس نمونه توزیع می شود. SPME بطور معمول در ترکیب با GC، که در آن آنالیت از طریق واجذب حرارتی بطور مستقیم در بخش تزریق دستگاه GC، حذف می شود استفاده شده است و بطور موفقیت آمیزی برای طیف وسیعی از ترکیبات، بویژه ترکیبات آلی فرار و نیمه فرار از ماتریکس های پیچیده به کار رفته است. این روش با اصلاح روشهای کلاسیک قدیمی افق جدیدی را پیش روی محققان در بسیاری از رشته های علمی قرار داده است و داری اشکال و مدهای متفاوت و متعدد است. بخاطر ویژگی های جالب این روش مانند؛ پیروی از قوانین شیمی سبز، عاری از حلال بودن، سرعت، حساسیت و دقت بالا، هزینه کم عملیات و قابلیت خودکار شدن، دانشمندان سعی در توسعه آن نموده و مدهای مختلفی را برای آن ایجاد کردند. شکلهای مختلف این تکنیک عبارتند از: استخراج توسط فیبر پوشش داده شده (Fiber)، استخراج توسط جاذب سطح داخلی لوله (In-Tube)، استخراج در پوشش داخلی ظرف (Vessel wall)، استخراج روی مواد جاذب معلق (Suspended Particles)، استخراج روی پوشش سطح خارجی یک میله همزن مغناطیسی (Stirrer bar) و استخراج بوسیله دیسک غشایی (Disk) (شکل ۴) (۵). هر کدام از این اشکال نیز در تحقیقات سالهای اخیر به روشهای مختلفی تقسیم شده اند و محققان متعددی در رشته های مختلف مانند شیمی تجزیه، داروسازی، بیوشیمی، زیست شناسی، محیط زیست، بهداشت محیط، باستان شناسی، جرم شناسی و . . . مشغول توسعه این روشها هستند.



شکل ۴- شکل های مختلف تکنیک SPME.

تئوری و اصول (SPME)

در SPME فاز استخراجی برای مدت زمان مشخصی در تماس با ماتریکس نمونه قرار می گیرد. اگر زمان به اندازه کافی بزرگ باشد، بین فیبر و ماتریکس نمونه تعادل غلظت ایجاد می شود. توزیع آنالیت بین فیبرSPME و ماتریکس نمونه یک فرآیند تعادلی چند فازی است، که هم می تواند یک فرآیند دو فازی (معمولا شامل فیبر/ ماتریکس نمونه) و هم یک فرآیند سه فازی (فیبر/ فضای فوقانی/ ماتریکس نمونه) باشد. SPME زمانی کامل می شود که توزیع آنالیت بین ماتریکس نمونه و پوشش فیبر به تعادل رسیده باشد و پس از آن افزایش زمان استخراج تأثیری بر مقدارآنالیت استخراج شده ندارد. پارامتر اصلی مؤثر بر بازده استخراج SPME ثابت توزیع آنالیت هدف بین پوشش فیبر و ماتریکس نمونه می باشد(Bagheri et al., 2012):

$$K_{fs} = C_f / C_s \quad (۱)$$

K_{fs}: ثابت توزیع آنالیت بین نمونه و فیبر، C_f : غلظت تعادلی آنالیت هدف بر روی فیبر، C_s : غلظت تعادلی آنالیت هدف در نمونه

در مورد سیستم دو فازی، شرایط تعادل مطابق با قانون بقای جرم با معادله (۲) توصیف می شود(Bagheri *et al.*).

$$n = \frac{C_0 V_s V_f K_{fs}}{K_{fs} V_f + V_s} \quad (۲)$$

که در این معادله n: جرم آنالیت استخراج شده توسط فیبر، C_0 : غلظت اولیه آنالیت در محلول نمونه، V_f: حجم پوشش فیبر، V_s: حجم نمونه و K_{fs}: ضریب توزیع آنالیت بین پوشش فیبر و نمونه می باشند. وقتی سیستم مورد بررسی سه فازی باشد یعنی شامل فاز استخراجی، فضای فوقانی و ماتریکس نمونه باشد، مقدار آنالیت استخراج شده توسط فیبر از معادله (۳) محاسبه می گردد.

$$n = \frac{K_{fh} K_{hs} V_f V_s}{K_{fh} K_{hs} V_f + K_{hs} V_h + V_s} C_0 \quad (۳)$$

که در این معادله K_{hs} ضریب توزیع آنالیت بین نمونه/ فضای فوقانی، K_{hf} ضریب توزیع آنالیت بین فضای فوقانی/ فیبر و V_h حجم فضای فوقانی می باشد. اگر حجم نمونه خیلی بزرگ باشد $K_g K_f V_f \ll V_s$ معادله به صورت زیر ساده تر می شود.

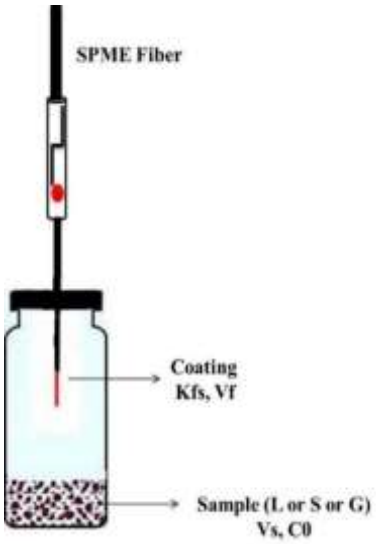
$$n = C_0 V_f K_{fs} \quad (۴)$$

مطابق با این معادله مقدار ماده استخراج شده توسط فیبر مستقل از حجم نمونه و متناسب با غلظت آن در نمونه می باشد که این خود مزیت تکنیک SPME برای کاربرد های مختلف است (۶). قالب فیبر SPME رایج ترین شکل تکنیک میکرو استخراج فاز جامد می باشد. انجام فرآیند استخراج در SPME با قرار گرفتن پوشش فیبر در معرض نمونه مایع یا گازی، به

مدت کافی که آنالیت بین نمونه و پوشش فیبر توزیع شود، آغاز می شود. سپس فیبر از طریق سرنگ SPME عقب کشیده می شود و به بخش اینجکتور دستگاه GC تزریق می گردد، در نتیجه آنالیت ها از طریق حرارتی واجذب و آنالیز می شوند (شکل ۵) (Bagheri et al., 2012).

این روش داری سه مد مختلف است (شکل ۶) که عبارتند از: استخراج مستقیم، SPME با غشای محافظ، حالت فضای فوقانی.

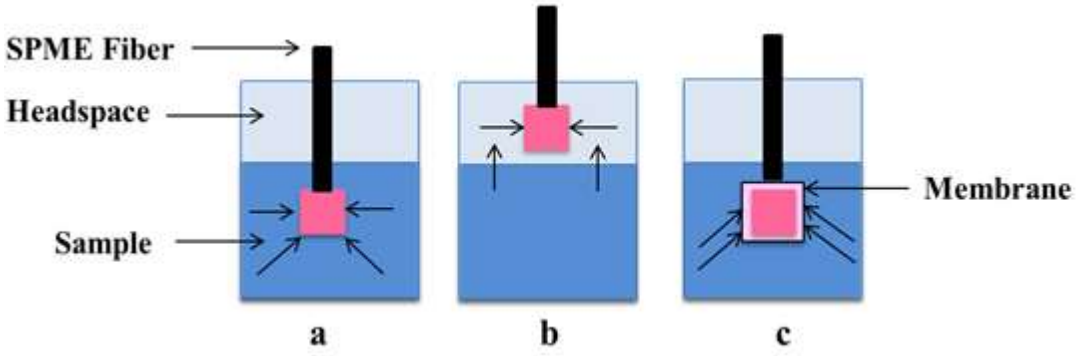
حالت استخراج مستقیم: در میکرو استخراج فاز جامد مستقیم، فیبر بطور مستقیم درون محلول نمونه قرار می گیرد و آنالیت ها بطور مستقیم از نمونه به فاز استخراجی منتقل می شوند. این روش برای ترکیبات غیر فرار مناسب است. جهت افزایش سرعت استخراج، باید تکنیک های همزدن یا تحریک کارآمد مانند جریان سریع نمونه، تکان دادن ظرف حاوی نمونه و استفاده از همزن مغناطیسی و امواج فراصوت (سونیک) به کار برده شود. از معایب این روش، آسیب دیدن پوشش فیبر در حین استخراج می باشد.



شکل ۵- استخراج توسط قالب فیبرSPME .

SPME با غشای محافظ: در میکرواستخراج فاز جامد با غشای محافظ فیبر با استفاده از یک غشای مناسب گزینش پذیر نسبت به آنالیت، پوشش داده می شود و سپس بطور مستقیم درون محلول نمونه قرار می گیرد. هدف اصلی استفاده از غشای محافظ، رفع اثر ماتریکس و محافظت از پوشش فیبر در برابر اثرات نامطلوب ناشی از آنالیز نمونه هایی که دارای آلودگی زیادی هستند می باشد. فرآیند استخراج بطور چشمگیری کندتر از استخراج مستقیم می باشد به این دلیل که آنالیت قبل از رسیدن به پوشش فیبر، نیاز به توزیع درون غشای محافظ دارد.

حالت فضای فوقانی: موثرترین شکل روش SPME برای آنالیز نمونه های جامد پیچیده یا آلوده روش فضای فوقانی با استفاده از فیبر می باشد. نمونه برداری SPME از فضای فوقانی شامل دو مرحله توزیع آنالیت بین نمونه/ فضای فوقانی و فضای فوقانی/ فیبرمی باشد. این روش جهت آنالیز نمونه های فرار و نیمه فرار مناسب است و چون فیبر در تماس مستقیم با ماتریکس نمونه نیست پوشش فیبر را از آسیب مزاحمت های ماتریکس محافظت می‌کند (Koziel et al. 2001).

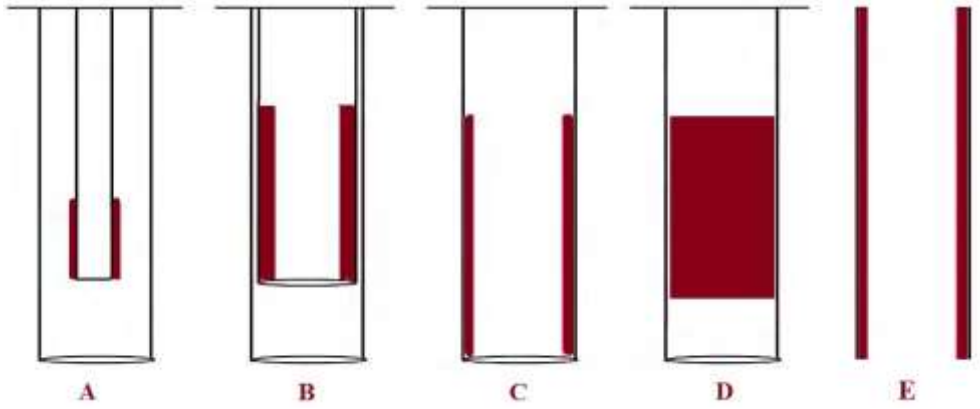


شکل ۶- مدهای مختلف Fiber-SPME: a) استخراج مستقیم، b) استخراج فضای فوقانی، c) استخراج با غشای محافظ.

تکنیک تله سوزنی (NTD)

به عنوان یک جایگزین برای فیبر پوشش داده شده با جاذب در روشSPME معمولی، جاذب برای پر کردن تمام قطر داخلی سوزن بکار برده شد و منجر به معرفی روشی شد که ابزار تله سوزنی نامیده می شود. اوایل ۱۹۷۰ سرنگ های پر شده با Tenax برای به دام انداختن ترکیبات معطر موجود در هوا، معرفی شدند. پس از آن در سال ۱۹۹۶ یک روش مشابه برای پیش تغلیظ ترکیبات آلی ناچیز گازی در نمونه های هوای طبیعی و صنعتی و تنفس انسان، با استفاده از جاذب های زغال و سیلیکاژل به کار برده شد. محدودیت اصلی این روش نیاز به ایجاد تغییر و اصلاح در سیستم تزریق GC، به دلیل سایز بزرگ سوزن می باشد. کاربرد تکنیک تله سوزنی زمانی بیشتر شد که از سوزن هایی با قطر کوچکتر و بدون نیاز به تغییر در سیستم اینجکتور استفاده گردید. به دلیل نیاز به یک سیستم کارآمدتر و با جاذب هایی با استحکام بیشتر، در سال ۲۰۰۱، ابزار تله سوزنی (NTD) توسط پائولیشین توسعه داده شد (Ghiasvand et 2016 al.,). اولین سیستم های جاذب مشابه NTD که در سال ۱۹۷۰ تولید شدند، برای واجذب آنالیت های به دام انداخته، نیاز به یک گاز حامل اضافی داشتند، در حالیکه سیستم NTD معرفی شده توسط پائولیشین این نقص را برطرف کرد. NTD نیز همانند SPME یک تکنیک آماده‌سازی نمونه بدون حلال و یک مرحله‌ای می باشد. در این تکنیک فاز استخراجی بصورت پرشده درون یک سوزن استیل قرار می گیرد که باعث مقاوم کردن آن در برابر آسیب های مکانیکی می شود و نسبت به فیبر در روشSPME که جاذب بر روی سیلیکای گداخته پوشیده شده است استحکام بیشتری دارد. نسبت به SPME حجم بزرگتری از فاز استخراجی می تواند درونNTD قرار گیرد و پتانسیل پیش تغلیظ قدرتمندی فراهم می کند که باعث می شود برای هردو تکنیک استخراج کامل و تعادلی مفید باشد. شکل (۷) شماتیک NTD

است که شامل یک سرنگ تزریق با یک سوراخ در فاصله ۳ سانتی متری از انتهای آن می باشد. مقدار آنالیت استخراج شده توسط NTD وقتی که غلظت آنالیت و سرعت نمونه برداری ثابت هستند، متناسب با حجم نمونه برداری می باشد. با این حال بررسی دستیابی به حجم موفق در NTD ضروری است. این حجم موفق متناسب با طول و چگالی جاذب پر شده درون سرنگ، میل ترکیبی آنالیت با جاذب و غلظت آنالیت و بطور معکوس متناسب با سرعت نمونه برداری می باشد. شکل ۷ شمای تکنیک های SPME برمبنای سوزن را نشان می دهد.



شکل۷-تکنیک های SPME بر مبنای سوزن. A: FIN-SPME، B: INCAT، C: SPDE، D: NTD و E: In-tube SPME.

روش های تقویت شده SPME

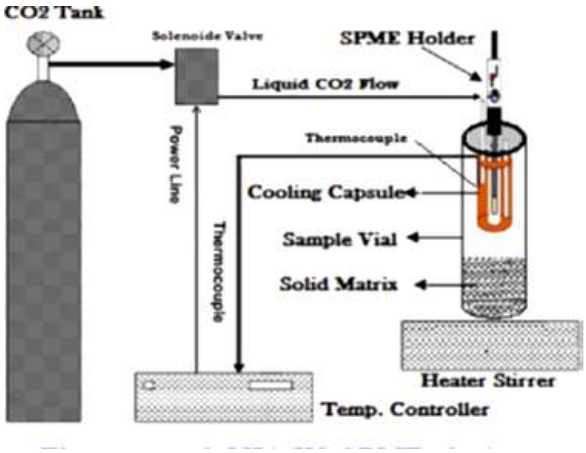
برای ارتقاء کیفیت استخراج روش SPME اخیرا تکنیک های جدیدی بوجود آمده اند و مورد ارزیابی قرار گرفته اند. دسته بندی کلی برای این روشهای تقویت شده در ادامه آمده است:SPME تقویت شده با سرمایش(Cooling-Assisted SPME)،SPME تقویت شده با اعمال ولتاژ(Electro-Enhance SPME)، SPME تقویت شده با خلاء (Vacuum-Assisted SPME)، SPME تقویت شده با فراصوت(Ultrasonic-Assisted SPME)، SPME تقویت شده با مایکروویو (Microwave-Assisted SPME)، SPME تقویت شده با حلال (Solvent-Assiated SPME)، SPME تقویت شده با نمک(Salt-Assisted SPME, SA-SPME)، SPMEتقویت شده با تبخیر کامل (Total-Vaporization SPME, TV-SPME).

میکرواستخراج تقویت شده با سرمایش(CA-ME)

حالت فضای فوقانی تکنیک SPME امکان آنالیز نمونه های پیچیده و ترکیبات با وزن مولکولی بالا را فراهم می کند. نمونه برداری SPME از فضای فوقانی بالای نمونه در یک سیستم سه فازی بسته با یک حجم محدود، فرآیندی چند مرحله ای است. در میکرو استخراج فاز جامد فضای فوقانی، فیبر SPME در معرض فضای فوقانی بالای نمونه قرار می گیرد. آنالیت های آلی فرار استخراج می شوند و سپس برای واجذب و آنالیز به دستگاه تجزیه ای منتقل می شوند. اصل پایه HS-SPME فرآیند توزیع تعادلی آنالیت بین سه فاز (نمونه، فضای فوقانی و فاز استخراجی یا فیبر) و در عرض دو سطح مشترک (نمونه/ فضای فوقانی و فضای فوقانی/ فیبر) می باشد. قبل از قرار دادن فیبر توزیع آنالیت ها بین نمونه و فضای فوقانی به تعادل می رسد. از آنجا که فیبر در معرض فضای فوقانی قرار می گیرد شروع به جذب مولکول های آنالیت از فاز گازی می کند. در نتیجه غلظت آنالیت در فضای فوقانی به سرعت سقوط می کند و دوباره توسط آنالیت های منتقل شده از نمونه به فضای فوقانی پر می شود. بطور معمول انتقال جرم درسطح مشترک فضای فوقانی/فیبر یک فرآیند نسبتا" سریع در نظر گرفته می شود. بنابراین مرحله کند و درنتیجه محدود کننده سرعت، انتقال آنالیت ها از ماتریکس نمونه به فضای فوقانی می باشد. راه های مختلفی برای تسهیل یا افزایش انتشار آنالیت از ماتریکس نمونه به فضای فوقانی وجود دارد. بطور معمول زمان تعادل با اعمال همزدن کوتاه می شود، اما این روش همیشه مؤثر نیست. همچنین، افزایش هم زمان دمای نمونه و کاهش دمای فیبر یک اثر قابل توجه در سینتیک استخراج دارد که در سالیان اخیر به وفور مورد استفاده قرار گرفته است. اگر چه در بعضی موارد افزایش دمای نمونه منجر به تخریب ترکیبات حساس به حرارت یا ایجاد ترکیبات جدید می شود. یکی از راهکارهای مناسب برای تقویت استخراج در روش های استخراج از فضای فوقانی، تکنیک سرد کردن جاذب می باشد. کارایی و بازده استخراج در این روش بسیار بیشتر از SPME معمولی می باشد. در فرآیند HS-SPME حرارت دادن نمونه منجر به افزایش انتقال جرم از ماتریکس نمونه به فضای فوقانی و در نتیجه کاهش زمان استخراج می شود. اما، از آنجایی که جذب آنالیت بر روی جاذب یک فرآیند گرمازا می باشد، همزمان با گرم کردن نمونه جاذب نیز گرم می شود که این باعث کاهش ضریب توزیع و در نتیجه کاهش کارایی استخراج می گردد (Zhang et al.,1995)، پائولیشین و همکارانش در سال ۱۹۹۵ ابزاری طراحی کردند که همزمان با گرم کردن نمونه، فیبر سرد می شود و یک اختلاف دمایی بزرگ بوجود می آید. در نتیجه انتقال جرم تسریع می شود و اختلاف دمای ایجاد شده بین پوشش فیبر و فضای فوقانی باعث افزایش ضریب توزیع می گردد. روشهای CA به دو دسته کلی CA-SPME و CA-LPME طبقه بندی می شوند. روشهای CA-SPME خود به چهار دسته الف) SPME با استفاده از CO_2 مایع، ب) SPME با استفاده از ترکوالکتریک کولر(TEC) ، ج) SPME با استفاده از سیال سرد، د) SPME با استفاده از غشای سرد و روشهای CA-LPME به چهار دسته: الف) CA-LPME با استفاده از CO_2 مایع، ب) LPME با استفاده از TEC، ج) LPME با استفاده از چرخش سیال سرد، د) LPME با استفاده از تخلیه گاز با سیستم سرد کننده طبقه بندی می شوند که به توضیح آنها می پردازیم.

الف) CA-SPME با استفاده از CO_2 مایع

اولین روش SPME تقویت شده با سرمایش که توسط جریانی از کربن دی اکسید مایع سرد می شد، میکرواستخراج فاز جامد از داخل سرد شده (IC-SPME) بود که توسط ژانگ و پائولیشینگ معرفی شد. روش IC-SPME برای استخراج بنزن، تولوئن، اتیل بنزن و زایلن (BTEX) در خاک های آلوده مورد استفاده قرار گرفت. بعد از آن در سال ۲۰۰۶ یک روش میکرواستخراج فاز جامد با استفاده از فیبر سرد (CF-HS-SPME) معرفی شد که برای اندازه گیری PAHs در خاک های آلوده مورد استفاده قرار گرفت. در این سیستم از کربن دی اکسید مایع به منظور سرد کردن استفاده شده است و قابلیت سرد کردن فیبرهای تجاری و دست ساز تا دمای پایین و همزمان حرارت دادن نمونه تا دمای بالا را دارد و فرآیند خنک کردن بطور مستقیم بر روی فیبر اعمال می شود. این سیستم برای نمونه برداری و استخراج گونه های فرار و نیمه فرار از فضای فوقانی ماتریکس های پیچیده جامد مناسب می باشد. برتری این کار نسبت به روش های قبلی، استفاده از لوله های فولاد ضد زنگ به جای فیبر سیلیکای شکننده، خودکار کردن، دمای فیبر پایین تر، دمای نمونه بالاتر و سهولت کار است (Haddadi et al., 2009).



شکل ۸- فرآیند میکرواستخراج فاز جامد فضای فوقانی با فیبر سرد (CF-HS-SPME).

با معرفی CF-SPME سیستم های مشابه دیگری برای اندازه گیری مواد فرار در میوه های استوایی، سیستم تمام خودکار CF-HS-SPME جفت شده با دستگاه GC-MS برای اندازه گیری ترکیبات فرار عطری در برنج، سیستم CF-SPME برای اندازه گیری کلروآنیسول، سیستم CF-SPME جفت شده با GC-FID برای اندازه گیری ذرات بسیار ریز و چندین سیستم CF-SPME دیگر برای اندازه گیری انواع ترکیبات مورد استفاده قرار گرفتند. تمام روش‌های CF-SPME دارای محدودیت-هایی از قبیل تجهیزات پیچیده (شیر سلنوئیدی، ترموکوپل، کنترل کننده دما، مخزن CO_2، لوله های استیل) و غیر ممکن بودن کنترل دقیق دما می باشند. یک سیستم CF-SPME که علی رغم تجهیزات پیچیده امکان انتقال مستقیم سرما را به فاز استخراجی می دهد توسط غیاثوند و همکارانش در سال ۲۰۱۵ معرفی شد. این سیستم با دستگاه GC-FID جفت شد و از آن برای اندازه گیری PAHs در خاک آلوده استفاده شد (Huang et al.2007). شکل ۸ شمای کلی سیستم را نشان می دهد.

ب) CA-SPME با استفاده از ترکوالکتریک کولر (TEC)

برای رفع معایب سیستم CF-SPME، یک سیستم ارزان، کوچک و سبک TEC معرفی شد که می تواند به طور دقیق دما را کنترل کند. اولین سیستم TEC-SPME در سال ۲۰۰۹ توسط حسین زاده و همکارانش معرفی شد. این سیستم با GC-FID جف شد و از آن برای اندازه گیری ترکیبات معطر برنج استفاده شد. در سال های بعد و بعد از معرفی شدن اولین سیستم TEC بنی تبا و همکارانش یک فیبر دست ساز SPME با نانو جاذب گرافن اکساید روی سیم طلا ساختند و از آن برای اندازه گیری PAHs در نمونه های آبی مورد استفاده قرار دادند(Ghiasvand et al., 2016). با وجود مزایای که سیستم خنک کننده TEC دارد، این سیستم از حساسیت کافی برخوردار نمی باشد. علت این پدیده انتقال غیر مستقیم سرما به فاز استخراجی می باشد، که موجب می شود فاز استخراجی به طرز مناسبی سرد نشود. بنابراین وقتی دمای نمونه افزایش می یابد، پوشش فیبر هم تا حدودی گرم می شود و دمای پوشش خیلی بیشتر از مقدار مورد انتظار است و این یکی از معایب اساسی این سیستم می باشد.

ج) CA-SPME با استفاده از سیال سرد

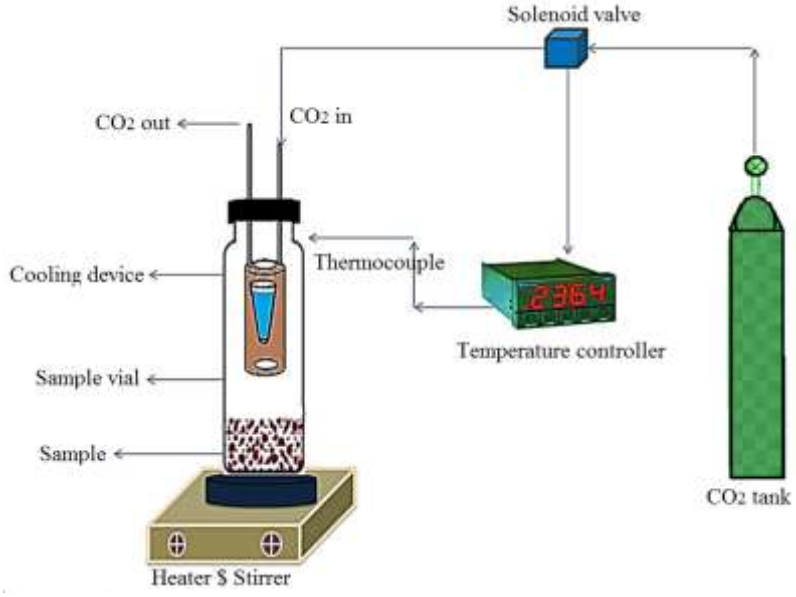
علاوه به CO_2 مایع و TEC از یخ، الکل، آب سرد و نیتروژن مایع برای خنک کردن فاز استخراجی استفاده می شود. در تمام این سیستم سرما به طور غیر مستقیم به فاز استخراجی انتقال می یابد. بنابراین این نحوه سرد کردن فاز استخراجی قادر به ایجاد اختلاف دمایی مناسب بین بافت نمونه و فاز استخراجی نمی باشد و بنابراین حساسیت این روش ها پایین می باشد. در تحقیق دیگری از یک دستگاه تقطیر با سیستم کنترل کننده دوگانه (Safdarian et al.2012) برای گرم کردن نمونه و سرد کردن فاز استخراجی به طور همزمان استفاده شد و از آن برای اندازه گیری مواد شیمیایی روغن های ضروری در گیاهان دارویی استفاده شد. این سیستم فرآیند سرد کردن فاز استخراجی در آن موثرتر می باشد چون ناحیه گرم کردن نمونه از ناحیه سرد کردن فاز استخراجی جدا می باشد و فاز استخراجی تحت تاثیر گرمای نمونه قرار نمی گیرد. همچنین سرد کردن فاز استخراجی بطور مستقیم انجام می گیرد بنابراین حساسیت این سیستم از سیستم های پیشین بالاتر می باشد.

د) میکرواستخراج فیلم نازک (TFME) با استفاده از غشای سرد

سیستم میکرو استخراج فیلم نازک با غشای سرد از تلفیق دو روش میکرو استخراج فیلم نازک (TFME) و CF-SPME بوجود آمده است و یک طراحی جدید، به نام غشای سرد (CMD) را بوجود آورده است. این سیستم با دستگاه GC-MS جفت شد و از آن برای اندازه گیری ترکیبات معطر استفاده شد.

الف) CA-LPME با استفاده از CO_2 مایع

غیاثوند و همکارانش از سیستم خنک کننده CO_2 برای خنک کردن حلال های آلی فرار در روش HS-LPME به نام میکرو استخراج فاز مایع فضای فوقانی فیبر توخالی تقویت شده با سرمایش (CA-HS-HF-LPME) استفاده کردند. در این سیستم از یک قطعه یک سانتی متری فیبر توخالی (HF) برای نگهداری قطره آلی (استون) استفاده شد و با دستگاه GC-FID جفت گردید و از آن برای اندازه گیری PAHs در خاک های آلوده استفاده گردید. بعد از آن سیستم دیگری به نام میکرو استخراج فاز مایع فضای فوقانی درون کاپ (CA-HS-IC-LPME) معرفی شد که برای نگهداری قطره آلی (متانول) از یک ویال پلی آمیدی مخروطی شکل استفاده شد و از آن برای اندازه گیری سافرانال در زعفران های ایرانی استفاده شد. شمای کلی این سیستم ها در شکل ۹ نشان داده شده است. مهمترین مزیت این سیستم ها نسبت به انواع پیشین انتقال مستقیم سرما به فاز استخراجی می باشد که این عمل با استفاده از یک محفظه خنک کننده که تنها اطراف فاز استخراجی را احاطه کرده است امکان پذیر می باشد.

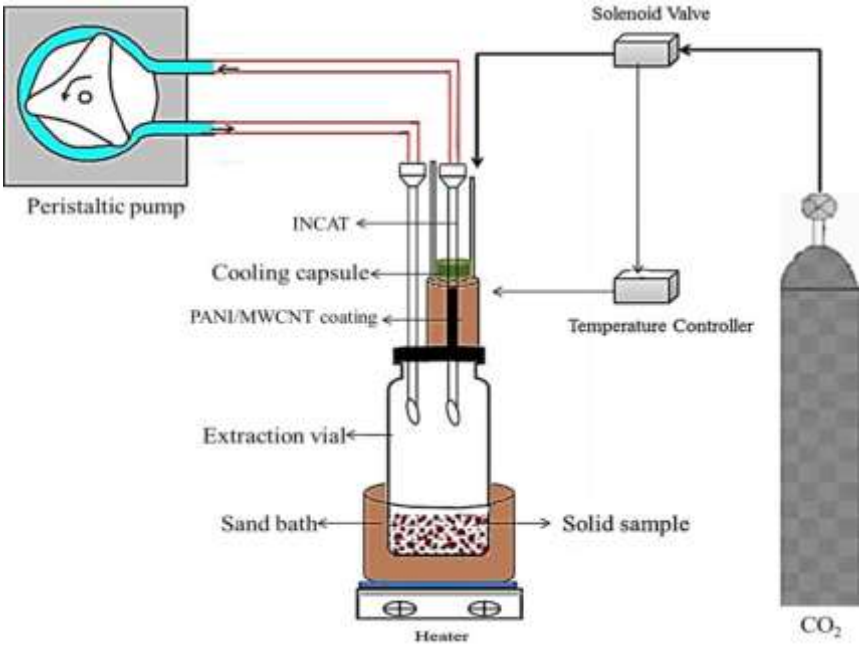


شکل ۹- شماتیک سیستم CA-HS-IC-LPME.

ب) CA-LPME با استفاده از TEC

اولین گزارش درباره استفاده از TEC برای سرد کردن حلال استخراجی در روش LPME در سال ۲۰۱۰ معرفی شد. در این سیستم از حلال های آلی فرار بعنوان فاز استخراجی، برای اندازه گیری کلرو بنزن ها استفاده شد. تحقیق دیگری توسط ژانگ به نام میکرواستخراج فاز مایع به همراه تخلیه گاز (GP-HS-LPME) برای استخراج PAHs با استفاده از دستگاه GC-MS معرفی شد. در تحقیق دیگری سیستم TEC با روش DLLME جفت شد و برای اندازه گیری کورکومین در نمونه های آبی استفاده شد (Psillakis et al.2012) در همه این روشها از حلال های آلی فرار بعنوان فاز استخراجی استفاده شد. واضح است

که در روش HS-LPME استفاده از حلال های فرار بدلیل فشار بخار بالا و نقطه جوش پایین امکان پذیر نیست چون احتمال تبخیر شدن قطره وجود دارد. از طرفی در HS-LPME وقتی از سیستم های GC و HPLC استفاده می شود محدودیت دیگری وجود دارد و آن احتمال همپوشانی پیک حلال و آنالیت می باشد. بنابراین از تعداد کمی حلال آلی در HS-LPME استفاده می شود که همه آنها بایستی نقطه جوش بالایی داشته باشند. استفاده از سیستم CA-LPME این مشکلات را رفع کرده است و امکان استفاده از حلال های فرار در این روش را امکان پذیر کرده است.



شکل۱۰- شماتیک کلی سیستم CA-HS-INCAT.

ج) CA-LPME با استفاده از چرخش سیال سرد

استفاده از منابع خنک کننده دیگر مانند چرخش آب و استفاده از میکروویو خانگی برای CA-LPME از دیگر تحقیق های صورت گرفته در این زمینه بود. در این سیستم ها امکان انتقال مستقیم سرما به فاز استخراجی وجود ندارد و اختلاف دمایی مناسب بین نمونه و فاز استخراجی بوجود نمی آید.

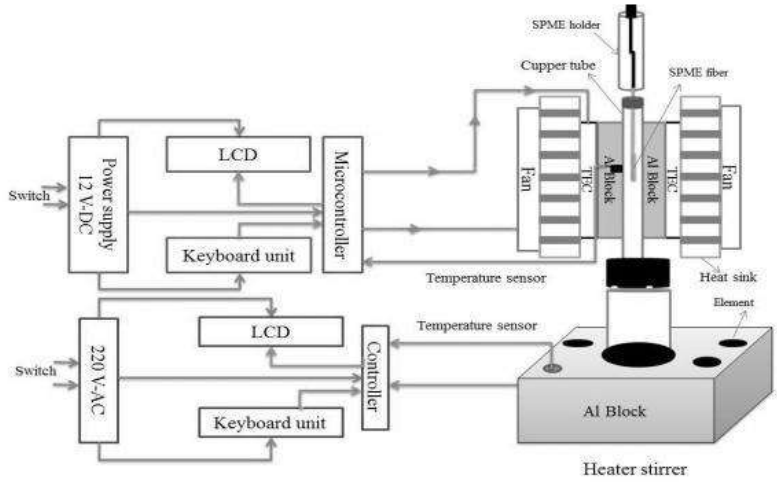
د) CA-LPME با استفاده از تخلیه گاز با سیستم سرد کننده

روش میکرو استخراج تخلیه گازی (GP-MSE) برای رفع معایب سیستم میکرواستخراج فاز مایع فضای فوقانی با جریان گاز (GF-HS-LPME) (استخراج کمی ناقص، مشکلات ناپایداری و افتادن قطره آلی، راندمان کم ترکیبات با فراریت پایین) معرفی شد. این روش با سیستم CA جفت شد و برای اندازه گیر PAHs و آلکیل فنول ها در نمونه های گیاهی مورد استفاده

قرار گرفت. سیستم خنک کننده در این روش یک کندانسور هوای سرد اصلاح شده با مخلوط آب–نمک–یخ می باشد. عیب اصلی این سیستم اینست که برای آنالیز مستقیم نمونه های آبی روش مناسبی نمی باشد. بر این اساس یانگ و همکارانش یک سیستم GP-MSE برای نمونه های آبی را معرفی کرد. این روش با دستگاه HPLC-UV جفت شد و برای اندازه گیری آلکیل فنول ها (APs) در نمونه های غذایی مورد استفاده قرار گرفت.

دستگاه تقویت میکرواستخراج با سردکردن و گرم کردن همزمان

هدف این ابداع معرفی "دستگاه میکرو استخراج با قابلیت سرد کردن فاز استخراجی و گرم کردن همزمان نمونه" می باشد که اولین نمونه تجاری در جهان است. بعلاوه این دستگاه محدود به روش و نمونه خاصی نیست و قابل کاربرد در همه روشهای SPME–، NTD، INCAT، و LPME می باشد. در طول ده سال تحقیق و پژوهش، دهها نمونه اولیه از این سیستم توسط دانشجویان تحصیلات تکمیلی ساخته و امتحان شده است. همه این تجربیات منجر به ساخت دستگاه Heating/Cooling-Assisted Microextraction Device شد که اولین نوع آن با نام اختصاری تجاری CHA-ME-2015 ارائه شده است. این دستگاه حساسیت و کارآئی روشهای ME را بطور چشمگیری افزایش داده و محققان را قادر می سازد که آنالیز انواع نمونه های پیچیده جامد و مایع زیست–محیطی، داروئی و غذایی با هزینه بسیار کم، در زمان کوتاه و با کمترین دستکاری نمونه انجام دهند. یکی از کاربردهای جالب این سیستم ثبت پروفایل تنفس افراد برای ردیابی بیماری های صعب العلاج مانند سرطان می باشد که روشهای دیگر براحتی قادر به انجام آن نیستند. تحقیقات برای ساخت انواع دیگر این سیستم ادامه دارد.



شکل ۱۱- شماتیک کلی دستگاه تقویت میکرواستخراج با سردکردن و گرم کردن همزمان.

میکرو استخراج فاز جامد فضای فوقانی تقویت شده با خلأ (VA-SPME)

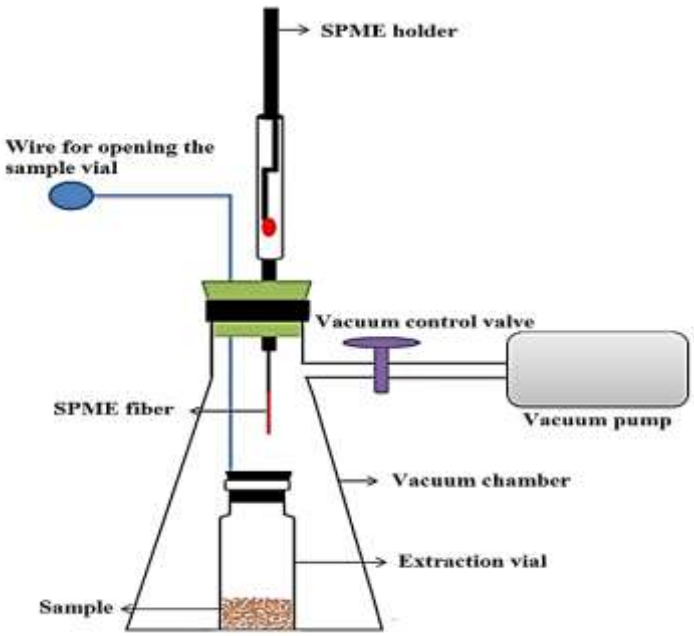
نمونه برداری SPME از فضای فوقانی شامل دو مراحله توزیع آنالیت بین نمونه/فضای فوقانی و فضای فوقانی/فیبرمی باشد. برای بیشتر ترکیبات مرحله محدود کننده سرعت انتقال آنالیت از نمونه به فضای فوقانی می باشد. بطور معمول زمان تعادل با همزدن کوتاه می شود، اما این روش همیشه مؤثر نیست. روش CF-SPME راهکار موثری است که در سالیان اخیر به وفور مورد استفاده قرار گرفته است اما منجر به تخریب ترکیبات حساس به حرارت می شود. یک روش جایگزین مناسب برای حل این مشکل ابزار VA-SPME می باشد. در این روش با تخلیه هوا از محفظه نمونه برداری و کاهش فشار، ترکیبات از بافت نمونه جامد بسادگی و با سرعت رها شده و وارد فضای فوقانی می شوند. از طرفی بعلت کاهش تعداد مولکولهای هوا و سایر گونه هایی که با جذب آنالیت بر روی فیبر رقابت می کنند، آنالیت براحتی و با سرعت جذب فیبر می شود با این حال روشهای تقویت شده با خلأ که در سالهای اخیر ارائه شده اند نقایص تکنیکی و کاربردی زیادی داشته و محدود به نمونه های مایع هستند. این سیستم در سالهای اخیر ابداع شده و تنها ده گزارش در مورد آن وجود دارد.

در سال ۲۰۰۱ برانتون (Brunton) و همکاران اولین کسانی بودند که نتایج خود را بر مثبت بودن اثر کاهش فشار نمونه برداری از فضای فوقانی گوشت خام و استانداردهای آبی ارائه دادند. در این روش بعد از اضافه کردن نمونه به ظرف نمونه، هر گونه مولکول هوایی از دورن ظرف تخلیه شد و نمونه برداری در ۳۰ دقیقه انجام گرفت. مقایسه کارایی نمونه برداری با حالت فشار اتمسفری تاثیر مثبت کاهش فشار را تایید نمود. در ۲۰۰۵ داریوز (darrouzes) و همکاران اثر مثبت کاهش فشار را بر نمونه گیری HS-SPME تأیید نمودند. در این روش از نمونه مایع برای بررسی کارایی روش VA-SPME نیز استفاده شد و نتایج اثر کاهش فشار را تایید نمودند. در سال ۲۰۱۲ سیلاکیس(psillakis) یک فرآیند میکرواستخراج فاز جامد تحت شرایط خلأ انجام شد و برای اولین بار یک مدل تئوری ارائه گردید که وابستگی فشار HS-SPME را نشان می داد. در سال ۲۰۱۳ سیلاکیس و همکارانش VA-HS-SPMEرا برای نمونه های مایع کوچک‌سازی کردند. این روش به دلیل کارآیی بسیار بالا در استخراج گونه های فرار از نمونه های مایع، بسیار مفید واقع گردید. در سال ۲۰۱۵ اولین سیستم میکرواستخراج تقویت شده با خلاء برای نمونه جامد مطرح گردید.(Lee *et al.*, 2015) در این روش نمونه جامد به درون ظرف استخراج منتقل شد و همراه با نمونه جامد مقداری آب به نمونه اضافه گردید بگونه ای که نمونه نهایی بصورت دوغاب گردید سپس در حضور نمونه فشار درون ظرف استخراج کاهش یافت. نتایج بررسی ها در مقابل شرایط فشار اتمسفری تاثیر مثبت کاهش فشار را تایید کردند. یکی از عیب های بزرگ این روش کاهش فشار در حضور نمونه می باشد. این عمل باعث می شود بخشی از نمونه در حین افت فشار از بین رود و بنابراین کالیبراسیون این روش دچار ایراد گردد. برای رفع این مشکل ضرغامی و همکاران یک تکنیک جدید برای روش میکرو استخراج تقویت شده با خلاء را ارائه نمودند که برای نمونه های جامد و البته هر گونه نمونه ای کاربرد دارد و معایب سیستم های پیشین را برطرف می کند. در این رو که شمایی از آن در شکل (۱۱) نشان داده شده است، یک ظرف ضخیم شیشه ای (شبیه ارلن خلأ) بعنوان محفظه خلأ انتخاب شد و درب آن توسط یک درپوش سیلیکونی، که در وسط آن یک سپتوم برای تزریق فیبر SPME تعبیه شده بود، بسته شد. سپس یک ویال ۲۰ میلی لیتر مخصوص SPME با درب تفلونی، به عنوان ظرف نمونه در ته ظرف خلاء با چسب مخصوص چسبانده شد. درب ظرف استخراج توسط یک سیم از جنس فولاد

ضد زنگ و از درون درب سیلیکونی ظرف خلاء باز و بسته می شد، سوراخ جانبی ظرف خلاء از طریق یک شیر سه راهی به ترپ و پمپ خلاء متصل شد. برای VA-HS-SPME ابتدا نمونه جامد وارد ویال استخراج شده و درب آن بسته می شود. سپس ظرف نمونه برداری تحت خلاء قرار می گیرد و پس از تخلیه هوا، شیر سه راهی شیشه ای بسته شده و اتصال ظرف با پمپ خلأ قطع می گردد. پس از آن به کمک سیم فولادی درب ویال استخراج باز می شود. در این مرحله انالیت ها بسرعت و با شدت از ظرف خارج شده و در همه ظرف خلاء پراکنده می شوند. در پایان فیبر SPME از طریق سپتوم به فضای فوقانی تزریق می شود. از آنجا که فیبر در معرض فضای فوقانی است شروع به جذب مولکول های آنالیت از فاز گازی می کند. در نتیجه غلظت آنالیت در فضای فوقانی به سرعت سقوط می کند و دوباره توسط آنالیت منتقل شده از نمونه به فضای فوقانی پر می شود. وقتی نمونه گیری میکرواستخراج کامل شد، فیبر عقب کشیده می شود و بلافاصله برای آنالیز به بخش تزریق دستگاه GC-FID وارد می شود تا آنالیت واجذب شده و وارد ستون گردد. چنانچه ملاحظه شد تعداد انگشت شماری گزارش درمورد تکنیک VA-SPME وجود دارد که سیستم های معرفی شده در آن ها، فقط می توانند برای نمونه های مایع به کار روند. در حالیکه استخراج از ماتریکس جامد اهمیت بسیار بیشتری دارد. از طرفی کار کردن با ابزار مذکور مشکل است، چون راهی برای ورود نمونه به محفظه ی نمونه برداری، بعد از ایجاد خلأ وجود ندارد، و تنها می توان نمونه های مایع را بوسیله سرنگ وارد نمود. دو سیستم طراحی شده برای نمونه برداری تحت خلأ از نمونه های جامد نیز نقایص تکنیکی و کاربردی زیادی داشته و به مقدار زیادی باعث هدر رفتن آنالیت ها می شوند. در این سیستم فشار درون ظرف بشدت کاهش یافته و سرعت و راندمان استخراج را نسبت به SPME معمولی، بطور چشمگیری افزایش داده و منجر به افزایش حساسیت و کوتاه شدن زمان نمونه برداری می شود. با این دستگاه جدید، براحتی می توان انواع نمونه ها جامد و مایع را بدون دستکاری و تغییر در نمونه بطور مستقیم مورد استخراج و آنالیز قرار داد. در ۲۰۰۵ داریوز و همکاران اثر مثبت کاهش فشار را بر نمونه برداری HS-SPME تأیید نمودند (شکل۱۱) (Zarghami, 2016). به این ترتیب که نمونه برداری HS-SPME از ترکیبات بوتیل و فنیل تین در فشارهای مختلف (فشار اتمسفر یا ۱، ۰/۵ و ۰/۰۴ بار) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان داد که با کاهش فشار فضای فوقانی کارایی استخراج افزایش می یابد. چنانچه ملاحظه شد تعداد انگشت شماری گزارش درمورد تکنیک VA-SPME وجود دارد که سیستم های معرفی شده در آن ها، فقط می توانند برای نمونه های مایع به کار روند. در حالیکه استخراج از ماتریکس جامد اهمیت بسیار بیشتری دارد. از طرفی کار کردن با ابزار مذکور مشکل است، چون راهی برای ورود نمونه به محفظه ی نمونه برداری، بعد از ایجاد خلأ وجود ندارد، وتنها می توان نمونه های مایع را بوسیله سرنگ وارد نمود. دو سیستم طراحی شده برای نمونه برداری تحت خلأ از نمونه های جامد نیز نقایص تکنیکی و کاربردی زیادی داشته و به مقدار زیادی باعث هدر رفتن آنالیت ها می شوند. در این قسمت خلاصه ای از کارهای صورت گرفته در زمینه خلاء توصط سایر دانشمندان در جدول ۱ ارایه شده است.

جدول ۱-مروری بر پیشینه میکرو استخراج فاز جامد فضای فوقانی تقویت شده با خلأ.

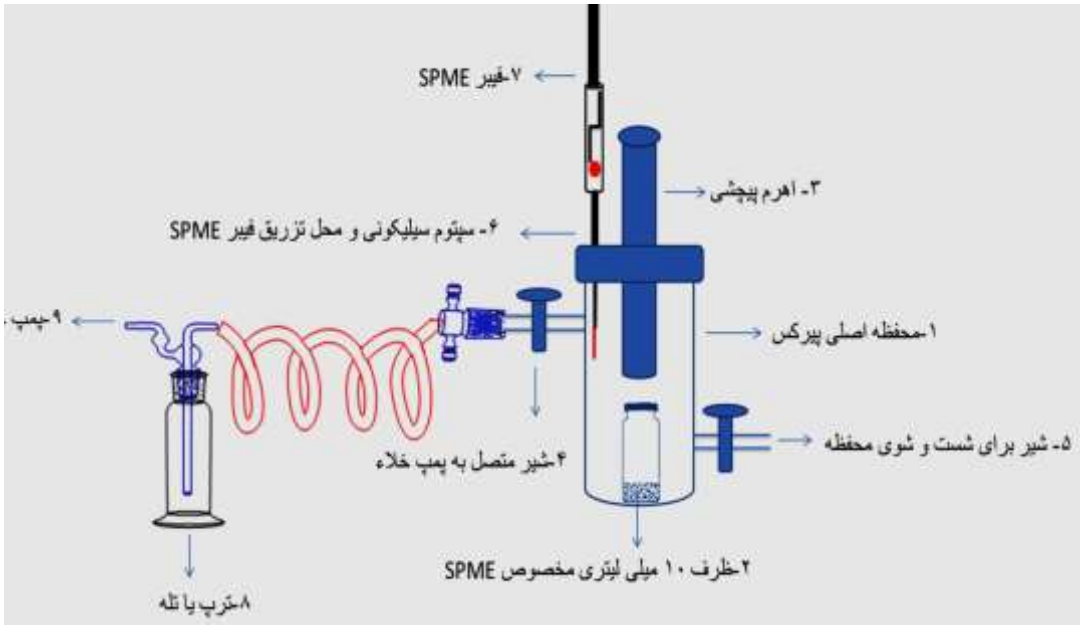
نوع مطالعه	سال
۱- بررسی تأثیر مثبت کاهش فشار فضای فوقانی بر نمونه برداری HS-SPME.	۲۰۰۱
۲- نتایج برانتون درمورد تاثیر مثبت کاهش فشار بر نمونه برداری از فضای فوقانی و انجام یک فرآیند HS-SPME تحت شرایط فشار کاهش یافته و مقایسه کارائی استخراج از فضای فوقانی در فشارهای مختلف.	۲۰۰۵
۳- طراحی و ساخت یک ابزار استخراج کننده خلأ (FVE) برای بازیابی آلاینده های شیمیایی از سطوح ثابت.	۲۰۱۱
۴- توسعه یک تکنیک Vac-HS-SPME جدید مناسب برای نمونه های مایع و ارائه یک مدل تئوری برای اثبات وابستگی فشار HS-SPME.	۲۰۱۲
۵- کوچک سازی فرآیند Vac-HS-SPME با تغییر سایز ظرف نمونه از ۱۰۰۰ به ۲۲ میلی لیتر.	۲۰۱۳
۶- اولین مطالعه در زمینه نمونه برداری تحت خلأ از جامدات با طراحی یک سیستم جدید و اعمال خلأ در حضور نمونه. همچنین، مطالعه تئوری خلأ برای نمونه های جامد.	۲۰۱۵
۷- اجرای فرآیند rp-HS-SPME-GC / MS با طراحی یک ابزار ساده بدون نیاز به پمپ خلأ خارجی و بررسی قابلیت های این سیستم با استخراج ترکیبات آلی فرار موجود در تنباکوی سیگار.	۲۰۱۵
۸- طراحی، ساخت و بهینه سازی ابزار VA-HS-SPME مناسب برای نمونه های جامد و مایع.	۲۰۱۶



شکل ۱۲- ابزار طراحی شده جدی برای نمونه برداری VA-HS-SPME برای نمونه های جامد.

روش کار به این صورت است: ۱-کل سیستم ابتدا باز، شسته و خشک می گردد (درصورتیکه نخواهیم سیستم را باز کنیم، اینکار را با عبور نیتروژن گرم و خشک نیز می توان انجام داد). ۲- نمونه درون ظرف مخصوص ریخته شده و درب آن محکم می شود. ۳- سیستم به یک پمپ وصل شده و تحت خلاء قرار می گیرد. ۴- توسط اهرم مخصوص در بالای سیستم، درب ظرف نمونه به آرامی باز می شود تا نمونه تحت خلاء قرار گرفته و آنالیت (که بشدت به بافت نمونه چسبیده) رها شود و در فضای فوقانی قرار گیرد. ۵- از طریق سپتوم تعبیه شده در بالای ظرف فیبر SPME مورد نظر در فضای فوقانی قرار می گیر تا آنالیت بطور کامل جذب شود. ۶- فیبر از سپتوم خارج شده و برای اندازه گیری به دستگاه تجزیه ای تزریق می گردد (Yiantzi, 2014).

از مزیت های مهم دو سیستم طراحی شده برای نمونه های جامد می توان به موارد زیر اشاره نمود: ۱- سیستم VA-HS-SPME اولین سیستم پیشنهادی برای نمونه برداری تحت خلأ برای ماتریکس جامد است و طبق اطلاعات روز هیچ مشابهی در جهان ندارد. ۲- تخلیه هوا از محفظه نمونه گیری در طول فرآیند VA-HS-SPME تکرارپذیری را تضمین نموده و احتمال هرگونه تغییر در آنالیت را حذف می کند. ۳-کاهش فشار درون محفظه نمونه برداری باعث بهبود سرعت تبخیر و افزایش سینتیک استخراج نسبت به HS-SPME معمولی می گردد. ۴- مقدار آنالیت استخراج شده توسط فیبر با این روش بسیار بیشتر از HS-SPME معمولی است. ۵- ابزار VA-HS-SPME بازده استخراج و حساسیت را بشدت بالا برده و زمان نمونه برداری را کوتاه می کند. بعلاوه باعث بهبود تکرارپذیری می شود. ۶- این ابزار برای نمونه های حساس به اکسیژن و حرات بسیار مناسب بوده و جایگزینی ندارد. ۷- سیستم VA-HS-SPME طراحی شده بسیار ساده و کم هزینه بوده و کاربرد آن آسان است. ۸- این سیستم قابلیت آنالیز ترکیبات فرار در خاک، غذا، گیاهان و آب بطور موثری دارا می باشد. شماتیک این روش در شکل ۱۳ نشان داده شده است.



شکل ۱۳-شکل واقعی دستگاه نمونه برداری VA-HS-SPME برای نمونه های جامد.

الف) تئوری خلأ برای نمونه های مایع

اصل پایه ی HS-SPME فرآیند توزیع تعادلی آنالیت بین سه فاز (نمونه، فضای فوقانی و فاز استخراجی یا فیبر) و در عرض دو سطح مشترک (نمونه/فضای فوقانی و فضای فوقانی/فیبر) می باشد. با این فرض که زمان نمونه برداری کافی برای رسیدن به تعادل وجود داشته باشد مقدار آنالیت استخراج شده توسط فیبر از فرمول زیر بدست می آید.

$$C_f^{\infty} V_f = \frac{K_f K_g V_s V_f}{K_f K_g V_f + K_g V_g + V_s} C_s^{\circ} \quad (۵)$$

C_s° غلظت اولیه حل شونده (آنالیت)، V_s، V_g و V_f حجم های نمونه، فاز گازی و پوشش فیبر می باشند. K_g ، ضریب توزیع آنالیت بین نمونه و فاز گازی و K_f ضریب توزیع آنالیت بین پوشش فیبر و فضای فوقانی می باشد.

$$K_g = C_g^{\infty} / C_s^{\infty} \quad (۶)$$

$$K_f = C_f^{\infty} / C_g^{\infty} \quad (۷)$$

C_s^{∞} ، C_f^{∞} و C_g^{∞} به ترتیب غلظت تعادلی آنالیت در نمونه، فیبر و فاز گازی می باشند.

براساس نوع آنالیت مورد نظر، فشار نمونه برداری ممکن است بر سرعت استخراج و در نتیجه بر پاسخ دینامیکی فرآیند نمونه برداری HS-SPME اثر بگذارد. روش HS-SPME در یک سیستم سه فازی دارای یک فرآیند چند مرحله ای شامل انتقال جرم در سه فاز و در عرض دو سطح مشترک (نمونه/ فضای فوقانی/ فیبر) می باشد. بطور معمول انتقال جرم در فضای فوقانی یک فرآیند خیلی سریع در نظر گرفته می شود (Groenewold et al., 2011) برای ترکیبات نیمه فرار تبخیر آنالیت از نمونه به فضای فوقانی مرحله تعیین کننده سرعت است.

بطور کلی تبخیر حل شونده های آلی از آب یک واکنش درجه اول است و تغییر غلظت در فاز مایع با زمان با رابطه زیر داده شده است:

$$C_s = C_s^{\circ} e^{-kt} \quad (۸)$$

در اینجا k ثابت سرعت تبخیر است و از رابطه زیر محاسبه می شود که در این رابطه L عمق محلول در ظرفی با سطح مقطع یکنواخت می باشد:

$$k = \frac{K_L}{L} \quad (۹)$$

موازنه جرم شیمیایی در اطراف مولکول های آب از طریق رابطه زیر بدست می آید:

$$V_s \frac{\mathrm{dC_s}}{\mathrm{dt}} = -K_L A (C_s - C_i) \quad (۱۰)$$

در این معادله C_i، غلظت آنالیت در سطح مشتر آب/ هوا، A مساحت سطح بین نمونه/ فاز گازی و K_L ضریب انتقال جرم کل در سطح مشترک نمونه/ فاز گازی می باشد. انتگرال معادله (۱-۱۰)، معادله (۱-۸) را می دهد. لیس (lick) و اسلاتر(Slaughter) و بعدها ماکی (Maki) و لیمونن(limonene) ، اولین کسانی بودند که با استفاده از تئوری دو فیلم و یک شار مطابق با شرایط مرزی و با فرض اینکه مقاومت کل انتقال جرم از مقاومت های بین دو فیلم نازک (گاز و مایع) در مجاورت تداخل گاز- مایع نتیجه میشود K_L را به صورت معادله زیر توصیف نمودند:

$$K_L = \left[\frac{1}{k_L} + \frac{1}{K_H k_g}\right]^{-1} \quad (۱۱)$$

k_L و k_g ضریب انتقال جرم فیلم گاز و مایع و K_H ثابت هنری می باشند. این روش بطور وسیعی برای مشکل تبخیر مواد شیمیایی از آب طبیعی بدن بکار برده شد و نتایج نشان دادن که سرعت تبخیر مواد شیمیایی بسته به مقدار K_H می تواند با مقاومت انتقال جرم در فاز مایع، فاز گازی یا ترکیبی از هردو کنترل شود. تمایل حل شونده آلی به توزیع در اتمسفر بطور عمده توسط فشار بخار آن ها تعیین می شود. در عین حال، گونه های با وزن مولکولی بالا که فشار بخار ناچیز و در نتیجه غلظت های اتمسفری پایینی دارند، ممکن است حلالیت کمی در آب داشته باشند. نسبت غلظت در جو به آب (ضریب توزیع آب/ هوا) ممکن است با وجود فشار بخار کم بزرگ باشد. این ضریب توزیع می تواند به عنوان ثابت قانون هنری بدون بعد بیان شود و برای پیش بینی موقعیت فاز از مقاومت انتقال جرم بکار برده شود. بنابراین برای یک K_H بالای حل شونده آلی، مقاومت اصلی در برابر انتقال جرم، در فاز مایع نهفته است و برای یک K_H پایین حل شونده های آلی مقاومت در برابر انتقال جرم از نمونه به فضای فوقانی در فاز گازی متمرکز شده است. اگر ترکیب یک مقدار K_H متوسط داشته باشد، مقاومت انتقال جرم فاز مایع و گاز هردو مهم است. ضریب انتقال جرم k_g به همان نسبت به ضریب نفوذ مولکولی ترکیبات (D_g) به توان m وابسته می باشد. محتمل ترین مقادیر برای m، ۰/۵ ، ۱ و ۲ هستند.

$$k_g \propto D_g^m \quad (۱۲)$$

با توجه به معادله زیر D_g بطور معکوس متناسب با فشار کل می باشد.

$$D_g = \frac{0.001 * T^{1.75} \sqrt{\frac{1}{M_{air}} + \frac{1}{M_c}}}{P\left[(\Sigma V_{air})^{1/3} + (\Sigma V_c)^{1/3}\right]^2} \quad (۱۳)$$

T دمای مطلق، M_{air} و M_c به ترتیب وزن مولکولی هوا و ترکیب آلی و V_{air} و V_c حجم مولی هوا و ترکیب آلی می باشند. با تخلیه هوا از محفظه نمونه برداری قبل از ورود نمونه مایع بطور قابل توجهی فشار کل سیستم کاهش خواهد یافت. براساس این معادله، می توان نتیجه گرفت که کاهش فشار کل سیستم D_g را افزایش می دهد و در نتیجه باعث افزایش k_g می شود. برای ترکیبات با مقادیر K_H پایین، باعث افزایش کلی مقادیر ضریب انتقال جرم در مقایسه با فشار اتمسفری داده شده برای این ترکیبات می شود($K_L \cong K_H K_g / RT$). در نتیجه برای ترکیبات نیمه فرار که در آن تبخیر از فاز تغلیظ شده به فضای فوقانی

آن توسط انتقال جرم فاز گازی کنترل می شود، کاهش فشار فضای فوقانی منجر به افزایش سرعت تبخیر می گردد. این ادعا دلالت دارد که در طول فرآیند چند مرحله ای HS-SPME شرایط فشار کاهش یافته باید منجر به سریعتر شدن پاسخ نمونه به کاهش غلظت آنالیت در فضای فوقانی شود. بنابراین برای ترکیبات با مقادیر K_H پایین که انتقال جرم از نمونه به فضای فوقانی مرحله تعیین کننده سرعت است، HS-SPME تعادلی تحت شرایط فشار کاهش یافته سریعتر برقرار می شود (Ghiasvand *et al*., 2018) (*Piao* et al., 2011)

ب) تئوری خلأ برای نمونه های جامد

به طور کلی سرعت تبخیر آنالیت از نمونه در ماتریکس جامد در مقایسه با ماتریکس مایع کمتر می باشد. یک دلیل برای این پدیده این است که در نمونه های جامد تحرک شیمیایی آنالیت ها بسیار کمتر از نمونه های مایع می باشد چرا که فرض می شود که ذرات ماتریکس حاوی یک لایه آلی روی سطح خود هستند و آنالیت در قسمت متخلخل آن جذب سطحی شده است. چگونگی برهم کنش آنالیت با ماتریکس در نمونه های جامد دشوار و بسته به نوع پیچیدگی آنالیت و ماتریکس، متفاوت می باشد. قابلیت فراریت یک ترکیب آلی از نمونه جامد بستگی به فشار بخار آن ترکیب دارد. ولی سرعت تبخیر واقعی بستگی به برخی پارامترها از جمله خصوصیات جامد (محتوای آب، مواد آلی، تخلخل و ویژگی های جذب و نفوذ مواد جامد)، خصوصیات شیمیایی ترکیبات (حلالیت در آب، ثابت قانون هنری، ضریب جذب جامد) و شرایط خارجی (مانند دما) دارد.

ج) وابستگی فشار تبخیر ترکیبات آلی از سطح جامد

آنالیت های آلی ممکن است روی سطح جامد یا درون آن قرار بگیرند. سرعت تبخیر و رها شدن این آنالیت ها در سه فرایند صورت می گیرد: ۱) سرعت حرکت آنالیت ها از میان سطح. ۲) فشار بخار موثر (فوگاسیته) آنها در سطح یا درون جامد. ۳) سرعت حرکت آنالیت به سطح جامد با نفوذ و یا همرفت. در اینجا باید متذکر شد که برخلاف انتشار جرم، همرفت در نتیجه وجود یک نیروی خارجی رخ می دهد. مدل های مختلفی برای پیشگویی تبخیر آنالیت ها از نمونه جامد توسعه یافته است. یک مدل توسط جری(Jerry) و همکارانش برای تبخیر و تحرک آنالیت ها در نمونه های خاک مطرح شد. در این مدل مواد آلی به سه حالت (جذب سطحی شده، محلول و گازی) در خاک یا مواد جامد قرار دارند و برای حرکت توسط انتشار بخار، انتشار مایع و همرفت با محلول مایع آزاد هستند. از این رو تغییر شیمیایی، مجموع تغییر بخار (J_G) و تغییر املاح حل شده (J_L) است که به عنوان مجموع نفوذ مایع و شار همرفت بیان می شود. شار بخار طبق قانون فیک (fake) بر طبق معادله (۱-۱۴) خواهد بود:

$$J_G = -\varepsilon_G D_G^{air} / \partial z \qquad (۱۴)$$

در اینجا D_G^{air} ضریب نفوذ مولکولی ترکیب در هوا و ε_G میزان پیچ خوردگی و تخلخل برای کاهش جریان و افزایش طول و نفوذ مولکول های گازی در ماتریکس جامد می باشد. ضریب نفوذ برای مخلوط دوتایی گازی در فشار های پایین با استفاده از

مدل های مختلفی تخمین زده می شود، در همه این مدل ها نشان می دهند که D_G^{air} با فشار کل رابطه معکوسی دارد. این وابستگی طبق رابطه[۲] فولر–چتلر–گیدینگ بصورت زیر نشان داده می شود:

$$\mathrm{D}_G^{air} = \frac{0.001*T^{1.75}\sqrt{\frac{1}{M_{air}}+\frac{1}{M_c}}}{P\left[(\Sigma V_{air})^{1/3}+(\Sigma V_c)^{1/3}\right]^2} \quad (۱۵)$$

T دمای مطلق، M_{air} و M_c به ترتیب وزن مولکولی هوا و ترکیب آلی و V_{air} و V_c حجم مولی هوا و ترکیب آلی می باشند. معادله (۱–۱۵) نشان می دهد که در یک دمای معین، با تخلیه هوا از محفظه نمونه برداری قبل از فرآیند نمونه برداری شار بخار آنالیت ها در سطح جامد افزایش می یابد و بطور قابل توجهی فشار کل سیستم کاهش خواهد یافت. براساس این معادله، می توان نتیجه گرفت که کاهش فشار کل سیستم D_G^{air} را افزایش می دهد. ، از اینرو سرعت استخراج HS-SPME بهبود می یابد.

د) وابستگی فشار تبخیر ترکیبات آلی از مخلوط آب/ خاک

بطور کلی افزودن اصلاح کننده به ماتریکس جامد بعنوان مثال اضافه کردن آب یک روش ساده در HS-SPME است که بطور چشمگیری رها سازی آنالیت از بافت نمونه را افزایش می دهد. زیرا بین مولکول های آب و ترکیب آلی (آنالیت هدف) برای اشغال کردن سایت های فعال ماتریکس رقابتی صورت می گیرد و مولکول های آب جای سایت فعال ماتریکس را گرفته و باعث می شود آنالیت ها براحتی در فضای فوقانی نمونه رها گردد. در مخلوط خاک/ آب، شار آنالیت به سمت پوشش فیبر (J_1)توسط شار آنالیت به سمت فضای فوقانی (J_2) و شار واجذب آنالیت از خاک و نفوذ به فاز آبی (J_3) تحت تاثیر قرار می گیرد. فرض می شود که ذرات خاک به طور کامل در آب غوطه ور هستند و هیچ شار مستقیم آنالیت به فضای فوقانی صورت نمی گیرد. در طول HS-SPME مولکول های آنالیت بطور مستقیم از فاز گازی جذب فیبر می شوند و در نتیجه فاز گازی توسط انتقال آنالیت ها از آب به فاز گازی مدام اشباع می شود. کاهش قابل توجه غلظت آب منجر به انحراف از حالت تعادل می گردد و در نتیجه روی واجذب آنالیت از ماتریکس خاک اثر منفی می گذارد. برای ترکیبات نیمه فرار تبخیر آنالیت از آب مرحله تعیین کننده سرعت می باشد در حالیکه جذب آنالیت بوسیله فیبر فرایندی سریع می باشد. از آنجایی که سرعت واجذب آنالیت ها از جامد به فاز مایع اساسا مستقل از فشار کل فضای فوقانی می باشد، چه با اعمال خلاء (کاهش فشار) چه در فشار اتمسفری توانایی جامدات برای اشباع کردن محلول از بخارات آنالیت یکسان خواهد بود. از آنجایی که تبخیر به فضای فوقانی به طرز چشمگیری تحت شرایط خلاء سرعت می یابد، واجذب آنالیت از خاک مرحله محدود کننده سرعت در طول VA-HS-SPME در مخلوط خاک/آب می باشد (Beiranvand et al., 2020), (Brunton et al., 2001).

[2] Fuller-Schettler-Giddings

نتیجه گیری

در سالهای اخیر روش های میکرو استخراج فاز جامد (SPME) و میکرو استخراج فاز مایع (LPME)، به دلیل حذف استفاده از حلال های سمی و مضر برای محیط زیست و سلامت انسان، بسیار مورد توجه قرار گرفته اند. به همین علت، امروزه اصلاح و تقویت روشهای میکرو استخراج نیز از موضوعات مهم مورد توجه در تحقیقات است. روشهای اصلاح شده میکرو استخراج فاز جامد تقویت یافته با خلاء و تقویت یافته با سرما اخیرا توسط دانشمندان بسیار مورد توجه قرار گرفته اند و پژوهش های فراوانی از این دو تکنیک منتشر شده است. این تکنیک ها حساسیت و کارآئی روشهای میکرواستخراج را بطور چشمگیری افزایش داده و محققان را قادر می سازد که آنالیز انواع نمونه های پیچیده جامد و مایع زیست-محیطی، داروئی و غذایی با هزینه بسیار کم، در زمان کوتاه و با کمترین دستکاری نمونه انجام دهند. یکی از کاربردهای جالب این سیستم ثبت پروفایل تنفس افراد برای ردیابی بیماری های صعب العلاج مانند سرطان می باشد که روشهای دیگر براحتی قادر به انجام آن نیستند. تحقیقات برای ساخت انواع دیگر این سیستم ادامه دارد.

پیشنهادات در این زمینه می توان به موارد زیر اشاره نمود:

۱- مطالعه در خصوص معرفی و ساخت سیستم های خلاء بدون استفاده از سیستم تخلیه هوا (پمپ خلاء) و استفاده از سرنگ های نمونه بردار برای تخلیه هوا

۲- مطالعه در خصوص معرفی سیستم های چند جنبه ای (استفاده از همزمان سیستم تقویت یافته با سرما و تقویت یافته با خلاء برای افزایش کارایی استخراج نمونه ها)

۳- ارایه روش های نوین میکرو استخراج (بکارگیری فناوری نانو) جهت بهره وری بیشتر در استخراج نمونه ها. مانند استفاده از فناوری نانو برای ساخت جاذب های مورد استفاده در روش SPME.

منابع

M.F Alpendurada, (2000). Solid-phase microextraction: A promising technique for sample preparation in environmental analysis, J. Chromatogr. A, 889, pp. 3-14.

J. Pawliszyn, (2002). Sampling and sample preparation for field and laboratory: fundamentals and new directions in sample preparation. Elsevier, Amsterdam,.

O. Krüger, G. Christoph, U. Kalbe, W. Berger, (2011). Comparison of stir-bar sorptive extraction (SBSE) and liquid–liquid extraction (LLE) for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in complex aqueous matrices, Talanta, 85, pp. 1428-1434.

M. A. Jeannot, F. F. Cantwell, (1996). Solvent microextraction into a single drop, Anal. Chem., 68, 2236-2240.

J. Pawliszyn, (2000). Theory of solid-phase microextraction, J. Chromatogr. Sci., 38, pp. 270-278.

H. Bagheri, A. Aghakhani, M. Baghernejad, A. Akbarinejad, (2012). Novel polyamide-based nanofibers prepared by electrospinning technique for headspace solid-phase microextraction of phenol and chlorophenols from environmental samples, Anal. Chim. Acta, 716, pp. 34-39.

J.A .Koziel, M. Odziemkowski, J. Pawliszyn, (2001). Sampling and analysis of airborne particulate matter and aerosols using in-needle trap and SPME fiber devices, Anal. Chem., 73, pp. 47-54.

A.R. Ghiasvand, S. Hajipour, N. Heidari, (2016). Cooling-assisted microextraction:comparison of techniques and applications, Trends Anal. Chem., 77, pp. 54–65.
Z. Zhang, J. Pawliszyn, (1995). Quantitative extraction using an internally cooled solid phase microextraction device, Anal. Chem., 67, pp. 34-43.
S.H. Haddadi, J. Pawliszyn, (2009). Cold fiber solid-phase microextraction device based on thermoelectric cooling of metal fiber, J. Chromatogr. A, 1216, pp. 2783-2788.
Y.-C. Huang, Y.-S. Su, S. Muniraj, W. Zhang, J.-F. Jen, (2007). New cloud vapor zone (CVZ) coupled headspace solid-phase microextraction technique, Anal. Bioanal. Chem., 388, pp. 377-388.
A.R. Ghiasvand, F. Yazdankhah, S. Hajipour, (2016). Use of volatile organic solvents inheadspace liquid-phase microextraction by direct cooling of the organic dropusing a simple cooling capsule, J. Sep. Sci., 39, pp. 3011–3018.
M. Safdarian, P. Hashemi, M. Naderlou, (2012). In-line cold column trapping of organic phase in dispersive liquid–liquid microextraction: Enrichment and determination of curcumin in human serum, J. Chromatogr. A, pp.1244, 14-19.
E. Psillakis, A. Mousouraki, E. Yiantzi, N. Kalogerakis, (2012). Effect of Henry's law constant and operating parameters on vacuum-assisted headspace solid phase microextraction, J. Chromatogr. A, 1244, pp. 55-60.
C. Lee, Y. Lee, J.-G. Lee, A.J. Buglass, (2015). Development of a reduced pressure headspace solid-phase microextraction-gas chromatography/mass spectrometric (rpHSSPME-GC/MS) method and application to aroma analysis, Anal. Method, 7, pp.6504-6513.
F. Zarghami, 2016. M. Sc. Thesis, Vacuum assisted extraction coupled with solid phase microextraction using fibers coated with nano particles for analysis of organic compounds, Thesis for the degree of Master of Science in Chemistry, Department of Science, Lorestan University,
E. Yiantzi, (2014). Ph. D. Thesis, Microextraction under vacuum conditions, Technical University of Crete,.
G.S. Groenewold, J.R. Scott, C. Rae, (2011). Recovery of phosphonate surface contaminants from glass using a simple vacuum extractor with a solid-phase microextraction fiber, Anal. Chim. Acta, 697, pp. 38-47.
X. Piao, J. Bi, C. Yang, X. Wang, J. Wang, D. Li, (2011). Automatic heating and cooling system in a gas purge microsyringe extraction, Talanta, 86, pp.142-147.
N. Brunton, D. Cronin, F. Monahan, (2001). The effects of temperature and pressure on the performance of Carboxen/PDMS fibres during solid phase microextraction (SPME) of headspace volatiles from cooked and raw turkey breast, Flav. Frag. J, 16, pp. 294-302.
M, Beiranvand, AR. Ghiasvand. (2020). An ultrasound-assisted pressure-regulated solid-phase microextraction setup for fast and sensitive analysis of volatile pollutants in contaminated soil. Environmental Science and Pollution Research 27.29, pp. 36306-36315.
Ghiasvand, Alireza, Farzaneh Zarghami, Mohammad Beiranvand, (2018). "Ultrasensitive direct determination of BTEX in polluted soils using a simple and novel pressure-controlled solid-phase microextraction setup." Journal of the Iranian Chemical Society 15.5, pp. 1051-1059.
AR.Ghiasvand, Alireza, F. Yazdankhah, B. Paull. (2020). Heating-, cooling-and vacuum-assisted solid-phase microextraction (HCV-SPME) for efficient sampling of environmental pollutants in complex matrices. Chromatographia 83.4, pp. 531-540.
M, Beiranvand, AR. Ghiasvand, (2020). "Design and optimization of the VA-TV-SPME method for ultrasensitive determination of the PAHs in polluted water." Talanta 212,120809.
AR. Ghiasvand, F. Zarghami, M. Beiranvand. (2018). Ultrasensitive direct determination of BTEX in polluted soils using a simple and novel pressure-controlled solid-phase microextraction setup. Journal of the Iranian Chemical Society 15.5, pp. 1051-1059.