

## آماده سازی نمونه به روش پراکندگی فاز جامد ماتریس

زهرا حاجی اقاچانی<sup>۱\*</sup>، راضیه بخشعلی دهکردی

\* ۱ عضو هیات علمی گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران،

۲ دانشجوی کارشناسی ارشد شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران،

### چکیده :

پراکندگی فاز جامد ماتریس (MSPD) یک روش ساده آماده سازی نمونه می باشد که اولین بار در سال ۱۹۸۹ برای استخراج باقی مانده های دارو از بافت های حیوانی استفاده شد. با مخلوط کردن بافت ها با فاز پلیمری پیوند شده به یک محافظ جامد، مواد نیمه جامدی بدست می آید که می توانند به عنوان مواد پر کردن ستون استخراج فاز جامد (SPE) مورد استفاده قرار گیرند، این مواد می توانند داروها را بر اساس حلالیت آن ها در ماتریس جدا کنند. MSPD به عنوان یک فرایند تحلیلی برای استخراج، آماده سازی و تکه، تکه کردن نمونه های بیولوژیکی جامد، نیمه جامد یا با ویسکوزیته بالا، کاربرد خاصی پیدا کرده است.

MSPD بر اساس چند قانون ساده ی فیزیکی و شیمیایی می باشد، که شامل اعمال نیرو به نمونه به وسیله ی مخلوط مکانیکی (با استفاده از دسته هاون)، تا نمونه به طور کامل در هم بشکند و بین ماتریس نمونه و فاز پیوندی جامد جاذب یا سطح شیمیایی مواد محافظ جامد دیگر، بر هم کنش ایجاد بشود. این قوانین به عنوان فاکتور های مهم در استخراج به روش MSPD مورد بحث قرار می گیرند

کلید واژه : پراکندگی فاز جامد ماتریس، استخراج فاز جامد، مواد محافظ جامد، آماده سازی نمونه

### مقدمه :

آماده سازی نمونه یک مرحله مهم در هر فرایند تجزیه ای می باشد، زیرا، این مرحله تأثیرات زیادی در زمان کل آنالیز، کیفیت نتایج و ارزش تجزیه ای آنها دارد (۱). جداسازی داروها و باقی مانده متابولیت هایشان و ترکیبات حاصل از متابولیت های ثانویه، از

بافتها اغلب کار پیچیده و پرزحمتی می باشد ، که این امر ناشی از ماهیت ماتریس است که شامل مقدار قابل توجهی از بافت هم بند ، پروتئین ، چربی ها و غیره می باشد. جزء جزء کردن و از هم گسستن اجزای این ماتریس ها هم بسیار مشکل است . به همین دلیل روشهای کلاسیک به روش زیر عمل می کنند:

۱. تکه تکه کردن یا همگن سازی بافت در یک حلال

۲. اضافه کردن اسیدها، بازها و یا نمک ها به منظور رسوب دادن پروتئین ها و حذف باقی مانده های تخریب شده سلولی

۳. سانتریفیوژ کردن

۴. انتقال محلول رویی و تنظیم PH

۵. استخراج متناوب (counter-current extraction) نمونه، که باعث تشکیل امولسیون پایدار میشود.

۶. استخراج برگشتی (back-extraction) با حلال های الی

این طرز روشهای کلاسیکی که شامل اضافه کردن بافرها، اسیدها، بازها، نمک ها و غیره می باشد ، باعث تشکیل خود به خودی امولسیون پایدار میشود. پس برای آنالیز باید سانتریفیوژ، دوبار استخراج و دستکاری نمونه انجام شود .

در روش MSPD بعضی از مراحل بالا حذف می شوند و امولسیون های پایدار که آنالیز را با مشکل مواجه می کنند ، تشکیل نخواهند شد و نیازی به دستکاری نمونه نداریم (۲).

یک روش آماده سازی نمونه ایده ال در حالی که روی آنالیت متمرکز می شود ، باید تداخل ها را حذف کند و از تخریب و تغییر شکل آنالیت جلوگیری کند (۳).

بنابراین در دهه های اخیر، تکنیکهای آماده سازی نمونه به دلیل نیاز مبرم به: تعیین سریع آنالیت ، تعیین چندین آنالیت در یک نمونه ، تعیین آنالیت هایی با غلظت های کم و ماتریس پیچیده مورد توجه قرار گرفته اند. (۴).

در میان این روشهای آماده سازی نمونه ، روشهایی که در آنها جاذب به کار می رود مناسبترین روشها هستند، زیرا سطح بالای پاکسازی ، افزایش بازده ، تجزیه و تحلیل اهداف مورد نظر در ماتریس های پیچیده را بدست می آورند . بنابراین در دهه های اخیر استخراج فاز جامد (SPE) ، میکرو استخراج فاز جامد (SPME) و MSPD، جایگزین روش های قدیمی

مثل استخراج با حلال (solvent extraction) شده اند، و این تکنیک ها همزمان با بهبود انواع جدید جاذب ها ، گسترش می یابند (۵).

بعضی از اشکالات مانند: مصرف حجم بالای حلال های سمی و گران ، تولید زیاد پسمانده و کاهش فرکانس های تجزیه ای در شیمی تجزیه وجود دارند ، این اشکالات در روش MSPD تا حدود زیادی حل شده اند .

MSPD ، همگن سازی ، استخراج و خالص سازی را در یک مرحله انجام می دهد و به عنوان یک روش موثر برای نمونه های جامد ، نیمه جامد و ویسکوز اثبات شده است. این تکنیک برای استخراج ترکیبات گوناگون و یا طبقه ای از ترکیبات که دارای ماتریس پیچیده هستند؛ مانند فلاونوئیدها در عصاره مرکبات ، به کار برده می شود. همچنین MSPD برای استخراج ترکیبات از ماتریس های مختلف به کار می رود ، مانند؛ استخراج کافئین از برگ چای سبز (۷) ، آفت کش ها در میوه ها (۸) ، اسیدهای چرب آزاد در شکلات (۹) ، روغن های اسانسی در گیاهان (۱۰) و ترکیبات فنلی در روغن زیتون (۶) .

مزیت روش MSPD بر SPE :

در MSPD از ستون SPE استفاده می شود ، اما تفاوت هایی با هم دارند. در SPE نمونه در چند میلی متری سطح جامد جاذب (روی سطح) ریخته می شود و فقط با سطح جاذب بر همکنش دارد ، اما در MSPD نمونه با جامد جاذب به طور همگن در سرتاسر ستون پخش شده است و مکانیسم بازداری آن مخلوطی از مکانیسم کروماتوگرافی تقسیمی ، جذبی و جفت یون می باشد .

برهمکنش ها در MSPD بیشتر است و در برخی موارد متفاوت از SPE می باشد. بر همکنش ها در MSPD شامل :

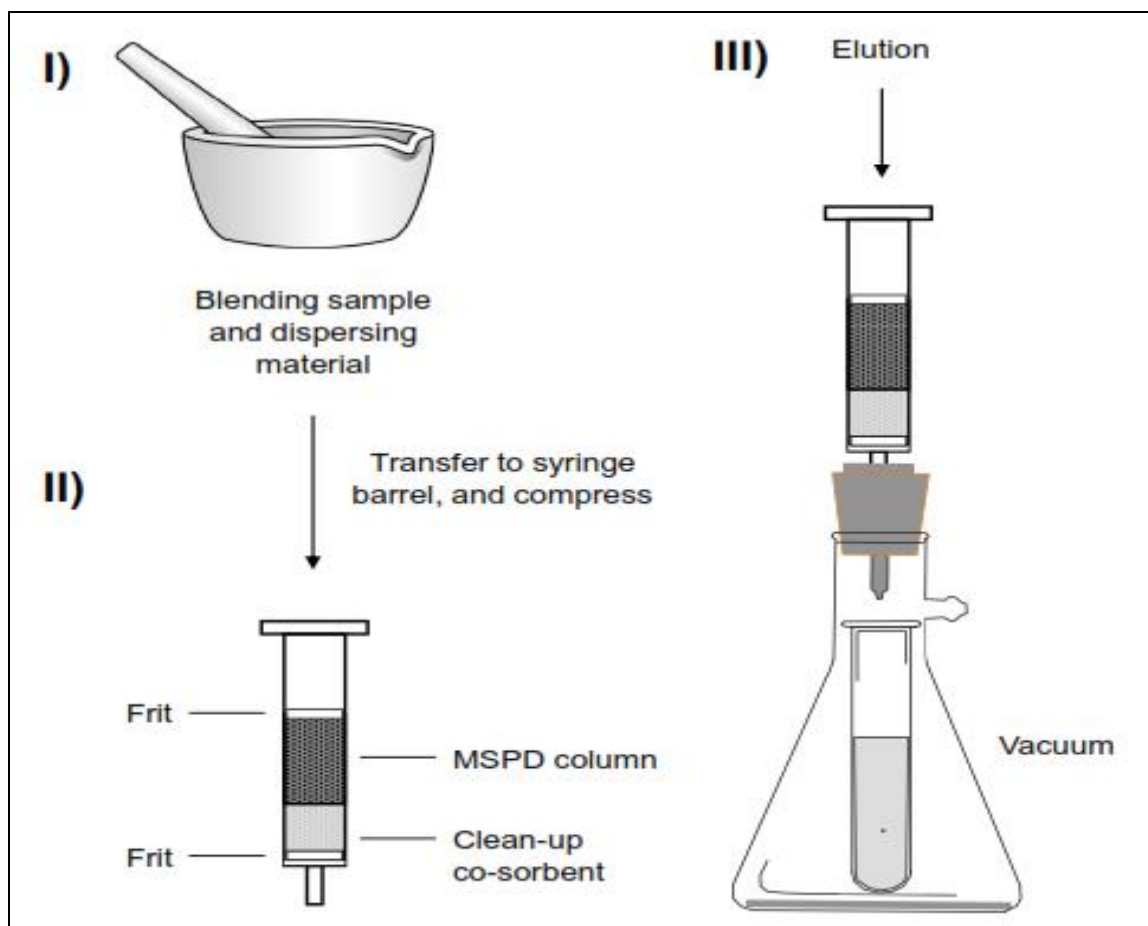
- برهمکنش اجزای نمونه با محافظ جامد
- برهمکنش اجزای نمونه با فاز پیوندی (bonded-phase)
- برهمکنش انالیت با محافظ جامد
- برهمکنش انالیت با فاز پیوندی (bonded-phase)
- برهمکنش انالیت با اجزای پراکنده نمونه (dispersion)
- برهمکنش همه ی موارد بالا با حلال شست وشو و توالی ان ها

همچنین تمامی برهمکنش های ذکر شده به طور همزمان رخ می دهند (۱۱).

مزیت روش MSPD بر استخراج مایع-مایع (liquid-liquid extraction) :

- استخراج آسان و سریع (کاهش زمان)
- مصرف کم حلال های الی
- ایمن و سازگار با محیط زیست
- مقرون به صرفه و سادگی روش
- انجام همزمان خالص سازی
- تکرار پذیر (۱۲).

روش Matrix Solid Phase Dispersion (MSPD) : شامل سه مرحله ی کلی می باشد که در شکل ۱، نشان داده شده است .



شکل ۱: مراحل انجام خالص سازی به روش MSPD

مرحله اول : شامل مخلوط کردن نمونه با مواد جاذب جامد است. در این مرحله نمونه را به مدت چند دقیقه با ماده ی جاذب ، با استفاده از دسته ی هاون مخلوط می کنند . یک پارامتر مهم ، نسبت نمونه به جامد جاذب است (به طور کلی از ۱:۱ تا ۱:۴ می باشد) که بستگی به نوع نمونه و ساختار شیمیایی آن دارد. مواد جامد جاذب انواع مختلفی دارند ، مانند، مواد جاذب فاز نرمال و فاز معکوس که با توجه به نوع ماتریس نمونه و آنالیت مورد نظر انتخاب می شوند (مواد فاز معکوس مانند؛  $C_{18}$  و  $C_8$  و مواد فاز نرمال مانند ؛ الومینا ، سیلیکاژل).

نوآوری اصلی MSPD مربوط به استفاده یا بهبود مواد جاذب می باشد . امروزه مواد جاذب جدیدی مانند: مواد پایه کربنی (carbon-based materials) ، مواد پلیمری (مانند: molecularly-imprinted polymers) ، مایع های یونی ( ionic )

liquids) و نانوذرات (nanoparticles) به کار برده می شوند. در این فرایند مواد جاذب نقش مهمی ایفا می کند. مواد جامد جاذب باید بتوانند اجزای نمونه را به طور کامل از هم جدا کنند.

مرحله دوم: در این مرحله بعد از مخلوط کردن نمونه با مواد جامد جاذب، مخلوط همگن بدست آمده را به ستون SPE منتقل می کنیم، سپس با پیستون سرنگ فشار وارد می کنیم (اعمال فشار به آرامی صورت می گیرد).

مرحله سوم: این مرحله شامل شست و شو با حلال است. انتخاب حلال به میزان قدرت برهم کنش بین ماده ی جاذب و آنالیت مورد نظر بستگی دارد. سرعت شست و شو با حلال باید بهینه بشود (با استفاده از پمپ خلاء این کار انجام می شود).

سپس، محلول شسته شده از ستون را جمع آوری کرده و به دستگاه شناسایی مثل طیف سنج جرمی یا کروماتوگرافی، تزریق می شود.

در تمامی مراحل باید شرایط را بهینه کرد تا بازده استخراج افزایش یابد (۱۳).

#### بحث و نتیجه گیری:

MSPD یک روش ساده و ارزان (نیاز به تجهیزات و دستگاه های پیشرفته ندارد)، انعطاف پذیر، گزینش پذیر و مناسب برای انواع نمونه ها می باشد. این روش در مقایسه با روش های کلاسیک آماده سازی نمونه مثل استخراج با حلال بسیار مقرون به صرفه تر، ساده تر و زمان انجام آنالیز بسیار کوتاهتر می باشد و یکی از بزرگ ترین مشکل روش های کلاسیک که استفاده از حلال سمی و گران به مقدار زیاد می باشد را حل کرده است.

در بسیاری از موارد، روش های آماده سازی نمونه شامل مراحل بسیار و دستکاری نمونه قبل از آنالیز می باشد که باعث افزایش موارد خطا می شود، اما MSPD، این مراحل پیچیده آماده سازی نمونه را حل کرده و به عنوان یک روش موثر خود را اثبات کرده است.

- [1]. Barker steven A., Long Austin R. and Short Charles R.” isolation of drug residues from tissues by solid phase dispersion “ , journal of chromatography, 475(1989) 353-361.
- [2]. Barker steven A. “Matrix solid phase dispersion (MSPD)”, journal of biochemical and biophysical methods”,70(2007) 151-162.
- [3]. T. Hyotylainen,” Critical evaluation of sample pretreatme techniques”, Anal.Bioanal. Chem. 394 (2009) 743–758.
- [4]. E. Turiel, A. Martin-Esteban,” Molecularly imprinted polymers for sample preparation: a review”, Anal. Chim. Acta 668 (2010) 87–99.
- [5]. L. Ramos, Critical overview of selected contemporary sample preparation techniques, J. Chromatogr. A. 1221 (2012) 84–98.
- [6]. Y. Wen, L. Chen, J. Li, D. Liu,” Recent advances in solid-phase sorbents for sample preparation prior to chromatographic analysis”, Trends Anal. Chem. 59 (2014) 26–41.
- [7]. Monasterio Romina Paula, Fontana Arial R. and Maria Fernanda Silva, “Matrix solid-phase dispersion: a simple and fast technique for the determination of phenolic compounds in olive oil by liquid chromatography”, 22 (2014) 8986-8995.
- [8]. A.L. Dawidowicz, D. Wianowska, PLE in the analysis of plant compounds. Part I.The application of PLE for HPLC analysis of caffeine in green tea leaves, J. Pharm. Biomed. Anal. 37 (2005) 1155–1159.
- [9]. C. Soler, J. Manes, Y. Pico, Liquid chromatography-electrospray quadilupole iontrap mass spectrometry of nine pesticides in fruits, J. Chromatogr. A1048 (2004) 41–49.

[10]. D. Perret, A. Gentili, S. Marchese, M. Sergi, Determination of free fatty acids in chocolate by liquid chromatography with tandem mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 18 (2004) 1989–1994.

[11]. A. Dawidowicz, E. Rado.” Matrix solid-phase dispersion (MSPD) in chromatographic analysis of essential oils in herbs”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 52 (2010) 79–85.

[12].B. Lozowicka, M. Jankowska, E. Rutkowska, P. Kaczynski, I. Hrynko,” Comparison of extraction techniques by matrix solid phase dispersion and liquid-liquid for screening 150 pesticides from soil, and determination by gas chromatography”,4(2012) 973-992.

[13]. Capriotti Anna Laura, Cavaliere Chiara, Foglia Patrizia, Samperi Roberto,Stampachiacchiere Serena,Ventura Salvatore,Laganà\*Aldo,  
,” Recent advances and developments in matrix solid-phase dispersion”, *Trends in Analytical Chemistry*.71 (2015) 186-193.



## Sample preparation by Matrix Solid Phase Dispersion (MSPD)

### ABSTRACT

Matrix solid-phase dispersion (MSPD) is a sample-preparation process was first introduced in 1989 for the extraction of drug residues from animal tissue. By blending tissues with a polymeric solid support one obtains a semi-dry material which can be used as a column phase bound to a solid support from which one can isolate drugs in a stepwise manner based on the solubility characteristics of the drugs in this matrix.

application as an analytical process Matrix solid phase dispersion (MSPD) has found particular viscous extraction and fractionation of solid, semi-solid and/or highly viscous biological samples.

forces applied MSPD is based on several simple principles of chemistry and physics, involving produce complete sample disruption and the to the sample by mechanical blending to support bonded-phase (SPE) or the surface interactions of the sample matrix with a solid chemistry of other solid support materials. These rules are discussed as important factors in the MSPD extraction

**Keywords:** Matrix solid phase dispersion (MSPD); Solid phase extraction (SPE); solid support; sample preparation