

Introduction to the Stir Bar Sorptive Extraction Method and its Applications in Occupational Toxicology

Sara Karimi-Zeverdegani¹, Sharareh Azadian², Majid Harirsaz³

Review Article

Abstract

Sample preparation is a crucial step in chemical analysis. Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) is one of the sample preparation methods employed in this field. This article provides an overview of the SBSE method and reviews its applications in toxicology. It discusses the extraction mechanism, factors influencing extraction efficiency, advantages, and disadvantages, and various applications of this method in pesticides, environmental cases, pharmaceuticals, food samples, forensic medicine, and more. The SBSE is an attractive alternative to traditional extraction methods, as it reduces solvent consumption, desorption costs, and extraction time. Its advantages include operational simplicity, good reproducibility, high recovery rates, and minimal use of organic solvents. In this review, 52 articles were selected for final analysis, with a portion of the results focusing on biological samples relevant to occupational toxicology. It can be concluded that this method is still in the early stages of widespread application, and many issues require further research.

Keywords: Chemical fractionation; Solid phase extraction; Toxicology

Citation: Karimi-Zeverdegani S, Azadian S, Harirsaz M. **Introduction to the Stir Bar Sorptive Extraction Method and its Applications in Occupational Toxicology.** J Health Syst Res 2025; 20(4): 308-24.

1- Associate Professor, Department of Occupational Health and Safety Engineering, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- PhD Student, Student Research Committee AND Department of Occupational Health and Safety Engineering, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- MSc Student, Department of Technical Engineering, Daneshpajoohan Pishro Higher Education Institute, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Sharareh Azadian; PhD Student, Department of Occupational Health and Safety Engineering, School of Health, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: baharazad2024@gmail.com

معرفی روش استخراج جذبی با میله چرخان و بررسی کاربردهای آن در حیطه سم‌شناسی شغلی

سارا کریمی زوردگانی^۱، شراره آزادیان^۲، مجید حریرساز^۳

مقاله مروری

چکیده

آماده‌سازی نمونه گام مهمی در آنالیز شیمیایی به شمار می‌رود. استخراج جذبی با میله چرخان (SBSE یا Stir bar sorptive extraction) یکی از روش‌های آماده‌سازی نمونه می‌باشد. پژوهش حاضر یک نمای کلی از روش SBSE را ارائه داد و به مروری بر کاربردهای آن در حیطه سم‌شناسی پرداخت. مکانیسم استخراج، عوامل مؤثر بر استخراج، مزایا، معایب و برخی کاربردهای این روش در تجزیه آفت‌کش‌ها، موارد زیست محیطی، نمونه‌های دارویی و مواد غذایی، پزشکی قانونی و... مورد بحث قرار گرفته است. کاربرد SBSE را می‌توان با کاهش مصرف حلال، هزینه و اجذب و زمان استخراج به عنوان جایگزینی جذاب برای روش‌های استخراج کلاسیک در نظر گرفت و از جمله مزایای آن می‌توان به سادگی عملیات، قابلیت تکرار خوب، بازیافت بالا و مصرف کم حلال‌های آلی اشاره نمود. در مطالعه حاضر ۵۲ مقاله جهت بررسی نهایی انتخاب گردید و بخشی از نتایج به بررسی نمونه‌های بیولوژیک قابل استفاده در سم‌شناسی شغلی پرداخت. در نهایت، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این روش هنوز در ابتدای کاربرد گسترده قرار دارد و در زمینه استفاده از این روش به تحقیق بیشتری نیاز است.

واژه‌های کلیدی: تجزیه شیمیایی؛ استخراج فاز جامد؛ سم‌شناسی

ارجاع: کریمی زوردگانی سارا، آزادیان شراره، حریرساز مجید. معرفی روش استخراج جذبی با میله چرخان و بررسی کاربردهای آن در حیطه سم‌شناسی شغلی. مجله تحقیقات نظام سلامت ۱۴۰۳؛ ۲۰ (۴): ۳۰۸-۳۲۴

تاریخ چاپ: ۱۴۰۳/۱۰/۱۵

پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۷/۹

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۲/۵

ترکیبات عامل آروما، عوامل بدطعمی، مطالعه ترکیبات مهاجرت‌کننده از بسته‌بندی به مواد غذایی، تجزیه سورفکتانت‌های غیر یونی، آنزوسول و نمونه‌های دارویی و پزشکی است (۳). مزایای SBSE شامل سادگی عملیات، قابلیت تکرار خوب، بازیافت بالا و مصرف کم حلال‌های آلی است (۲). در پژوهش حاضر، پیشرفت‌های اخیر برای روش SBSE و کاربرد آن در حیطه سم‌شناسی بررسی گردید.

روش‌ها

این مطالعه به روش مروری به بررسی روش SBSE و کاربردهای آن در حیطه سم‌شناسی شغلی و غیر شغلی پرداخت. داده‌ها با استفاده از مقالات منتشر شده در پایگاه‌های اطلاعاتی Scopus, ScienceDirect, Google Scholar, ISI Web of Science و PubMed جمع‌آوری گردید. مقالات بدون هیچ‌گونه نظر سوگرایانه انتخاب شدند. جستجوی الکترونیکی مطالعات بدون محدودیت زمانی و با استفاده از کلید واژه‌های مربوط به روش SBSE صورت گرفت. تحقیقاتی مد نظر بود که روش SBSE و کاربردهای آن را گزارش کرده باشند. در هر مرحله، مقالات جستجو شده در هر پایگاه به نرم‌افزار Endnote وارد شد. با استفاده از کلید واژه‌های مد نظر، ۱۲۲ مقاله به دست آمد. معیارهای انتخاب مقالات شامل اصیل بودن اثر، زبان انگلیسی و اختصاص داشتن به

مقدمه

در فرایند آنالیز شیمیایی چهار مرحله اصلی «نمونه‌برداری، آماده‌سازی نمونه، اندازه‌گیری و تجزیه و تحلیل داده‌ها» وجود دارد. اهداف اصلی آماده‌سازی نمونه جهت تجزیه و تحلیل باقی‌مانده شامل جداسازی آنالیت‌های مورد نظر از ترکیبات مداخله‌گر تا حد امکان، انحلال آنالیت‌ها در یک حلال مناسب و پیش‌تغلیظ است. انتخاب روش آماده‌سازی به مواردی همچون آنالیت (ها)، سطح غلظت آنالیت، ماتریس نمونه، روش اندازه‌گیری ایزاری و حجم نمونه مورد نیاز بستگی دارد. در سال‌های اخیر توجه زیادی به تکنیک‌های آماده‌سازی بدون حلال نمونه شده است که زمان آماده‌سازی نمونه و خطاهای مربوطه را در حداقل ممکن نگه دارد. از جمله این روش‌ها می‌توان به استخراج جذبی با میله چرخان (Stir bar sorptive extraction یا SBSE) اشاره نمود که بر اساس جذب سطحی عمل می‌کند. این تکنیک استخراج جذبی و بدون حلال برای اولین بار توسط Baltussen و همکاران در سال ۱۹۹۹ استفاده شد (۱). SBSE یک فن‌آوری پیش‌تصفیه نمونه و بر اساس توزیع تعادلی آنالیت‌های مورد نظر بین محلول آبی (نمونه) و پوشش میله هم‌زن (فاز استخراج) می‌باشد (۲). کاربردهای اصلی این روش شامل تجزیه آفت‌کش‌ها و مشتقات آن‌ها، استروئیدها، اسیدهای چرب، هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک (Polycyclic aromatic hydrocarbons یا PAHs)، ترکیبات فرار،

۱- دانشیار، گروه مهندسی بهداشت حرفه‌ای و ایمنی کار، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشجوی دکتری تخصصی، کمیته تحقیقات دانشجویی و گروه مهندسی بهداشت حرفه‌ای و ایمنی کار، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فنی مهندسی، مؤسسه آموزش عالی دانش‌پژوهان پیشرو اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده مسؤول: شراره آزادیان؛ دانشجوی دکتری تخصصی، گروه مهندسی بهداشت حرفه‌ای و ایمنی کار، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: baharazad2024@gmail.com

شکل ۱ نمایی از روش‌های اصلی مبتنی بر جذب که در حال حاضر برای تجزیه و تحلیل ردیابی ترکیبات فرار و نیمه فرار از ماتریس‌های گازی، مایع و حتی جامد استفاده می‌شود (۴) را نشان می‌دهد.

روش SBSE به طور خاص به عنوان یک روش آماده‌سازی نمونه جدید بر اساس همان اصول SPME معرفی گردید که با موفقیت برای نظارت بر ردیابی ترکیبات آلی اولویت‌دار در بسیاری از ماتریس‌های پیچیده، به دلیل حساسیت بسیار بالا به کار می‌رود. تکنیک SBSE که با علامت تجاری @Twister شناخته می‌شود، به جاذب‌های نوع سیلیکونی تعلق دارد؛ چرا که فقط از فاز پلیمری پلی دی‌متیل سیلوکسان (Polydimethylsiloxane یا PDMS) استفاده می‌کند. همان‌گونه که در شکل ۲ نشان داده شده است، دستگاه‌های تحلیلی SBSE توسط میله‌های همزن مغناطیسی ساخته شده‌اند و در یک پوشش شیشه‌ای (Glass jacket) که اغلب با ۱۲۶-۲۴ میکرولیتر PDMS پوشانده شده است، یک فاز پلیمری غیر قطبی که مشخصه آن ارتقای برهم‌کنش‌های آب‌گریز با مولکول‌های هدف است (مکانیسم نگهداری)، ساخته شده‌اند. این پلیمر دارای خواص انتشار جالب و پایداری حرارتی می‌باشد که اجازه می‌دهد در طیف وسیعی از دماها کار کند (۴). شکل ۳ شماتیک تنظیم SBSE را نشان می‌دهد.

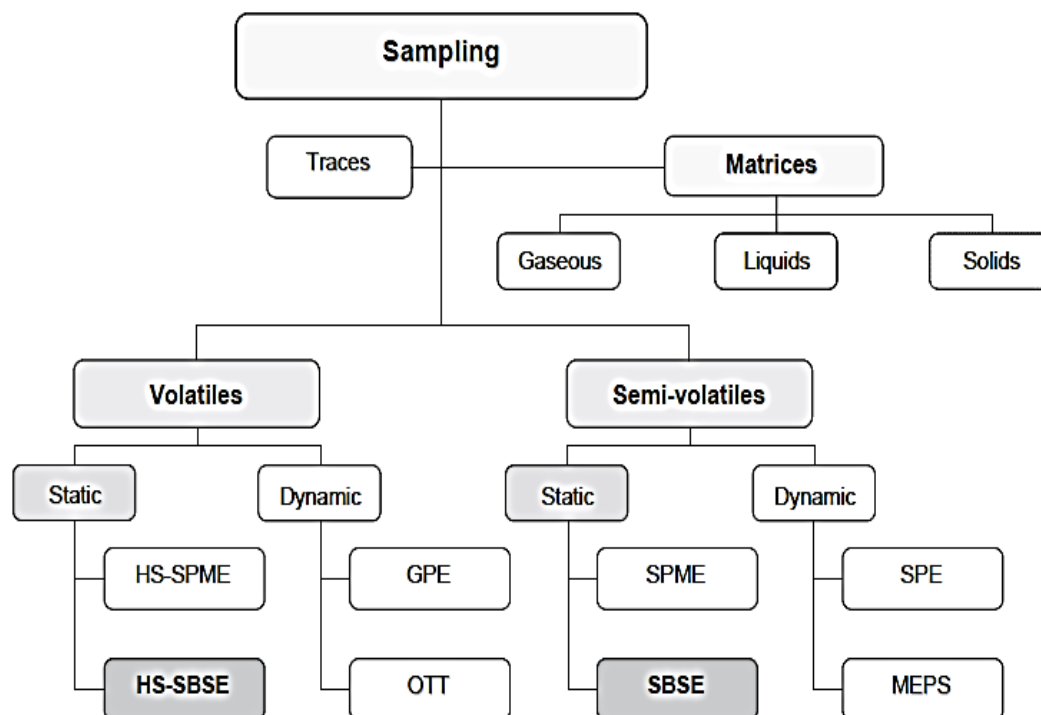
میله همزن مغناطیسی برای انتقال حرکت چرخشی یک صفحه همزن به نمونه مایع ضروری است (شکل ۴). روکش شیشه‌ای نازک که میله همزن مغناطیسی را می‌پوشاند، به منظور جلوگیری از تجزیه لایه PDMS ضروری است و در غیر این صورت PDMS ممکن است توسط فلزات موجود در میله همزن مغناطیسی تخریب (کاتالیز) شود (۵، ۳). شکل ۵ مراحل اصلی روش SBSE را نشان می‌دهد.

حداقل یکی از کاربردها و اصول این روش بود. مقالات مروری، مداخله‌ای، کیفی، مطالعات بدون در نظر گرفتن شرایط سم‌شناسی و بدون نتیجه نیز به عنوان معیارهای خروج در نظر گرفته شد. در نهایت، پس از حذف مقالات تکراری، ۵۲ مقاله به پژوهش وارد گردید و مورد تحلیل و بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

ابتدا ۱۲۲ مقاله از پایگاه‌های اطلاعاتی مختلف شناسایی شد که در میان آن‌ها، ۶۳ مقاله معیارهای ورود به مطالعه را داشتند. پس از آن، ۵۲ مقاله برای بررسی نهایی انتخاب شدند. بیشتر مقالات در جداول خلاصه شده‌اند. در ادامه، خلاصه‌ای از روش مبتنی بر جذب SBSE ارایه و کاربردهای آن در حیطه سم‌شناسی بیان شد.

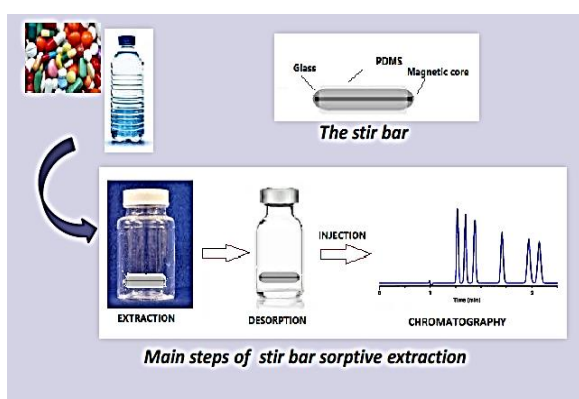
روش‌های مبتنی بر جذب به دو صورت فعال و غیر فعال انجام می‌شود. در حال حاضر متدولوژی‌های به خوبی تثبیت شده از روش‌های فعال، جامع یا حالت‌های نمونه‌گیری پویا که در آن جدای از سایر امکانات، استخراج فاز چسب (Gum phase extraction یا GPE)، تله‌گذاری لوله‌ای باز (OTT یا Open tubular trapping)، استخراج فاز جامد (SPE یا Solid phase extraction یا) و به تازگی میکرواستخراج توسط جاذب انباشته شده (Microextraction by packed sorbent یا MEPS) بیشترین کاربرد را دارند. در همین حال، حالت‌های نمونه‌گیری غیر فعال، غیر جامع یا ایستا تقریباً در تمام زمینه‌های علمی به دلیل مقرون به صرفه بودن، دستکاری بسیار ساده‌تر با تأکید بر میکرواستخراج فاز جامد (Solid-phase microextraction یا SPME) و SBSE مقبولیت بیشتری کسب کرده‌اند.



شکل ۱. خلاصه‌ای از روش‌های مبتنی بر جذب جهت تجزیه و تحلیل ردیابی ترکیبات فرار و نیمه فرار از انواع ماتریس‌ها (۴)

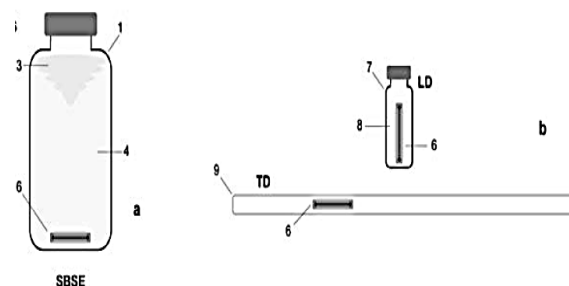
مراحل استخراج به روش SBSE شامل دو مرحله اصلی استخراج و واجذب است.

الف. مرحله استخراج: در این مرحله میله همزن وارد فضای فوقانی نمونه مایع می‌شود و آن را به هم می‌زند. استفاده از SBSE، نمونه‌برداری از فاز بخار (فضای فوقانی) و به نام استخراج حلال از فضای فوقانی (HSSE) یا Headspace sorptive extraction (معروف است (۳). پس از استخراج، میله همزن برداشته می‌شود و به منظور حذف نمک‌ها، قندها، پروتئین‌ها و دیگر ترکیبات از نمونه، با آب مقطر شستشو داده می‌شود تا سایر اجزای نمونه خارج شوند و سپس روی دستمال کاغذی بدون پرز خشک می‌شود تا آب خارج شود و بعد به مرحله واجذب می‌رود (۱).



شکل ۵. مراحل اصلی روش Stir bar sorptive extraction (SBSE) (۱)

ب. مرحله واجذب (Desorption): مرحله استخراج توسط یک واجذب حرارتی یا واجذبی مایع قبل از جداسازی و تشخیص کروماتوگرافی گازی (Gas chromatography یا GC) دنبال می‌شود. در روش SBSE امکان واجذب مستقیم آنالیت‌های جذب شده از روی میله همزن پوشش‌دهی شده وجود ندارد. واجذب حرارتی (Thermal desorption یا TD) میله همزن را در تزریق GC گرم شده وارد و آنالیت‌های واجذب شده را به ستون منتقل می‌کند. TD در دماهای ۳۰۰-۱۵۰ درجه سانتی‌گراد انجام می‌گیرد. واحد TD دو قسمت دارد؛ یک قسمت که با ایجاد حرارت باعث جدا شدن آنالیت‌ها از میله همزن می‌شود و قسمت دوم که آنالیت‌های جدا شده را تا زمان ورود به GC در دمای ۱۵۰-۴۰ درجه سانتی‌گراد حفظ می‌کند (۷). TD در مورد املاح فرار و نیمه فرار با ثبات حرارتی و GC استفاده می‌شود؛ در حالی که واجذب مایع (Liquid desorption یا LD) جایگزینی است که در آن املاح حساس به حرارت مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرند. علاوه بر این، جداسازی با استفاده از LC انجام می‌شود. در LC، میله همزن در مقدار کمی از یک حلال مناسب (GC) یا فاز متحرک (LC) مخلوطی از حلال‌ها قرار می‌گیرد. استونیتریل، متانول، مخلوط این حلال‌ها یا مخلوط این حلال‌ها با آب یا بافرهای آبکی، متداول‌ترین حلال‌های واجذبی می‌باشند. در مرحله LC، حلال‌های قطبی استفاده می‌شود و این حالت واجذبی، بیشتر برای ترکیبات غیر فرار و ناپایدار حرارتی مفید است.

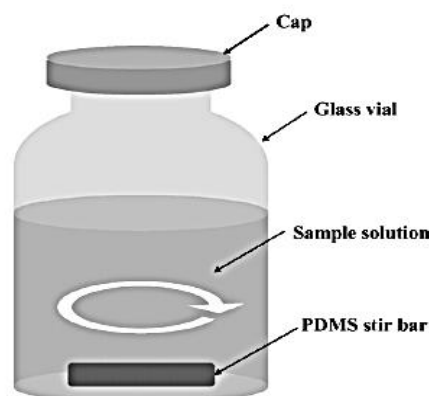


شکل ۲. نمای شماتیک و تصاویر نمونه‌ای از حالت‌های عملیاتی

برای دستگاه مبتنی بر جاذب (۴)

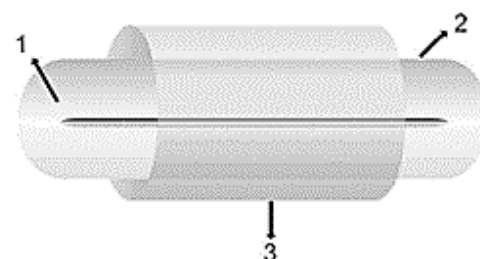
a: حالات نمونه‌برداری Stir bar sorptive extraction (SBSE)، b: حالت‌های استخراج پستی SBSE

مروری بر دو دهه توسعه SBSE. همراه با چشم‌اندازهای آینده نشان می‌دهد که توسعه پوشش‌های جدید برای میله‌های همزن مشتاقانه مورد نظر است که بر گزینش‌پذیری، دینامیک و بازایی روش مبتنی بر SBSE تأثیر می‌گذارد.



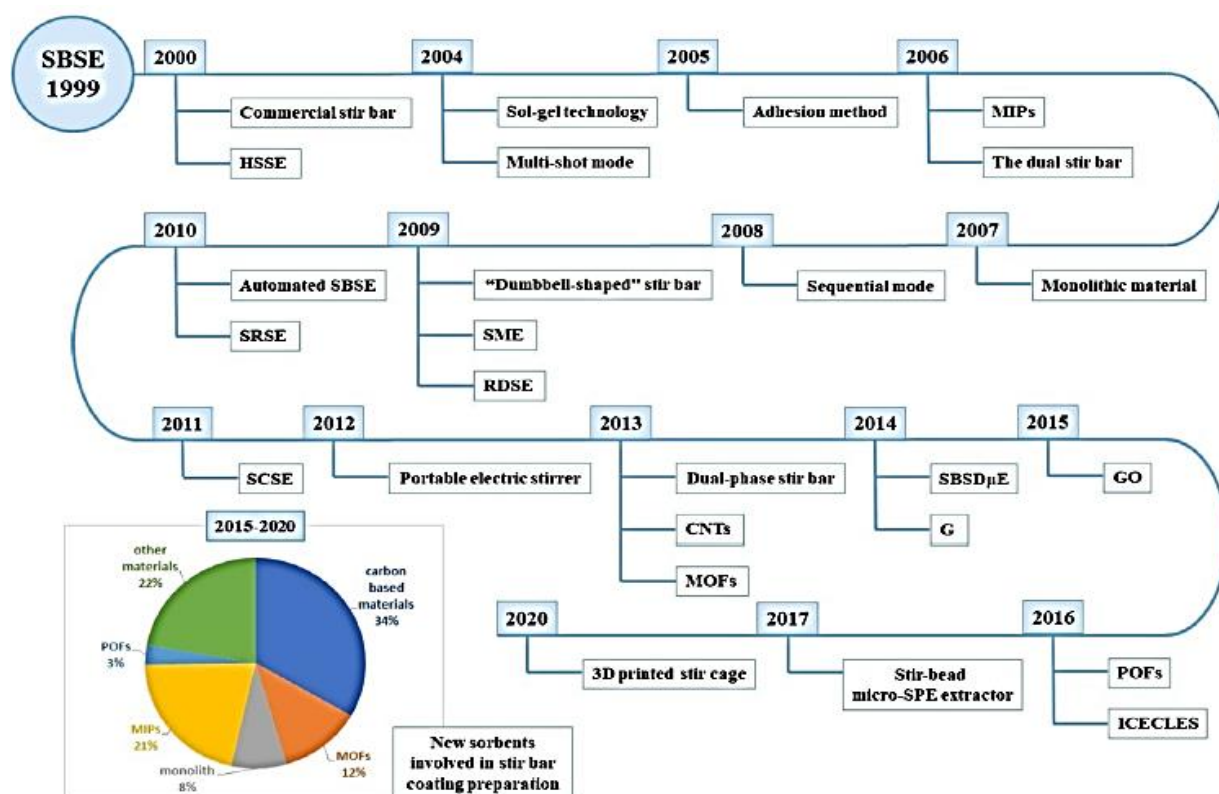
شکل ۳. شماتیک تنظیم Stir bar sorptive extraction (SBSE) (۵)

شکل ۶ جدول زمانی اولین معرفی حالت استخراج SBSE و پوشش‌های استخراج را به همراه درصد مواد پوششی مختلف مورد استفاده برای SBSE طی سال ۲۰۲۰-۲۰۱۵ را نشان می‌دهد (۲).



شکل ۴. میله‌های همزن (۶)

۱: میله مغناطیسی، ۲: پوشش شیشه‌ای، ۳: پوشش Polydimethylsiloxane (PDMS)



شکل ۶. جدول زمانی پیشرفت عمده روش Stir bar sorptive extraction (SBSE)، همراه با درصد مواد پوششی مختلف مورد استفاده برای آن

استخراج را کاهش دهد (۹، ۱).

روش SBSE بر اساس همان اصول SPME است؛ با این تفاوت که به جای یک الیاف پوشش داده شده با پلیمر، مقدار زیادی از فاز استخراج روی یک میله همزن پوشش داده می‌شود. پرکاربردترین فاز استخراج جذبی، PDMS است. استخراج یک آنالیت از فاز آبی به یک محیط استخراج توسط ضریب تقسیم آنالیت بین فاز سیلیکون و فاز آبی کنترل می‌شود. برای یک پوشش PDMS و نمونه‌های آبی، این ضریب پارتیشن‌بندی شبیه ضریب تقسیم آب اکتانول (KPDMS/W ≈ KO/W) است. مقدار فاز استخراج در SBSE، ۵۰ تا ۲۵۰ برابر بیشتر از SPME است (اغلب ۰/۵ لیتر فاز استخراج برای ۱۰۰ لیتر فیبر PDMS). پس از استخراج و TD، آنالیت را می‌توان به صورت کمی وارد سیستم تحلیلی کرد. این فرایند حساسیت بالایی را فراهم می‌کند؛ چرا که عصاره کامل قابل تجزیه و تحلیل می‌باشد. بر خلاف SPME، فرایند جذب کندتر است؛ چرا که مرحله استخراج طولانی می‌شود. بنابراین، جذب باید با تله‌گذاری سرد و تغلیظ مجدد ترکیب شود (۱۰، ۱).

استخراج جذبی از یک نمونه مایع با قرار دادن مقدار مناسبی از نمونه در یک ویال یا ظرف انجام می‌شود. یک میله همزن پوشیده شده با PDMS اضافه می‌شود و نمونه به مدت ۳۰-۲۴۰ دقیقه هم زده می‌شود. با کنترل جنبشی، زمان استخراج توسط حجم نمونه، سرعت هم زدن، ابعاد میله همزن تعیین می‌شود. پس از استخراج، میله همزن برداشته و به آرامی با دستمال پاک می‌شود تا قطرات آب از بین برود (۸). از آن جایی که فاز PDMS یک فاز مایع

LC در مواردی همچون تجزیه ماده حل شده ناپایدار حرارتی، هنگامی که جداسازی با استفاده از کروماتوگرافی مایع یا الکتروفورز موثرین انجام می‌شود، هنگامی که یک واحد TD برای اتصال به GC در دسترس نباشد، به جای TD به کار می‌رود. مرحله LC در به حداقل رساندن آلودگی حاصل از فاز PDMS که در تجزیه برخی از مواد حل شده اختلال ایجاد می‌کند [استرهای فتالات (Phthalate esters) یا (PEs)]، مناسب‌تر از TD است. مزایای دیگر LC، راندمان بالا در مقایسه با هزینه مصرفی، امکان توسعه روش و تجزیه مجدد است (۷). روش‌های LD حساسیت و تکرارپذیری بالایی دارند. اشکال اصلی تکنیک SBSE، مرحله جذب است؛ به ویژه در فاز متحرک LC که به دلیل پیچیدگی در اتوماسیون می‌باشد (۱).

عوامل مؤثر بر بهینه‌سازی شرایط استخراج شامل pH، زمان استخراج، افزودن نمک بی‌اثر یک اصلاح‌کننده آلی و سرعت هم زدن می‌باشد. به دنبال آن، دمای استخراج، حجم نمونه، حجم فاز پذیرنده و pH نمونه مهم‌ترین عامل برای کنترل شکل آنالیت استخراج شده است. شرایط بسیار اسیدی یا بسیار بازی برای افزایش طول عمر میله همزن توصیه نمی‌شود. اصلاح‌کننده‌های آلی مانند متانول جهت کاهش جذب آنالیت روی دیواره‌های شیشه‌ای استفاده می‌شود، اما این مقدار باید بهینه شود؛ چرا که افزودن متانول ممکن است حلالیت آنالیت را در فاز آبی افزایش دهد (۸، ۱). افزودن نمک حلالیت آنالیت‌های آلی قطبی در آب را کاهش و کارایی استخراج را افزایش می‌دهد؛ اگرچه غلظت‌های نمک بالا ممکن است با افزایش ویسکوزیته محلول و منع از انتشار آنالیت‌ها، راندمان

آنالیت‌های قطبی یا غیر قطبی کم با مقادیر ضریب تقسیم اکتانول / آب، تفاوت معنی‌داری ندارد (۱۲).

مزایای روش SBSE در واقع، کوچک‌سازی و اتوماسیون فرایندهای آماده‌سازی نمونه، یکی از جالب‌ترین راه‌ها برای سازگاری بیشتر روش‌های تحلیلی با محیط زیست است. اتوماسیون روش‌های تحلیلی دارای مزایایی مانند کاهش زمان و خطاهای تجزیه و تحلیل، نمونه‌برداری سریع‌تر، ارایه حساسیت بالاتر و تکرارپذیری بیشتر است (۱۳). در دسترس بودن مواد مختلف نیز یکی از مزایایی است که تکنیک‌های جذب نسبت به سایر تکنیک‌های استخراج دارند. مزایای احتمالی SBSE شامل استفاده از اندازه‌های نمونه بزرگ‌تر در مقایسه با روش‌های خودکار فضای بالایی (Automated headspace methods) و افزایش استحکام میله‌های همزن در مقایسه با الیف SPME است. همچنین، پتانسیل برای نمونه‌برداری از راه دور با استفاده از میله‌های همزن وجود دارد و امکان نمونه‌برداری در دمای پایین‌تر از محیط را فراهم می‌کند. مهم‌ترین محدودیت‌های SBSE مربوط به انجام دستی میله همزن برداشتن نمونه، شستشو، خشک کردن و در برخی موارد مرحله استخراج اضافی در یک حلال مناسب است (۱).

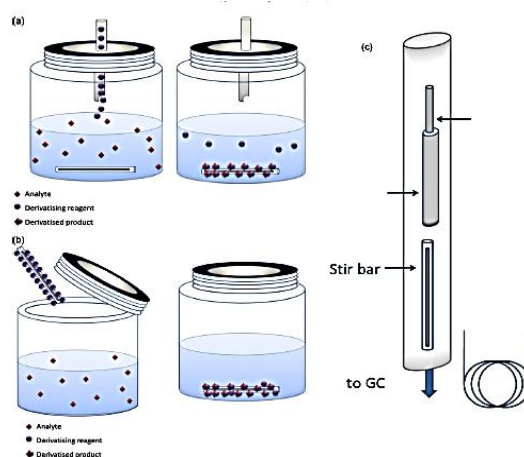
یکی از جالب‌ترین ویژگی‌های تکنیک SBSE این است که هر میله همزن را می‌توان صدها بار بدون نشان دادن تخریب فیزیکی پوشش PDMS استفاده کرد. تنها شرط عملی این است که قبل از استفاده مجدد، میله‌های همزن باید با حلال‌های مناسب (مانند استونیتریل) یا از طریق TD treatment تمیز شوند. مزیت دیگر در مقایسه با سایر رویکردهای غنی‌سازی (به طور مثال تکنیک‌های دینامیکی) این است که تکنیک SBSE این امکان را می‌دهد که یک شبه (Overnight) عمل کند؛ در صورتی که زمان‌های تعادل بسیار بالاتری برای رسیدن به شرایط حالت پایدار، بدون هیچ نیازمندی‌های ویژه‌ای مورد نیاز باشد (۴).

روش SBSE قادر به استخراج و تغلیظ ترکیبات از بافت‌های آبی بدون استفاده از حلال است و نسبت به روش SPME از نظر حساسیت و صحت در تعیین سطوح ناچیز ترکیبات بافت‌های مختلف، کارایی بهتری دارد. مقدار آنالیت استخراج شده متناسب با حجم فاز استخراج می‌باشد که در روش SPME بسیار کوچک است. بنابراین، امکان بهبود محدوده‌های تشخیص این روش از طریق افزایش حجم فاز استخراج وجود دارد و با افزایش ضخامت فیلم قابل انجام می‌باشد. قابلیت انجام در محیط بسیار رقیق و غلظت‌های بسیار کم نمونه‌ها که از این نظر هم نسبت به روش SPME برتری دارد. امکان کنترل دقیق مقدار PDMS روی میله همزن را دارد که موجب افزایش تکرارپذیری و اطمینان و اعتبار استخراج می‌شود. همچنین، در ترکیب با LD یا LC برای ترکیبات غیر فرار مناسب است (۳).

کاربرد روش SBSE

الف. کاربردهای اخیر روش SBSE برای نمونه‌های بیولوژیکی: مروری بر کاربردهای SBSE در نمونه‌های بیولوژیکی در جداول ۴-۱ ارایه شده است. بیشتر روش‌های توصیف شده شامل انتخاب کروماتوگرافی، خطی بودن، دقت و حساسیت بالا، به خوبی مطابق با معیارهای بین‌المللی برای رویه‌های اعتبارسنجی به منظور رسیدن به اهداف مورد نیاز، مانند نظارت دارو درمانی، سم‌شناسی بالینی، سم‌شناسی پزشکی قانونی، سم‌شناسی اجتماعی، فراهمی زیستی و فارماکوکینتیک است (۵).

غیر قطبی می‌باشد، بهتر است آنالیت‌های با قطبیت پایین استخراج شود. ترکیبات با قطبیت بالا به خوبی بازیابی نمی‌شوند. بنابراین، امکان مشتق‌سازی درجا، جایی که مشتق‌سازی و SBSE به طور هم‌زمان انجام می‌شود، برای اسیدهای چرب و فنل‌ها، باریتورات‌ها و بنزودیازپین‌ها به کار برده شده است (شکل ۷). به تازگی SBSE در تجزیه و تحلیل باریتورات‌ها و بنزودیازپین‌ها و متابولیت‌های آن‌ها در ادرار و خون استفاده شده است. به طور مثال، جاذب Restricted access media (RAM) برای SBSE کافئین و متابولیت‌های آن از پلاسمای موش استفاده شده و استرس اکسیداتیو نشانگر ۴ هیدروکسی‌نوتال در ادرار با استفاده از SBSE با مشتق‌سازی تعیین شده است.



شکل ۷. حالات مختلف مشتق‌سازی در روش Stir bar sorptive extraction (SBSE) در جا (a)، میله همزن با معرف مشتق‌سازی از پیش بارگذاری شده قبل از قرار گرفتن در معرض نمونه (b) و مشتق‌سازی درون لوله‌ای (c) (۱۱)

SBSE ممکن است با موفقیت برای اهداف زیست تحلیلی استفاده شود. از آنجایی که تنها پوشش PDMS به عنوان فاز استخراج در دسترس است، PDMS روی سطح همزن نسبت به فیبر SPME، حساسیت و بازیابی آنالیت‌ها را افزایش می‌دهد. مقاوم به حرارت است و در محدوده وسیعی از دما (۳۰-۲۲۰ درجه سانتی‌گراد) قابل استفاده می‌باشد (۵). اشکال اصلی این روش، مدت زمان استخراج است که اغلب بین ۳۰ تا ۱۵۰ دقیقه به طول می‌انجامد. به همین دلیل، SBSE ممکن است برای آزمایشگاه‌های معمولی با توان بالا غیر عملی باشد (۱۰).

عوامل مؤثر بر SBSE در توسعه روش SBSE، همان عواملی که برای استخراج کارآمد در SPME وجود دارد، شاخص‌های بازیابی و غنی‌سازی بالا و محدودیت‌های تشخیص کم نیاز به بهینه‌سازی دارند. این عوامل شامل نوع، حجم و اندازه پوشش میله همزن، زمان استخراج، pH، افزودن نمک و حلال‌های آلی، سرعت هم زدن، دمای استخراج، حجم نمونه می‌باشد. حجم پوشش‌های میله همزن بر کارایی تکنیک SBSE تأثیر می‌گذارد. هرچه حجم پوشش‌های میله همزن بیشتر باشد، حساسیت برای ترکیبات قطبی‌تر با ضرایب تقسیم اکتانول / آب پایین‌تر است، اما مشخص شده است که حجم برای

جدول ۱. کاربردهای روش Stir bar sorptive extraction (SBSE)

منبع	روش	ماتریس	جاذب SBSE	آنالیت
Vallez-Gomis و همکاران (۲۰)	GC-MS	ادار	PDMS	benzophenones BP, BP3, 3
Kole و همکاران (۲۷)	HPLC	ادار	PDMS	دیگلوفاک
Mohammad و همکاران (۱۶)	HPLC	پلازما و ادار	PDMS, PDMS/PPY	داروهای ضد افسردگی (میرتازاپین، سیتالوپرام، پاروکستین، دولوکستین، فلوکستین و سرتالین)
Vallez-Gomis و همکاران (۲۸)	LC-MS/MS	ادار	CoFe2O4-Strata-XTM-AW	تری فنیل و دی فنیل فسفات (اختلالات غدد درون‌ریز)
Lan و همکاران (۲۹)	GC-MS	هوا	PDMS	آلترین و پیپرونیل بوتاکسید
Soini و همکاران (۲۱)	GC	ادار و هوا و ترشحات غده‌ای	TenaxTM	بخارات فرار، نمونه‌برداری هوا، بنزآلدهید
Hasan و همکاران (۳۰)	SBSE-LD-HPLC-FLD	نمونه‌های گرد و غبار	Graphene oxide/polydopamine	PAHs
	SBSE-LD-GC-MS	ادار	هیدروکسید دو لایه/گرافن	OCPs
	SBSE-LD-HPLC-FLD	پلازما	پلی آنیلین	پروپرانولول
	SBSE-LD-HPLC-UV	ادار	پروپرانولول اصلاح شده	پروپرانولول
	SBSE	سرم خون انسان	کاربامازپین اصلاح شده	کاربا مازپین
Novakova و Vlckova (۱۱)	SBSE, GC-MS	آئروسول‌های اتمسفر	PDMS	آفت‌کش‌ها: PAHs و PCBs
				اسیدهای آلی، PEs
Li و همکاران (۱۸)	SBSE-TDU-GC	آب، چای	PDMS	دوازده آفت‌کش‌های پیرتروئید:
				Allethrin, Fenson, Ovex, ترامترین، فنپروپاترین، پرمترین، ترنس
				سیپرمترین، سیس سیپرمترین، دلتامترین، فنوالریت، بیفتترین، سیفلوترین
Wu و همکاران (۱۹)	LC-QQQ, GC-FPD	غلات، صیفی‌جات	QuEChERS, d-SPE	آفت‌کش‌ها: سیکلوکساپرید، ایمیداکلوپرید، بیکسافن، بیفنازات، OCPs
	SPE and GC-MS	غلات، صیفی‌جات	QuEChERS and GC	Acetochlor, Atrazine and DDT

PDMS: Polydimethylsiloxane; GC-MS: Gas chromatography-mass spectrometry; HPLC: High-performance liquid chromatography; PDMS: Polydimethylsiloxane; BP: Benzophenone; SBSE: Stir bar sorptive extraction; FLD: Fluorescence detector; UV: Ultraviolet; TDU: Thermal Desorption Unit; PAHs: Polycyclic aromatic hydrocarbons; OCPs: Organochlorine pesticides; PCBs: Polychlorinated biphenyls; PEs: Phthalate esters; d-SPE: Dispersive solid phase extraction; FPD: Flame Photometric Detector

جدول ۲. استفاده از فازهای ثابت یکپارچه در کاربردهای زیست تحلیلی (۱۰)

داده‌های اعتبارسنجی	زمان آنالیز	تشخیص	فاز متحرک	روش/ فاز ثابت	آماده‌سازی نمونه	ماده تعیین شده
$r^2 = 0.999$ R.S.D. = 4.2–4.5% R.S.D. = 4.3–4.6% LOD= 1.5 mol L ⁻¹ LOQ= 4.95 mol L ⁻¹	۰/۸ دقیقه	UV 264 nm	2.5 mM NaH ₂ PO ₄ ; 2.5 mM DTMAcI; 1.25mM Na ₂ EDTA; 2% ACN	عملکرد کرومولیت c18 (100 mm*4.6 mm)	خون	اسید آسکوربیک، اسید ایزو آسکوربیک، ال-دهیدروآسکوربیک اسید (کاهش)
$r^2 = 0.993$ LOQ=10ngmL ⁻¹ ; CV = 9.9%; R.S.D. = 3.9% $r^2 = 0.995-0.998$; R.S.D. = 1.1–5.2% (inplasma); LOQ= 2.5 ngmL ⁻¹	NA	ESIMS/MS(M+H) + Derivatization	ACN: 0.1% (v/v) FA v H ₂ O 40:60 (v/v)	عملکرد کرومولیت، RP18e (100 mm*4.6 mm)	پلاسمای انسانی PP	کاپتوپریل
$r^2 = 0.995-0.998$; R.S.D. = 1.1–5.2% (inplasma); LOQ= 2.5 ngmL ⁻¹	۷ دقیقه	FD; Excitation: 200 nm; Emmision: 301 nm	MeOH:H ₂ O, 19:81 (v/v)	عملکرد کرومولیت، RP18e (100 mm*4.6 mm)	پلاسمای انسانی، بزاق، LLE	ترامادول، O-دیسمتیل ترامادول، n-دیسمتیل ترامادول، O,n-دیسمتیل ترامادول
R.S.D. = 1.9–4.7%; LOD= 0.4 ngmL ⁻¹ ; LOQ= 0.015 gmL ⁻¹ $r^2 = 0.9997-0.9999$; R.S.D. = 5.93%; LOD= 0.02 mol L ⁻¹ ; LOQ= 0.07 mol L ⁻¹ R.S.D. = 5.58%; LOD= 0.1 mol L ⁻¹ ; LOQ= 0.3 mol L ⁻¹	۳ دقیقه	ESIMS/MS (M+H)+	ACN:ammonium acetate, 90:10	عملکرد کرومولیت، RP18e (100 mm*4.6 mm)	پلاسمای انسانی PP	سیکلواسپیرین A
$r^2 = 0.9997-0.9999$; R.S.D. = 5.93%; LOD= 0.02 mol L ⁻¹ ; LOQ= 0.07 mol L ⁻¹ R.S.D. = 5.58%; LOD= 0.1 mol L ⁻¹ ; LOQ= 0.3 mol L ⁻¹	۱/۸ دقیقه	DAD 325 nm 295 nm	100% MeOH	عملکرد کرومولیت، RP18e (100 mm*4.6 mm)	ON-Line SPE, LLE سرم خون	رتینول، آلفا توکوپرول
$r = 0.9995-0.9998$ R.S.D. = 5.3–8.1%; R.S.D. = 0.32–1.92% LOD= 10 nmol L ⁻¹ to 0.5 μmol L ⁻¹ ; LOQ= 0.02–1.1 μmol L ⁻¹	۶ دقیقه	DAD 325 nm, 295 nm, 330 nm	MeOH:H ₂ O, 95:5 (v/v) MeOH:2-propanol, 60:40 (v/v)	عملکرد کرومولیت، RP18e (100 mm*4.6 mm)	LLE سرم خون	رتینول، آلفا توکوپرول، رتینی پالمیتیت رتینیل استرات

جدول ۳. نمای کلی Stir bar sorptive extraction (SBSE) برای کاربردهای زیست پزشکی (۱۴، ۵)

رفرنس	ابزار	وا جذب	مشتق‌سازی	روش (جستجو)	حد جستجو	نمونه	آنالیت
Malcangi و همکاران (۱۴)	TD-GC-MS	TD	AA, ECF	SBSE با مشتق‌سازی درجا		ادرار	سوء مصرف داروها
	TD-GC-MS	TD		SBSE		ادرار	ترپن‌ها و سسکوی‌ترپن‌ها
	TD-GC-MS	TD		SBSE		ادرار	استروئیدها
	TD-GC-MS	TD		SBSE		ادرار	نیکوتین
	TD-GC-MS	TD	ECF	SBSE با مشتق‌سازی درجا		ادرار	اسیدهای چرب
Nogueira (۵)	TD-GC-MS	TD	AA	SBSE		ادرار	فنل‌ها
	GC-MS (SIM) 0.4-4 ng/L	TD		SBSE		ادرار، پلاسما (۱ میلی‌لیتر)	فنل‌ها
	GC-MS (SIM) 20 pg/mL	TD	مشتق‌سازی درجا، انیدرید استیک	SBSE		ادرار (۱ میلی‌لیتر)، بزاق (۵۰۰ میکرولیتر)	فنل‌ها
	GC-MS (SIM) 100 pg/mL	TD	مشتق‌سازی درجا، انیدرید استیک	SBSE		پلاسما (۲۰۰ میکرولیتر)	فنل‌ها
	GC-MS (SIM) 22 pg/mL	TD	مشتق‌سازی درجا، PFBHA، انیدرید استیک	SBSE		ادرار (۱ میلی‌لیتر)	۴-هیدروکسینونال (نشانه‌گر استرس اکسیداتیو)
Malcangi و همکاران (۱۵)	GC-MS (SIM) 20-30 pg/mL	TD	hydrolysis, in situ derivatization, انیدرید استیک	SBSE		ادرار (۱ میلی‌لیتر)	استرون، استرادیول
	GC-MS (SIM) 0.46 pg/mL (TD) 10.0 pg/mL (LOD)	TD و LD	مشتق‌سازی درجا، Acetic anhydride/ethyl chloroformate	SBSE		پلاسما (۱ میلی‌لیتر)	فلوکستین
	TD-GC-MS	TD	AA, ECF	SBSE	1 μg l ⁻¹ (SCAN), 10 ng l ⁻¹ (SIM)	ادرار	باربیتورات‌ها و بنزودیازپین‌ها
	TD-GC-MS	TD		SBSE	0.06-0.4 μgml ⁻¹	کل خون	کافئین، تتوفیلین
	TD-GC-MS	LD		SBSE	25 ng ml ⁻¹	پلاسما	کافئین و متابولیت‌ها
Nogueira (۵)	LC-UV 25 ng/mL	LD	RAM sorbent	SBSE		پلاسما (۰/۸ میلی‌لیتر)	کافئین و متابولیت‌ها

جدول ۳. نمای کلی Stir bar sorptive extraction (SBSE) برای کاربردهای زیست پزشکی (۱۴، ۵) (ادامه)

رفرنس	ابزار	واجذب	مشتق سازی	روش (جستجو)	حد جستجو	نمونه	آنالیت
Malcangi و همکاران (۱۵)	TD-GC-MS	TD		SBSE	Sub pg ml ⁻¹	اسپریم	PCBs
	TD-GC-MS	TD		SBSE	0.3 μg l ⁻¹	پلاسما	DEHP
	TD-GC-MS	TD	AA	با SBSE مشتق سازی درجا	20 ng l ⁻¹ (SCAN), 0.2 ng l ⁻¹ (SIM)	ادرار	1-هیدروکسی پیرن
	TD-GC-MS	TD		SBSE	0.004–0.04 ng ml ⁻¹	ادرار، پلاسما	OP, NP
	TD-GC-MS	TD		با SBSE مشتق سازی درجا	0.2 ng ml ⁻¹	ادرار	گلوکوروئید NP
	TD-GC-MS	TD	AA	با SBSE مشتق سازی درجا	20–100 pg ml ⁻¹	ادرار، پلاسما، بزاق	BPA
	TD-GC-MS	TD	AA	با SBSE مشتق سازی درجا	10–20 pg ml ⁻¹	ادرار	کلروفنولها
	TD-GC-MS	TD	AA	با SBSE مشتق سازی درجا	10–50 pg ml ⁻¹	ادرار	اگزواستروژنهای فنلی
	TD-GC-MS	TD		با SBSE مشتق سازی درجا	0.2 ng ml ⁻¹	خلط	TBSA

TD-GC-MS: Thermo-Desorption-Gas Chromatography-Mass Spectrometry; GC-MS: TD: Thermal desorption; LD: Liquid desorption; PCBs: Polychlorinated biphenyls; DEHP: di(2-Ethylhexyl)Phthalate; BPA: Bisphenol A; TBSA: Tuberculoostearic acid; SBSE: Stir bar sorptive extraction; LC-UV: Liquid Chromatography-ultraviolet

جدول ۴. کاربردهای زیست پزشکی و دارویی روش Stir bar sorptive extraction (SBSE) (۱۱)

تکرارپذیری (درصد)	LODs	آنالیز	واجذب	زمان (دقیقه)	فاز/ بعد	مشق سازی	مواد افزودنی	روش	مقدار نمونه	ماتریکس	آنالیت
۵/۰-۶/۳	۲ نانوگرم در لیتر	GC-MS	TD	۶۰	PDMS (20 mm × 1 mm)	In situ AAA; KHCO ₃		SBSE	۱۰	ادرار	۱-هیدروکسی پیرن
۳/۳-۷/۲	۲۲/۵ نانوگرم در لیتر	GC-MS	TD	۵۰ (۴۲ درجه سانتی‌گراد)	PDMS (20 mm × 1 mm)	Pre-in situ PFBHA in pyridine+On-Twister AAA; pyridine	H ₂ O; pH 5.5	SBSE	۱	ادرار	۴-هیدروکسی نوننل
۱/۵-۳/۹	۰/۰۰۴-۰/۰۴ نانوگرم در میلی‌لیتر	GC-MS	TD	۶۰	PDMS (20 mm × 1 mm)			SBSE	۱	پلازما و ادرار انسان	NPs
		LC-UV	LD		PDMS		هیدرولیز قلیایی	SBSE		چرم	رنگ‌های آزو ممنوع
	۱۲ نانوگرم در لیتر	GC-MS	TD	۳۰	PDMS (20 mm × 1 mm)			SBSE	۵	ادرار	باربیتورات‌ها
۳/۸-۹/۶		GC-MS	TD		PDMS			SBSE		نمونه‌های پزشکی قانونی	داروهای اساسی
	۱-۵ نانوگرم در لیتر آب، ۲۰-۱۰۰ نانوگرم در لیتر مایع	GC-MS	TD	۱۲۰-۴۵	PDMS (10 mm × 0.5 mm)	In situ AAA; Na ₂ CO ₃ or NaHCO ₃ (pH: 10.5)		SBSE	۲-۵۰	نمونه‌های آب، مایع بدن	BPA
کمتر از ۱۰	۲-۵۰ نانوگرم در میلی‌لیتر	LC-UV	LD	۴۰	RAM		۱۰ درصد MeOH	SBSE	۱	مایعات بیولوژیکی	کافئین و متابولیت‌ها
	۰/۰۶-۰/۴ میلی‌گرم در لیتر	GC-MS		۶۰-۱۲۰	PDMS			SBSE		خون انسان	کافئین، تنوفیلین
۱/۵-۲۱/۷	۱-۲ نانوگرم در لیتر	GC-MS	TD	۶۰	PDMS (10 mm × 0.5 mm)	In situ acylation: AAA; Na ₂ CO ₃		SBSE	۱۰/۲	آب، ادرار	Vها
۴/۷-۱۴/۷	۱۰-۲۰ نانوگرم در لیتر	GC-MS	TD	۶۰ (۴۰ درجه سانتی‌گراد)	PDMS (10 mm × 0.5 mm)	In situ: ECF, in situ: AAA	هیدرولیز	SBSE	۵	مایعات بیولوژیکی	مواد مخدر
۱/۶-۴/۵	۰/۰۲-۰/۰۳ گرم در لیتر	GC-MS	TD	۳۰	PDMS (10 mm × 0.5 mm)	Pre in situ: AAA; Na ₂ CO ₃ +Post HS acylation: AAA; pyridine		SBSE	۱ میلی‌لیتر	ادرار	استرون؛ ۱۷-استرادیول

جدول ۴. کاربردهای زیست پزشکی و دارویی روش Stir bar sorptive extraction (SBSE) (۱۱) (ادامه)

تکرارپذیری (درصد)	LODs	آنالیز	واجذب	زمان (دقیقه)	فاز/ بعد	مشق سازی	مواد افزودنی	روش	مقدار نمونه	ماتریکس	آنالیت
۱/۶-۴/۵	۰/۰۲-۰/۰۳ گرم در لیتر	GC-MS	TD	۳۰	PDMS (10 mm × 0.5 mm)	Pre in situ: AAA; Na ₂ CO ₃ +Post HS acylation: AAA; pyridine		SBSE	۱	ادرار	استرون؛ ۱۷- استرادیول
۴/۸	۳ گرم در لیتر	LC-MS (MIM)	LD	۳۰	PDMS (10 mm × 0.5 mm)		بافر بورات	SBSE	۱	پلاسمای انسانی	فلوکستین
۷-۱۴	۰/۴۶:TD نانوگرم در لیتر؛ ۱۰:TD نانوگرم در لیتر	GC-MS	TD یا LD		PDMS (10 mm × 0.5 mm)	کاربامات درجا اتیل کلروفرمات، EtOH: پیریدین	آب	SBSE	۱	پلازما	فلوکستین
		GC-MS	TD	۶۰			فسفات بافر NaCl	SBSE	۱	واکنش Maillard	گلیسین
۲/۵-۷/۳	۰/۰۱-۰/۱۱ میکروگرم در لیتر	GC-MS	TD	۹۰ (۳۷ درجه سانتی‌گراد)	PDMS (10 mm × 0.5 mm)	داخل لوله BSTFA		SBSE	۱	ادرار	NPG, OPG
		GC-MS	TD	۶۰	PDMS (20 mm × 0.5 mm)			SBSE	۵	شیر انسان	بو- فعال اجزای تشکیل دهنده فرار
		GC-MS/OD	TD					SBSE		دهان	بوها
۲/۵-۱۵	۰/۸-۱۵/۴ نانوگرم در لیتر	CG-AED	TD	۵۰	PDMS (10 mm × 0.5 mm)			SBSE	۱۰	آب	OPPs
۳-۷	۰/۱ نانوگرم در لیتر	GC-MS	TD	۴۵	PDMS (10 mm × 0.5 mm)		H ₂ O:MeOH	SBSE	۱	اسپریم	PCBs
		GC-MS	TD					SBSE		شیر مادر	آفتکش‌ها
	کمتر از ۱ گرم در لیتر	GC-MS	TD	۶۰	PDMS (10 mm × 0.5 mm)	در محل AAA: در محل ECF		SBSE	۵	ادرار	داروسازی
۲/۷-۸/۶	۱۰-۵۰ نانوگرم در لیتر	GC-MS	TD	۱۵۰	PDMS (10 mm × 0.5 mm)	Pre-in situ acylation: AAA; K ₂ CO ₃		SBSE	۱	ادرار	اگزواستروژن‌های فنولیک
		GC-MS	TD	۶۰	PDMS (10 mm × 1 mm)						
۴/۰-۱۰/۴	۰/۲-۱ میکروگرم در لیتر	HPLC-DAD	LD	۱۲۰ یا ۲۴۰	PDMS (20 mm × 1 mm)						

جدول ۴. کاربردهای زیست‌پزشکی و دارویی روش Stir bar sorptive extraction (SBSE) (۱۱) (ادامه)

تکرارپذیری (درصد)	LODs	آنالیز	واجذب	زمان (دقیقه)	فاصله/بعد	مشتق‌سازی	مواد افزودنی	روش	مقدار نمونه	ماتریکس	آنالیت
۴/۲-۱۰		HPLC-UV GC-MS	LD TD	۴۰	MASE-EDMA PDMS (10 mm × 0.5 mm)	In situ: ECF In situ: AAA	هیدرولیز	SBSE	۵ میلی‌لیتر	مایعات بیولوژیکی	استروئید، داروها
۴/۸	۰/۲ نانوگرم در میلی‌لیتر	GC-MS	TD	۳۰	PDMS (10 mm × 0.5 mm)	In situ: ECF EtOH:pyridine (5:1)		SBSE	۲ میلی‌لیتر	نمونه‌های خلط	TBSA
۲/۵-۷/۶	۰/۹-۲/۸ میکروگرم در لیتر	GC-MS	TD	۶۰	PDMS		NaCl	SBSE	۱۵ میلی‌لیتر	ادرار انسان	تستوسترون، اپی‌تستوسترون
۲/۴-۶/۷	۰/۰۵ میکروگرم در لیتر	GC-MS	TD	۶۰	PDMS (10 mm × 0.5 mm)		۱ میلی‌لیتر آب	SBSE	۱ میلی‌لیتر	ادرار	تریکلوزان
۳/۶	۰/۱ میکروگرم در لیتر	LC-DAD	LD	۱۲۰	PDMS (20 mm × 1 mm)			SBSE	۱ میلی‌لیتر	بزاق	تریکلوزان
۳/۶	۰/۱ میکروگرم در لیتر	LC-DAD	LD	۱۲۰	PDMS (20 mm × 1 mm)			SBSE	۲۵ میلی‌لیتر	خمیر دندان	تریکلوزان
		GC-MS	TD	۶۰	PDMS (10 mm × 0.5 mm)		آب	SBSE	۰/۵ میلی‌لیتر	ادرار	VOCs
		GC-MS	TD	۶۰	PDMS			HSSE	۵ میلی‌لیتر	ترشح غده مقعدی	VOCs
۰/۷-۵/۵		GC-MS	TD	۶۰	PDMS			HSSE	۱ میلی‌لیتر	ادرار همستر و موش	VOCs
		CG-MS GC-AES	TD	۶۰	PDMS			SBSE	۰/۵ میلی‌لیتر	ادرار موش	VOCs

PDMS: Polydimethylsiloxane; GC-MS: Gas chromatography-mass spectrometry; HPLC: High-performance liquid chromatography; VOCs: Volatile organic compounds; GC-AES: Gas chromatography-atomic emission detection; SBSE: Stir bar sorptive extraction; HSSE: Headspace sorptive extraction; TBSA: Tuberculoostearic acid; GC-AED: Gas chromatography-Atomic emission detector; TD: Thermal desorption; LD: Liquid desorption; PCBs: Polychlorinated biphenyls; BPA: Bisphenol A;

ه. **تجزیه ترکیبات آروما:** تجزیه انتخابی نسبت‌های انانتیومرها به طور گسترده‌ای در تضمین کیفیت طعم دهنده‌های طبیعی و اسانس‌ها به کار رفته‌اند. کروماتوگرافی چند بعدی روش مؤثری برای این هدف است. اتصال GS-MS چند بعدی-انانتیو به SBSE امکان ترکیب راندمان بالای استخراج میله همزن با انتخابگری بالای سیستم GS-MS را فراهم می‌کند. با استفاده از این روش، تعیین دقیق نسبت‌های انانتیومری ترکیبات جزیی مانند اسانس‌ها امکان‌پذیر می‌شود. این روش برای تجزیه α -پینن، β -پینن، سایینن، α -فلاندن، لینالول، α -تریفینول، ترپینن-4 α و بورنئول در اسانس درخت چای، اسانس اکالیپتوس و آویشن به کار رفته است. ترکیبات معطر در نمونه‌های ساکی با استفاده از SA-SBSE استخراج شده است (۱۷، ۳).

و. **تجزیه PAHs:** بقایای PAHs در آب نگرانی بزرگی محسوب می‌شود؛ چرا که در تولید نوشیدنی‌ها و مواد غذایی کاربرد دارد. روش‌های تعیین PAHs در بافت‌های غذایی شامل LLE7 و SPE8، پیچیده و زمان‌بر است. به ویژه LLE که نیاز به مقادیر زیادی از حلال‌های سمی و حداقل یک مرحله تمیزسازی قبل شناسایی و مرحله تعیین کمیت دارد. یکی از روش‌های موفق در تعیین این ترکیبات، SBSE است.

ز. **تجزیه عوامل بدطعمی:** مهم‌ترین کاربرد در این گروه مربوط به تجزیه اسید تری‌کلرواستیک و کاربرد دیگر این گروه، تجزیه آلدئیدها (به طور مثال نونال و دکا دی‌انال) می‌باشد.

ح. **مطالعه ترکیبات مهاجرت‌کننده از بسته‌بندی به مواد غذایی:** مهاجرت بیس‌فنول A (Bisphenol A یا BPA)، از بطری کودک به روش SBSE انجام شد. مهاجرت سه آلکیل فنول، -4-ترت اکتیل فنول، 4-n-اکتیل فنول و 4-نونیل فنل و 6-استر فتالات (دی‌متیل فتالات، دی‌اتیل فتالات، دی‌ان‌اکتیل فتالات، دی‌ان‌بوتیل فتالات، آن‌بوتیل بنزیل فتالات و دی ۲ اتیل هگزیل فتالات) در سالاد بسته‌بندی شده در پلاستیک و سبزیجات بررسی شده است (۳).

ط. **تجزیه و تحلیل محیط زیستی:** روش SBSE با موفقیت در تجزیه و تحلیل محیطی استفاده شده است. مزیت اصلی آن، اعمال برای ترکیبات آلی فرار (Volatile organic compounds یا VOCs) و نیمه فرار می‌باشد. اگر در ترکیب با LD و High-performance liquid chromatography (HPLC) استفاده شود، حتی می‌توان آن را برای ترکیبات غیر فرار اعمال کرد. این ترکیبات بسته به ضریب تقسیم آب-اکتانول آن‌ها استخراج می‌شوند. برنامه‌های کاربردی موفق شامل مواد آروماتیک فرار، حلال‌های هالوژنه، PAHs، PCBs، آفت‌کش‌های ارگانوکلر آلی (OCs) یا Organochlorine pesticides و ارگانوفسفوره یا حشره‌کش‌ها، آفت‌کش‌های پیرتروئید، ترکیبات بدبو، ترکیبات آلی‌تین و Ethylene dichlorides (EDCs) مانند آلکیل فنل‌ها (Alkylphenols) یا APs، BPA، کلروفنول‌ها (Chlorophenols یا CPs) بوده است (۱۴).

برخی از کاربردهای SBSE شامل نمونه‌گیری غیر فعال، نمونه جامد، تجزیه و تحلیل پیش‌تغلیظ و چند باقی‌مانده (Multi-residue analysis) است. در واقع، نمونه‌گیری غیر فعال در پایش بلندمدت مورد استفاده قرار می‌گیرد. اگرچه بیشتر کاربردهای SBSE به پیش‌تغلیظ ماتریس‌های آبی معطوف می‌شود، کاربردهایی برای تعیین نمونه‌های جامد نیز در مقالات یافت می‌شود. در برخی از کارهایی که با مواد جامد سر و کار دارند، نمونه پیش‌تر استخراج نشده است و استخراج مستقیم SBSE انجام می‌شود. در این موارد،

روش SBSE برای تعیین ترکیبات آلی در مایعات بیولوژیکی استفاده می‌شود. در تجزیه و تحلیل زیست پزشکی انواع متفاوت املاح از سرم، پلاسما و ادرار استخراج می‌شود. SBSE می‌تواند در نمونه‌های پلاسما و ادرار از جمله داروهای سوء مصرف، ترپن‌ها و سسکوی‌ترین‌ها، استروئیدها، نیکوتین، اسیدهای چرب، فنل‌ها، باربیتورات‌ها و بنزودیازپین‌ها، داروهای تجویزی، کافئین، Polychlorinated biphenyls (PCBs)، دی ۲-اتلی هگزیل فتالات di(2-Ethylhexyl)Phthalate یا DEHP، 1-هیدروکسیل پیرن، زنواستروژن‌های فنولیک و اسید توبرکولوستاریک (Tuberculostearic acid) یا TBSA استفاده شود.

Stopforth و همکاران پروتکلی برای تعیین آنالیت‌ها در نمونه‌های ادرار یا خون با استفاده از روش SBSE ایجاد کردند. نمونه‌های ادرار را می‌توان به طور مستقیم یا پس از هیدرولیز آنزیمی استخراج کرد. مشتق‌سازی درجا نیز می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. نمونه‌های خون شامل سرم و پلاسما، مایع صفراوی و اسپرم باید قبل از استخراج با آب یا محلول بافر رقیق شوند. از سوی دیگر، تعیین ۱-هیدروکسیل پیرن یا زنواستروژن‌های فنلی (Phenolic xenoestrogens) در نمونه‌های بیولوژیکی انسان با استفاده از SBSE یا SBSE با مشتق‌سازی درجا گزارش شد. NP glucuronide در نمونه‌های ادرار انسان با روش SBSE با In situ de-conjugation تعیین گردید. آن‌ها روشی سریع برای تشخیص TBSA در نمونه خلط گزارش کردند (۱۴).

ب. **کاربرد بیوشیمیایی/علوم زیستی روش SBSE با مشتق‌سازی در جا (In situ derivatization):** باید توجه ویژه‌ای به امکانات مشتق‌سازی درجا همراه با SBSE شود؛ چرا که اغلب ترکیبات هدف کاملاً قطبی هستند (به عنوان مثال متابولیت‌ها). از آنجایی که فاز PDMS یک فاز مایع غیر قطبی است، ترجیحاً قطبیت آنالیت کم است. ترکیبات قطبی نسبتاً بالا مانند ترکیبات فنلی، به خوبی بازایی نمی‌شوند. بنابراین، SBSE با مشتق‌سازی درجا که در آن مشتق‌سازی و SBSE به طور هم‌زمان انجام می‌شود، توسعه داده شد. مشتق‌سازی یک گروه هیدروکسیل فنولیک با انیدرید اسید استیک، یک کربوکسیل گروه با اتیل کلروفرمات و ترکیبات کربونیل با هیدروکسیل آمین (6,5,4,3,2-O پنتا فلورو بنزیل) گزارش شده است (۱۵).

ج. **تجزیه و تحلیل املاح آلی:** روش SBSE در ترکیب با TDS-capillary GC یک ابزار همه کاره به منظور تجزیه و تحلیل املاح آلی در مایعات مختلف نمونه‌های بیولوژیکی با تنوعی از ترکیبات زیست فعال آلی است که اغلب حاوی گروه‌های قطبی می‌باشد. مشتق‌سازی، روشی کلاسیک برای تبدیل آنالیت‌ها به ترکیبات سازگار با GC است. حوزه کاربرد SBSE با استفاده از واکنش‌های مشتق‌سازی قبل از استخراج و مشتق‌سازی درجا، به ترتیب با اتیل کلروفرمات و انیدرید اسید استیک به عنوان معرف‌های استری‌سازی و استیل‌سازی گسترش یافته است (۱۶، ۵).

د. **تجزیه ترکیبات فرار:** تجزیه ترکیبات فرار در مواد گیاهی، توت‌فرنگی، انگور، تمشک، قارچ خوراکی دنبان به روش SBSE انجام می‌شود. SBSE و HSSE برای ترکیبات فرار و آروما قهوه، تنباکو، آرد گندم و شراب به کار رفته است. تجزیه ترکیبات فرار سرکه، ترکیبات فرار تولید شده توسط قارچ‌ها (مایکوتوکسین‌ها) و ترکیبات به نسبت فرار مانند نگهدارنده‌ها (اسید بنزوئیک، اسید سوربیک و پارابن‌ها) هم با SBSE صورت گرفته است.

نمونه جامد یا در محلول آبی معلق می‌شود و میله همزن در سوسپانسیون فرو می‌رود یا HSSE انجام می‌شود (۱۱).

ی. تجزیه آفت‌کش‌ها و مشتقات آن‌ها: حضور بقایای آفت‌کش‌ها در مواد غذایی مقوله بسیار مهمی است. یکی از مزایای SBSE این است که قادر به تعیین مقادیر کامل یک آنالیت در نمونه می‌باشد. Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) یک روش تجزیه‌ای غالب در شناسایی و تعیین کمیت آفت‌کش‌ها به شمار می‌رود. روش‌های SBSE در ترکیب با LC-MS موجب تجزیه انتخابی و با حساسیت بالای کلرپیرفوس متیل، دیازینون، فونوفوس، فنتوات، فوسالون و پیریمیفوس اتیل در عسل شد. استخراج آفت‌کش‌های بیترتانول، کاربوکسین، فلوتریاپول، پیرامتیل، تیوکونازول و تریادیمفون در انگورها با استفاده از روش‌های SPE و SBSE انجام شد. تجزیه آفت‌کش‌ها در آبمیوه‌ها، میوه‌جات و سبزیجات، سرکه، زعفران، تنباکو هم انجام شده است. قارچ‌کش‌های زیادی برای جلوگیری از فساد استفاده می‌شوند. تیرازین‌ها، آنبیلین‌ها و پیریدین‌ها مهم‌ترین گروه‌های قارچ‌کش مورد استفاده هستند (۳). Li و همکاران دوازده آفت‌کش پیرتروئید باقی‌مانده در چای را با استفاده از روش SBSE، TD و GC تعیین کرد (۱۸). همچنین، Wu و همکاران گزارش کردند که روش‌های تحلیلی مانند استخراج مایع-مایع (LLE یا Liquid-liquid extraction)، استخراج سیال فوق بحرانی (SFE یا Supercritical fluid extraction)، SPE، استخراج فاز جامد پراکنده (d-SPE)، SBSE، پاکسازی فیلتراسیون چند شاخه‌ای (Multi-plug filtration cleanup یا m-PFC) و GC-MS تکنولوژی‌های اصلی برای تجزیه و تحلیل باقی‌مانده آفت‌کش‌ها هستند (۱۹).

بحث

تعدادی از روش‌های جدید SBSE توسعه یافته‌اند و می‌توانند جهت تعیین ترکیبات آلی در ماتریس‌های آبی از جمله آب و نمونه‌های بیولوژیکی استفاده شوند. بسته به املاح ($\log K_{ow}$)، حجم نمونه، ابعاد میله همزن و حساسیت GC-MS، حساسیت‌های کمتر از ۱ نانوگرم در لیتر در تجزیه و تحلیل محیط و ۱ میکروگرم در لیتر در تجزیه و تحلیل زیست پزشکی به دست می‌آید. علاوه بر این، روش SBSE به طور گسترده‌ای جهت تجزیه و تحلیل مواد غذایی استفاده می‌شود و بر استفاده از آن در زمینه اکولوژی شیمیایی تلاش می‌شود (۱۴). از این روش به منظور شناسایی عوامل بیولوژیکی در سم‌شناسی شغلی استفاده می‌گردد. در پژوهش Vallez-Gomis و همکاران، دوازده ترکیب مختل‌کننده غدد درون‌ریز، ۱۹ بیس فنول و بنزوفنون (Benzophenone یا BP) در نمونه ادرار تعیین گردید (۲۰). در مطالعه Soini و همکاران کاربردهای این روش در مواد شیمیایی اکولوژی تشریح شد. مورد مذکور با توجه به این مطلب است که روش SBSE دارای قابلیت تکرارپذیری تحلیلی مورد نیاز در ثبت پروفایل‌های تحلیلی اجزای فرار و نیمه فرار مخلوط‌های بیولوژیکی می‌باشد (۲۱).

در مورد استفاده از روش SBSE جهت شناسایی آفت‌کش‌ها، در تحقیق Guan و همکاران اشاره شد که روش SBSE برای استخراج آنالیت‌های قطبی و نیمه قطبی از جمله ترکیبات کلر آلی و آفت‌کش‌های ارگانوفسفره مورد ارزیابی قرار گرفته و همچنین، از آن به منظور تعیین ترکیبات کلر آلی در نمونه‌های آب

دریا و آفت‌کش‌های ارگانوفسفره در آبمیوه‌ها با تجزیه و تحلیل GC استفاده شده است (۲۲).

پژوهش Mouskeftara و همکاران که با استفاده از LC-MS متوالی برای تعیین ۹ حشره‌کش و قارچ‌کش در خون و ادرار پس از مرگ انسان انجام شد، نشان داد که این روش ساده، سریع و قابل اعتماد به منظور تعیین ۹ آفت‌کش در خون و ادرار با استفاده از ابزار HPLC-MS/MS است. روش پیش‌تیمار نمونه شامل سه روش آماده‌سازی نمونه به صورت SPE، رسوب پروتئین و QuEChERS بود، اما در مطالعات دیگر، محققان روش‌هایی را با استفاده از تکنیک‌های ریز استخراج مانند SPME و SBSE توسعه دادند. این روش‌ها محدودیت‌هایی دارد که شامل افزایش هزینه لیاف و کاهش راندمان و بازیابی کم آفت‌کش‌های غیر فرار می‌شود (۲۳). در مطالعه Kawaguchi و همکاران، تعیین BPs در نمونه‌های ادرار انسان با استفاده از روش SBSE و GC-TD و GC-MS انجام شد (۲۴). در تحقیق Goto و همکاران گزارش گردید که روش SBSE برای تجزیه و تحلیل ۱۱-نور-۹-کربوکسی- Δ^9 -تتراهیدروکانابینول (11-nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol) یا THCA، متابولیت اصلی Δ^9 -تتراهیدروکانابینول، در ادرار انسان توسط LC-MS-MS با استفاده از SBSE با LD ایجاد شد. این روش برای شناسایی و تعیین کمیت THCA در سم‌شناسی قانونی مفید است (۲۵).

Chan و همکاران در پژوهش خود تعیین دی‌متیل تری‌سولفید در خون خرگوش، هورمون گرلین (هورمون گرسنگی)، لوزارتان و والزارتان را در پلاسمای انسان گزارش کردند. دستگاه SBSE مبتنی بر MIL 68@PEEK به منظور تعیین سه پارابن در لوازم آرایشی و پلاسمای خرگوش استفاده شد (۲۶). Vallez-Gomis و همکاران یک کامپوزیت مغناطیسی ساخته شده از Magnetic nanoparticles (MNP) CoFe_2O_4 در یک پلیمر تبادل آنیونی ضعیف حالت مخلوط (StrataTM-X-AW) به عنوان ماده جاذب تعبیه شده است را برای ردیابی تری‌فنیل و دی‌فنیل فسفات در ادرار مصرف‌کنندگان لاک ناخن آماده کرد (۲۸). روش SBSE در حال حاضر بلوغ خود را در میان تکنیک‌های استخراج نشان داده؛ چرا که از نظر ویژگی‌های ترمودینامیکی و جنبشی کاملاً درک شده است (۱۱).

نتیجه‌گیری

به منظور آنالیز شیمیایی از گام مهم آماده‌سازی نمونه استفاده می‌شود. روش SBSE یکی از این روش‌های آماده‌سازی نمونه است. کاربرد SBSE را می‌توان با کاهش مصرف حلال، هزینه و زمان استخراج به عنوان جایگزینی جذاب برای روش‌های استخراج کلاسیک در نظر گرفت. مزایای این روش شامل سادگی عملیات، قابلیت تکرار خوب، بازیافت بالا و مصرف کم حلال‌های آلی می‌باشد. البته می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این روش هنوز در ابتدای کاربرد گسترده قرار دارد و در زمینه استفاده از این روش به تحقیق بیشتری نیاز است.

تشکر و قدردانی

References

1. Lancas FM, Queiroz ME, Grossi P, Olivares IR. Recent developments and applications of stir bar sorptive extraction. *J Sep Sci* 2009; 32(5-6): 813-24.
2. Telgheder U, Bader N, Alshelmani N. Stir bar sorptive extraction as a sample preparation technique for chromatographic analysis: An overview. *Asian Journal of Nanoscience and Materials* 2018; 1(2): 56-62.
3. He M, Wang Y, Zhang Q, Zang L, Chen B, Hu B. Stir bar sorptive extraction and its application. *J Chromatogr A* 2021; 1637: 461810.
4. Rafiei Z, Barzegar M. Stir bar sorptive extraction (SBSE). *Proceedings of the 22nd International Congress on Food Technology*; 2014 Oct 17; Gorgan, Iran. [In Persian].
5. Kawaguchi M, Ito R, Saito K, Nakazawa H. Novel stir bar sorptive extraction methods for environmental and biomedical analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2006; 40(3): 500-8.
6. Nogueira JMF. Novel sorption-based methodologies for static microextraction analysis: A review on SBSE and related techniques. *Analytica Chimica Acta* 2012; 757: 1-10.
7. Sánchez-Rojas F, Bosch-Ojeda C, Cano-Pavón JM. A Review of Stir Bar Sorptive Extraction. *Chromatographia* 2008; 69: 79-94.
8. Chaves AR, Silva SM, Queiroz RH, Lancas FM, Queiroz ME. Stir bar sorptive extraction and liquid chromatography with UV detection for determination of antidepressants in plasma samples. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2007; 850(1-2): 295-302.
9. Baltussen E, Sandra P, David F, Cramers C. Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: theory and principles. *Journal of Microcolumn Separations* 1999; 11(10): 737-47.
10. Pavlovic DM, Babic S, Horvat A, Kastelan-Macan M. Sample preparation in analysis of pharmaceuticals. *TrAC, Trends Anal Chem* 2007; 26(11): 1062-75.
11. Novakova L, Vlckova H. A review of current trends and advances in modern bio-analytical methods: chromatography and sample preparation. *Anal Chim Acta* 2009; 656(1-2): 8-35.
12. Prieto A, Basauri O, Rodil R, Usobiaga A, Fernandez LA, Etchebarria N, et al. Stir-bar sorptive extraction: A view on method optimisation, novel applications, limitations and potential solutions. *J Chromatogr A* 2010; 1217(16): 2642-66.
13. Abdulra'uf LB, Tan GH. Review of SBSE technique for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *Chromatographia* 2014; 77(1): 15-24.
14. Malcangi S, Romagnoli M, Beccaria M, Catani M, Chenet T, De Luca C, et al. Modern sample preparation approaches for small metabolite elucidation to support biomedical research. *Adv Sample Prep* 2022; 2: 100017.
15. Kassem MG. Stir bar sorptive extraction for central nervous system drugs from biological fluids. *Arabian Journal of Chemistry* 2011; 4(1): 25-35.
16. Tienpont B, David F, Bicchi C, Sandra P. High capacity headspace sorptive extraction. *Journal of Microcolumn Separations* 2000; 12(11): 577-84.
17. Sasaki T, Ochiai N, Yamazaki Y, Sasamoto K. Solvent-assisted stir bar sorptive extraction and gas chromatography-mass spectrometry with simultaneous olfactometry for the characterization of aroma compounds in Japanese Yamahai-brewed sake. *Food Chem* 2023; 405: 134640.
18. Li B, Zeng F, Dong Q, Cao Y, Fan H, Deng C. Rapid determination method for 12 pyrethroid pesticide residues in tea by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography. *Physics Procedia* 2012; 25: 1776-80.
19. Wu Y, Han L, Wu X, Jiang W, Liao H, Xu Z, et al. Trends and perspectives on general Pesticide analytical chemistry. *Advanced Agrochem* 2022; 1(2): 113-24.
20. Vallez-Gomis V, Trujillo-Rodriguez MJ, Beneda JL, Pasan J, Pino V, Chisvert A. The meta-organic framework PCN-250 for the extraction of endocrine disrupting compounds in human urine by stir bar sorptive dispersive microextraction. *Microchemical J* 2023; 185: 108277.
21. Soini HA, Bruce KE, Wiesler D, David F, Sandra P, Novotny MV. Stir bar sorptive extraction: a new quantitative and comprehensive sampling technique for determination of chemical signal profiles from biological media. *J Chem Ecol* 2005; 31(2): 377-92.
22. Guan W, Wang Y, Xu F, Guan Y. Poly (phthalazine ether sulfone ketone) as novel stationary phase for stir bar sorptive extraction of organochlorine compounds and organophosphorus pesticides. *J Chromatogr A* 2008; 1177(1): 28-35.
23. Mouskeftara T, Virgiliou C, Iakovakis A, Raikos N, Gika HG. Liquid chromatography tandem mass spectrometry for the determination of nine insecticides and fungicides in human postmortem blood and urine. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2021; 1179: 122824.

24. Kawaguchi M, Ito R, Honda H, Endo N, Okanouchi N, Saito K, et al. Measurement of benzophenones in human urine samples by stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Sci* 2008; 24(11): 1509-12.
25. Goto Y, Araki T, Fuchigami T, Arizono K. Analysis of 11-nor-9-carboxy-+ö9-tetrahydrocannabinol in urine by LC-MS-MS after stir-bar sorptive extraction and liquid desorption. *Forensic Toxicol* 2010; 28(1): 38-42.
26. Chan WS, Wong GF, Hung CW, Wong YN, Fung KM, Lee WK, et al. Interpol review of toxicology 2016-2019. *Forensic Sci Int Synerg* 2020; 2: 563-607.
27. Kole PL, Millership J, McElnay JC. Determination of diclofenac from paediatric urine samples by stir bar sorptive extraction (SBSE)-HPLC-UV technique. *Talanta* 2011; 85(4): 1948-58.
28. Vallez-Gomis V, Grau J, Benede JL, Giokas DL, Chisvert A, Salvador A. Fundamentals and applications of stir bar sorptive dispersive microextraction: A tutorial review. *Anal Chim Acta* 2021; 1153: 338271.
29. Lan H, Hartonen K, Riekkola ML. Miniaturised air sampling techniques for analysis of volatile organic compounds in air. *TrAC, Trends Anal Chem* 2020; 126: 115873.
- Hasan CK, Ghiasvand A, Lewis TW, Nesterenko PN, Paull B. Recent advances in stir-bar sorptive extraction: Coatings, technical improvements, and applications. *Analytica Chimica Acta* 2020; 1139: 222-40.