فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فهرست مطالب ..... هفت
فهرست جداول ..... ده
فهرست جداول ..... یازده

فصل اول : مقدمه و تئوری

۱-۱- آفت‌کش‌های اورگانوفسفره ۱
۱-۲- مالاتیون ۲
۱-۳- انواع روش‌های استخراج و جداسازی ٤
۱-۴- روش‌های متداول استخراج ۵
۱-۴-۱- استخراج مایع- مایع ۵
۱-۴-۱-الف- تئوری استخراج مایع- مایع ۶
۱-۴-۲- استخراج با فاز جامد ۷
۱-۴-۲-الف- ریز استخراج فاز جامد (SPME) ۷
۱-۵- ریز استخراج فاز مایع(LPME) ۸
۱-۵-۱- ریز استخراج با قطره حلال(SDME) ۸
۱-۵-۲- ریز استخراج مایع- مایع پخشی(DLLME) ۸
۱-۵-۲- تئوری ریز استخراج مایع- مایع پخشی ۱۰
۱-۵-۳- پارامترهای مؤثر بر بازده استخراج ۱۱
۱-۵-۳- الف- نوع و حجم حلال استخراج کننده ۱۱
۱-۵-۳- ب- نوع و حجم حلال پاشنده ۱۲
۱-۵-۳- پ- اثر زمان استخراج ۱۲
۱-۵-۳- ت- اثر نمک ۱۲
۱-۵-۳- س- اثر pH ۱۳
۱-۶-کاربردهای ریز استخراج مایع- مایع پخشی ۱۳
۱-۶-۱- تکنیک جفت شده ریز استخراج مایع-مایع پخشی با کروماتوگرافی مایع ۱۳
۱-۶-۲-تکنیک جفت شده ریز استخراج مایع-مایع پخشی با کروماتوگرافی گازی ۱۳
۱-۶-۳-تکنیک جفت شده ریز استخراج مایع-مایع پخشی با طیف سنجی جذب اتمی ۱۴
۱-۶-۴-ریز استخراج مایع-مایع پخشی با استفاده از مایعات یونی ۱۴
۱-۶-۵-ریز استخراج مایع-مایع پخشی با استفاده از حلال‌های استخراج کننده سبکتر از آب ۱۴
۱-۷- اهمیت اندازه‌گیری مالاتیون ۱۵

۱-۸- اهداف پروژه ۱۷
۱-۹- مروری بر روشهای مختلف اندازه‌گیری مالاتیون ۱۷
۱-۱۰- اسپکترومتر تحرک یونی(IMS) ۱۹
۱-۱۰-۱- مقدمه ۱۹
۱-۱۰-۲- تئوری و اصول دستگاهی اسپکترومتر تحرک یونی ۱۹
۱-۱۰-۳- منابع یونیزاسیون در IMS ۲۲
۱-۱۰-۳- الف- منبع یونیزاسیون رادیواکتیو ۲۲
۱-۱۰-۳- ب- فوتویونیزاسیون ۲۲
۱-۱۰-۳- پ- یونیزاسیون سطحی ۲۳
۱-۱۰-۳- ت- یونیزاسیون شعله ۲۳
۱-۱۰-۳- س- یونیزاسیون الکترواسپری ۲۳
۱-۱۰-۳- ش- منبع یونیزاسیون پلاسما با دمای پایین ۲۴
۱-۱۰-۳- ص- منبع یونیزاسیون تخلیه کرونا ۲۴

فصل دوم : بخش تجربی و دستگاهوری

۲-۱- مقدمه ۲۸
۲-۲- مواد شیمیایی و محلول‌های استفاده شده ۲۸
۲-۳- تهیه محلول‌های استاندارد ۲۸
۲-۴- دستگاه‌ها و تجهیزات مورد استفاده ۲۹
۲-۵- معرفی دستگاه اسکترومتر تحریک یونی با منبع یونیزاسیون تخلیه کرونا ۲۹
۲-۵-۱- منبع یونیزاسیون ۳۱
۲-۵-۲- ناحیه واکنش ۳۱
۲-۵-۳- ناحیه رانش ۳۱
۲-۵-۴- شبکه الکتریکی و دستگاه مولد پالس ۳۲
۲-۵-۵- شبکه محافظ ۳۲
۲-۵-۶-آشکارساز ۳۲
۲-۵-۷- محفظه تزریق نمونه ۳۲
۲-۵-۷-الف- مجرای ورودی گاز ۳۳
۲-۵-۷-ب-مجرای تزریق نمونه ۳۳
۲-۵-۷-ج-محل قرارگیری المنت ۳۵
۲-۵-۸-منابع تغذیه ۳۵
۲-۵-۹- مخزن گاز نیتروژن ۳۵
۲-۵-۱۰- تقویت کننده سیگنال ۳۶
۲-۵-۱۱-مبدل آنالوگ به دیجیتال ۳۶

۲-۶- نحوه محاسبه پاسخ دستگاه IMS ۳۶
۲-۷- روش کلی ریز استخراج مایع- مایع پخشی ۳۶
۲-۸- آماده‌سازی و آنالیز نمونه‌های حقیقی ۳۷
۲-۸-۱- نمونه‌های آب سطحی و زیرزمینی ۳۷
۲-۸-۲- نمونه سیب ۳۷
فصل سوم : بخش تجربی و نتایج
۳-۱- مقدمه ۳۸
۳-۲- طیف تحرک یونی مالاتیون ۳۹
۳-۳- بررسی پارامترهای مؤثر بر ریز استخراج مایع- مایع پخشی ۴۰
۳-۳-۱- بررسی اثر نوع حلال استخراج کننده ۴۰
۳-۳-۳- امکان سنجی تزریق مستقیم حلال استخراج کننده به دستگاه IMS ۴۲
۳-۳-۳- بررسی اثر نوع حلال پاشنده ۴۴
۳-۳-۴- بررسی اثر حجم حلال استخراج کننده ۴۶
۳-۳-۵- بررسی اثر حجم حلال پاشنده ۴۸
۳-۳-۶- بررسی اثر افزایش نمک ۴۹
۳-۳-۷- بررسی اثر pH محلول ۵۰
۳-٤- ارقام شایستگی روش ۵۰
۳-۴-۱- منحنی تنظیم ۵۰
۳-۴-۲- فاکتور تغلیظ ۵۴
۳-۴-۳- دقت و تکرارپذیری روش ۵۴
۳-۴-۴- آنالیز نمونه حقیقی ۵۵
۳-۴-۴-الف- اندازه‌گیری مالاتیون در سیب ۵۵
۳-۴-۴-ب- نمونه آب سطحی ۵۷
۳-۴-۴-پ-نمونه حقیقی آب زیرزمینی ۵۹
۳-۴-۵- مقایسه خصوصیات و ارقام شایستگی روش ارائه شده با روش های موجود ۶۰
۳-۵- نتیجه‌گیری و پیشنهادات ٦١
منابع و مراجع ٦٣

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول(۱-۱): خصوصیات شیمیایی و فیزیکی مالاتیون ٦
جدول(۱-۲) :خصوصیات فیزیکی حلال‌های استخراج کننده در روش DLLME ۱۲
جدول (۱-۳): سمیت مالاتیون برای برخی از آبزیان و ماهی‌ها..... ۱٦
جدول (۱-۴): مقادیر مجاز مالاتیون در برخی از محصولات کشاورزی..... ۱٦
جدول (۲-۱) : شرایط اعمالی دستگاه IMS جهت آنالیز آنالیت..... ۳۱
جدول(۳-۱): حجم‌های مورد نیاز از حلال های استخراج کننده..... ٤۱
جدول (۳-۲): داده‌های مساحت سطح زیر پیک بر حسب حلال استخراج کننده ٤۱
جدول(۳-۳): مساحت سطح زیرپیک حاصل از تزریق مالاتیون قبل و بعد از تبخیر حلال ٤۳
جدول(۳-۴): پروتن‌خواهی حلال‌های پاشنده [۵۸]. ٤۵
جدول (۳-۵): مساحت سطح زیر پیک آنالیت بر حسب نوع حلال پاشنده ٤۵
جدول(۳-۶): حجم فاز ته‌نشین شده به ازای حجم حلال استخراج کننده..... ٤٦
جدول(۳-۷): مساحت سطح زیرپیک مالاتیون به ازای حجم حلال استخراج کننده..... ٤۷
جدول(۳-۸): داده‌های حاصل از بررسی اثر حجم متانول ٤۸
جدول(۳-۹): داده‌های حاصل از بررسی اثر افزایش نمک..... ٤۹
جدول(۳-۱۰): داده‌های منحنی تنظیم حاصل از تزریق مستقیم محلول استاندارد مالاتیون..... ۵۱
جدول(۳-۱۱): داده‌های منحنی تنظیم حاصل از استخراج محلول آبی مالاتیون..... ۵۲
جدول(۳-۱۲): نتایج حاصل از بررسی دقت و تکرار پذیری روش..... ۵٤
جدول(۳-۱۳): داده‌های مربوط به اندازه‌گیری مالاتیون در نمونه سیب..... ۵۵
جدول(۳-۱۴): داده‌های حاصل از اندازه‌گیری مالاتیون در نمونه آب سطحی..... ۵۷
جدول (۳-۱۵): داده‌های حاصل از اندازه‌گیری مالاتیون در آب زیرزمینی..... ۵۹
جدول(۳-۱۶): پارامترهای تجزیه ای روش DLLME-CD-IMS جهت اندازه‌گیری مالاتیون..... ٦۰
جدول (۳-۱۷): مقایسه پارامترهای تجزیهای این روش نسبت به روش‌های دیگر..... ٦۱

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل(۱- ۱) ساختار شیمیایی مالااکسون..... ۳

شکل (۱-۲): مراحل ریز استخراج مایع- مایع پخشی..... ۹

شکل(۱- ۳) : تصویر میکروسکوپی مراحل انجام شده در روش DLLME..... ۱۰

شکل(۱-۴): شمایی ساده از روش SFO-DLLME. ۱۵

شکل (۱-۵) : شمایی ساده از اصول کاری دستگاه اسپکترومتر تحرک یونی..... ۲۱

شکل (۱-۶) : شمایی ساده از تخلیه‌کرونا..... ۲۵

شکل(۲-۱): شمایی ساده از دستگاه IMS با منبع یونیزاسیون تخلیه‌کرونا ۲۹

شکل(۲-۲) محفظه تزریق نمونه ۳٤

شکل(۳-۱): طیف تحرک یونی مالاتیون در حلال متانول ۳۹

شکل(۳-۲): مساحت سطح زیر پیک برحسب نوع حلال استخراج کننده ٤۱

شکل(۳-۳): طیف تحرک یونی زمینه (a) و طیف تحرک یونی حلال کربن‌تتراکلرید (b)..... ٤۳

شکل (۳-۴): طیف تحرک یونی با حلال پاشنده a) متانول b) استونیتریل c) استون ٤۵

شکل (۳-۵): مساحت سطح زیرپیک برحسب نوع حلال پاشنده ٤٦

شکل(۳-۶): نمودار مساحت سطح زیر پیک برحسب حجم حلال استخراج کننده..... ٤۷

شکل (۳-۷): مساحت سطح زیر پیک مالاتیون برحسب حجم حلال پاشنده ٤۸

شکل (۳-۸): مساحت سطح زیر پیک برحسب مقدار نمک اضافه شده ٤۹

شکل(۳-۹): منحنی پاسخ دستگاه CD-IMS برحسب غلظت مالاتیون ۵۱

شکل(۳-۱۰): ناحیه خطی پاسخ دستگاه CD-IMS برحسب غلظت مالاتیون..... ۵۲

شکل(۳-۱۱): پاسخ دستگاه CD-IMS برحسب غلظت مالاتیون استخراج شده ۵۳

شکل(۳-۱۲): محدوده خطی پاسخ دستگاه CD-IMS بر حسب غلظت مالاتیون ۵۳

شکل(۳-۱۳): طیف تحرک یونی نمونه سیب ۵٦

شکل(۳-۱۴): طیف تحرک یونی نمونه آب سطحی. ۵۸

شکل(۳-۱۵): طیف تحرک یونی نمونه آب زیرزمینی ۵۹

چکیده

در این پایان‌نامه برای اولین بار از تکنیک جفت شده ریزاستخراج مایع- مایع پخشی- اسپکترومتر تحرک یونی با منبع یونیزاسیون تخلیه کرونا (DLLME-CD-IMS) برای آنالیز آفت‌کش مالاتیون در نمونه‌های حقیقی سیب، آب سطحی و آب زیرزمینی استفاده شده است. ریز استخراج مایع- مایع پخشی، روشی ارزان قیمت، سریع با کارکرد آسان و فاکتور تغلیظ بالا می‌باشد. در این روش مخلوطی از ۴۵ میکرولیتر کربن تتراکلرید (حلال استخراج کننده) و ۱ میلی لیتر متانول (حلال پاشنده) به سرعت به ۵ میلی‌لیتر محلول آبی حاوی آنالیت تزریق شد. پس از سانتریفوژ محلول (۳۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه) قطرات ریز کربن‌تتراکلرید در انتهای لوله آزمایش با انتهای مخروطی شکل ته‌نشین شدند. فاز ته‌نشین شده (۲۳ میکرولیتر) به صورت مستقیم و بدون تبخیر حلال به وسیله محفظه تزریق جدید طراحی شده برای دستگاه اسپکترومتر تحرک یونی با منبع یونیزاسیون تخلیه کرونا، به این دستگاه تزریق شد. پارامترهای موثر بر بازده استخراج از قبیل نوع و حجم حلال استخراج کننده، امکان سنجی تزریق مستقیم فاز ته‌نشین شده به دستگاه CD-IMS، نوع و حجم حلال پاشنده، اثر افزایش نمک و pH محلول مورد بررسی قرار گرفت. تحت شرایط بهینه فاکتور تغلیظ ۱۵۰، بازیابی نسبی ٪ ۸۱ محدوده خطی ۲۰۰-۴ میکروگرم بر لیتر، حد تشخیص ۱/۸۳ میکروگرم بر لیتر و انحراف استاندارد نسبی (RSD) ٪ ۷/۶ به‌دست آمد. نتایج حاصل نشان دهنده مناسب بودن تکنیک مورد استفاده در این پایان‌نامه برای اندازه‌گیری آفت‌کش مالاتیون در نمونه‌های حقیقی سیب، آب سطحی و آب زیرزمینی می باشد.

کلمات کلیدی : ریز استخراج مایع-مایع پخشی ، اسپکترومتر تحرک یونی با منبع یونیزاسیون تخلیه کرونا، آفت‌کش مالاتیون

فصل اول

مقدمه و تئوری

۱-۱- آفت‌کش‌های اورگانوفسفره[1]

افزایش سرسام آور جمعیت جهان و نیاز روزافزون به مواد غذایی، از طرفی بالا بردن میزان تولید محصولات کشاورزی را در دراز مدت و از طرف دیگر حفظ و نگهداری محصولات موجود را در کوتاه مدت الزامی می‌نماید. در بین عوامل کاهنده مواد غذایی، آفات گیاهی جایگاه بسیار مهمی را به خود اختصاص می‌دهند که خسارت زیادی را به محصولات کشاورزی وارد می‌کنند. در زمینه مبارزه با آفات گیاهی از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود. پیدایش سموم شیمیایی تقریباً ۶۰ سال قبل و با کشف ترکیبات هیدروکربنی کلره آغاز شد و به تدریج ترکیبات دیگری از قبیل ترکیبات فسفره، متیل کربامات‌ها و نیتروگوانین به آفت‌کش‌ها افزوده گردیدند. هدف اصلی این ترکیبات شیمیایی، سیستم عصبی حشرات است. آفت‌کش‌های فسفره مصنوعی، مولکول‌های آلی حاوی فسفر می‌باشند. همزمان با جنگ جهانی دوم این گروه از سموم به‌عنوان گازهای جنگی توسط آلمانی‌ها سنتز شدند و سپس به خاصیت حشره‌کشی آن‌ها پی برده شد. تا کنون بیش از ۱۰۰ ترکیب از این سموم به بازار آمده است و از راه‌های مختلف بر روی حشرات اثر می‌گذارند. از مهمترین سموم در این گروه می‌توان به مالاتیون[2]، پاراتیون[3] و دیازینون[4] اشاره نمود. پایداری این سموم در مقایسه با سموم کلره کمتر می‌باشد.

از جمله خواص این ترکیبات دارا بودن سمیت متفاوت برای پستانداران، قدرت حلالیت و پایداری متفاوت در محیط می‌باشد. این گروه از آفت‌کش‌ها کاربردهای گسترده‌ای در موارد بهداشتی و کشاورزی داشته و از طریق تماس، تنفس و

---

[1] Organo phosphorus pesticides
[2] Malathion
[3] Parathion
[4] Diazinon

گوارش بر روی انسان و سایر موجودات اثر می‌گذارند [۱]. به دلیل افزایش استفاده از اورگانوفسفرها در کشاورزی و ورود آن‌ها به محیط زیست و در نتیجه به چرخه غذایی، تعیین و اندازه‌گیری مقدار باقیمانده این نوع حشره‌کش‌ها در غذاها و میوه‌ها از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. به همین منظور، نیاز به استفاده از روش‌های آنالیز حساس و انتخابی احساس می‌شود. گرچه بسیاری از آفت‌کش‌ها به وسیله فرایندهای بیولوژیکی، شیمیایی و فوتوشیمیایی متنوع در خاک، آب‌های زیرزمینی یا آب‌های سطحی به سرعت از بین می‌روند اما سایر آفت‌کش‌ها مانند آفت‌کش‌های آلی کلره به طور بیولوژیکی از بین نمی‌روند. در نتیجه استفاده از آن‌ها در بسیاری از کشورها ممنوع شده است [۲].

اثرات ترکیبات اورگانوفسفره به دو صورت حاد و مزمن می‌باشد. مهمترین مشکل ترکیبات اورگانوفسفره اثر حاد است که باعث ظهور علائم بیماری و تحریک سیستم عصبی پاراسمپاتیک می‌شوند. اگر مدت زمان تماس با این ترکیبات کوتاه باشد، بدون ظهور هیچ گونه علائم مشخصی میزان کولین‌استراز[1] پایین آمده و فقط گاهی سردرد و علائمی شبیه سرماخوردگی مشاهده می‌شود که به علت تجمع استیل‌کولین[2] درگیرنده‌های مغز است. چنانچه گیرنده‌های مختلف سیستم اعصاب مرکزی[3] (CNS) دستگاه عصبی اتونومیک آسیب ببینند، استیل‌کولین به میزان زیادی در گیرنده‌های مغز تجمع یافته و علائم مسمومیت شدید مانند عرق سرد، جاری شدن بزاق، تهوع، استفراغ، دل درد، اسهال، تکرر ادرار، تنگی نفس و افت فشار خون مشاهده می‌شود [۴و۳]. چنانچه زمان تماس با اورگانوفسفره‌ها افزایش یابد، خستگی، لرزش بدن و گیجی بروز می‌نماید. علاوه بر حالات فوق به دلیل اشغال گیرنده‌های نیکوتینی به وسیله استیل‌کولین به مدت طولانی، ماهیچه‌ها دچار انقباض شده و ترشح آدرنالین سبب بی‌قراری می‌گردد [۵].

اثرات مزمن در افرادی دیده می‌شود که فاقد علائم کلینیکی حاد هستند و اغلب در تماس مدام با دز کم این ترکیبات قرار می‌گیرند. این افراد بدون این که خود متوجه باشند دچار مسمومیت مزمن گردیده و توانایی‌های فکری، تصمیم و هوش خود را به تدریج از دست می‌دهند. همچنین، این افراد اغلب دچار ضعف در تکلم، ضعف حافظه و بی‌خوابی می‌شوند [۴].

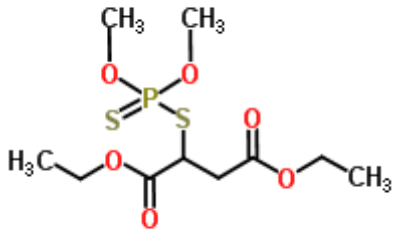
۱-۲- مالاتیون

مالاتیون یکی از آفت‌کش‌های اورگانوفسفره پرمصرف بوده که در سال ۱۹۶۵ سنتز شده است. مالاتیون به طور-گسترده در مصارف بهداشتی، صنایع و محصولات کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مقدار مصرف مالاتیون در ایالات متحده امریکا در سال ۲۰۰۰ در حدود ۱۳ تا ۱۸ میلیون پوند بوده است که این مقدار در سال ۲۰۱۰ به حدود ۱۵ میلیون پوند رسیده است [۶]. مالاتیون مایعی بی‌رنگ با بویی شبیه مرکاپتان[4] و نقطه جوش $157\ ^{\circ}C$ است. این ترکیب در آب محلول بوده و به‌سهولت در بیشتر الکل‌ها، اترها، ترکیبات آروماتیک و کتون‌ها حل می‌شود، اما در هیدروکربن‌های آلیفاتیک حلالیت کمی دارد. در جدول (۱-۱) خصوصیات شیمیایی و فیزیکی مالاتیون مشاهده می‌شود [۷].

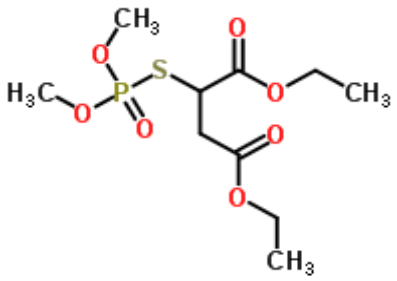
---

[1] Cholinesterase
[2] Acetyl cholinesterase
[3] Central nervuse system
[4] Mercaptan

جدول(۱-۱) خصوصیات شیمیایی و فیزیکی مالاتیون

ساختار شیمیایی	
فرمول مولکولی	$C_{10}H_{19}O_6PS_2$
نام سیستماتیک	دی اتیل۲-[(دی متوکسی فسفرو تیول) سولفانیل] سوکسینات
دانسیته (g/cm3)	۱/۲۳
دمای انجماد (°C)	۱۱/۷
دمای جوش (°C)	۱۵۷
حلالیت در آب(mg/L at 2°C)	۱۴۵
log P(octanol/water)	۲/۳۶

مالاتیون مانند سایر آفت‌کش‌های اورگانوفسفره بر روی سیستم عصبی اثر می‌گذارد و با بازداری عمل آنزیم کولین استراز باعث ایجاد مسمومیت می‌شود. جهت جلوگیری از عمل آنزیم کولین‌استراز، مالاتیون درون سیستم‌های بیولوژیکی به متابولیت فعال خود به نام مالاآکسون[1](با اکسیداسیون گروه P=S به گروه P=O) تبدیل می‌شود. مالااکسون متابولیت اصلی مالاتیون درون سیستم های حیاتی است که سمیت آن در حدود ۶ برابر بیشتر از مالاتیون بوده و در بازه زمانی ۳ تا ۵ روز از بدن خارج می‌شود [۶]. در شکل (۱-۱) ساختار شیمیایی متابولیت مالاکسون مشاهده می‌شود.



شکل(۱- ۱) ساختار شیمیایی مالااکسون [۷]

[1] Malaoxone

حلالیت بالای مالاتیون این توانایی را به آن می‌دهد که در آب باران حل شده و به رودخانه‌ها و آب‌های زیرزمینی منتقل شود. بررسی‌هایی که برروی آب‌های سطحی و زیرزمینی صورت گرفته نشان می‌دهد که غلظت مالاتیون در آن‌ها با افزایش فاصله از محل مورد استفاده، کاهش می‌یابد. در فواصل بیشتر مالاتیون به درون خاک نفوذ کرده و جذب می‌شود و یا توسط هیدرولیز و متابولیسم‌های دیگر تجزیه می‌شود [۶].

مالاتیون موجود در آب‌های سطحی و زیرزمینی، هنگام تصفیه این آب‌ها طی فرآیند کلرزدن به مالااکسون تبدیل می‌شود. سرعت این تبدیل بسیار زیاد است. مالااکسون تولید شده که سمیت بیشتری از مالاتیون دارد می‌تواند در حدود ۷۲ ساعت در آب تصفیه شده پایدار بماند که این زمان بیشتر از زمانی است که آب پس از تصفیه به مصرف می‌رسد [۸].

همان طور که اشاره شد مالاتیون در بدن طی واکنش‌های متابولیک به متابولیت اصلی و سمی‌تر از خود یعنی مالاکسون تبدیل می‌شود که مالااکسون متابولیت بازدارنده عمل آنزیم کولین استراز است. تماس طولانی مدت با مقادیر زیاد از مالاتیون سبب ایجاد علائم بیماری‌های جسمی که شدت این علائم ، وابسته به شدت و مدت تماس با آفت‌کش مالاتیون است، می‌شود. این علائم عبارتنند از سوختگی پوست و چشم، گرفتگی عضلات، حالت تهوع، استفراغ، اسهال، تعریق بیش از حد، حملات قلبی و در موارد شدید مرگ [۸]. تأثیر مهم دیگر مالاتیون بر سیستم‌های بیولوژیکی اثر آن بر آنزیم‌های سیتوکروم۴۵۰ P[1](CYP) است. سیتوکروم P ۴۵۰ یک خانواده گسترده از آنزیم‌های هموپروتئینی است که در بدن تمام موجودات زنده وجود دارد و وظیفه اصلی آن کاتالیز کردن فرآیند اکسیداسیون ترکیبات آلی می‌باشد.آنزیم‌های سیتوکروم P ۴۵۰ از آفت‌کش‌های اورگانوفسفره مانند مالاتیون به عنوان ترکیباتی برای انتقالات زیستی متابولیک استفاده می‌کنند که سبب سم زدایی از این ترکیبات می‌شود. با این حال مقادیر بالای آفت‌کش‌های اورگانوفسفره در بدن در مواردی سبب تغییر ماهیت و عملکرد آنزیم‌های سیتوکروم P ۴۵۰ می‌شود. این آنزیم‌های تغییر یافته، آنزیم‌های القاء شده نامیده می‌شوند. آنزیم های القاء شده توانایی ایجاد تعادل بین حالت های فعال‌سازی و سم زدایی آفت‌کش‌ها را نداشته و در مواردی باعث افزایش سمیت این ترکیبات می‌شوند [۹].

۱-۳- انواع روش‌های استخراج و جداسازی

جداسازی کامل و مطمئن یک مخلوط نیازمند یک روش جداسازی کارآمد و گزینش‌پذیر است. این موضوع در جلوگیری از خطا، هدر رفتن هزینه، امکانات و زمان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مرحله آماده‌سازی نمونه در فرآیندهای تجزیه‌ای شامل یک فرآیند استخراج می‌باشد که برای جداسازی و تغلیظ ترکیبات مورد نظر از بافت نمونه به کار می‌رود. استخراج می‌تواند در درجه گزینش پذیری، سرعت و راحتی متفاوت باشد.

پیش تغلیظ و جداسازی را می‌توان با استفاده از روش‌های مختلف انجام داد که هر یک از این روش‌ها با توجه به عملکردشان در یکی از چهار گروه زیر تقسیم بندی می‌شوند:

الف) روش‌هایی که هدف آن‌ها آزاد سازی گونه از بافت نمونه بیولوژیکی است و هیدرولیز با اسید، باز یا آنزیم‌های متفاوت صورت می گیرد.

ب) روش‌هایی همچون کریستالیزاسیون، استخراج مایع- مایع[2] (LLE) و استخراج با فاز جامد[3] (SPE)، شامل استخراج ترکیبات از درون محلول هستند.

---

[1] Cytochrom P450
[2] Liquid-liquid extraction
[3] Solid-phase extraction

ج) روش‌هایی برای ایجاد تغییر در مایع شامل رقیق‌سازی، تبخیر، انحلال، صاف کردن و غیره
د) روش‌هایی برای افزایش گزینش پذیری و حساسیت آنالیز مانند انجام مشتق‌سازی قبل و بعد از ستون جداسازی [۱۰].

۱-۴- روش‌های متداول استخراج

روش‌های استخراج گوناگونی برای آماده‌سازی نمونه قبل از جداسازی و اندازه‌گیری توسعه یافته‌اند. از جمله مهمترین آن‌ها می‌توان به استخراج مایع- مایع، استخراج با فاز جامد و انواع روش‌های ریز استخراج که در سال‌های اخیر توسعه یافته‌اند اشاره کرد. هدف اصلی این روش‌ها عموماً تغلیظ و پاکسازی نمونه است [۱۱].

۱-۴-۱- استخراج مایع- مایع

استخراج مایع- مایع تکنیکی می‌باشد که اغلب شامل انتقال انتخابی یک آنالیت از یک فاز مایع به فاز دیگر است. معمولاً محلول آبی نمونه با یک حلال آلی امتزاج ناپذیر با آب استخراج می‌شود. در استخراج مایع- مایع، pH محلول باید به گونه‌ای تنظیم شود که آنالیت به شکل مولکولی خود تبدیل شود، سپس محلول چندین مرتبه با حلال آلی امتزاج ناپذیر با آب در قیف جداکننده به شدت هم زده می‌شود تا امولسیون موقتی تشکیل شود. مساحت سطح تماس بین دو فاز باید به قدر کافی زیاد باشد تا انتقال جرم آنالیت حل شده از یک فاز به فاز دیگر تسریع شود. امولسیون تشکیل شده باید شکسته شود تا دو فاز مایع پیوسته اما غیر قابل امتزاج را تشکیل دهد [۱۲]. وسیع‌ترین کاربرد این تکنیک در اندازه‌گیری فلزات با مقادیر کم در مواد معدنی و آلی فلزی گوناگون است. برای مثال، استخراج گزینش‌پذیر فلزات به صورت کمپلکس‌های رنگی در تجزیه نمونه‌های زمین‌شناسی، فلزشناسی، محصولات نفتی، مواد غذایی، بافت‌های گیاهی، جانوری و مایعات بدن را می‌توان نام برد. شیوه‌های استخراج برای گونه‌های آلی خالص، گزینش‌پذیری سیستم‌های شامل فلزات را ندارد، که به علت عدم وجود عامل کمپکس کننده و واکنش‌های استتار مناسب، برای گونه‌های آلی می‌باشد. با این وجود، گروهی از ترکیبات نظیر هیدروکربن‌ها، اسیدها، چربی‌ها، موم‌ها و ... را می‌توان قبل از تجزیه توسط سایر روش‌ها، جداسازی نمود [۱۳].

استخراج مایع- مایع به دلیل سادگی و عدم نیاز به دستگاه‌های گران قیمت و پیچیده، کاربرد فراوانی در پیش تغلیظ و استخراج در آنالیزهای زیست محیطی دارد. البته با وجود کاربردهای فراوان دارای معایبی نیز می‌باشد. تبخیر زیاد حلال و دور ریختن حلال‌های گران قیمت و اغلب اشتغال پذیر از معایب اساسی روش است. همچنین استخراج مایع- مایع شامل چندین مرحله آماده سازی و استخراج است که آلودگی و از دست رفتن نمونه در هر مرحله را به دنبال دارد. اگر امولسیون بسیار آهسته یا به طور ناقص شکسته شود مشکل‌ساز می‌گردد. در مجموع زمان و هزینه آنالیز بالا است. با توجه به روش‌های جدید استخراج مایع- مایع در کارهای تجزیه‌ای محدود شده است. این روش‌های جدید شامل ریز استخراج با فاز مایع[1] (LPME) می‌باشند [۱۴].

[1] Liquid-phase microextraction

۱-٤-۱-الف- تئوری استخراج مایع- مایع

براساس خواص فیزیکی و شیمیایی ترکیبات و چگونگی برهم‌کنش آن‌ها با هر فاز و با این فرض که سیستم اشباع نشده است، هر گونه‌ای با یک نسبت معین و ثابت بین دو فاز تقسیم می‌شود. استخراج یک ماده حل شده به وسیله قانون توزیع نرنست تعیین می‌گردد، که بیانگر توزیع یک ماده بین دو مایع امتزاج‌ناپذیر با نسبت‌های یکسان در حال تعادل است. بنابراین برای گونه حل شونده A که بین یک حلال آلی و آبی توزیع می‌گردد ضریب توزیع به صورت زیر تعریف می‌شود.

$$K_D = \frac{[A]_o}{[A]_a} \qquad (۱-۱)$$

$[A]_a$ و $[A]_o$ به ترتیب غلظت تعادلی A در فاز آبی و آلی می‌باشند، K_D ضریب توزیع است که مستقل از غلظت کل ماده حل شونده می‌باشد. باید دقت شود دما و فشار ثابت فرض شده‌اند و A باید در هر دو فاز دقیقاً به یک شکل وجود داشته باشد.

هنگامی که گونه حل شونده بطور جزیی تفکیک شود و به اشکال مختلف مانند گونه خنثی، یون‌های آزاد و یا به صورت جفت‌یون با یون مخالف خود وجود داشته باشد مقدار K_D منعکس کننده توزیع کلی گونه حل شده بین دو فاز نیست در این صورت فرایند استخراج بوسیله کمیت نسبت توزیع D مورد بحث قرار می‌گیرد:

$$D = \frac{(C_A)_{org}}{(C_A)_{aq}} \qquad (۱-۲)$$

که $(C_A)_{org}$ و $(C_A)_{aq}$ به ترتیب نشان دهنده غلظت کل گونه A در تمام اشکال در فاز آلی و آبی می‌باشند. اگر برای گونه A هیچ واکنشی در دو فاز رخ ندهد آنگاه $D = K_D$ خواهد بود. اگر مقدار D و حجم‌های هر فاز مشخص باشد درصد استخراج با رابطه زیر بیان می‌شود:

$$\%E = \frac{100D}{D + V_{aq}/V_{org}} \qquad (۱-۳)$$

که V_{aq} و V_{org} به ترتیب حجم‌های فاز آبی و آلی می‌باشند. طبق معادله (۱-۳) با کاهش نسبت $\frac{V_{aq}}{V_{org}}$ (برای مثال با افزایش حجم فاز آلی) درصد استخراج افزایش می‌یابد. با استفاده از معادله زیر می‌توان مقدار گونه باقیمانده در فاز آبی را برای هر بار استخراج با حجم‌های مساوی از فاز آلی محاسبه کرد:

$$X_n = A\left(\frac{V_{aq}}{2DV_{org} + V_{aq}}\right)^n \qquad (۱-۴)$$

که X_n غلظت گونه باقیمانده در فاز آبی بعد از n بار استخراج با حجم‌های V_{org} از فاز آلی است و A غلظت اولیه ماده در فاز آبی است. بنابراین واضح است که انجام چندین استخراج با حجم‌های کم از محلول آلی، نسبت به یک استخراج با حجم زیاد، از کارایی بیشتری برخودار است. این مورد به ویژه هنگامی که مقدار D کوچک‌تر از 10^2 است اهمیت می‌یابد [۱۳].

۱-۴-۲- استخراج با فاز جامد

استخراج با فاز جامد یک تکنیک آماده‌سازی نمونه به صورت انتخابی و گزینش پذیر است. در استخراج با فاز جامد، گونه‌های مورد آنالیز از یک فاز مایع به درون یک فاز جامد استخراج می‌شوند. معمولاً فاز جامد شامل ذرات کوچک و متخلخل سیلیکا می‌باشدکه به یک فاز آلی یا پلیمر آلی پیوند داده شده است. در این روش ماده استخراج کننده را درون یک لوله کوچک انباشته می‌کنند و نمونه را از درون این لوله عبور می‌دهند. استخراج فاز جامد تنها به استخراج آنالیت از نمونه‌های مایع محدود نمی‌شود. هوا یا دیگر نمونه‌های گازی را نیز می‌توان به منظور استخراج بخارات آلی یا دیگر موادی که در آن نمونه وجود دارند از یک ستون انباشته عبور داد. فرایند استخراج با فاز جامد دارای چهار مرحله اصلی می‌باشد. مرحله اول آماده‌سازی ستون می‌باشد. قبل از این‌که جذب آنالیت‌ها بوسیله فاز ساکن صورت بگیرد باید بستر آماده شود و با محلول سازگار شود. ابتدا ستون توسط یک حلال آلی با قدرت شویش بالا شستشو داده می‌شود تا ستون آمادگی جذب گونه‌ها را بر روی خود پیدا کند و ناخالصی‌های موجود در آن برطرف شوند. سپس ستون توسط یک حلال با قدرت شویش کم، نظیر آب شستشو داده می‌شود. مرحله دوم جذب نمونه‌ها روی بستر می‌باشد. نمونه مایعی که قرار است استخراج شود از درون ستون انباشته به کمک مکش، فشار یا یک پمپ عبور داده می‌شود. مرحله سوم شستشو، یا پاکسازی می‌باشد. در این مرحله یک حلال آلی از روی ستون عبور می‌دهند که بتواند گونه‌های مزاحم را از روی ستون حذف کند و بر روی گونه‌های مورد نظر اثر کمتری داشته باشد. در مرحله چهارم که شویش نام دارد حجم کمی از یک حلال با قدرت شویش بالا برای واجذب کردن گونه‌های مورد نظر از روی ستون عبور داده می‌شود، حلال این گونه‌ها را از روی ستون شسته و برای مرحله آنالیز بعدی آماده می‌کنداستخراج با فاز جامد چندین مزیت مهم نسبت به استخراج مایع- مایع دارد که می‌توان به این موارد اشاره کرد. کارکردن با آن سریع و راحت است، مقادیر بسیار کمی از حلال‌های آلی مورد استفاده قرار می‌گیرد، استخراج خالص و تمیز، تغلیظ بالای نمونه، خودکار شدن ساده و دارای قابلیت انتخاب وسیعی از جاذب‌ها است. این روش در عمل به سادگی روش استخراج مایع- مایع نمی‌باشد. استخراج فاز جامد مانند استخراج مایع- مایع نیز محدودیت‌هایی دارد. وجود جامدات بسیار ریز، مواد روغنی و یا مولکول‌های زیستی که در بافت نمونه حضور دارند، می توانند منافذ مواد جاذب را مسدود کنند. این محدودیت‌ها موجب گسترش روش‌های ریز استخراج با فاز جامد[1](SPME) در سال‌های اخیر شده است [۲۴].

۱-۴-۲-الف- ریز استخراج فاز جامد (SPME)

این روش یک تکنیک استخراجی تقسیمی مثل استخراج مایع- مایع است که در آن فاز مایع آلی توسط فاز جامد جایگزین شده است. این تکنیک در سال ۱۹۹۰ توسعه یافت و برای استخراج آنالیت‌ها از محیط‌های آبی با فرو کردن فیبر پوشیده شده به داخل نمونه‌ی آبی مورد استفاده قرار گرفت. آنالیت‌های موجود در نمونه‌ی آبی توسط فاز آی روی فیبر جذب می‌شود وتا زمانی که توسط تکنیک مناسب تجزیه شود همان‌جا نگه داشته می‌شود. این روش نیاز به حلال ندارد و استخراج توسط فیبر انجام می‌شود. روش استخراج به این صورت است که فیبر را داخل سوزن سرنگ قرار می‌دهند تا از فیبر محافظت کند. به‌وسیله‌ی پیستون فیبر را در تماس با نمونه قرار می‌دهند. آنالیت موجود در نمونه به فیبر چسبیده و روی سطح آن قرار

[1] Solid-phase microextraction

می‌گیرد پس از گذشت زمان لازم، فیبر را دوباره به داخل سوزن محافظ کشیده و سرنگ را از داخل نمونه خارج می‌کنند. برای واجذب کردن گونه‌های استخراجی آن را به GC یا HPLC انتقال می‌دهند تا آنالیزهای بعدی بر روی آن صورت گیرد [۱۱].

۱-۵- ریز استخراج فاز مایع(LPME)

در سال‌های اخیر روش‌های ریز استخراج فاز مایع توسعه فراوانی یافته‌اند. روش‌های ریز استخراج فاز مایع نسبت به روش‌های ریز استخراج فاز جامد دارای مزایایی می‌باشند. اولین مزیت این روش‌ها سادگی آن‌ها می‌باشد. این روش‌ها معمولاً احتیاج به امکانات خاصی ندارند. از سوی دیگر این روش‌ها برخلاف اکثر روش‌های ریز استخراج فاز جامد برای استخراج گونه‌های قطبی مناسب‌تر بوده و محدوده وسیع‌تری از ترکیبات را با این تکنیک‌ها می‌توان استخراج کرد. از نظر تعداد فازهای درگیر در استخراج، روش‌های ریزاستخراج فاز مایع می‌توانند به صورت دوفازی یا سه‌فازی انجام شوند. اگر فرایند استخراج بین حجم کوچکی از حلال آلی غیرقابل‌امتزاج با آب و محلول آبی شامل گونه‌های مورد آنالیز انجام شود، این روش را ریز استخراج مایع دوفازی می‌نامند. اگر گونه‌ها دوباره به درون فاز سوم (محلول آبی) استخراج شوند به این روش ریزاستخراج مایع سه‌فازی می‌گویند. روش سه‌فازی بیشتر در استخراج ترکیبات با خاصیت اسیدی و بازی کاربرد دارد [۱۶].

۱-۵-۱- ریز استخراج با قطره حلال[1](SDME)

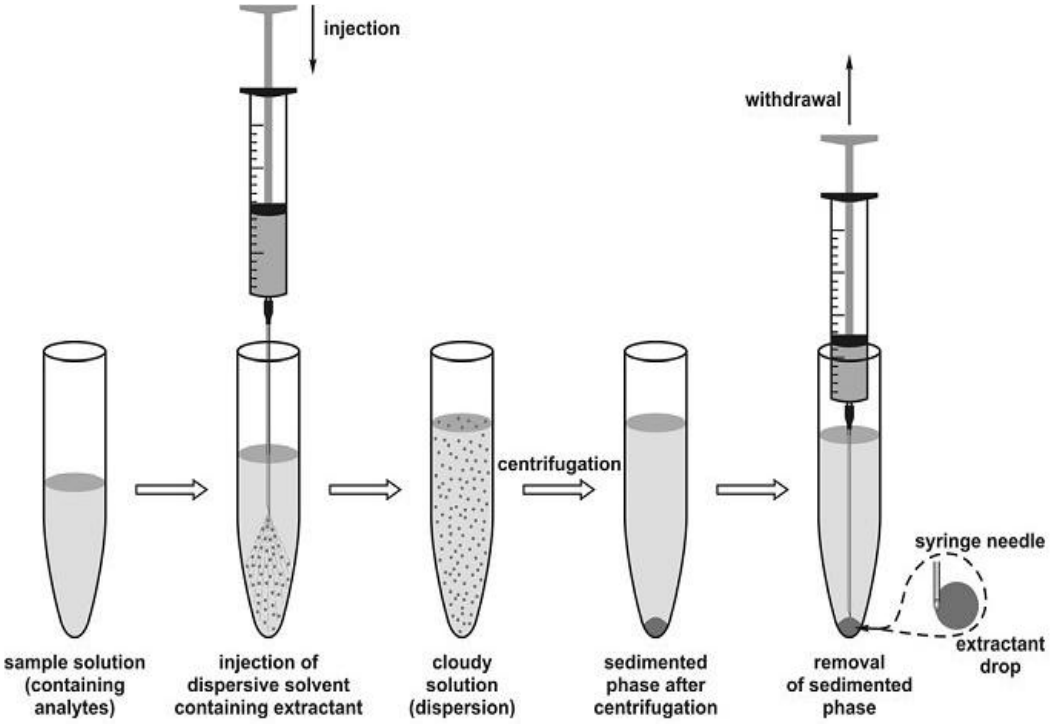
این روش اواسط دهه نود میلادی معرفی شد که ابتدا آنرا استخراج ریز با فاز مایع نامیدند. همان طور که از نام آن معلوم است در این روش از مقدار کمی حلال برای تغلیظ آنالیت از نمونه‌های آبی استفاده می‌شود. روش ریز استخراج با قطره حلال، روشی ساده، سریع و قابلیت جفت شدن با انواع دستگاه‌های تجزیه‌ای را دارد. در SDME استخراج معمولاً بین مقدار کمی از حلال امتزاج ناپذیر در آب و فاز آبی شامل آنالیت اتفاق می‌افتد. فاز پذیرنده (Acceptor) به صورت مستقیم در داخل نمونه غوطه‌ور می‌شود و یا در بالای نمونه به صورت معلق قرار می‌گیرد. حجم فاز پذیرنده در حد میکرولیتر یا بیشتر است. در روش SDME فاکتور تغلیظ بزرگی در نسبت حجم بزرگ نمونه به حجم فاز پذیرنده به‌دست می‌آید [۱۷].

۱-۵-۲- ریز استخراج مایع- مایع پخشی[2](DLLME)

این تکنیک ریز استخراج اولین بار در سال ۲۰۰۶ توسط اسدی و همکارانش معرفی گردید [۱۸]. در این روش چند میکرولیتر از یک حلال امتزاج ناپذیر با آب به نام حلال استخراج کننده[3] با یک حلال آلی با امتزاج پذیری بالا در فازهای آلی وآبی به نام حلال پاشنده،[4] ترکیب شده و سپس توسط یک سرنگ گاز بندی شده به سرعت به محلول نمونه تزریق می‌شود. در اثر این تزریق محلول ابری شکلی حاصل می‌شود که ناشی از ذرات بسیار ریز حلال استخراج کننده می‌باشد که به حالت کلوئیدی در سرتاسر محلول نمونه پخش شده‌اند. پس از سانتریفوژ کردن محلول ابری شکل، فاز آلی ته‌نشین شده و از فاز آبی جدا می‌شود. فاز ته نشین شده که حاوی آنالیت است به دستگاه‌های تجزیه‌ای جهت آنالیز تزریق می‌شود (شکل ۱-۲) [۱۹].

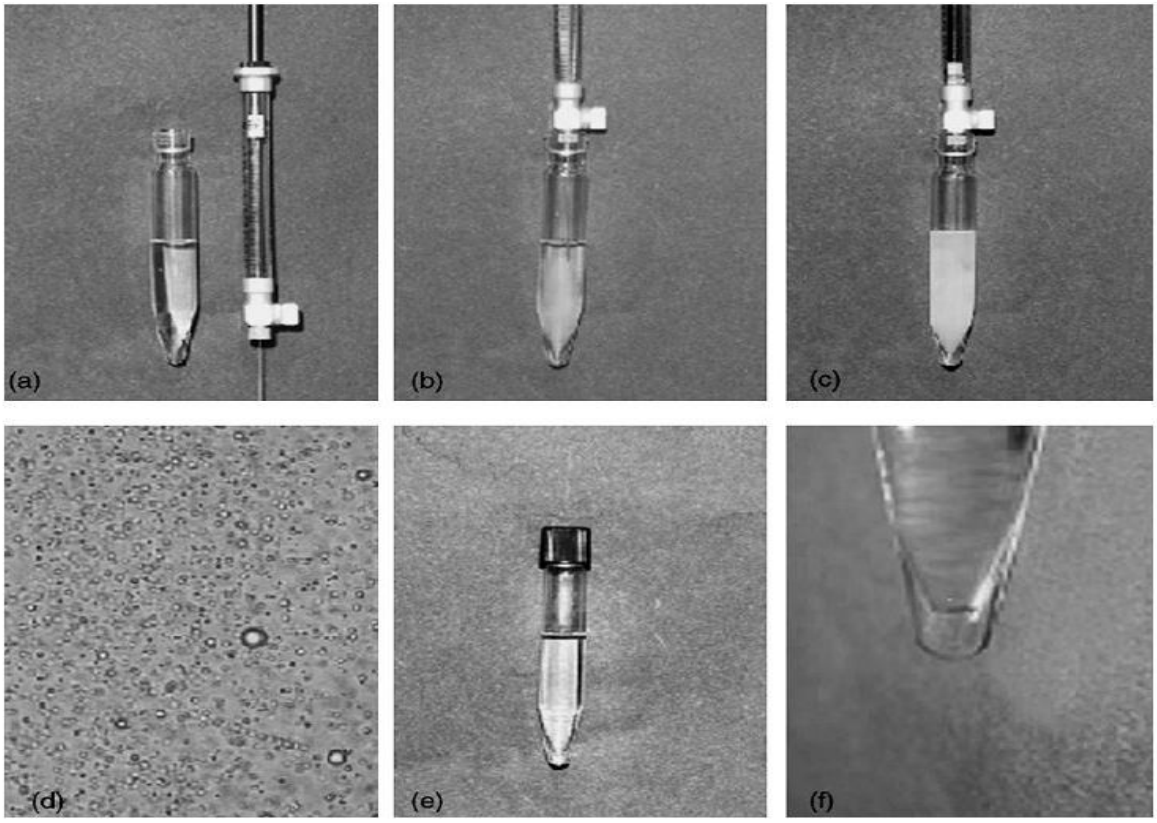
---

[1] Single-drop microextraction
[2] Dispersive liquid-liquid microextraction
[3] Extracting solvent
[4] Dispersing solvent



شکل (۱-۲): مراحل ریز استخراج مایع- مایع پخشی [۲۰].

به دلیل تشکیل حالت ابری، مساحت سطح تماس بین حلال استخراج کننده و فاز آبی بسیار زیاد می‌باشد و بنابراین بلافاصله تعادل بین دو فاز ایجاد شده و انتقال گونه‌های مورد نظر از فاز آبی به درون حلال استخراج کننده تسریع می‌گردد. به این ترتیب روش ریز استخراج مایع- مایع پخشی یک روش مستقل از زمان می‌باشد که این امر مزیت اصلی این روش است. از دیگر مزیت‌های این روش می‌توان به سادگی، سرعت، کم هزینه بودن روش و استفاده از حجم کم نمونه اشاره کرد [۲۰]. از آن‌جایی که در این روش از مقادیر کم حلال آلی استفاده شده و آنالیت به درون این حجم کم استخراج می‌شود، حساسیت روش بالا بوده و به عنوان یک روش پیش تغلیظ با بازدهی بالا شناخته می‌شود. از مهمترین مشکلات این تکنیک محدودیت در انتخاب حلال استخراج کننده می‌باشد. چون فقط حلال‌هایی با دانسیته بالا در این روش استخراجی قابل استفاده می‌باشند و باید توانایی تشکیل حالت ابری پایدار را داشته باشند [۲۱]. شکل (۱-۳) تصویر میکروسکوپی از ریز استخراج مایع- مایع پخشی را نشان می‌دهد.



شکل(۱- ۳) : مراحل انجام شده در روش ریز استخراج مایع- مایع پخشی. (a، b، c) تزریق سریع مخلوط حلال استخراج کننده و حلال پاشنده در نمونه مورد مطالعه. (d) تصویر میکروسکوپی از نمونه پس از پخش شدن حلال با بزرگنمایی ۱۰۰۰ (قطرات ریز حلال استخراج‌کننده را در حالت کلوئیدی نشان می‌دهد.). (e، f) سانتریفیوژ کردن نمونه و تجمع حلال استخراج‌کننده در انتهای لوله مخروطی شکل[1] [۲۰].

۱-۵-۲- تئوری ریز استخراج مایع- مایع پخشی

در روش ریز استخراج مایع- مایع پخشی، فاکتور غنی‌سازی[2] (EF) به صورت نسبت غلظت آنالیت در فاز ته‌نشین شده (C_{sed}) به غلظت اولیه آنالیت درنمونه آبی(C_O) تعریف می‌شود.

$$ER = \frac{C_{sed}}{C_O} \qquad (۵-۱)$$

که C_{sed} از منحنی استاندارد به‌دست می‌آید.

بازیابی استخراج[3] (ER) به صورت درصدی از کل آنالیت (n_o) که در فاز ته‌نشین شده (n_{sed}) استخراج می‌شود، تعریف می‌گردد.

[1] Conical tube
[2] Enrichment factor
[3] Extraction recovery

$$ER = \frac{n_{sed}}{n_o} \times 100 = \frac{C_{sed}}{C_o} \times \frac{V_{sed}}{V_{aq}} \times 100 \qquad (۶-۱)$$

که V_{sed} و V_{aq} به ترتیب حجم فاز ته‌نشین شده و حجم محلول آبی هستند. بازیابی نسبی[1] (RR) از معادله زیر به دست می‌آید:

$$RR = \frac{C_{founded} - C_{real}}{C_{added}} \times 100 \qquad (۷-۱)$$

که C_{found}، C_{real}، C_{added} به ترتیب غلظت آنالیت بعد از افزایش مقدار معلومی از استاندار به نمونه حقیقی، غلظت آنالیت در نمونه حقیقی و غلظت مقدار معلومی از استاندارد که به نمونه حقیقی اضافه شده، هستند [۲۰].

۱-۵-۳- پارامترهای مؤثر بر بازده استخراج

پارامترهای متعددی بر بازده استخراج به روش DLLME مؤثر هستند که از مهمترین آن‌ها می‌توان به نوع وحجم حلال استخراج کننده، نوع و حجم حلال پاشنده، زمان استخراج، اثر افزایش نمک و pH محلول اشاره کرد [۲۰]. در ادامه هر کدام از این پارامترها به طور مختصر مورد بررسی قرار می‌گیرد.

۱-۵-۳- الف- نوع و حجم حلال استخراج کننده

مهمترین مرحله در روش DLLME انتخاب نوع حلال استخراج کننده می‌باشد. انتخاب حلال استخراج کننده مؤثر، نقش مهمی در افزایش بازیابی، فاکتور تغلیظ و گزینش پذیری گونه‌های مورد آنالیز دارد. ویژگی‌های مهمی که یک حلال استخراج کننده مناسب باید داشته باشد عبارتند از:

۱- دانسیته حلال استخراج کننده باید بیشتر از آب باشد تا پس از سانتریفوژ ته نشین شود.

۲- قابلیت استخراج گونه‌های مورد نظر را داشته باشد.

۳- انحلال پذیری کمی در آب داشته باشد و در حضور حلال پخشی تشکیل یک سیستم دو فازی پایدار بدهد.

در جدول (۱-۲) حلال‌های آلی معمول که دارای ویژگی‌های گفته شده هستند مشاهده می‌شوند.

[1] Relative recovery

جدول(۱-۲) خصوصیات فیزیکی حلال‌های استخراج‌کننده در روش DLLME [۱۳].

حلال	فرمول شیمیایی	وزن مولکولی	نقطه جوش (^{o}C)	دانسیته (میلی‌گرم بر لیتر)	حلالیت در ۱۰۰ g آب (g)
کربن‌دی‌سولفید	CS_2	۷۶/۱۴	۴۶/۲۶	۱/۲۵	۰/۲۹
کربن تترا کلرید	CCl_4	۱۵۳/۸۲	۷۶/۸	۱/۵۸	۰/۰۸
کلروفرم	$CHCl_3$	۱۱۹/۳۸	۶۱/۲	۱/۴۷	۰/۸۰
دی‌کلرومتان	CH_2Cl_2	۸۴/۹۳	۳۹/۸	۱/۲۵	۱/۳۰
تتراکلرواتن	C_2Cl_4	۱۶۵/۸۳	۱۲۱/۰	۱/۶۲	۰/۰۱

حجم حلال استخراج کننده بر بازده استخراج تأثیر محسوسی دارد. با افزایش حجم حلال استخراج کننده، حجم فاز ته‌نشین شده افزایش می‌یابد اما از طرف دیگر فاکتور تغلیظ با افزایش حجم حلال استخراج کننده کاهش می‌یابد (به علت افزایش حجم فاز ته‌نشین شده).

۱-۵-۳- ب- نوع و حجم حلال پاشنده

حلال پاشنده باید قابلیت امتزاج با هر دو فاز آلی و آبی را داشته باشد. همچنین باید بتواند حلال استخراج کننده را به صورت قطرات ریز در فاز آبی پراکنده کند. معمولاً از حلال‌های قطبی مانند استون، متانول و استونیتریل به عنوان حلال‌های پاشنده استفاده می‌شود. حجم حلال پاشنده تأثیر زیادی بر استخراج دارد. درحجم‌های کم محلول کلوئیدی به خوبی تشکیل نمی‌شود و قطر ذرات فاز آلی پخش شده افزایش می‌یابد، سطح تماس با محلول نمونه کاهش یافته و نهایتاً موجب کاهش راندمان استخراج می‌شود. درحجم‌های زیاد حلالیت گونه‌های مورد آنالیز در آب در اثر افزایش مقدار حلال پاشنده، افزایش می‌یابد که منجر به کاهش راندمان استخراج می‌گردد. بنابراین باید حجم حلال پاشنده برای استخراج بهینه شود.

۱-۵-۳- پ- اثر زمان استخراج

انتقال جرم فرآیندی وابسته به زمان است بنابراین باید زمان استخراج را بهینه کرد. در DLLME زمان استخراج به فاصله زمانی بین تزریق مخلوط حلال‌های استخراج کننده و پاشنده و زمان قرارگرفتن در سانتریفوژ گفته می‌شود. به دلیل سطح تماس بالای حلال استخراج کننده و محلول نمونه، حالت تعادل سریعاً برقرار می‌شود و هیچ گونه کنترل سینتیکی بر استخراج وجود ندارد. بنابراین زمان بر راندمان استخراج اثری ندارد. این عدم وابستگی راندمان استخراج به زمان از مهم ترین مزایای DLLME می‌باشد که باعث کاهش زمان آنالیز و افزایش تکرارپذیری نتایج می‌شود.

۱-۵-۳- ت- اثر نمک

برای تثبیت قدرت یونی محلول معمولاً از نمک‌های معدنی استفاده می‌شود. افزایش راندمان استخراج با افزایش نمک به دلیل آبپوشی شدید یون‌های موجود در محلول می‌باشد. با افزایش قدرت یونی محلول، یون‌ها تعداد زیادی از مولکول‌های آب را درگیر خود می‌کنند و تعداد مولکول‌های آب اطراف مولکول آلی را کاهش می‌دهند و به‌این ترتیب باعث افزایش استخراج گونه آلی به درون فاز استخراج کننده می‌شوند. در مواردی هم افزایش نمک باعث کاهش راندمان استخراج می‌شود. این اثر به دلیل بر همکنش‌های الکترواستاتیک مولکول‌های قطبی با یون‌های نمک درمحلول می‌باشد که توانایی گونه برای

انتقال به فاز استخراج کننده راکاهش می‌دهد. با افزایش نمک حجم فاز ته‌نشین شده افزایش می‌یابد که این خود به علت کاهش حلالیت حلال استخراج کننده درحضور نمک می‌باشد. در برخی از موارد افزایش نمک بر راندمان استخراج اثری ندارد.

۱-۵-۳- س- اثر pH

استخراج گونه‌های یونی از محلول‌های آبی توسط حلال‌های آلی غیر ممکن می‌باشد مگر آن که بار این یون‌ها از طریق واکنش‌های تشکیل کمپلکس به‌منظور تشکیل یک کمپلکس بی بار، خنثی شود. اثر pH فاکتور مهمی در استخراج گونه هایی با گروه عاملی اسیدی یا بازی می‌باشد. به‌این ترتیب با تنظیم pH در محدوده مناسب می‌توان کارایی استخراج را افزایش داد [۲۵-۲۰].

۱-۶-کاربردهای ریز استخراج مایع- مایع پخشی

در سال‌های اخیر روش ریز استخراج مایع-مایع پخشی توسعه بسیاری یافته و با اغلب روش‌ها و دستگاه‌های تجزیه‌ایی جفت شده است.در ادامه به بررسی اجمالی این پیشرفت‌ها و کاربردهای این روش پرداخته می‌شود.

۱-۶-۱- تکنیک جفت شده ریز استخراج مایع-مایع پخشی با کروماتوگرافی مایع

سازگاری روش ریز استخراج مایع- مایع پخشی با کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا[1](HPLC) مستلزم سازگاری حلال آلی استخراج کننده با فاز متحرک ستون HPLC می‌باشد. هیدروکربن‌های هالوژن‌دار مانند کربن تتراکلرید، کلروبنزن، کلروفرم و تتراکلرواتیلن به علت دانسیته بالایی که دارند حلال‌های مناسبی برای سازگاری با کروماتوگرافی مایع نیستند و در صورت استفاده از این حلال‌ها، مرحله تبخیر حلال و حل کردن جسم حل شده در یک حلال مناسب الزامی است. این مرحله علاوه بر وقت‌گیر و پرزحمت بودن باعث از دست رفتن مقداری از آنالیت می‌شود [۲۰].

۱-۶-۲-تکنیک جفت شده ریز استخراج مایع-مایع پخشی با کروماتوگرافی گازی

از آن جایی که در روش DLLME معمولاً از حلال‌های غیرقابل امتزاج با آب به عنوان حلال استخراج کننده استفاده می‌شود، تکنیک کروماتوگرافی گازی[2](GC) تکنیک مرجع و مناسبی برای آنالیز گونه‌های استخراج شده توسط روش ریز استخراج مایع- مایع پخشی می‌باشد [۲۰]. برای نمونه‌های غیرفرار و با قطبیت بالا که برای آنالیز با کروماتوگرافی گازی مناسب نیستند، فرآیند مشتق‌سازی[3] برای افزایش فراریت آنالیت‌ها ضروری می‌باشد. استخراج DLLME جفت شده با واکنش‌های مشتق‌سازی یک تکنیک استخراج و مشتق سازی تک مرحله‌ای را فراهم می‌کند که بسیار ساده و سریع می‌باشد. چیانگ[4] و همکارش در سال ۲۰۰۸ از ترکیب تکنیک کروماتوگرافی گازی- طیف سنج جرمی با استخراج DLLME برای اندازه‌گیری آنیلین‌ها در نمونه‌های آبی استفاده کردند. در این روش آنیلین توسط DLLME استخراج شده و سپس توسط مشتق‌ساز پنتافلوروبنزآلدهید درمحلول آبی به طور هم زمان مشتق‌سازی می‌شود [۲۶].

---

[1] High performance liquid chromatography
[2] Gas chromatography
[3] Derivatization
[4] Chiang

۱-۶-۳-تکنیک جفت شده ریز استخراج مایع-مایع پخشی با طیف سنجی جذب اتمی

با این که اکثر کارهایی که با روش DLLME انجام شده مربوط به استخراج ترکیبات آلی بوده است اما تلاش‌های زیادی برای توسعه این روش به منظور استخراج آنالیت‌های معدنی نیز انجام شده است. طیف سنج جذب اتمی الکتروگرمایی[1] (ET- AAS) به مقادیر اندکی در حد میکرو از آنالیت برای آنالیز شیمیایی احتیاج دارد و بنابراین از ترکیب روش DLLME با ET-AAS یک سیستم تجزیه‌ای منحصر به فرد ایجاد می‌شود. در این روش یک عامل کمپلکس کننده به محلول نمونه اضافه شده و سپس استخراج توسط روش ریز استخراج مایع- مایع پخشی انجام می‌شود [۲۰].

۱-۶-۴-ریز استخراج مایع-مایع پخشی با استفاده از مایعات یونی[2]

مایعات یونی (IL) جایگزین‌های مناسبی برای حلال‌های آلی در روش ریز استخراج مایع-مایع پخشی هستند این مایعات خواص فیزیکی و شیمیایی منحصر به فردی دارند که وابسته به اندازه کاتیون‌ها و آنیون‌های آن‌ها می‌باشد. مایعات یونی،نمک‌های ترکیبات آلی با دمای ذوب پایین هستند. مهمترین ویژگی‌های این مایعات عبارت است از فشار بخار کم، پایداری گرمایی مناسب، ویسکوزیته قابل تنظیم و دوستدارمحیط زیست بودن. برای اولین بار فان[3] و همکارانش در سال ۲۰۰۹ روش جدید استفاده از مایعات یونی بر اساس روش DLLME ترکیب شده با کروماتوگرافی مایع را برای اندازه‌گیری ۴- آمینو بی فنیل، ۴- کلرو آنیلین، ۱- نفتیل آمین، ۲- متیل آنیلین در نمونه‌های آبی معرفی کردند [۲۷].

۱-۶-۵-ریز استخراج مایع-مایع پخشی با استفاده از حلال‌های استخراج کننده سبکتر از آب

در سال ۲۰۰۷ خلیلی و همکارانش تکنیک جدیدی در ریز استخراج مایع به نام ریز استخراج فاز مایع بر مبنای منجمد کردن حلال آلی شناور[4] (LPME-SFO) را معرفی کردند [۲۹و۲۸]. در این تکنیک از حلال‌های آلی با دانسیته کمتر از آب استفاده می‌شود. هوانگ[5] و همکاراش بر اساس این تکنیک روش جدیدی در ریز استخراج مایع-مایع پخشی معرفی ارائه کردند [۳۰]. در این روش حلال استخراج کننده به سبب این که دانسیته‌ای کمتر از آب دارد، پس از سانتریفوژ بر روی محلول آبی شناور می‌شود. لوله حاوی نمونه درون حمامی از یخ قرار گرفته تا حلال استخراج کننده منجمد شود. پس از انجماد، قطرات منجمد حلال به ویالی با انتهای مخروطی شکل منتقل شده و در دمای محیط به سرعت ذوب می‌گردند و در نهایت به دستگاه تجزیه‌ای مورد نظر جهت آنالیز تزریق می‌شوند. در شکل (۱-۴) شمایی ساده از مراحل روش SFO-DLLME ملاحظه می‌گردد [۳۰].

---

[1] Electrothermal atomic absorption spectrometry
[2] Ionic liquides
[3] Fan
[4] Liquid phase microextraction based on solidification of floating organic solvent
[5] Huang