بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه آزاد اسلامی

واحد تهران مرکزی

دانشکده علوم پایه،گروه شیمی

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد(M.Sc)

گرایش شیمی تجزیه

عنوان

اصلاح فیبرتو خالی با لیگاندهای آلی به منظور جذب و برهمکنش داروی ترکیبی تریامترن-هیدروکلروتیازید از ترکیبات بیولوژیکی

استاد راهنما

دکترهمایون احمدپناهی

استاد مشاور

دکتر محمدرضا عوادی

پژوهشگر

مریم اجلالی

تابستان ۱۳۹۲

به نام آفریننده نون والقلم

با احترام:

به مصداق سپاس از مخلوق عرض ارادت به حضرت خالق است، اینک که به سعی و کوشش همه استادان ارجمندم تحریر پایان‌نامه خود را به پایان رسانده‌ام از همه این بزرگواران به ویژه استادان محترم آقای دکتر احمدپناهی، آقای دکتر عوادی کمال تشکر و امتنان دارم و با اجازه از محضر مبارک آنان و آقای دکتر فیض‌بخش که زحمت داوری پایان‌نامه را به عهده گرفتند، به پاس سالها توجه و امید خانواده‌ام به رشد علمی اینجانب، این رساله را به خدمت آنان تقدیم می‌دارم در حالی که تقدیر و قدردانی از خانواده معنوی‌ام، استادان گرانمایه‌ام، دوستانی که در یاری اینجانب کوشیده‌اند و شرکت داروسازی تهران‌دارو، هرگز از یادم نخواهد رفت:

من چه در پای تو ریزم که خورای تو بود

سرنه کی زیست که شایسته پای تو بود

با سپاس

مریم اجلالی

تعهد نامه اصالت پایان‌نامه کارشناسی ارشد

اینجانب مریم اجلالی دانش‌آموخته مقطع کارشناسی‌ارشد ناپیوسته به شماره دانشجویی ۸۹۰۹۳۸۵۳۳۰۰ در رشته شیمی‌تجزیه که در تاریخ ۱۳۹۲/۰٤/۳۰ از پایان‌نامه خود تحت عنوان اصلاح فیبرتوخالی با لیگاندهای آلی به منظور جذب و برهمکنش داروی ترکیبی تریامترن-هیدروکلروتیازید از ترکیبات بیولوژیکی با کسب نمره ۲۰ ودرجه عالی دفاع نموده‌ام بدینوسیله متعهد می‌شوم:

۱- این پایان‌نامه حاصل تحقیق وپژوهش انجام شده توسط اینجانب بوده ودر مواردی که از دستاوردهای علمی وپژوهشی دیگران(اعم از پایان‌نامه، کتاب، مقاله و.....) استفاده نموده‌ام، مطابق ضوابط و رویه‌های موجود، نام منبع مورد استفاده وسایر مشخصات آن را در فهرست ذکر ودرج کرده‌ام.

۲- این پایان‌نامه قبلاً برای دریافت هیچ مدرک تحصیلی(هم سطح، پایین‌تر یا بالاتر) در سایر دانشگاه‌ها ومؤسسات آموزش عالی ارائه نشده است.

۳- چنانچه بعد از فراغت از تحصیل، قصد استفاده و هرگونه بهره‌برداری اعم از چاپ کتاب، ثبت اختراع و.... از این پایان‌نامه داشته باشم، از حوزه معاونت پژوهشی واحد مجوزهای مربوطه را اخذ نمایم.

٤- چنانچه در هر مقطع زمانی خلاف موارد فوق ثابت شود، عواقب ناشی از آن را بپذیرم و واحد دانشگاهی مجاز است با اینجانب مطابق ضوابط ومقررات رفتار نموده ودر صورت ابطال مدرک تحصیلی‌ام هیچگونه ادعایی نخواهم داشت.

نام ونام خانوادگی: مریم اجلالی

تاریخ وامضاء:

بسمه تعالی

در تاریخ ۱۳۹۲/۰٤/۳۰

دانشجـوی کارشناسی ارشد خانم مریم اجلالی از پایان‌نامه خود دفـاع نمـوده و بـا نمـره ۲۰ بحـروف بیست و بـا درجـه عالی مورد تصویـب قـرار گرفت.

امضاء استاد راهنما

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و تئوری

۱-۱ مقدمه ۲

۱-۱-۱ استخراج مایع-مایع (LLE) ۳

۱-۱-۲ استخراج با فاز جامد (SPE) ٤

۱-۱-۳ میکرواستخراج با فاز مایع (LPME) ٤

۱-۱-۳-۱ میکرواستخراج با تک قطره (SDME) ٦

۱-۱-۳-۲ میکرواستخراج از فضای فوقانی (HS-LPME) ۸

۱-۱-۳-۳ میکرواستخراج فاز مایع با استفاده از انجماد قطره شناور (SFODME) ۱۰

۱-۱-۳-٤ میکرواستخراج مایع-مایع بر پایه استفاده از حلال پخش‌شونده (DLLME) ۱۱

۱-۱-۳-۵ میکرواستخراج مایع-مایع همگن (HLLME) ۱٤

۱-۱-۳-٦ میکرواستخراج فاز مایع براساس فیبر توخالی ۱٦

۱-۱-۳-٦-۱ فیبرهای متخلخل توخالی ۱۷

۱-۱-۳-٦-۲ مشخصات فیبرهای متخلخل پلی‌پروپیلن ۱۸

۱-۱-۳-٦-۳ میکرواستخراج دوفازی به روش مستقیم ۲۰

۱-۱-۳-٦-٤ میکرواستخراج دوفازی به روش SBME ۲۱

عنوان **صفحه**

۱-۱-۳-٦-۵ میکرواستخراج از فضای فوقانی (HS-HFLPME) ۲۲

۱-۱-۳-٦-٦ روش‌های استخرج سه‌فازی بر پایه استفاده از فیبرهای توخالی ۲٤

۱-۱-۳-٦-٦-۱ استخراج بر پایه گرادیان pH ۲٤

۱-۱-۳-٦-٦-۲ استخراج با اعمال میدان الکتریکی بین داخل فیبر و خارج فیبر با استفاده از الکترود ۲٦

۱-۱-۳-٦-٦-۳ استخراج به روش سه‌فازی با استفاده از ترکیبات حامل ۲۷

۱-۱-۳-٦-٦-٤ استخراج سه‌فازی مایع-گاز-مایع با استفاده از فیبرها ۳۲

۱-۱-۳-٦-۷ استخراج توسط فیبر توخالی پوشش داده شده به کمک یک پلیمر دیگر ۳۳

۱-۱-۳-۷ خصوصیات ویژه روش LPME ۳۳

۱-۱-٤ داروهای ضد فشار خون ۳٤

۱-۱-۵ خواص داروی مورد مطالعه ۳۵

۱-۱-۵-۱ خواص هیدروکلروتیازید ۳٦

۱-۱-۵-۲ فارماکوکینتیک هیدروکلروتیازید ۳٦

۱-۱-۵-۳ خواص داروی تریامترن ۳۷

۱-۱-۵-٤ فارماکوکینتیک تریامترن ۳۸

۱-۱-۵-۵ عوارض جانبی داروی تریامترن-هیدروکلروتیازید ۳۸

۱-۱-۵-٦ مقدار مصرف داروی تریامترن-اچ ۳۹

عنوان **صفحه**

۱-۱-۵-۷ اهمیت اندازه‌گیری داروهای انتخاب شده و کارهای انجام شده در این زمینه..... ۳۹

فصل دوم: بخش تجربی

بخش اول: میکرواستخراج مایع دوفازی توسط فیبرهای توخالی بر پایه استفاده از اصلاح‌کننده (Aliquat 336) برای استخراج، پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری داروی هیدروکلروتیازید از داروی ترکیبی تریامترن-اچ

۲-۱ مقدمه ٤۲

۲-۱-۱ مواد، تجهیزات و روش‌های مورد استفاده ٤۲

۲-۱-۱-۱ مواد شیمیایی ٤۲

۲-۱-۱-۲ تجهیزات ٤۳

۲-۱-۱-۳ تهیه محلولها ٤٥

۲-۱-۱-٤ روش کار ٤٦

۲-۱-۲ مراحل بهینه‌سازی ٤۸

۲-۱-۲-۱ مقدمه ٤۸

۲-۱-۲-۲ بهینه‌سازی شرایط جداسازی ٤۸

۲-۱-۲-۳ فراهم کردن شرایط استخراج ٤۸

۲-۱-۲-٤ بهینه‌سازی شرایط استخراج ٤۹

۲-۱-۲-٤-۱ بهینه‌سازی نوع حلال استخراجی ٤۹

عنوان **صفحه**

۲-۱-۲-٤-۲ بهینه‌سازی ترکیب درصد حامل ۵۱

۲-۱-۲-٤-۳ بهینه‌سازی pH فاز دهنده ۵۱

۲-۱-۲-٤-٤ بهینه‌سازی قدرت یونی فاز دهنده ۵۱

۲-۱-۲-٤-۵ بهینه‌سازی زمان استخراج ۵۱

۲-۱-۲-٤-٦ بهینه‌سازی سرعت هم‌زدن محلول آنالیت ۵۲

۲-۱-۳ معتبرسازی روش ۵۲

۲-۱-۳-۱ تعیین فاکتور پیش‌تغلیظ (PF) ۵۲

۲-۱-۳-۲ منحنی درجه‌بندی (LDR) ۵۲

۲-۱-۳-۳ حد تشخیص ۵۳

۲-۱-۳-٤ تعیین تکرارپذیری ۵۳

۲-۱-٤ آنالیز نمونه حقیقی ۵۳

بخش دوم: میکرواستخراج مایع سه‌فازی با استفاده از فیبرهای توخالی و بر پایه استفاده از گرادیان pH برای استخراج، پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری داروی تریامترن از داروی ترکیبی تریامترن-اچ

۲-۲ مقدمه ٥٦

۲-۲-۱ مواد، تجهیزات و روش‌های مورد استفاده ٥٦

۲-۲-۱-۱ مواد شیمیایی و تجهیزات ٥٦

۲-۲-۱-۲ تهیه محلولها ٥٦

عنوان **صفحه**

۲-۲-۱-۳ روش کار ۵۷

۲-۲-۲ مراحل بهینه‌سازی ۵۹

۲-۲-۲-۱ مقدمه ۵۹

۲-۲-۲-۲ بهینه‌سازی شرایط جداسازی ۵۹

۲-۲-۲-۳ بهینه‌سازی شرایط استخراج ۵۹

۲-۲-۲-۳-۱ بهینه‌سازی غلظت سود در فاز دهنده ۶۰

۲-۲-۲-۳-۲ بهینه‌سازی حلال آلی ۶۰

۲-۲-۲-۳-۳ بهینه‌سازی pH فاز گیرنده ۶۰

۲-۲-۲-۳-٤ بهینه‌سازی سرعت هم‌زدن محلول آنالیت ۶۱

۲-۲-۲-۳-۵ بهینه‌سازی زمان استخراج ۶۱

۲-۲-۲-۳-٦ بهینه‌سازی قدرت یونی فاز دهنده ۶۱

۲-۲-۳ معتبرسازی روش ۶۱

۲-۲-٤ آنالیز نمونه حقیقی ۶۱

فصل سوم: بحث و نتیجه‌گیری

بخش اول: میکرواستخراج مایع دوفازی توسط فیبرهای توخالی بر پایه استفاده از اصلاح‌کننده (Aliquat 336) برای استخراج، پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری داروی هیدروکلروتیازید از داروی ترکیبی تریامترن-اچ

عنوان **صفحه**

۳-۱-۱ مقدمه ٦٥

۳-۱-۱-۱ روابط سیستم‌های میکرواستخراج دوفازی مایع ٦٥

۳-۱-۲ آزمایشات اولیه ٦٧

۳-۱-۳ شرایط بهینه‌سازی ٦٨

۳-۱-۳-۱ بهینه‌سازی شرایط جداسازی ٦٨

۳-۱-۳-۲ بهینه‌سازی شرایط استخراج ٦٨

۳-۱-۳-۲-۱ بهینه‌سازی حلال آلی ٦٨

۳-۱-۳-۲-۲ اثر غلظت Aliquat 336 ..... ٧٠

۳-۱-۳-۲-۳ اثر pH فاز دهنده ٧١

۳-۱-۳-۲-٤ اثر قدرت یونی ٧١

۳-۱-۳-۲-٥ اثر زمان استخراج ٧٢

۳-۱-۳-۲-٦ اثر سرعت هم‌زدن محلول نمونه ٧٣

۳-۱-٤ معتبرسازی روش ٧٤

۳-۱-٥ آنالیز نمونه حقیقی ٧٥

بخش دوم: میکرواستخراج مایع سه‌فازی با استفاده از فیبرهای توخالی و بر پایه استفاده از گرادیان pH برای استخراج، پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری داروی تریامترن از داروی ترکیبی تریامترن-اچ

عنوان **صفحه**

۳-۲-۱ مقدمه ۸۱

۳-۲-۱-۱ روابط سیستم‌های میکرواستخراج سه‌فازی مایع ۸۱

۳-۲-۲ آزمایشات اولیه ۸۳

۳-۲-۳ شرایط بهینه‌سازی ۸٤

۳-۲-۳-۱ بهینه‌سازی شرایط جداسازی ۸٤

۳-۲-۳-۲ بهینه‌سازی شرایط استخراج ۸٤

۳-۲-۳-۲-۱ اثر غلظت سود در فاز دهنده ۸٤

۳-۲-۳-۲-۲ بهینه‌سازی حلال آلی ۸۵

۳-۲-۳-۲-۳ اثر pH فاز گیرنده ۸٦

۳-۲-۳-۲-٤ اثر سرعت هم‌زدن محلول نمونه ۸۷

۳-۲-۳-۲-۵ اثر زمان استخراج ۸۷

۳-۲-۳-۲-٦ اثر قدرت یونی ۸۹

۳-۲-٤ معتبرسازی روش ۸۹

۳-۲-۵ آنالیز نمونه‌های حقیقی ۹۰

۳-٤ نتیجه‌گیری ۹۵

فهرست منابع و مراجع ۹٦

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱ روش‌های میکرواستخراج مایع بر پایه قطره ۷

شکل ۱-۲ نمایی از سیستم HS-LPME ۹

شکل ۱-۳ میکرواستخراج فاز مایع با استفاده از انجماد قطره آلی شناور ۱۱

شکل ۱-٤ شمایی از سیستم DLLME ۱۳

شکل ۱-۵ میکرواستخراج مایع-مایع همگن ۱۵

شکل ۱-٦ اصل اولیه استخراج در LPME ۱۷

شکل ۱-۷ عکس میکروسکوپ الکترونی پویشی از فیبر متخلخل توخالی پلی‌پروپیلن با بزرگنمایی ۵۰۰۰ برابر ۱۹

شکل ۱-۸ شمای فیبر توخالی با ضخامت ۲۰۰ میکرومتر ۲۰

شکل ۱-۹ طرح شماتیک از روش میکرواستخراج دوفازی مستقیم ۲۱

شکل ۱-۱۰ میکرواستخراج با میله حلال ۲۲

شکل ۱-۱۱ میکرواستخراج با فیبر توخالی از فضای فوقانی ۲۳

شکل ۱-۱۲ شمای سیستم استخراجی سه‌فازی برپایه فیبر توخالی ۲۵

شکل ۱-۱۳ استخراج سه‌فازی با اعمال پتانسیل ۲٦

شکل ۱-۱٤ ساختار چند حامل متداول ۲۸

شکل ۱-۱۵ مکانیسم استخراج سه‌فازی با حامل اسیدی (آنیونی) ۲۹

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱۶ مکانیسم استخراج سه‌فازی با استفاده از حامل کاتیونی ۲۹

شکل ۱-۱۷ ساختار سورفکتانت و داروهای مورد بررسی و خصوصیات آنها ۳۱

شکل ۱-۱۸ سیستم استخراجی SE-LPME ۳۱

شکل ۱-۱۹ استخراج سه‌فازی مایع– گاز– مایع با استفاده از فیبر توخالی ۳۲

شکل ۲-۱ شمای سیستم استخراج دوفازی بر پایه استفاده از حامل Aliquat-336 ..... ٤٧

شکل ۲-۲ شمای سیستم استخراج سه‌فازی بر پایه گرادیان pH ۵۸

شکل ۳-۱ مقایسه زمان بازداری هیدروکلروتیازید ٦٧

شکل ۳-۲ بررسی اثر حلال آلی بر کارآیی استخراج هیدروکلروتیازید ٦٩

شکل ۳-۳ بررسی اثر Aliquat 336 بر میزان استخراج هیدروکلروتیازید ۷۰

شکل ۳-٤ بررسی اثر pH فاز دهنده بر میزان استخراج هیدروکلروتیازید ۷۱

شکل ۳-۵ بررسی اثر قدرت یونی بر میزان استخراج هیدروکلروتیازید ۷۲

شکل ۳-٦ بررسی اثر زمان استخراج بر میزان استخراج هیدروکلروتیازید ۷۳

شکل ۳-۷ بررسی اثر سرعت هم‌زدن محلول نمونه بر میزان استخراج هیدروکلروتیازید ۷٤

شکل ۳-۸ منحنی کالیبراسیون هیدروکلروتیازید ۷۵

شکل ۳-۹ کروماتوگرام نمونه ادرار سالم قبل و بعد از افزایش استاندارد هیدروکلروتیازید ۷٦

شکل ۳-۱۰ کروماتوگرام نمونه ادرار فرد مصرف‌کننده دارو قبل و بعد از افزایشHCTZ ۷۷

شکل ۳-۱۱ کروماتوگرام نمونه حقیقی قبل و بعد از افزایش دو دارو (جداسازی HCTZ) ۷۹

عنوان **صفحه**

شکل ۳-۱۲ مقایسه زمان بازداری تریامترن ۸۳

شکل ۳-۱۳ بررسی اثر غلظت NaOH بر میزان استخراج تریامترن ۸۵

شکل ۳-۱٤ بررسی اثر حلال آلی بر میزان استخراج تریامترن ۸٦

شکل ۳-۱۵ بررسی اثر pH فاز گیرنده بر میزان استخراج تریامترن ۸۷

شکل ۳-۱٦بررسی اثر سرعت هم‌زدن محلول نمونه بر میزان استخراج تریامترن ۸۸

شکل ۳-۱۷ بررسی اثر زمان بر میزان استخراج تریامترن ۸۸

شکل ۳-۱۸ بررسی اثر قدرت یونی بر میزان استخراج تریامترن ۸۹

شکل ۳-۱۹ منحنی کالیبراسیون تریامترن ۹۱

شکل ۳-۲۰ نمونه کروماتوگرام آب شهر قبل و بعد از افزایش تریامترن ۹۱

شکل ۳-۲۱ نمونه کروماتوگرام ادرار سالم قبل و بعد از افزایش تریامترن ۹۲

شکل ۳-۲۲ کروماتوگرام نمونه ادرار فرد مصرف‌کننده دارو قبل و بعد از افزایش تریامترن ۹۲

شکل ۳-۲۳ کروماتوگرام نمونه حقیقی قبل و بعد از افزایش دو دارو (استخراج تریامترن) ۹٤

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۱–۱ خصوصیات داروی هیدروکلروتیازید ۳۶

جدول ۱–۲ خصوصیات داروی تریامترن ۳۷

جدول ۳–۱ ارقام شایستگی روش پیشنهادی برای هیدروکلروتیازید ۷۵

جدول ۳–۲ نتایج آنالیز نمونه‌های حقیقی (برای هیدروکلروتیازید) ۷۸

جدول ۳–۳ نتایج استخراج هیدروکلروتیازید از دو دارو روی نمونه حقیقی ۷۹

جدول ۳–٤ ارقام شایستگی روش پیشنهادی برای تریامترن ۹۰

جدول ۳–۵ نتایج آنالیز نمونه‌های حقیقی (برای تریامترن) ۹۳

جدول ۳–٦ نتایج استخراج تریامترن از دو دارو روی نمونه حقیقی ۹٤

۱-۱ مقدمه

در سالهای اخیر، توسعه روش های سریع، دقیق، با صحت و حساسیت بالا بسیار مورد توجه قرار گرفته است. با وجود پیشرفت قابل توجه در دستگاههای تجزیه‌ای برای اندازه‌گیری نهایی آنالیت‌ها در نمونه‌های بیولوژیکی، زیست‌محیطی و فرآورده‌های دارویی، آماده‌سازی نمونه[۱] بسیار حائز اهمیت است. دلیل این نیاز، عدم توانایی دستگاههای تجزیه‌ای در آنالیز مستقیم آنالیت موجود در بافت پیچیده مورد نظر است [۱]، که اگر روش آماده‌سازی نمونه به درستی انتخاب نشود نتایج قابل قبولی حاصل نمی‌شود.

در طی سالهای اخیر تلاش‌های بسیاری در جهت ابداع روش‌های نوین آماده‌سازی نمونه انجام پذیرفته و در این زمینه پیشرفت‌های چشمگیری حاصل شده است. به طور کلی آماده‌سازی نمونه به منظور تحقق اهداف زیر صورت می‌گیرد [۲]:

۱- حذف مزاحمت‌ها و تمیزسازی[۲] نمونه به منظور افزایش گزینش‌پذیری روش

۲- پیش‌تغلیظ گونه مورد نظر به نحوی که بتوان آن را با دستگاههای تجزیه‌ای اندازه‌گیری کرد

۳- تبدیل گونه به فرمی که برای جداسازی و یا شناسایی با دستگاه تجزیه‌ای مناسب باشد

٤- فراهم نمودن روشی تکرارپذیر و توانمند که مستقل از تغییرات در بافت نمونه باشد.

از روش‌های استخراج می‌توان به عنوان مهم‌ترین روش‌های آماده‌سازی نمونه نام برد که هریک به گونه خود سازگاری و کارآیی مختلفی در محیط‌های حقیقی دارند. از جمله روش‌های ارائه شده در سالهای اخیر می‌توان روش‌های زیر را نام برد:

۱-Sample preparation
۲-Clean up

۱-۱-۱ استخراج مایع – مایع (LLE)[۱]

یک تکنیک کلاسیک و معمولی است که برای پیش‌تغلیظ و تمیزسازی نمونه قبل از آنالیزهای کروماتوگرافی و الکتروفورتیک به کار می‌رود و مصرف حلال آلی آن زیاد است. البته مشکل به هدر رفتن آنالیت به‌خاطر چندین مرحله‌ای بودن کار نیز وجود دارد [۳]. بر اساس حلالیت نسبی آنالیت بین دو حلال غیر قابل امتزاج باهم است و ترکیبات موجود در آب به خاطر تمایل بیشتر به فاز آلی، وارد فاز آلی می‌شوند. حلال‌هایی نظیر پنتان، هگزان، ایزواکتان، دی‌اتیل‌اتر، نفت سبک، تولوئن، کلروفرم، دی‌کلرومتان، سولفید کربن، کلروبنزن و غیره برای استخراج ترکیبات آلی موجود در آب مورد استفاده قرار گرفته است. ثابت توزیع گونه مورد نظر بین دو فاز و راندمان استخراج بر اساس رابطه ۱-۱ تعریف می‌شود:

$$K_D = \frac{C_{org}}{C_{aq}}$$

$$R\% = \frac{K_D}{K_D + V_{aq}/V_{org}} \times 100$$

رابطه ۱-۱

که طبق رابطه زمانی که ثابت توزیع عدد بزرگی باشد راندمان استخراج زیاد است. در حالی که اگر ضریب توزیع عدد کوچکی باشد یعنی آنالیت تمایلی به فاز آلی نداشته و باید از حلال آلی به مقدار زیاد استفاده کرد تا راندمان استخراج زیاد شود. از معایب این روش می توان به مصرف زیاد حلالها، احتمال آتشگیری و مضر بودن، زمان طولانی جهت استخراج‌های کمّی، محدود بودن فاکتور تغلیظ و نیاز به چندین عملیات دستی و تکرارناپذیری اشاره نمود [٤].

۱-Liquid-liquid extraction

۱-۱-۲ استخراج با فاز جامد (SPE)[۱]

در این تکنیک، استخراج گونه‌ها همانند استخراج مایع– مایع بر اساس توزیع آنها بین دو فاز است با این تفاوت که در اینجا فاز استخراج کننده جامد است. ترکیبات تمایل دارند بر روی یک جاذب موجود در یک ستون کوچک و یا بر روی دیسک، بازداری شده و از بافت نمونه جدا شوند. با این روش می‌توان گونه‌های آنالیت و یا گونه‌های مزاحم را از بافت نمونه استخراج و بر روی فاز جامد جمع کرد. گونه‌های استخراج شده با حجم کوچکی از حلال مناسب از روی فاز جاذب شسته شده و در حجم کوچکی از حلال جمع می‌شوند و چون حجم شستشو نسبت به حجم نمونه عبور داده شده بسیار کم است فاکتور تغلیظ بزرگتری نسبت به روش استخراج مایع– مایع به دست می‌آید. این روش مزایایی مانند مصرف حلال کم، راندمان استخراج بالا و تکرارپذیری خوب دارد ولی محدودیت‌هایی مانند گرفتگی ستون یا دیسک در اثر آلوده بودن نیز دارد[۵].

به دلیل مشکلات ذکر شده در مورد استخراج مایع– مایع و همچنین استخراج با فاز جامد و همینطور به دلیل اینکه محققان در روش‌های استخراج به دنبال ابداع روش‌هایی هستند که در عین کارآیی بالا نیاز به مقدار کم حلال‌های آلی نیز داشته باشند، روش‌های نوین میکرواستخراج توسعه یافته‌اند.

۱-۱-۳ میکرواستخراج با فاز مایع (LPME)[۲]

اساس میکرواستخراج با فاز مایع شبیه به استخراج مایع– مایع است با این تفاوت که حجم حلال

۱-Solid phase extraction
۲-Liquid phase microextraction