کاربرد میکرواستخراج فاز مایع از فضای بالایی ـ کروماتوگرافی گازی برای تعیین مقدارهای بسیار ناچیز ایزوآمیل استات

مسعود کیخوائی*+، سمانه میرمحمدی صدرآبادی

زاهدان، دانشگاه سیستان و بلوچستان، دانشکده علوم، گروه شیمی، صندوق پستی ۶۷۴ ـ ۹۸۱۳۵

چکیده: در این پژوهش کارایی فناوری میکرواستخراج فاز مایع از فضای فوقانی ـ کروماتوگرافی گازی موئینه، برای استخراج و تعیین مقدارهای بسیار ناچیز ایزوآمیل استات در نمونه‌های حقیقی مورد بررسی قرار گرفته است. از ۲/۵ میکرولیتر از بنزیل الکل به عنوان حلال استخراج کننده استفاده شد و پارامترهای مؤثر براستخراج به شرح زیر بهینه شدند: سرعت به هم خوردن نمونه ۱۲۵۰ دور در دقیقه، زمان استخراج ۱۵/۰ دقیقه، دمای محلول ۳۰/۰ درجه‌ی سانتیگراد و مقدار نمک اضافه شده برای ازدیاد قدرت یونی محلول، ۰/۳۴ گرم بر میلی‌لیتر. با این شرایط، حدّ تشخیص روش برای ایزوآمیل استات ۰/۵ میکروگرم بر لیتر محاسبه شد. محدودهٔ خطی منحنی کالیبراسیون ۱۳۰۰ μg/L – ۵ با ضریب همبستگی (R^2) ۰/۹۹۹ می باشد. نمونه های آب و صابون مایع با روش پیشنهادی مورد تجزیه قرار گرفتند و مقدار انحراف استاندارد نسبی برای نمونه آب آلوده شده با ۵۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر لیتر از ایزوآمیل استات بین ۲/۷۹ – ۲/۳۹ درصد و برای نمونه صابون مایع در غلظت ۲۲۰ میکروگرم بر لیتر با روش استاندارد افزایشی ۲/۷۴ درصد و با روش منحنی کالیبراسیون ۲/۴۸ درصد به‌دست آمد. درصد بازیابی برای نمونه آب بین ۱۰۳/۲ تا ۱۰۱/۸ درصد و برای نمونه صابون با روش استاندارد افزایشی ۱۰۳/۲ درصد و با روش منحنی کالیبراسیون ۱۰۱/۸ درصد محاسبه شد.

واژه‌های کلیدی: میکرواستخراج فاز مایع از فضای بالایی، ایزوآمیل استات، کروماتوگرافی گازی موئینه، تجزیهٔ آب.

KEY WORDS: *Head Space-Liquid Phase Microextraction (HS – LPME), Isoamyl acetate, Capillary Gas Chromatography (CGC), Water analysis.*

مقدمه

ایزوآمیل استات[۱] و ایزوپنتیل استات[۲] نام‌های عمومی برای ۳- متیل بوتیل استات[۳] هستند. برای تهیه ایزوآمیل استات در آزمایشگاه، می‌توان از فرایند استری شدن فیشر استفاده کرد که یک نوع افزایش نوکلئوفیلی است (مواد اولیه شامل ایزوآمیل الکل و استیک اسید می‌باشند) [۱]. تنفس ایزوآمیل استات، بسیار خطرناک است و در مورد پوست و چشم ها، این استر سبب خشکی و یا تحریک می‌شود [۲]. این ترکیب از دید تجاری بسیار مهم است و دارای کاربردهای ساختاری، شیمیایی و صنعتی فراوانی می‌باشد [۴ ، ۳]. به‌همین علت شناسایی، جداسازی و پیش تغلیظ ایزوآمیل استات در یک نمونه، اهمیت بسیار زیادی دارد. فناوری‌های گوناگونی

*عهده دار مکاتبات

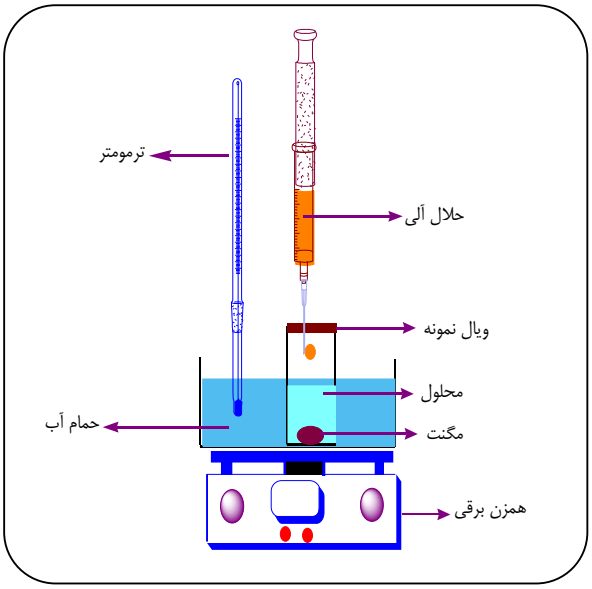
+E-mail: kaykhaii@hamoon.usb.ac.ir

(۱) Isoamyl acetate

(۲) Isopentyl acetate

(۳) 3-Methyl butyl acetate

بدین منظور به‌کار گرفته شده است که در برخی همانند استخراج مایع ـ مایع[۱] زمان استخراج طولانی [۵] و در برخی دیگر مانند روش استخراج برگشتی با حلال[۲] و جاذب کربن فعال نیاز به مصرف زیاد حلال آلی و حجم بالایی از نمونه می‌باشد [۶ ، ۳]. به علت اشکال‌های گفته شده، فناوری‌های آماده‌سازی نمونه که مقدارهای کمی حلال به‌کار می‌برند و قابلیت اتوماسیون و استفاده در محل[۳] را داشته باشند، اهمیت بیشتری می‌یابند. بر این مبنا در سال‌های اخیر روش‌های میکرواستخراج که در آنها حجم فاز استخراجی بسیار کم‌تر از نمونه است بسیار مورد توجه قرارگرفته است [۱۰ـ ۷]. هدف از این کار توسعه یک روش ساده و حساس، با زمان آنالیز کوتاه بود که مقدارهای بسیار کمی حلال را برای دستیابی به پیش تغلیظ ایزوآمیل استات در ماتریکس‌های آبی به‌کار می‌برد. تکنیک میکرواستخراج با حلال بسیار ارزان و دارای دقت و حساسیت خوبی می‌باشد که می‌تواند با ساده‌ترین وسایل یعنی یک میکروسرنگ انجام شود [۱۲ ، ۱۱].



شکل ۱ـ سیستم میکرواستخراج فاز مایع از فضای فوقانی [۱۲].

بخش تجربی

استانداردها و واکنشگرها

کلیه حلال‌ها و معرف‌های شیمیایی به‌کار گرفته شده در این پژوهش، فراورده‌ی شرکت مرک آلمان (خلوص تجزیه‌ای و بالاتر) و بدون آماده‌سازی بعدی به‌کار گرفته شدند. محلول آبی استاندارد ایزوآمیل استات با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم برلیتر تهیه شد و در دمای ۴ درجه سانتیگراد در یخچال نگهداری می‌شد. از رقیق کردن محلول مادر، محلول روزانه با غلظت ۱ میلی گرم بر لیتر تهیه می‌شد. از این محلول برای بهینه کردن (بهینه‌سازی) شرایط میکرواستخراج و همچنین تنظیم شرایط جداسازی دستگاه GC استفاده شد.

میکرواستخراج فاز مایع از فضای فوقانی (HS-LPME)

به منظور استخراج و پیش تغلیظ آنالیت مورد نظر، از سامانه‌ای مانند شکل ۱ استفاده شد.

استخراج به شرح زیر انجام می شد: ۵ میلی لیتر محلول نمونه در ویال ۱۰ میلی‌لیتری ریخته و سدیم کلرید با غلظت ۰/۳۴ گرم بر میلی‌لیتر اضافه شد و درب آن بسته شد. محلول نمونه به طور پیوسته با سرعت ۱۲۵۰ دور بر دقیقه هم زده می‌شد، ضمن آنکه ویال نمونه در حمام آب تا ۳۰/۰ درجه سانتیگراد گرم می‌شد. ۲/۵ میکرو لیتر بنزیل الکل به‌عنوان حلال استخراج کننده به درون میکروسرنگ کشیده و سپس میکروسرنگ از محل سپتوم ویال از طریق نوک تیز میکروسرنگ به درون فضای بالای ویال وارد شده و در محل ثابتی نسبت به سطح محلول نمونه قرار می‌گرفت. با فشردن پیستون سرنگ، قطره آلی در نوک سوزن سرنگ تشکیل و بعد از ۱۵/۰ دقیقه استخراج، قطره به درون میکرو سرنگ کشیده شده و به‌طور مستقیم برای تجزیه به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق می‌شد.

دستگاه‌ها و ابزار

برای برداشتن حلال استخراج کننده و تزریق به دستگاه کروماتوگرافی گازی از یک میکروسرنگ GC معمولی ۱۰ میکرولیتری هامیلتون (آمریکا) با شماره ۷۰۱ استفاده شد. برای توزین از یک ترازوی تجزیه‌ای سارتوریوس مدل CP۲۲۴S، ساخت کشور آلمان استفاده شد و برای هم زدن محلول نمونه، همزن مغناطیسی ساخت شرکت هایدولف، مدل MR۳۰۰۱K ساخت کشورآلمان به‌کار گرفته شد. برای ثبت زمان استخراج از کرنومتر هانهارت، ساخت کشور آلمان استفاده شد.

(۱) Liquid-liquid extraction (LLE)

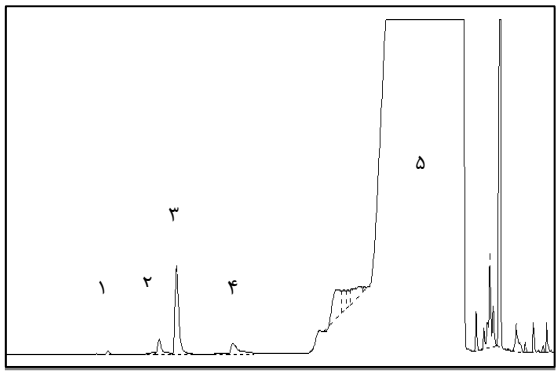
(۲) Stir bar sorptive extraction-solvent back extraction

(۳) In situ

ویال‌های شیشه‌ای با حجم ۱۰ میلی‌لیتر ساخت شرکت ساپلکو آمریکا بودند که جداره داخلی آنها به طور کامل غیر فعال شده و دارای درب سرپوش دار از جنس تفلون بودند. دستگاه کروماتوگرافی به‌کار گرفته شده در این پژوهش، Thermo Onix، مجهز به آشکارساز یونیزاسیون شعله [۱] (FID) ساخت ترمو آمریکا بود. ستون کروماتوگرافی از نوع موئینه [۲] با اندازه‌های [۳] ۵۰m ×۰/۲ mm ID با نام تجاری PETROCOL ™ DH بود و از ضخامت فیلم فاز ساکن ۰/۲۵ µm بهره می‌گرفت. برای ایجاد شعله در آشکارساز FID ازکپسول هوا و مولد هیدروژن [۴] و از گاز نیتروژن به‌عنوان گاز پر کنندهٔ آشکارساز[۵] استفاده شد. دمای آشکارساز و منطقه تزریق بر روی ۲۵۰ درجه سانتیگراد تنظیم شده و تزریق در مود Split با نسبت ۱۰:۱ انجام می‌شد. گاز هلیوم با خلوص بالاتراز ۹۹/۹ درصد (شرکت سبلان ـ تهران) به‌عنوان گاز حامل با سرعت حرکت ۱ mL / min استفاده شد که تنظیم سرعت جریان[۶] گاز حامل در همهٔ دماهای ستون، به‌طور خودکار به‌وسیلهٔ یک نرم افزار انجام می شد. دمای اولیه ستون ۵۰ درجهٔ سانتیگراد بود که بدون توقف در این دما با سرعت ۳ درجه سانتیگراد در دقیقه به دمای ۷۰ درجه افزایش یافته و برای مدت ۱ دقیقه در این دما می ماند. در نهایت با سرعت ۱۰۰ درجه سانتیگراد در دقیقه به دمای ۲۵۰ درجه افزایش داده می‌شد که مدت ۵ دقیقه در این دما باقی می ماند. در مجموع زمان کلّ اخذ کروماتوگرام ۱۴/۵ دقیقه طول می‌کشید. یک کروماتوگرام نوعی از نمونه صابون مایع با فناوری میکرو استخراج از فضای بالایی در شکل ۲ آورده شده است.

نتیجه ها و بحث

در میکرواستخراج با حلال ازفضای فوقانی سه فاز ۱- بافت نمونه ۲ ـ فضای فوقانی ۳ ـ فاز استخراجی (حلال) و با دو فصل مشترک، بافت نمونه ـ فضای فوقانی و فضای فوقانی ـ حلال استخراجی وجود دارد. درطی میکرواستخراج با حلال از فضای بالایی ترکیب‌های شیمیایی موجود در فضای بالایی محلول به‌طور مستقیم به داخل قطره استخراج و تغلیظ می شوند. در روش HS-LPME نیرویی که منجر به فرار گونه ها از فصل مشترک بافت نمونه ـ فضای بالایی می‌شود، اختلاف غلظت گونه



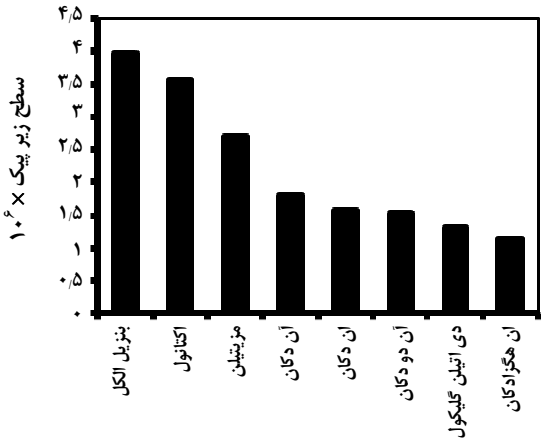
شکل ۲ـ کروماتوگرام نمونه صابون مایع با روش میکرواستخراج از فضای فوقانی، ۴ و۲ و۱ـ پیک مربوط به ترکیب‌های موجود در نمونه صابون، ۳ـ ایزوآمیل استات، ۵ ـ بنزیل الکل (حلال).

در فضای بالای نمونه از مقدار تعادلی است و عامل پیش برنده در فصل مشترک فضای بالایی ـ حلال، انتشار گونه از توده گازی به داخل فاز استخراج کننده می‌باشد [۱۳]. در فرایند میکرواستخراج با حلال، استخراج به طور کامل انجام نمی‌شود و فقط کسر کوچکی از نمونه به داخل فاز استخراج کننده منتقل شده و پس از گذشت مدت زمانی، با رسیدن به تعادل غلظت نمونه در فاز استخراج کننده به بیشترین مقدار خود می‌رسد [۱۴]. بر این اساس پارامترهایی که انتقال جرم آنالیت از محلول نمونه به میکرو قطره آلی را کنترل می‌کنند، باید مشخص و بهینه شوند. پارامترهایی که انتقال جرم را کنترل می کنند عبارتند از: مقدار نمونه، حجم قطره آلی، دمای نمونه، زمان استخراج، نوع حلال استخراج کننده، قدرت یونی محلول، سرعت چرخش.

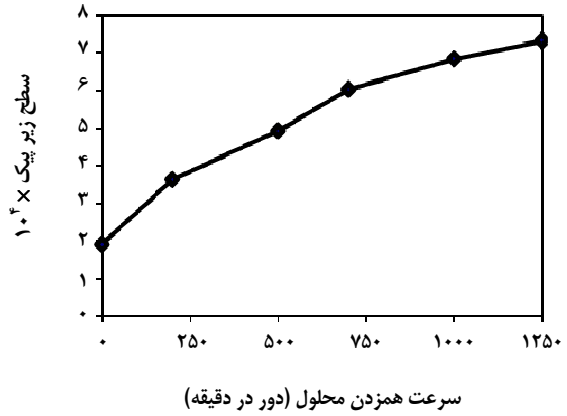
انتخاب جنس حلال استخراج کننده

برای دستیابی به بالاترین حساسیت، دقت و انتخابگری، چندین حلال آلی با قطبیّت‌های مختلف برای استخراج آنالیت ایزوآمیل استات مورد بررسی قرار گرفتند (شکل ۳). برای انتخاب نوع حلال، ۱/۰ میکرولیتر از هر حلال به‌صورت جداگانه برای استخراج ۵/۰ میلی لیتر محلول نمونه آبی ۱ میلی گرم بر لیتر از آنالیت مورد نظر، که با سرعت ۴۰۰ دور در دقیقه هم زده می‌شد، برای ۵ دقیقه به‌کار گرفته شد. البته حلال‌های سیکلوهگزان،

(۱) Flame ionization detector
(۲) Capillary
(۳) Internal diameter
(۴) Hydrogen generator
(۵) Make-up gas
(۶) Flow rate



شکل ۳ـ میزان استخراج ایزوآمیل استات با حلال‌های گوناگون.



شکل ۴ـ اثر سرعت همزدن برکارایی استخراج نسبی آنالیت

متیل سیکلو هگزان و تولوئن نیز بررسی شدند اما اندازه قطره بعداز ۱۰/۰ دقیقه به‌علت فشاربخار نسبی بالای این حلال‌ها کاهش می‌یافت، و بازده استخراج بسیار ضعیفی را نشان می دادند بنابراین نتیجه‌های مربوط به آن ها در شکل نشان داده نشده است. با بررسی نمودارهای مربوط به استخراج توسط حلال های مختلف، معلوم شد که حلال بنزیل الکل، استخراج بیشتری نسبت به سایر حلال‌ها از خود نشان می‌دهد، بنابراین بنزیل الکل به‌عنوان حلال استخراج کننده انتخاب شد.

بهینه سازی سرعت همزدن

در روش HS-LPME انتقال آنالیت‌ها از محلول نمونه به فاز گازی، به‌وسیله همزدن محلول نمونه می تواند افزایش یابد، در نتیجه راندمان استخراج افزایش می‌یابد و باعث کاهش زمان استخراج می‌شود. برای بررسی اثر سرعت همزدن روی میزان استخراج آنالیت، محلول های استاندارد ایزوآمیل استات در دمای اتاق با سرعت‌های مختلف توسط یک مگنت مغناطیسی بر روی همزن مغناطیسی همزده شدند. همانطور که از شکل ۴ می‌توان دید همزدن محلول نمونه، باعث افزایش کارایی استخراج تا سرعت ۱۲۵۰ دور در دقیقه می‌شود. سرعت‌های همزدن بالاتر به علت پرانده شدن محلول، لرزش سیستم و در نتیجه ناپایداری قطره و تأثیری که بر روی دقت و تکرارپذیری استخراج می‌گذارد، استفاده نشد. بنابراین، سرعت چرخش ۱۲۵۰ دور در دقیقه به‌عنوان سرعت چرخش بهینه انتخاب شد و برای ادامه کار از همین سرعت استفاده شد.

بهینه سازی زمان استخراج

اثر زمان بر بازدهی استخراج، در بازه زمانی۴۰/۰– ۵/۰ دقیقه در دمای اتاق با سرعت چرخش ۱۲۵۰ دور در دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به شکل ۵، پاسخ تجزیه‌ای دستگاه که معرف کارایی استخراج است، برای ایزوآمیل استات تادقیقهٔ ۱۵/۰ افزایش سریعی در میزان استخراج دیده می‌شود و پس از آن با شیب خیلی ملایم‌تری افزایش صورت می‌گیرد که می‌توان گفت در این بازه، تعادل برقرار می‌شود ولی از آنجایی که روش، یک روش استخراجی کامل نیست، برای داشتن استخراج با تکرارپذیری خوب، تنها لازم است که یک زمان انتخاب شود که بین میکروقطره استخراج کننده، فضای فوقانی و محلول نمونه تعادل برقرار شده باشد [۱۵]. بنابراین زمانیکه تعادل پایدار برقرار شود، مقدار آنالیت انتقال یافته به حداکثر مقدار خود می‌رسد [۱۶]. از سوی دیگر، طولانی کردن زمان استخراج منجر به تبخیر قطره و در نتیجه کاهش حساسیت و دقت می‌شود [۱۷]. بنابراین با توجه به توضیحات داده شده، زمان ۱۵/۰ دقیقه به‌عنوان زمان استخراج بهینه در ادامه کار انتخاب شد.

بهینه سازی حجم قطره آلی استخراج کننده

به‌کارگیری یک قطره بزرگ آلی منجر به افزایش پاسخ تجزیه‌ای می‌شود. برای پیداکردن حجم مناسب قطره، حجم‌های ۰/۵ تا ۳/۵ میکرولیتری از بنزیل الکل برای استخراج ایزوآمیل استات به‌کار گرفته شد. ارتباط میان حجم قطره آلی و مساحت سطح زیر پیک کروماتوگرافی در شکل ۶ نشان داده شده است.

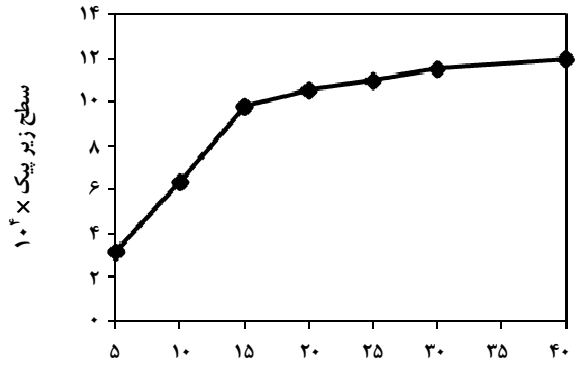
همان‌گونه که منحنی نشان می دهد، کارایی استخراج با افزایش حجم میکروقطره آلی تا ۳/۰ میکرولیتر افزایش می‌یابد. حجم های بالاتر از ۳/۰ میکرولیتر به‌خاطر عدم استقرار قطره درنوک میکروسرنگ و افتادن آن، به‌خصوص هنگامی که محلول نمونه به شدت هم‌زده می‌شود، مورد بررسی قرار نگرفت. به نظر می‌رسد حجم ۳/۰ میکرولیتر بهترین حجم برای ادامه کار باشد، اما پس از بهینه کردن شرایط دما حجم ۲/۵ میکرولیتر به‌عنوان حجم فاز استخراج کننده انتخاب شد.

بهینه سازی اثر دمای فاز دهنده

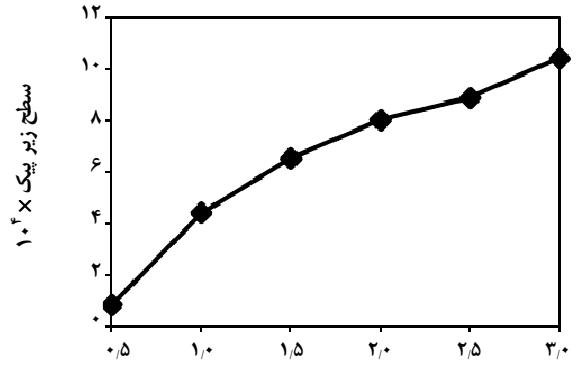
به دلیل اینکه ضریب‌های نفوذ آنالیت‌ها به دما وابسته هستند، بنابراین یک دمای بهینه برای استخراج وجود دارد. دما تأثیر چشمگیری بر روی سینتیک و ترمودینامیک فرایند استخراج دارد. روشن است که با افزایش دما، میزان آنالیتی که به فاز فضای بالایی وارد می‌شود افزایش می‌یابد، فرایندی که برای میکرواستخراج از فضای بالایی، دلخواه می‌باشد، اما از یک دما به بعد، با زیادتر شدن دما، از استخراج کاسته می شود. این موضوع به دلیل آن است که فرایند جذب آنالیت به درون قطره، فرایندی گرمازا می‌باشد. به این منظور بازه‌ی دمایی از ۱۰/۰ تا ۵۰/۰ درجه سانتیگراد با قرار دادن ظرف حاوی نمونه آبی، درون یک حمام آب مورد مطالعه قرار گرفت. از حجم ۲/۵ میکرولیتری برای میکرو قطره استفاده شد. با توجه به شکل ۷ می‌توان دید که با افزایش دما از ۱۰/۰ تا ۳۰/۰ درجه سانتیگراد افزایشی در سیگنال تجزیه‌ای و در نتیجه استخراج آنالیت ایجاد شده است و به‌کارگیری دماهای بالاتر منجر به کاهش استخراج می‌شود، بنابراین دمای ۳۰/۰ درجه سانتیگراد برای محلول نمونه انتخاب شد و درادامه کار این دما به‌عنوان دمای بهینه به‌کارگرفته شد.

بهینه سازی اثرحجم نمونه (فاز دهنده)

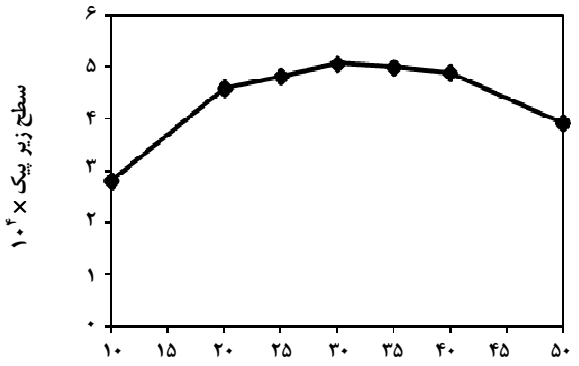
در میکرواستخراج فاز مایع از فضای بالایی، ترکیب K_{oh} (ثابت توزیع فضای فوقانی ـ قطره آلی) و K_{ns} (ثابت توزیع محلول ـ فضای بالایی) اهمیت اثر حجم نمونه روی مقدار آنالیت استخراج شده در میکروقطره را نشان می‌دهند. افزایش در حجم نمونه و در نتیجه کاهش در حجم فضای فوقانی مقدار آنالیت استخراج شده را افزایش می‌دهد که منجر به افزایش حساسیت می‌شود [۱۹ ، ۱۸]. اثر حجم فاز دهنده بر روی میزان استخراج آنالیت مورد نظر به صورت زیر بررسی شد. حجم‌های ۱و ۲و ۴ و ۶ و ۸ میلی‌لیتر از محلول ایزوآمیل استات برداشته و استخراج صورت گرفت.



شکل ۵ ـ اثرزمان استخراج برکارایی استخراج نسبی آنالیت.



شکل ۶ ـ اثرحجم قطره آلی برکارایی استخراج نسبی آنالیت.



شکل ۷ـ اثر دمای محلول نمونه آبی(فاز دهنده) بر کارایی استخراج نسبی آنالیت.

نتیجه‌های به دست آمده از تأثیر حجم فاز دهنده روی پاسخ تجزیه‌ای دستگاه در شکل ۸ نشان می‌دهد که با افزایش حجم فاز دهنده از ۱ تا ۸ میلی‌لیتر در یک ویال با حجم ثابت ۱۰ میلی‌لیتر، میزان استخراج و در نتیجه سطح زیر پیک آنالیت افزایش می‌یابد، علت این افزایش در سیگنال این است که حجم فضای بالایی کاهش یافته و در نتیجه امکان استخراج بیشتر در قطره فراهم می‌شود. ولی به‌خاطر اینکه در حجم های بالا احتمال آلوده شدن قطره به محلول وجود داشت و همچنین احتمال افتادن قطره افزایش می‌یافت بنابراین حجم ۵ میلی‌لیتر به‌عنوان حجم بهینه در این پژوهش انتخاب شد.

اثر قدرت یونی

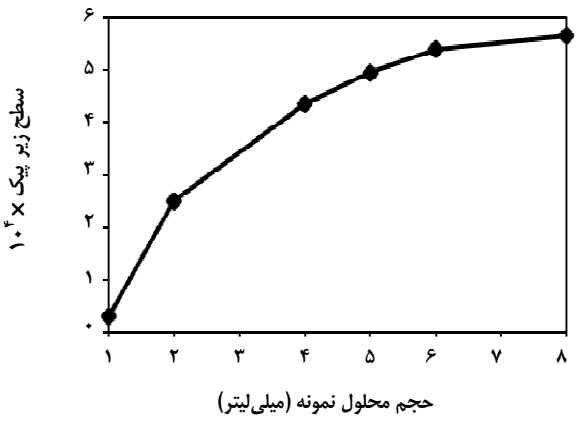
در روش HS-LPME بسته به آنالیت‌های مورد نظر، افزایش در قدرت یونی محلول آبی ممکن است که اثرهای گوناگونی روی استخراج داشته باشد: ممکن است باعث افزایش استخراج شود [۲۲ ـ ۲۰]، بدون اثر باشد [۲۵ـ۲۳] و یا اینکه استخراج را محدود کند [۲۶ ، ۲۰]. برای بررسی اثر اضافه کردن نمک روی میزان استخراج، از ویال‌های دارای ۵ میلی لیتر محلول آبی ۱ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به ایزوآمیل استات استخراج انجام شد درحالی که به آنها سدیم کلرید با غلظت‌های مختلف در بازه‌ی ۰/۱ تا ۰/۴ گرم بر میلی‌لیتر افزوده شده بود. در شکل ۹ مساحت زیر پیک آنالیت بر حسب تابعی از غلظت نمک سدیم کلرید افزوده شده رسم شده است. با افزایش نمک، قدرت یونی محلول افزایش می‌یابد و مولکول‌های آب بیشتر تمایل دارند که در اطراف یون‌های نمک اضافه شده تجمع یابند، در نتیجه از حلالیت ماده آلی در آب کم شده و فراریت آن زیاد می‌شود و مقدار بیشتری ماده آلی وارد فضای بالایی شده و استخراج افزایش می‌یابد. بنابراین غلظت ۰/۳۴ گرم بر میلی‌لیتر به‌عنوان مقدار بهینه نمک انتخاب شد پارامترهای بهینه شده برای روش HS-LPME-GC-FID در جدول ۱ نشان داده شده است.

محدوده خطی کالیبرلسیون، حد تشخیص و دقت

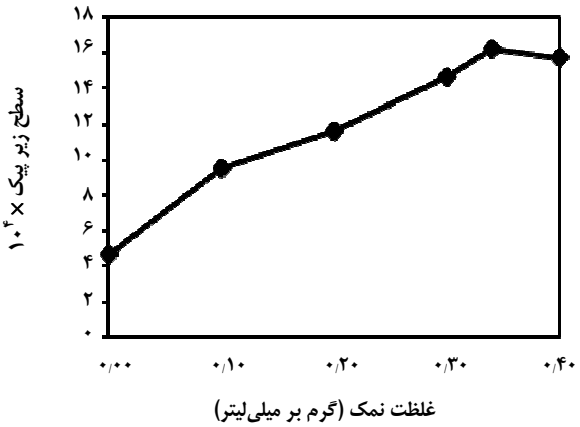
منحنی کالیبراسیون برای ایزوآمیل استات در گستره غلظتی ۱۳۰۰– ۵ میکروگرم بر لیتر رسم شد. برای هر نقطه، سه آزمایش تکراری انجام گرفت. حد تشخیص (DL) با توجه به معادله (۱) برای ایزوآمیل استات ۰/۵ میکروگرم بر لیتر و گستره خطی منحنی کالیبراسیون ۱۳۰۰ ـ ۵ میکرو گرم بر لیتر محاسبه شد (R^2=۰/۹۹۹). ضریب تغلیظ برای ایزوآمیل استات ۲۷۴ درصد تعیین شد.

جدول ۱ـ شرایط بهینه برای استخراج ایزوآمیل استات با روش HS-LPME-GC-FID.

عامل مؤثر برای استخراج	مقدار بهینه شده
حلال استخراج کننده	بنزیل الکل
سرعت همزدن	۱۲۵۰ دور در دقیقه
زمان استخراج	۱۵/۰ دقیقه
حجم میکروقطره	۲/۵ میکرولیتر
دمای محلول	۳۰/۰ درجه سانتیگراد
حجم فازدهنده	۵/۰ میلی لیتر
مقدار نمک	۰/۳۴ گرم برمیلی لیتر



شکل ۸ ـ اثر حجم نمونه آبی (فاز دهنده) بر کارایی استخراج نسبی آنالیت.



شکل ۹ـ اثر غلظت نمک سدیم کلرید بر کارایی استخراج نسبی آنالیت.

جدول ۲ـ عددهای با ارزش برای میکرواستخراج از فضای فوقانی، برای ایزوآمیل استات.

ضریب تغلیظ (٪)	حد تشخیص (میکروگرم بر لیتر)	محدوده خطی منحنی کالیبراسیون (میکروگرم بر لیتر)	ضریب همبستگی در محدوده خطی منحنی (R^2)	عرض از مبدا	شیب
۲۷۴	۰/۵	۵ –۱۳۰۰	۰/۹۹۹	۰/۳۲۷۸	۰/۰۱۱۸

جدول ۳ـ نتیجه‌های اندازه‌گیری ایزوآمیل استات در نمونه آب شهر زاهدان (۴= n[۳]).

انحراف استاندارد نسبی (٪ RSD[(۱)])	درصد بازیابی[(۲)]	مقدار یافت شده (میکروگرم بر لیتر)	مقدار افزوده شده (میکروگرم بر لیتر)	نمونه
۲/۷۵	۱۰۲/۱	۵۱/۰	۵۰/۰	آب شهر آلوده شده با ایزوآمیل استات
۲/۳۹	۱۰۱/۸	۲۰۳/۵	۲۰۰/۰	
۲/۷۹	۱۰۳/۲	۴۱۲/۸	۴۰۰/۰	

(۱) Relative Standard Deviation
(۲) Recovery

جدول ۴ـ نتیجه‌های اندازه‌گیری ایزوآمیل استات در نمونه صابون مایع.

درصد بازیابی		انحراف استاندارد نسبی (%RSD) (n=۳)		مقدار به‌دست آمده از روش[۲] (میلی گرم بر لیتر)	مقدار به‌دست آمده از روش[۱] (میلی گرم بر لیتر)	مقدار واقعی ایزوآمیل استات در صابون (میلی گرم بر لیتر)
روش[۲]	روش[۱]	روش[۲]	روش[۱]			
۱۰۳/۱۸	۱۰۱/۸۲	۲/۷۴	۲/۴۸	۲۲۷	۲۲۴	۲۲۰

۱ـ روش منحنی کالیبراسیون، ۲ـ روش استاندارد افزایشی، ۳ـ n= تعداد دفعات تکرار آزمون

$$DL = ۳\ S_b / m \qquad (۱)$$

بازه‌ی خطی منحنی کالیبراسیون، ضریب همبستگی در بازه‌ی خطی منحنی، حد تشخیص، ضریب تغلیظ، شیب و عرض از مبدا برای ایزوآمیل استات، در جدول ۲ نشان داده شده‌اند. سپس کارآیی روش جهت استخراج از نمونه‌های آب و صابون مایع بررسی شد. جدول۳ نتایج استخراج ایزوآمیل استات از نمونه آب شهر زاهدان به کمک فناوری مورد نظر را نشان می دهد.

در نمونه صابون مایع با غلظت ۲۲۰ میلی گرم بر لیتر علاوه بر استفاده از منحنی کالیبراسیون، از روش استاندارد افزایشی[(۱)] نیز، برای تعیین مقدار ایزوآمیل استات استفاده شد. انحراف استاندارد نسبی و درصد بازیابی برای هر دو روش در جدول ۴ آورده شده است.

نتیجه‌گیری

روش میکرواستخراج مایع از فضای بالایی، HS-LPME، روشی سریع، ارزان، ساده با دقت خوب و تکرار پذیری مناسب برای اندازه‌گیری ایزوآمیل استات است که از حجم بسیار ناچیز حلال (۲/۵ میکرولیتر)، جهت استخراج استفاده شده است. هر آنالیز حدود ۱۴/۵ دقیقه به طول می‌انجامید. این فناوری حساسیت بالا و حد تشخیص پایینی دارد و می‌تواند مقدارهای بسیار کم در حد میکروگرم بر لیتر ایزوآمیل استات را اندازه‌گیری کند. این روش برای آنالیز، نیاز به دستگاه‌ها و وسایل آزمایشگاهی گران قیمت و پیچیده ندارد همچنین استخراج و پیش تغلیظ ایزوآمیل استات در یک مرحله صورت می‌گیرد.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۰/۲۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۱/۴

(۱) Standard Addition

مراجع

[1] http://facultystaff.vwc.edu/~jeaster/courseinfo/312/312Nature2003.html# Isopentyl %20Acetate.

[2] http://www.ilo.org/public/english/protection/safework/cis/products/icsc/dtasht/_icsc03/icsc0356.pdf.

[3] http://www.osha.gov/dts/sltc/methods/partial/pv2142/pv2142.html.

[4] http://www.bartleby.com/61/21/B0052100.html.

[5] http://www.itim-cj.ro/PIM/2003/volum/poster Mole Cula/PM13.doc.

[6] Haràk T., Kellner V., ČulÍk J., Jurková M., Čejka P., Determination of Some Beer Flavors by Stir Bar Sorptive Extraction and Solvent Back Extraction, *J. Inst. Brew.*, **113**, p. 154 (2007).

[7] Lord, H. and Pawliszyn, J., Evolution of Solid Phase Microextraction Thechnology, *J. Chromatogr. A,* **855**, p. 153, (2000).

[8] Pawliszyn, J., Sample Preparation Quo Vadis?, *Anal. Chem.,* **75**, p. 2543 (2003).

[9] Belord, R.G. and Pawliszyn, J., The Application of Chemically Modified Fused Silica Fibers in the Extraction of Organics from Water Matrix Samples and Their Rapid Transfer to Capillary Columns, *Water Pollut. Res. J. Can.,* **24**, p. 179 (1989).

[10] Arthur, L.C. and Pawliszyn, J., Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers, *Anal. Chem.,* **69**, p. 2145 (1990).

[11] Colombini, V., Bancon-Montigny, C., Yang, L., Maxwell, P., Sturgeon, and R.E., Mester, Z., Headspace Single Drop Microextraction for the Detection of Organotin Compounds, *Talanta,* **555**, p. 63 (2004).

[12] Khajeh, M., Yamini, Y. and Hassan, J., Trace Analysis of Chlorobenzenes in Water Samples Using Headspace Solvent Microextraction and Gas Chromatography/Electron Capture Detection, *Talanta,* **69**, p. 1088 (2006).

[13] Kaykhaii, M. and Rahmani, M., Head Space Liquid Phase Microextraction for Quantitation of Hexanal in Patato Crisps by Gas Chromatography, *J. Sep. Sci.,* **30**, p. 573 (2007).

[14] Melwanki, M.B., Hsu, W. and Huang, S., Determination of Clenbuterol in Urine Using Headspace Solid Phase Microextraction or Liquid- Liquid- Liquid Microextraction, *Anal. Chim. Acta,* **552**, p. 67 (2005).

[15] Trankeviciute, A., Kazlauskas, R. and Vickackaite, V., Headspace Extraction of Alcohols into a Single Drop, *Analyst,* **126**, p. 1674 (2001).

[16] Shariati - Feizabadi, S., Yamini, Y. and Bahramifar, N., Headspace Solvent Microextraction and Gas Chromatographic Determination of Some Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water Samples, *Anal. Chim. Acta,* **489**, p. 21 (2003).

[17] Psillakis, E. and Kalogerakis, N., Application of Solvent Microextraction to the Analysis of Nitro Aromatic Explosives in Water Samples, *J. Chromatogr. A,* **907**, p. 211 (2001).

[18] Gorecki, T. and Pawliszyn, J., Effect of Sample Volume on Quantitative Analysis by Solid Phase Microextraction, *Analyst,* **122**, p. 1079 (1997).

[19] Liompart, M., Li, K. and Fingas, M., Headspace Solid Phase Microextraction (HS-SPME) for the Determination of Volatile and Semivolatile Pollutants in Solids, *Talanta,* **48**, p. 451 (1999).

[20] Shen, G. and Lee, H.K., Headspace Liquid Phase Microextraction of Chlorobenzenes in Soil with Gas Chromatography Electron Capture Detection, *Anal. Chem.,* **75**, p. 948 (2003).

[21] Zhao, L., Zhu, L. and Lee, H.K., Analysis of Aromatic Amines in Water Samples by Liquid- Liquid- Liquid Microextraction with Hollow Fibers and High-Performance Liquid Chromatography, *J. Chromatogr. A,* **963**, p. 239 (2002).

[22] Basheer, C., Lee, H.K. and Obbard, J.P., Determination of Organo Chlorine Pesticides in Sea Water Using Liquid Phase Hollow Fiber Membrane Microextraction and Gas Chromatography, *J. Chromatogr. A,* **968**, p. 191 (2002).

[23] Zhu, L., Zhu, L. and Lee, H.K., Liquid- Liquid- Liquid Microextraction of Nitrophenols with a Hollow Fiber Membrane Prior to Capillary Liquid Chromatography, *J. Chromatogr. A,* **924**, p. 407 (2001).

[24] Ugland, H.G., Krogh, M. and Rasmussen, K.E., Liquid Phase Microextraction as a Simple Preparation Technique Prior to Capillary Gas Chromatographic Determination of Benzodiazepines in Biological Matrices, *J. Chromatogr. B,* **749**, p. 85 (2000).

[25] Zhu, L., Ee, K.H., Zhao, L. and Lee, H.K., Analysis of Phenoxy Herbicides in Bovine Milk by means of Liquid- Liquid- Liquid Microextraction with a Hollow Fiber Membrane, *J. Chromatogr. A,* **963**, p. 335 (2002).

[26] Psillakis, E. and Kalogerakis, N., Hollow Fiber Liquid Phase Microextraction of Phthalates Esters from Water, *J. Chromatogr. A,* **999**, p. 145 (2003).