



Erol ALVER*, Ayla DEMİRCİ, Mustafa ÖZCİMDER

Kırıkkale Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Yahşihan-KIRIKKALE

Received/Geliş: 04.07.2011 Revised/Düzelme: 02.01.2012 Accepted/Kabul: 05.01.2012

ABSTRACT

Accurate, rapid and economic qualitative and quantitative analysis of trace amount substances in biological, environmental and food products is an important issue. Mostly, such substances must be taken from the matrix (separation) and concentrated (enrichment) before determining with analytical equipment. For these processes liquid-liquid, solid-liquid extraction and solid phase extraction are commonly used. However these methods are recently replaced by microextraction methods minimizing organic solvent consumption, simplifying sample preparation steps, providing high enrichment rates and appropriate to automation.

Keywords: Microextraction, sample preparation, organic pollutants.

MİKROEKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ

ÖZET

Biyolojik, çevresel ve gıda ürünlerindeki eser miktardaki maddelerin kalitatif ve kantitatif analizlerinin hassas, doğru, hızlı ve ekonomik bir şekilde yapılması önemli bir konudur. Bu matris örneklerden analitik cihazlar ile tayinde çoğu zaman maddenin ortamdan alınması (ayırma) ve deriştirilmesi (zenginleştirme) gerekmektedir. Bu işlemler için sıvı-sıvı ekstraksiyon, katı-sıvı ekstraksiyon ve katı faz ekstraksiyon yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler son yıllarda yerlerini organik çözücü tüketimini en aza indiren, örnek hazırlama basamağını basitleştiren, yüksek zenginleştirme oranı sağlayan ve otomasyona uygun mikroekstraksiyon yöntemlerine terk etmeye başlamışlardır.

Anahtar Sözcükler: Mikroekstraksiyon, örnek hazırlama, organik kirleticiler.

1. GİRİŞ

Son yıllarda matris örneklerin kalitatif ve kantitatif analizinde hassas, doğru ve hızlı yöntemlerin geliştirilmesi önemli bir konu haline gelmiştir. Ancak biyolojik, çevresel, gıda ve eczacılık ürünlerinin analizinde yüksek hassasiyetli analitik cihazlar geliştirilmesine rağmen, analitik cihaz çoğunlukla matris ortamında tayinde başarısız olmaktadır. Bundan dolayı matris ortamdan analitleri alma (ayırma), deriştirme (zenginleştirme) için genellikle ön işlem uygulanması gerekmektedir [1]. Ayırma ve zenginleştirme işlemleri genelde damıtma, bir katı yüzeyine adsorpsiyon ve ekstraksiyon gibi işlemler yapılarak gerçekleştirilir [2]. Ekstraksiyon işlemleri çoğunlukla sıvı-sıvı, katı-sıvı ve katı faz ekstraksiyon şeklinde uygulanmaktadır. Bu yöntemler, zaman alıcı, karmaşık ekstraksiyon adımları içeren, fazla miktarda örnek ve çözücü gerektiren

* Corresponding Author/Sorumlu Yazar: e-mail/e-ileti: erolalver@hotmail.com, tel: (318) 357 42 42 / 4078

yöntemlerdir. Bu dezavantajlar organik çözücü tüketimini minimize eden, otomasyona imkân sağlayan, ekstraksiyon basamaklarını basitleştiren ve daha iyi zenginleştirme sağlayan mikroekstraksiyon yöntemlerine ilgiyi artırmıştır.

2. MİKROEKSTRAKSİYON

Karmaşık örneklere uygulanan ayırma ve zenginleştirme işlemleri ile örnek, analiz için istenilen özelliklere getirilir. Klasik örnek hazırlama teknikleri sıvı-sıvı ekstraksiyon, katı-sıvı ekstraksiyon ve katı faz ekstraksiyonu gibi yöntemlerin otomasyon zorluğu, örnek ve organik sıvının büyük miktarda kullanılması, karmaşık ve zaman alıcı olması gibi dezavantajları vardır. Zararlı kimyasalların ve organik çözücülerin büyük miktarlarda kullanılması çevre kirliliğine, laboratuvar personeline sağlık risklerine, atık artıma ve ilave işletme maliyetlerine sebep olur. İdeal örnek hazırlama teknikleri hızlı, kullanımı kolay, ucuz ve birçok analitik cihaza uygulanabilir olmalıdır. Bu konudaki yeni eğilim organik çözücü tüketimini en aza indirmek, örnek hazırlama basamağını basitleştirme ve küçültme şeklindedir [1,3]. Bu nedenle mikroekstraksiyon yöntemlerine ilgi önemli ölçüde artmıştır. Mikroekstraksiyon yöntemleri;

- Klasik sıvı-sıvı ekstraksiyon ve sıvı-katı ekstraksiyonlarda kullanılan toksik ve pahalı ekstraksiyon sıvılarının kullanımını mikrolitre seviyelerine indirmeleri,
- Buharlaştırma, saflaştırma gibi işlemlere gerek duyulmaması,
- Yüksek zenginleştirme oranı,
- Ekstraksiyon ve zenginleştirmenin yanısıra ayırma işleminin de yapılabilmesi,
- Ekstraksiyon sonrasında alınan örneğin doğrudan gaz kromatografi (GC) veya yüksek basınç sıvı kromatografi (HPLC)'ye enjekte edilebilmesine olanak sağlaması ve
- Otomasyonun yapılabilmesi gibi

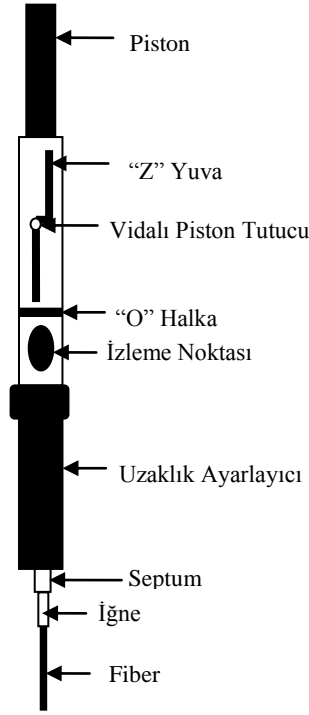
avantajlarından dolayı son zamanlarda klasik sıvı-sıvı, katı-sıvı ve katı faz ekstraksiyon yöntemlerinin yerlerini almaya başlamışlardır.

2.1. Katı Faz Mikroekstraksiyon (SPME)

Katı faz mikroekstraksiyon (SPME) yöntemi, hava ya da su matrisindeki maddeleri, ergitilmiş silika üzerine polimer kaplı fibere ekstrakte eden basit, hızlı, duyarlı ve organik çözücüden bağımsız bir örnek hazırlama yöntemidir [4]. İlk olarak Arthur ve Pawliszyn tarafından 1990 yılında geliştirilmiştir [5]. 1993 yılında ise ticari olarak üretilmeye başlanmıştır. Polidimetilsiloksan (PDMS), divinilbenzen (DVB), poliakrilat (PA), carboxen (CAR) ve carbowax (CW; polietilen glikol) fiber üretiminde kullanılırlar [6-8]. Ayrıca polidimetilsiloksan/divinilbenzen (PDMS/DVB) carboxen/polidimetilsiloksan (CAR/PDMS), carbowax/divinilbenzen (CW/DVB) gibi farklı özelliklerde de fiberler hazırlanabilir [8].

Şekil 1'de katı faz mikroekstraksiyon (SPME) enjektörü görülmektedir. Polimerik adsorban ile kaplanmış ergitilmiş silika SPME enjektörünün içine yerleştirilir. SPME enjektörü analiz edilecek örnek çözeltisine yerleştirildikten sonra piston aşağı doğru ittilerek fiberin iğne ucundan çıkması sağlanır. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra fiber tekrar geri çekilir. SPME enjektör desorpsiyon işlemi için GC'nin enjeksiyon bölgesine veya HPLC'de ara faza yerleştirildikten sonra fiber, iğneden tekrar çıkarılarak desorpsiyon işlemi yapılır.

SPME fiberden maddelerin desorpsiyonu, bir çözücü ile (metanol, asetonitril gibi) veya GC enjeksiyon bölgesinde yapılan termal desorpsiyon işlemi ile yapılmaktadır [9-12]. Çözücü kullanarak desorpsiyon sıvı kromatograf (LC) ve kapiler elektroforez (CE) ile kullanılır [13,14]. Sıvı kromatografide çözücü ile desorpsiyon için geliştirilmiş HPLC vanası ve sıvı haznesinden oluşan "ara-faz" sistemleri bulunmaktadır [15,16].



Şekil 1. Katı Faz Mikroekstraksiyon (SPME) Enjektörü

Katı Faz Mikroekstraksiyon, tepe boşluklu ekstraksiyon ve doğrudan daldırma ekstraksiyon olmak üzere iki şekilde uygulanır. Tepe boşluklu ekstraksiyon katı, sıvı veya gaz örneğin buhar fazının fiber ile etkileşimine dayanır. Tepe boşluklu analizde fiber örnek ile temas halinde değildir. Buhar fazındaki maddeler difüzyon veya doğal hava akımı yolu ile fibere ulaşır. Doğrudan ekstraksiyonda ise fiber, madde içeren sıvı örneğin içerisine doğrudan daldırılarak ekstraksiyon sağlanır [6,7, 17-19].

SPME tek basamakta örnekten maddeyi zenginleştirme, matriksden ayırma ve de tayin etme işlemidir. Geliştirildiğinden beri bu yöntem çevresel, biyolojik ve gıda analizlerinde geniş bir kullanım alanı bulmaktadır [6,16,20]. Örneğin, sularda uçucu organik bileşiklerin [21,22], biyolojik olarak aktif maddelerin [23], fenollerin [24], pestisitlerin [25,26] ve poliaromatik hidrokarbonların [27] tayininde kullanılmıştır.

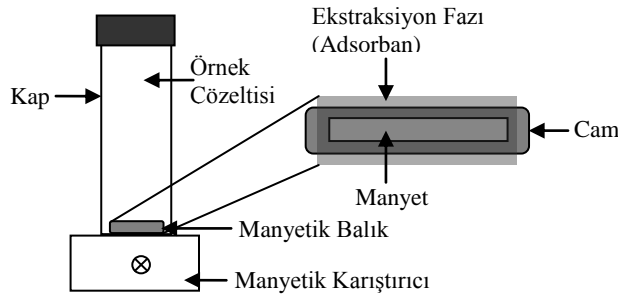
Klasik örnek hazırlama yöntemleri ile karşılaştırıldığında SPME'nin önemli avantajları vardır. Maddelerin ekstraksiyonu için hızlı, basit ve çözücü kullanmayan hassas yöntemlerdir. Analitler, matriks ortamdan ekstrakte edilirken aynı zamanda zenginleştirilir. Adsorpsiyon ve desorpsiyon tekniği etkili ve basittir. Analitleri ayırma ve tayin etmede, HPLC ile kullanıma uygundur [7,8,28].

SPME fiberler giderek artan oranda kullanılmalarına rağmen bazı önemli dezavantajlara da sahiptirler. Termal desorpsiyonda (GC) nispeten düşük sıcaklık aralığında çalışılması (genellikle 240–280°C) gerekir. Fiberlerin organik çözücü ile temasta kararsızlıkları ve şişmeleri (büyük ölçüde HPLC ile kullanımına sınırlama), kırılması, kaplamasının sıyırılması, iğnesinin eğilmesi, pahalı oluşu [28], kullanım sayısındaki sınırlama [29], polarite derecesi düşük ticari

sabit faz türünün sınırlı olması, düşük tekrarlanabilirlik (repeatability) ve seçiciliğinin az olması [7] gibi dezavantajlar sayılabilir. Ancak bu dezavantajlara rağmen SPME teknolojisi biyoanalitik, çevre ve gıda gibi birçok alanda kullanılmaktadır [6].

2.2. Manyetik Karıştırma Çubuğu ile Ekstraksiyon (SBSE)

1999 yılında Baltusen ve ark. tarafından yeni bir ekstraksiyon tekniği olarak tanıtılmıştır [30]. Manyetik karıştırma çubuğu ile ekstraksiyon (SBSE) olarak isimlendirilen bu ekstraksiyon tekniği, cam üzerine 50–300 μ L (0.5–1.0 mm kalınlık) PDMS kaplanmış manyetik karıştırıcının ekstraksiyon ortamına konulması ile kullanılır [30,31]. Manyetik çubuk yaklaşık 1.5 cm uzunluğunda, 0.5 cm çapındadır. SBSE’de maddeler Şekil 2’de görüldüğü gibi örneği karıştırmak için kullanılan manyetik çubuk üzerindeki PDMS tarafından adsorbe edilir.



Şekil 2. Manyetik Karıştırma Çubuğu İle Ekstraksiyon (SBSE) Sistemi

Manyetik çubuktan maddelerin alınması iki şekilde olabilir. Ya manyetik çubuktaki maddeler termal desorpsiyon cihazında buharlaştırılarak GC ile tayin edilir, ya da magnetik çubuk metanol (MeOH), asetonitril (ACN) gibi çözücülere daldırılıp karıştırma veya sonikasyon ile maddeler geri alınarak HPLC, CE veya GC ile analiz edilir [32-35].

SBSE’nin ekstraksiyon mekanizması ve avantajları SPME’ye benzerdir. Ancak zenginleştirme faktörü ekstraksiyon fazının miktarı ile doğru orantılı olduğundan, SPME’ye göre çok daha fazladır. Genel olarak daha karmaşık matrislerde eser miktarda madde tayinlerinde kesinlik ve duyarlılık açısından SBSE’nin SPME’ye göre daha iyi olduğu düşünülür [7]. SPME’de olduğu gibi SBSE de çevresel, gıda ve biyolojik örneklerdeki uçucu ve yarı uçucu maddelerin tayininde kullanılır. SBSE sıvılarda ve yarı katı matris ortamlarda kullanılabilir [6]. Sulu örneklerde PAH analizlerinde [36,37], sebze ve meyvelerdeki pestisit kalıntılarının belirlenmesinde [38], kullanılabilir.

SBSE, PDMS kaplı olduğu için çoğunlukla sulu ortamlarda apolar ve yarı polar bileşiklerin analizi için uygundur. Uygun türev işlemleri ile polar bileşiklerin analizinde de kullanılabilir [39]. Yöntemde manyetik çubuğun doğrudan GC enjeksiyon bölgesinde desorbe edilemeyip özel olarak dizayn edilmiş termal desorpsiyon cihazı gerektirmesi, tam otomasyona uygun olmaması dezavantaj olarak sayılabilir [7].

2.3. Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (LPME)

Sıvı faz mikroekstraksiyonun (LPME) klasik sıvı-sıvı ekstraksiyondan en önemli farkı ekstraksiyon sıvısının mikrolitre düzeylere indirilmesidir. Böylece zenginleştirme yapılırken, hem çözücü kaybı önlenir hem de buharlaştırma işlemine gerek kalmaz. LPME ile ekstraksiyonda maddeler genellikle sulu bir örnek (verici faz) içerisinde yer alır. Su ile karışmayan organik çözücü

alıcı faz olarak kullanılır. Sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi aşağıdaki şekillerde uygulanır;

- I) Asılı Damla Mikroekstraksiyon (SDME)
- II) Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon (DLLME)
- III) Yüzen Katı Organik Damla Mikroekstraksiyon (SFODME)
- IV) Oyuk (Hollow) Fiber Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (HF-LPME)

2.3.1. Asılı Damla Mikroekstraksiyon (SDME)

Asılı damla mikroekstraksiyon (SDME) yönteminde, gaz veya sıvı örnek içerisinde karışmayan ekstraksiyon çözücü damlası (1–10 µL), enjektör ucunda asılı durur. Belirli bir zaman yapılan ekstraksiyon işlemi sonrasında maddeler sulu örnekten pasif difüzyon ile asılı damla içersine alınır ve GC, HPLC, CE ile analiz edilir [40].

Bu tekniğin popüler olmasının nedeni, herhangi bir karmaşık donanıma ihtiyaç duyulmaması, ucuz ve uygulamasının kolay olması, neredeyse çözücü kullanılmaması ve türev oluşturmanın mümkün olması sayılabilir. Yöntemin dezavantajları arasında damla yüzeyinin sınırlı olması, damlanın enjektör ucunda kararsız olması ve ekstraksiyon kinetiğinin yavaş olması sayılabilir [3].

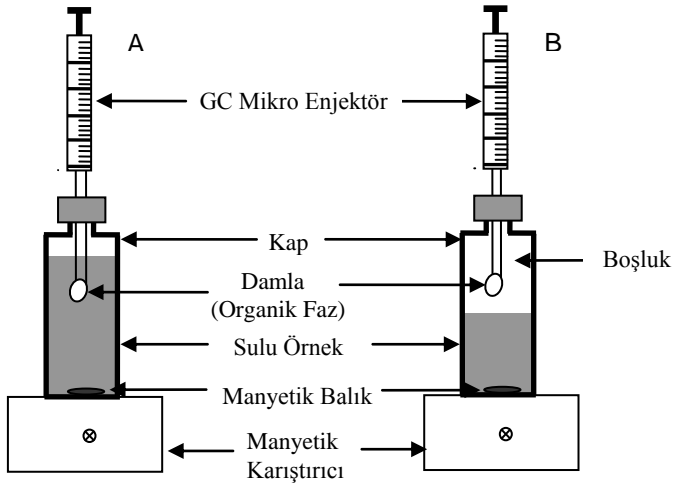
SDME yöntemi değişik biçimlerde uygulanabilir;

- Doğrudan Daldırma-Asılı Damla Mikroekstraksiyon (DI-SDME),
- Tepede-Asılı Damla Mikroekstraksiyon (HS-SDME),
- Üçlü Faz-Asılı Damla Mikroekstraksiyon (TP-SDME)
- Sürekli-Akış Mikroekstraksiyon (CFME)

Doğrudan daldırma-asılı damla mikroekstraksiyon (DI-SDME) yönteminde karıştırılan sulu örnek içerisinde, ekstraksiyon çözücü damlası mikro enjektör iğnesi ucunda askıda bırakılır. Örnekten maddeler damlaya geçer. Çözücü damlası enjektöre geri çekilerek analiz için GC veya HPLC'ye enjekte edilir. Bu statik SDME olarak tanımlanır [1,3,41].

Dinamik SDME'de ise ekstraksiyon çözücüsü çekilmiş enjektöre örnek çözeltisi çekilir. Enjektörün iğne ve duvar çeperlerinde ince bir film tabakası oluşturan ekstraksiyon çözücüsünün örnekten maddeleri ekstrakte etmesi için birkaç saniye bekletilir ve örnek dışarı atılır. Bu işlem birkaç dakika içinde çoğu kez tekrarlanır. Zenginleşen ekstraksiyon fazı GC veya HPLC'ye enjekte edilir. Sistem damla formu içermese de SDME yöntemi olarak isimlendirilmiştir [3,42].

Statik ve dinamik SDME karşılaştırıldığında; statik SDME çok iyi yinelenabilirlik (reproducibility) sağlamasına rağmen zaman alıcı ve zenginleştirme faktörü düşüktür. Dinamik SDME ise kısa zaman içinde yüksek zenginleştirme faktörleri sağlamasına rağmen elle kullanımdan dolayı yinelenabilirlik ve tekrarlanabilirlik düşüktür. Ancak bu dezavantaj otomatik enjektör pistonu kullanılarak azaltılmıştır [43,44].



Şekil 3. Asılı Damla Mikroekstraksiyon Sistemi
(A: Doğrudan Daldırma, DI-SDME; B: Tepe Boşluklu, HS-SDME)

Tepede-asılı damla mikroekstraksiyon (HS-SDME) yönteminde, mikro enjektörün ucunda asılı damla, örnek çözeltisinden bağımsız tepe boşluğuna yerleştirilir. Örnek ısıtılarak analiz edilecek maddelerin buharlaşıp damlaya geçmesi sağlanır. Ekstraksiyon sonrasında damla enjektöre geri çekilerek, GC veya HPLC'ye enjekte edilir. Yöntemde maddeler sulu faz, tepe boşluğu ve organik damla olmak üzere üç faza dağılır [3,45].

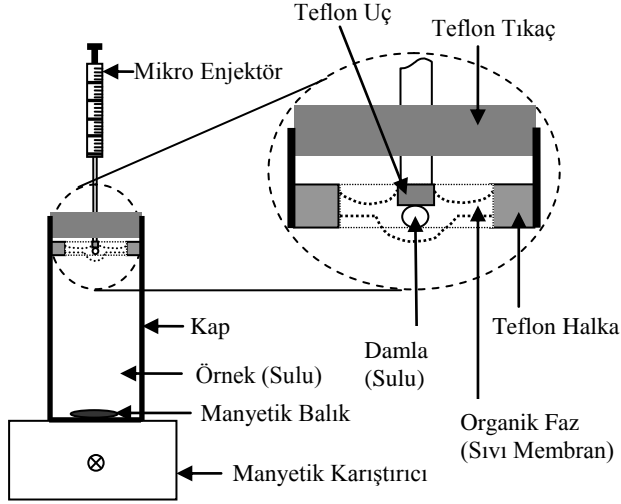
DI-SDME ile çevresel biyolojik ve gıda örneklerindeki apolar ve yarı polar bileşiklerin analizi yapılırken HS-SDME ile uçucu ve yarı uçucu bileşiklerin ve türevlemeye uygun uçucu bileşiklerin tayini yapılabilir [1,3 46-48].

DI-SDME ile karşılaştırıldığında, HS-SDME organik çözücü seçimi açısından oldukça esnek ve çözücünün örnek çözeltisi içindeki çözünürlüğünü dikkate almaya gerek yoktur. Ancak çözücü seçiminde ana sınırlayıcı, kendi buhar basıncıdır. Ekstraksiyon sırasında buharlaşmayı önlemek için buhar basıncı düşük olmalı ancak aynı zamanda GC'ye enjeksiyon için de uygun olmalıdır [1,49]. HS-SDME çok fazla matriks içeren örneklerde (uçucu olmayan bileşikler, yüksek molekül ağırlıklı) çok iyi bir ön temizleme sağlar [1,3]. DI-SDME'de damla yüksek karıştırma hızlarında kararsızdır. HS-SDME ise damla örnek ile temas etmediği için karıştırma hızından etkilenmez.

Ayrıca DI-SDME'nin aksine HS-SDME'de suda çözünen analitlerin ve uçucu ekstraktların analizinde su, mikro çözücü olarak kullanılabilir [1]. Metaloid (metalimsi), organometal ve ametallerin ekstraksiyonunda yüksek kaynama noktalı sıvılar ile çalışılabilir [3]. Ancak sulu örnekler ile analiz yapıldığı zaman eğer çözücü su ile karışırsa çapı büyür ve iğnenin ucundan kopmasına sebep olabilir. SDME ile ekstraksiyon sonrasında HPLC analiz için fazla tercih edilmemektedir. Çünkü SDME'de damlanın kararlı olması için damla hacmi, mümkün olduğunca küçük seçilir. Ancak HPLC çalışmalarında enjeksiyon hacminin 2 μL 'den daha büyük olması tercih edilir. Aynı zamanda seçilen çözücü hareketli faz ile uyumlu olmalıdır [1,49].

Üçlü faz-asılı damla mikroekstraksiyon (TP-SDME) yöntemi 1999 yılında Ma ve Cantwell tarafından uygulanmıştır. Sistemde pH'ın ayarlanabildiği verici faz, organik çözücü faz ve pH'ın ayarlanabildiği alıcı faz olmak üzere üç faz vardır [50]. TP-SDME yönteminde sulu örnek çözeltisi üzerinde teflon halka içerisine organik sıvı membran hapsedilir. Mikro enjektör yardımı ile alıcı sulu fazın mikro damlası organik sıvı membranın içerisinde askıda bırakılır. Sulu

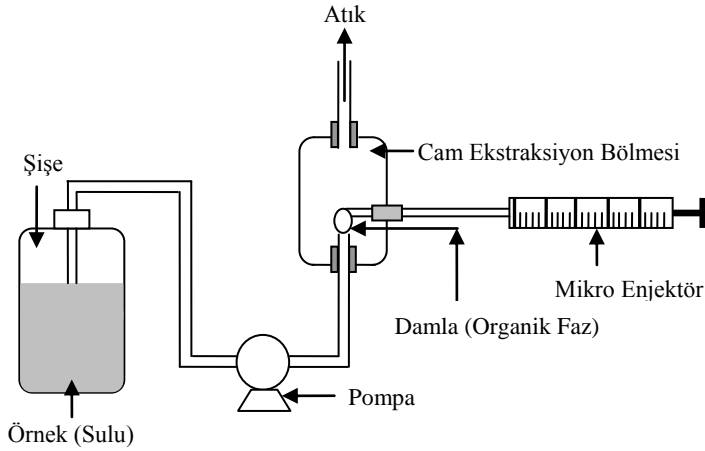
damla ve organik membran konfigürasyonu çok yüksek hızlarda karıştırma yapılmasına uygundur. Sulu örnek fazında pH'ın ayarlanması ya da bir kompleksleştirici reaktifin eklenmesi ile maddeler organik faza ekstrakte edilir. Buradan da koşulları ayarlanmış alıcı faza geri ekstrakte edilir. Sulu faza alınan ekstrakt HPLC, CE ve atomik spektroskopi (AS) gibi cihazlarla analiz yapmaya uygundur. Yöntem her ekstraksiyon sonrası kabın yıkanmasını gerektirmesi ve kap içerisinde teflon halkanın konumunun ayarlanma zorluğu gibi dezavantajlara sahiptir. Ayrıca halkanın her zaman belli konumda sabit durması gerekir [3].



Şekil 4. Asılı Damla Mikroekstraksiyon (Üçlü Faz-SDME) Sistemi

Sürekli akış mikroekstraksiyon (CFME) yöntemi 2000 yılında Liu ve Lee tarafından uygulanmıştır [51]. Bu yöntemde organik damla bir enjektör ile sisteme örnek taşıyan polieteterketon (PEEK) veya politetrafloroetilen (Teflon, PTFE) bağlantı borusunun ucuna bırakılır. Örnek, pompa ile sürekli olarak damla üzerine gönderilir ve sistemden dışarı atılır. Atılan örnek tekrar sisteme geri verilerek örnek hacmi çok daha fazla azaltılabilir [52,53]. Hem difüzyon hem de moleküler momentum, ekstraksiyon etkinliğine katkıda bulunur.

Bu yöntem organik çözücünün tam bir damla olması ve sürekli olarak yeni örnek çözeltisi ile temas halinde olması nedeniyle statik SDME'ye göre daha fazla zenginleştirme faktörü elde edilmesini sağlar. Ayrıca yüksek zenginleştirme faktörleri sağlanabildiğinden dolayı küçük hacimli örnekler ile çalışılabilir [1,3].



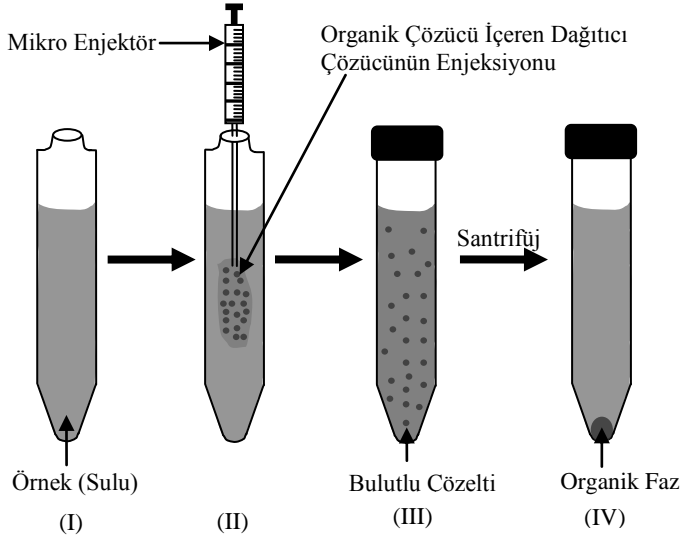
Şekil 5. Sürekli Akış Mikroekstraksiyon (CFME) Sistemi

Yöntem sulu örneklerden PAH'ların [54], pestisitlerin[55], uçucu organik bileşiklerin [56] ve inorganik bileşiklerin [57] tayininde kullanılmaktadır. SDME yöntemleri ile ekstrakte edilen maddelerin tayininde GC ve HPLC'nin yanı sıra mikro düzeyde örneklerle ölçüme izin veren elektro termal atomik absorpsiyon spektrometresi (ETAAS) ve elektro termal buharlaşma-indüktif eşlemeli plazma optik emisyon spektrometre/kütle spektrometresi (ETV-ICPOES/MS) gibi cihazlar kullanılabilir [58]. Son yıllarda, kapiler elektroforez (CE), SDME sonrası hem iyonik hem de nötr bileşikler için son derece cazip bir ayırma tekniği haline gelmiştir [1].

2.3.2. Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon (DLLME)

Rezaee ve ark. bir kaç mililitre dağıtıcı çözücü ile birlikte mikro hacimde ekstraksiyon çözücüsünün kullanıldığı yeni bir mikroekstraksiyon yöntemi geliştirmişlerdir [59]. Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME) yöntemi, homojen sıvı-sıvı ekstraksiyonu (HLL) ve bulutlanma noktası ekstraksiyonu (CPE) yöntemlerine benzer bir üçlü çözücü sistemine dayanmaktadır [60].

Yöntem hedef maddeleri içeren sulu örnek (I) içersine dağıtıcı ve ekstraksiyon çözelti karışımının hızlı bir şekilde enjeksiyonuna (II) dayanır. Ekstraksiyon çözücüsü toplam çözelti hacminin % 1-3'ünü oluşturur. Örnek çözeltisine bu şekilde enjeksiyon örnek içerisinde ekstraksiyon çözücüsünün küçük damla formlarının oluşmasına neden olur (III). Bu adımda çözeltide bulut oluşur. DLLME'de ekstraksiyon karışımının % 97-99'unu oluşturan sulu çözelti içinde ekstraksiyon çözücüsünün iyi damlacıklar oluşturmasında dağıtıcı çözücü anahtar rol oynar. Ekstraksiyon çözücüsü ile sulu örnek arasında büyük yüzey alanı oluştuğundan dengeye çok hızlı ulaşır. Böylece ekstraksiyon zamandan bağımsız olur. Hidrofobik maddeler toplam sulu çözelti içerisinde dağılan ekstraksiyon çözeltisinde zenginleştirilir. Karışım sanrifüjlendiğinde küçük damlacıklar konik tüpün dibinde toplanır (IV). Dibe toplanan alt fazdaki ekstraksiyon çözücüsü, mikro enjektörle alınarak uygun enstrümantal yöntemler ile tayin edilir [1,3].



Şekil 6. Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon (DLLME) Sistemi

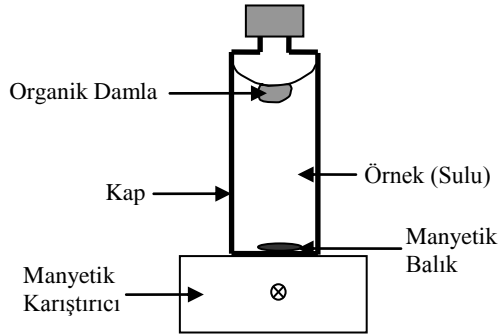
Ekstraksiyon çözücüsü olarak yoğunluğu sudan ağır ve su ile karışmayan klorobenzen, karbon tetraklorür ve tetrakloroetilen gibi çözücüler kullanılırken dağıtıcı çözücü olarak aseton, etanol, metanol ve asetonitril gibi su ile karışan polar çözücüler kullanılır [1,3].

Yöntem başlangıçta PAH'lar [61], organik fosforlu pestisitler [62] ve klorobenzenler [63] gibi organik bileşiklerin tayinlerinde kullanılmıştır. Ancak son zamanlarda yöntemin uygulaması inorganik bileşiklerin tayinine doğru genişlemiştir [64,65]. DLLME'nin başlıca avantajları; basitliği, düşük maliyeti, hızlılığı, düşük örnek hacmi, yüksek geri alınabilirlik ve zenginleştirme faktörleri elde edilebilmesidir [1,3]. Yöntemin seçiciliği kötü olduğu için karmaşık örneklerden ekstraksiyonlarda tercih edilmezler. Üç farklı çözücünün gerekli olması, ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılan bileşiklerin yoğunluğunun sudan ağır olması gerektiğinden çözücü seçiminin sınırlı olması ve santrifüj gerektirmesi yöntemin dezavantajları olarak sayılabilir [1,3].

2.3.3. Yüzen Katı Organik Damla Mikroekstraksiyon (SFODME)

Statik mikro damla temelli sıvı faz mikroekstraksiyon yönteminde bazı dezavantajlar vardır. İlk olarak yerçekimi, kayma kuvveti ve girdap yüzünden mikro damla kopabilir. Ayrıca karıştırma hızı sınırlı olduğu için ekstraksiyon verimi ve zenginleştirme faktörleri azalır. Mikro damla hacmi sınırlı olduğu için büyük enjeksiyon hacmi gerektiren enstrümental cihazlar ile kullanılamazlar [1].

Lu ve ark. doğrudan askıda damla mikroekstraksiyon (DSDME) olarak isimlendirdikleri yeni bir mikroekstraksiyon yöntemi geliştirmiştir [66]. Bu yöntemde, bir manyetik karıştırıcı sulu örnek içeren kabın dibine yerleştirilerek düşük girdaplı bir karıştırma sağlanır. Eğer suyla karışmayan organik damla, sulu örneğin yüzeyine yerleştirilse damla girdaba yakın veya merkezine yerleştirilmiş olur. Kütle transferi olurken damla da sulu fazın yüzeyinde kendi etrafında döner. Bu yöntem diğer LPME sistemleri ile karşılaştırıldığında, işlemsel parametrelerin seçiminde, özellikle organik çözücü miktarında ve karıştırma hızı parametrelerinde daha esneklik sağlar. Yöntem organik çözücünün büyük hacimlerinin de kullanımına izin verdiği için GC'nin yanı sıra HPLC sistemleri ile de kullanıma uygundur.



Şekil 7. Yüzen Katı Organik Damla Mikroekstraksiyon (SFODME) Sistemi

Yöntem, çok basittir ve hızlı bir şekilde dengeye ulaşılır. Ayrıca destek materyali gerektirmez. Ancak metodun en büyük dezavantajı örnek içerisinde askıda duran mikro damlaların çıkarılmasıdır. Mikro enjektör kullanılarak organik damlayı örnek içerisinde tam olarak almak imkânsızdır. Organik damla alınırken enjektör içersine bir miktar su alınması da kaçınılmazdır ve bu da GC-ECD gibi enstrümental sistemlerde problem oluşturmaktadır [1]. Bu problemin üstesinden gelmek için Khalili Zanjani ve ark. yüzen katı organik damla mikroekstraksiyon (SFODME) isimli yeni bir yöntem geliştirmişlerdir [67]. Bu yöntemde oda sıcaklığına yakın bir sıcaklıkta erime noktasına sahip organik çözücünün (10–30°C) küçük miktarı örnek çözeltisi yüzeyinde yüzdürülür. Çözelti belirli bir süre karıştırıldıktan sonra buz banyosuna yerleştirilir. Donan organik çözücü, küçük konik bir kaba alınır. Organik çözücü eridikten sonra maddelerin tayini için kullanılır [1,3]. Bu yöntemle ilk çalışma, su örneklerinden PAH'ların GC-FID ile tayininin yapılması ile olmuştur [67]. Ayrıca, yöntem sulardan metal iyon komplekslerinin ekstraksiyonu için de uygulanmıştır [68].

Leong ve Huang SFODME'da yeni bir uygulama geliştirmişlerdir. Örnek içerisinde bir damla yerine dağıtıcı ve ekstraksiyon çözücü karışımının enjeksiyonu ile örnek içerisinde küçük damlacıklar oluşturmuşlardır. Bu uygulama, örnek ve ekstraksiyon çözücüsü arasında daha fazla etkileşim sağlar. Böylece daha iyi ekstraksiyon zamanı ve hızlı kütle transferine neden olur [69].

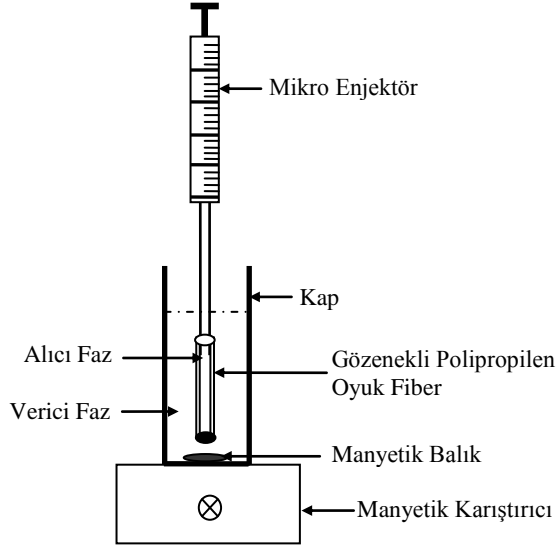
Bu yöntem çok cazip görünmesine rağmen diğer birçok LPME yöntemi gibi biyolojik örneklerden veya çok karmaşık örneklerden analitleri ekstrakte etmek için ayrıca ön temizleme işlemlerine gerek duyulmaktadır. Bu yöntemin avantajları düşük maliyet, basitlik, yüksek bir doğruluk ve kesinlik, düşük ekstraksiyon zamanı, organik çözücü tüketiminin minimum düzeyde olması ve basit malzemelere gerek duyulmasıdır. Ancak uygun çözücü seçimindeki sınırlamalar ve ekstraksiyon çözücüsünün dondurulmasının gerekliliği, dezavantajlar olarak sayılabilir [3].

2.3.4. Oyuk Fiber Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (HF-LPME)

HF-LPME yöntemi 1999 yılında Pedersen-Bjergaard ve Rasmussen tarafından geliştirilmiştir [70]. Yöntemde sulu çözelti içerisindeki hedef maddeler gözenekli polipropilen oyuk (hollow) fiberin duvarlarına emdirilmiş organik çözücü yardımıyla fiberin içerisindeki alıcı faza ekstrakte edilir. Deney düzeneğinde oyuk fiber, ya çubuk şeklinde bir ucu kapalı diğer ucu mikro enjektöre takılı ya da her iki ucu mikro enjektör ile bağlantılı "U" şeklinde hazırlanarak kullanılır [70,71].

İlk olarak fiberin gözenekleri düşük polariteli (toluen, oktanol, dihegzileter vb.) organik çözücünün içersine birkaç saniye daldırılıp kapiler etki ile doldurulur. Gözeneklerdeki organik çözücü fiber duvarlarında ince bir film tabakası oluşturularak, fiber içerisindeki alıcı fazın verici faz ile karışmasını engeller. Fiber, alıcı faz çekilmiş mikro enjektörün ucuna takılır. Ardından alıcı faz, mikro enjektörden fiberin içine doldurulur ve hedef maddelerin analizi için sulu örnek

çözeltisine daldırılır. Hedef maddeler fiberin içine hapsolan alıcı faza ekstrakte edilir. Ardından alıcı fazdaki maddeler doğrudan HPLC, GC, CE gibi analitik cihazlarla tayin edilir. Alıcı faz organik çözücünün kendisi ile doldurulduğunda ikili faz sistem, asidik veya bazik sulu çözelti ile doldurulduğunda üçlü faz sistem olarak isimlendirilir. Üçlü faz sistem, genelde HPLC ve CE ile uyumludur. Alıcı faz hacmi 2–30 μL arasında değişirken, verici faz hacmi 50 μL ile 1 L arasında değişir [1,72,73].



Şekil 8. Oyuk Fiber Sıvı Faz Mikroekstraksiyon (HF–LPME) Sistemi

İkili faz sistemde, analitler fiberin hem gözeneklerinde hem de içinde bulunan organik çözücüye ekstrakte edilir. İkili faz sistemlerde, sudaki çözünürlükleri çok az, organik çözücüde (ekstraksiyon çözücüsü) çözünen bileşikler tayin edilebilir [1]. Üçlü faz sistemde ise, analitlerin transferi, sulu örnekten fiberin gözeneklerindeki organik sıvıya, oradan da fiberin içindeki sulu alıcı faza olur. Üçlü faz sistemi, iyonlaşabilir asidik ve bazik bileşikler ile sınırlıdır [1,74].

HF–LPME basit, hızlı, ucuz ve yüksek oranda seçici ve yüksek zenginleştirme faktörüne sahip bir yöntemdir. Fiber, alıcı fazın örnek çözelti ile direkt irtibatını kestiğinden dolayı şiddetli karıştırma hızlarında ekstraksiyon çözücüsü kaybını en az düzeylere indirir. Polipropilen fiber çok ucuz bir maliyete sahiptir. Bu nedenden dolayı her analizde bir kez kullanılır. Fiberin her analizde bir kez kullanılması önceki analizlerden kirlilik gelmesini engeller. Polipropilen fiber küçük gözeneklere sahip olduğu için matris ortamındaki büyük molekül ağırlıklı kirliliklerin alıcı faza girmesini engelleyerek iyi bir ön temizleme işlemi yapar [1,72-76].

Yöntem alıcı faz ile verici faz arasındaki membran bariyerin ekstraksiyon etkinliğini azaltması ve ekstraksiyon süresini uzatması, fiberin yüzeyinde hava kabarcıklarının oluşması ile ekstraksiyon etkinliği ve tekrarlanabilirliğin azaltılması, gerçek örnek analizlerinde matrisin (kan, plazma, atık su) fiber üzerindeki gözenekleri tıkayabilmesi gibi dezavantajlara sahiptir [1,67].

3. SONUÇ

Mikroekstraksiyon teknikleri klasik ekstraksiyon (sıvı-sıvı, katı-sıvı, katı faz) yöntemleri ile karşılaştırıldıklarında: toksik ve pahalı ekstraksiyon sıvılarının kullanımını en aza indirmeleri,

ekstraksiyon sonrası alınan örneğin doğrudan analitik cihaza verilebilmesi, ekonomik olması, birçoğunda hassas, doğru ve hızlı sonuçlar elde edilebilmesi, fazladan ekstraksiyon adımlarına gerek duyulmaması ve otomasyonun yapılabilmesi gibi bir çok avantajlara sahiptirler. Tüm bu avantajlara rağmen, her yöntemin uygulanmasında yukarıda bahsedilen bazı dezavantajlar da göz önüne alınmalıdır.

REFERENCES / KAYNAKLAR

- [1] Sarafraz-Yazdi, A., Amiri, A., "Liquid-phase microextraction", *Trends Anal. Chem*, 29, 1, 1–14, 2010.
- [2] Demirci, A., Özçimder, M., "Kimyada Ayırma Yöntemleri", Kuban Matbaacılık Yayıncılık, Ankara, 2008.
- [3] Dadfarnia, S., Shabani, A.M.H., "Recent development in liquid phase microextraction for determination of trace level concentration of metals—A review", *Anal. Chim. Acta.*, 658, 107–119, 2010.
- [4] Frazey, P.A., Barkley, R.M., Sievers, R.E., "Solid-phase microextraction with temperature programmed desorption for the analysis of iodination disinfection byproducts", *Analytical Chemistry*, 70, 638–644, 1998.
- [5] Arthur, C.L., Pawliszyn, J., "Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers", *Analytical Chemistry*, 62: 2145–2148, 1990.
- [6] Olariu, R-I, Vione, D., Grinberg, N., Arsene, C., "Sample preparation for trace analysis by chromatographic methods", *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 33, 1174–1207, 2010.
- [7] Dietz, C., Sanz, J., C'amara C., "Recent developments in solid-phase microextraction coatings and related techniques", *J. Chromatogr. A*, 1103, 183–192, 2006.
- [8] Malik, A. K., Kaur, V., Verma, N., "A review on solid phase microextraction—High performance liquid chromatography as a novel tool for the analysis of toxic metal ions" *Talanta*, 68, 842–849, 2006.
- [9] Fuster S., Beltran J., Lopez F.J., Hernandez F.. "Application of solid phase microextraction for the determination of soil fumigants in water and soil samples" *J. Sep. Sci.*, 28, 98–103, 2005.
- [10] Aulakh, J.S., Malik, A.K., Mahajan, R.K., "Solid phase microextraction high pressure liquid chromatographic determination of Nabam, Thiram and Azamethiphos in water samples with UV detection: preliminary data" *Talanta*, 66, 266–270, 2005.
- [11] Dong, C.Z., Zeng, Z.R., Yang, M., "Determination of organochlorine pesticides and their derivations in water after HS-SPME using polymethylphenylvinylsiloxane coated fiber by GG-ECD" *Water Res.*, 39, 4204–4210, 2005.
- [12] Rodriguez, R., Manes, J., Pico, Y., "Off-line solid phase microextraction and capillary electrophoresis mass spectrometry to determine acidic pesticides in fruits", *Analytical Chemistry*, 75, 452–459, 2003.
- [13] Gaurava, Malika, A.K., Raib, P.K., "Development of a new SPME–HPLC–UV method for the analysis of nitro explosives on reverse phase amide column and application to analysis of aqueous samples", *Journal of Hazardous Materials*, 172, 1652–1658, 2009.
- [14] Fang, H., Liu, M., Zeng, Z., "Solid-phase microextraction coupled with capillary electrophoresis to determine ephedrine derivatives in water and urine using a sol–gel derived butyl methacrylate/silicone fiber" *Talanta*, 68, 979–986, 2006.
- [15] Aresta, A., Bianchi, D., Calvano, C.D., Zambonin, C.G., "Solid phase microextraction-Liquid chromatography (SPME-LC) determination of chloramphenicol in urine and environmental water samples" *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53, 440–444, 2010.

- [16] Picó, Y., Fernández, M., Ruiz, M.J., Font, G., "Current trends in solid-phase-based extraction techniques for the determination of pesticides in food and environment", *J. Biochem. Biophys. Methods*, 70, 117–131, 2007.
- [17] Kataoka, H., Lord, H. L., Pawliszyn, J., "Applications of solid-phase microextraction in food analysis" *J. Chromatogr. A*, 880, 35–62, 2000.
- [18] Pawliszyn, J., "New directions in sample preparation for analysis of organic compounds" *Trends Anal. Chem.*, 14, 113–122, 1995.
- [19] Mester, Z., Sturgeon, R., "Trace element speciation using solid phase microextraction" *Spectrochim. Acta Part B*, 60, 1243–1269, 2005
- [20] Junting, L., Peng, C., Suzuki, O., "Solid-phase microextraction (SPME) of drugs and poisons from biological samples", *Forensic Science International*, 97, 2-3, 93–100, 1998.
- [21] Nilsson, T., Ferrari, R., Facchetti, S., "Inter-laboratory studies for the validation of solid-phase microextraction for the quantitative analysis of volatile organic compounds in aqueous samples" *Analytica Chimica Acta*, 356, 113–123, 1997.
- [22] Nakamura, S., Daishima, S., "Simultaneous determination of 22 volatile organic compounds, methyl-tert-butyl ether, 1, 4-dioxane, 2-methylisoborneol and geosmin in water by headspace solid phase microextraction-gas chromatography–mass spectrometry" *Anal. Chim. Acta*, 548, 79–85, 2005.
- [23] Moder, M., Schrader, S., Winkler, M., Popp, P., "Solid-phase microextraction-gas chromatography mass spectrometry of biologically active substances in water samples", *J. Chromatogr. A*, 873, 95–106, 2000.
- [24] Simões, N.G., Cardoso, V.V., Ferreira, E., Benoliel, M.J., Almeida, C.M.M., "Experimental and statistical validation of SPME-GC–MS analysis of phenol and chlorophenols in raw and treated water" *Chemosphere*, 68, 501–510, 2007
- [25] Boussahel, R., Bouland, S., Moussaoui, K.M., Baudu, M., Montiel, A. "Determination of chlorinated pesticides in water by SPME/GC" *Water Res.*, 36, 1909–1911, 2002.
- [26] Filho, A.M., dos Santos, F.N., Pereira, P.A.P., "Development, validation and application of a method based on DI-SPME and GC–MS for determination of pesticides of different chemical groups in surface and groundwater samples" *Microchemical Journal*, 96, 139–145, 2010.
- [27] King, A.J., Readman, J.W., Zhou, J.L., "Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry" *Anal. Chim. Acta*, 523, 259–267, 2004.
- [28] Kumar, A., Gaurav, Malik, A.K., Tewary, D.K., Singh, B., "A review on development of solid phase microextraction fibers by sol-gel methods and their applications", *Anal. Chim. Acta*, 610, 1–14 2008.
- [29] Psillakis, E., Kalogerakis, N., "Solid-phase microextraction versus single-drop microextraction for the analysis of nitroaromatic explosives in water samples", *J. Chromatogr. A*, 938, 113–120, 2001.
- [30] Baltussen, E., Sandra, P., David, F., Cramers, C., "Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: theory and principles", *J. Microcolumn Sep.*, 11, 737–747, 1999.
- [31] MacNamara, K., Leardi, R., McGuigana, F., "Comprehensive investigation and optimisation of the main experimental variables in stir-bar sorptive extraction (SBSE)-thermal desorption-capillary gas chromatography (TD-CGC)", *Anal. Chim. Acta.*, 636, 190–197, 2009.
- [32] Baltussen, E., Cramers, C.A., Sandra, P.J.F., "Sorptive sample preparation — a review", *Anal. Bioana. Chem.*, 373, 3–22, 2002.
- [33] David, F., Sandra, P., "Stir bar sorptive extraction for trace analysis", *J. Chromatogr. A*, 1152, 54–69, 2007.
- [34] Prietoa, A., Basauria, O., Rodilb, R., Usobiagaa, A., Fernández, L.A., Etxebarria, N.,

- Zuloaga, O., "Stir-bar sorptive extraction: A view on method optimisation, novel applications, limitations and potential solutions", *J. Chromatogr. A*, 1217, 2642–2666, 2010.
- [35] Kawaguchi, M., Ito, R., Saito, K., Nakazawa, H., "Novel stir bar sorptive extraction methods for environmental and biomedical analysis", *J. Pharm. and Biomedical Analysis*, 40, 500–508, 2006.
- [36] Barco-Bonilla, N., Romero-González, R., Plaza-Bolaños, P., Fernández-Moreno, J.S., Frenich, A.G., Vidal, J.L.M., "Comprehensive analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in wastewater using stir bar sorptive extraction and gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry" *Anal. Chim. Acta*, 693, 62–71, 2011.
- [37] Zuin, V.G., Montero, L., Bauer, C., Popp, P., "Stir bar sorptive extraction and high-performance liquid chromatography–fluorescence detection for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Mate teas" *J. Chromatogr. A*, 1091, 2–10, 2005.
- [38] Kende, A., Csizmazia, Z., Rikker, T., Angyal, V., Torkos, K., "Combination of stir bar sorptive extraction–retention time locked gas chromatography–mass spectrometry and automated mass spectral deconvolution for pesticide identification in fruits and vegetables" *Microchemical Journal*, 84, 63–69, 2006.
- [39] Dieza, J., Dominguez, C., Guillen Rafael Veasa, D.A., Barroso, C.G., "Optimization of stir bar sorptive extraction for the analysis of volatile phenols in wines", *J. Chromatogr. A*, 1025, 263–267, 2004.
- [40] Pedersen-Bjergaard, S., Rasmussen, K.E., "Liquid-phase microextraction with porous hollow fibers, a miniaturized and highly flexible format for liquid-liquid extraction", *J. Chromatogr. A*, 1184, 132–142, 2008.
- [41] Jeannot, M.A., Cantwell, F.F., "Mass transfer characteristics of solvent extraction into a single drop at the tip of a syringe needle", *Analytical Chemistry*, 69, 235–239, 1997.
- [42] He, Y., Lee, H.K., "Liquid phase microextraction in a single drop of organic solvent by using a conventional microsyringe", *Analytical Chemistry* 69, 4634–4640, 1997.
- [43] Hou, L., Lee, H.K., "Application of static and dynamic liquid-phase microextraction in the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons", *J. Chromatogr. A*, 976, 377–385, 2002.
- [44] Myung, S.W., Yoon, S.H., Kim, M., "Analysis of benzene ethylamine derivatives in urine using the programmable dynamic liquid-phase microextraction (LPME) device", *Analyst*, 28, 1443–1446, 2003.
- [45] Theis, A.L., Waldack, A.J., Hansen, S.M., Jeannot, M.A., "Headspace solvent microextraction", *Analytical Chemistry*, 73, 5651–5654, 2001.
- [46] Xiao, Q., Yu, C., Xing, J., Hu, B., "Comparison of headspace and direct single-drop microextraction and headspace solid-phase microextraction for the measurement of volatile sulfur compounds in beer and beverage by gas chromatography with flame photometric detection" *J. Chromatogr. A*, 1125, 133–137, 2006.
- [47] Xiao, Q., Hu, B., Yu, C., Xia, L., Jiang, Z., "Optimization of a single-drop microextraction procedure for the determination of organophosphorus pesticides in water and fruit juice with gas chromatography-flame photometric detection" *Talanta*, 69, 848–855, 2006.
- [48] Xiao, Q., Hu, B., He, M., "Speciation of butyltin compounds in environmental and biological samples using headspace single drop microextraction coupled with gas chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry" *J. Chromatogr. A*, 1211, 135–141, 2008.
- [49] Xu, L., Basheer, C., Lee, H.K., "Developments in single-drop microextraction" *J. Chromatogr. A*, 1152, 184–192, 2007.
- [50] Ma, M.H., Cantwell, F.F., "Solvent microextraction with simultaneous back-extraction for sample cleanup and preconcentration: Preconcentration into a single microdrop",

- Analytical Chemistry, 71, 388–393, 1999.
- [51] Liu, W.P., Lee, H.K., “Continuous-flow microextraction exceeding 1000-fold concentration of dilute analytes”, *Analytical Chemistry*, 72, 4462–4467, 2000.
- [52] Xia, L., Hu, B., Jiang, Z., Wu, Y., Li, L., Chen, R., “8-Hydroxyquinoline-chloroform single drop microextraction and electrothermal vaporization ICP-MS for the fractionation of aluminium in natural waters and drinks” *J. Anal. At. Spect.*, 20, 441–446, 2005.
- [53] Xia, L., Hu, B., Jiang, Z., Wu, Y., Liang, Y., “Single-drop microextraction combined with low-temperature electrothermal vaporization ICPMS for the determination of trace Be, Co, Pd, and Cd in biological samples”, *Analytical Chemistry*, 76, 2910–2915, 2004.
- [54] Liu, Y., Hashi, Y., Lin, J.M., “Continuous-flow microextraction and gas chromatographic-mass spectrometric determination of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds in water” *Anal. Chim. Acta*, 585, 294–299, 2007.
- [55] He, Y., Lee, H.K., “Continuous flow microextraction combined with high-performance liquid chromatography for the analysis of pesticides in natural waters” *J. Chromatogr. A*, 1122, 7–12, 2006.
- [56] Li, Y., Zhang, T., Liang, P., “Application of continuous-flow liquid-phase microextraction to the analysis of volatile halohydrocarbons in water”, *Anal. Chim. Acta*, 536, 245–249, 2005.
- [57] Cao, J., Liang, P., Liu, R., “Determination of trace lead in water samples by continuous flow microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry”, *Journal of Hazardous Materials* 152 (2008) 910–914.
- [58] Chamsaz, M., Arbad-Zavar, M.H., Nazari, S., “Determination of arsenic by electrothermal atomic absorption spectrometry using headspace liquid phase microextraction after in situ hydride generation”, *J. Anal. At. Spectrom.*, 18, 1279–1282, 2003.
- [59] Rezaee, M., Assadi, Y., Hosseini, M.R.M., Aghaee, E., Ahmadi, F., Berijani, S., “Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction”, *J. Chromatogr. A*, 1116, 1–9, 2006.
- [60] Pena-Pereira, F., Lavilla, I., Bendicho, C., “Miniaturized preconcentration methods based on liquid-liquid extraction and their application in inorganic ultratrace analysis and speciation: A review”, *Spectrochim. Acta, Part B*, 64, 1–15, 2009.
- [61] Pena, M.T., Casais, M.C., Mejuto, M.C., Cela, R., “Development of an ionic liquid based dispersive liquid–liquid microextraction method for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples”, *J. Chromatogr. A*, 1216, 6356–6364, 2009.
- [62] Zhao, E., Zhao, W., Han, L., Jiang, S., Zhou, Z., “Application of dispersive liquid–liquid microextraction for the analysis of organophosphorus pesticides in watermelon and cucumber”, *J. Chromatogr. A*, 1175, 137–140, 2007.
- [63] Kozani, R.R., Assadi, Y., Shemirani, F., Hosseini, M.R.M., Jamali, M.R., “Part-per-trillion determination of chlorobenzenes in water using dispersive liquid-liquid microextraction combined gas chromatography-electron capture detection”, *Talanta* 72, 387–393, 2007.
- [64] Khani, R., Shemirani, F., Majidi, B., “Combination of dispersive liquid–liquid microextraction and flame atomic absorption spectrometry for preconcentration and determination of copper in water samples”, *Desalination*, 266, 238–243, 2011.
- [65] Najafi, N.M., Tavakoli, H., Alizadeh, R., Seidi, S., “Speciation and determination of ultra trace amounts of inorganic tellurium in environmental water samples by dispersive liquid–liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry”, *Anal. Chim. Acta*, 670, 18–23, 2010.
- [66] Lu, Y., Lin, Q., Luo, G., Dai, Y., “Directly suspended droplet microextraction”, *Anal. Chim. Acta*, 566, 259–264, 2006.
- [67] Khalili Zanjani, M.R., Yamini, Y., Shariati, S., Jonsson, J.A., “A new liquid-phase microextraction method based on solidification of floating organic drop”, *Anal. Chim.*

- Acta, 585, 286–293, 2007.
- [68] Dadfarnia, S., Salmanzadeh, A.M., Haji Shabani, A.M., “A novel separation/preconcentration system based on solidification of floating organic drop microextraction for determination of lead by graphite furnace atomic absorption spectrometry”, *Anal. Chim. Acta*, 633, 163–167, 2008.
- [69] Leong, M.I., Huang, S.D., “Dispersive liquid-liquid microextraction method based on solidification of floating organic drop combined with gas chromatography with electron-capture or mass spectrometry detection”, *J. Chromatogr. A*, 1211, 8–12, 2008.
- [70] Pedersen-Bjergaard, S., Rasmussen, K.E., “Liquid-liquid-liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis”, *Analytical Chemistry*, 71, 2650–2656, 1999.
- [71] De Jager, L.S., Andrews, A.R.J., “Preliminary studies of a fast screening method for cocaine and cocaine metabolites in urine using hollow fibre membrane solvent microextraction (HFMSME)”, *Analyst*, 126, 1298–1303, 2001.
- [72] Pedersen-Bjergaard, S., Rasmussen, K.E., “Liquid-phase microextraction with porous hollow fibers, a miniaturized and highly flexible format for liquid–liquid extraction”, *J. Chromatogr. A*, 1184, 132–142, 2008.
- [73] Psillakis, E., Kalogerakis, N., “Developments in liquid-phase microextraction” *Trends Anal. Chem.*, 22,10, 565–574, 2003.
- [74] Rasmussen, K.E., Pedersen-Bjergaard, S., “Developments in hollow fibre based, liquid-phase microextraction”, *Trends Anal. Chem.*, 23, 1, 1–10, 2004.
- [75] Psillakis, E., Kalogerakis, N., “Hollow-fibre liquid-phase microextraction of phthalate esters from water”, *J. Chromatogr. A*, 999, 145-153, 2003.
- [76] Shen, G., Lee, H.K., “Hollow fiber-protected liquid-phase microextraction of triazine herbicides”, *Analytical Chemistry*, 74, 648–654, 2002.