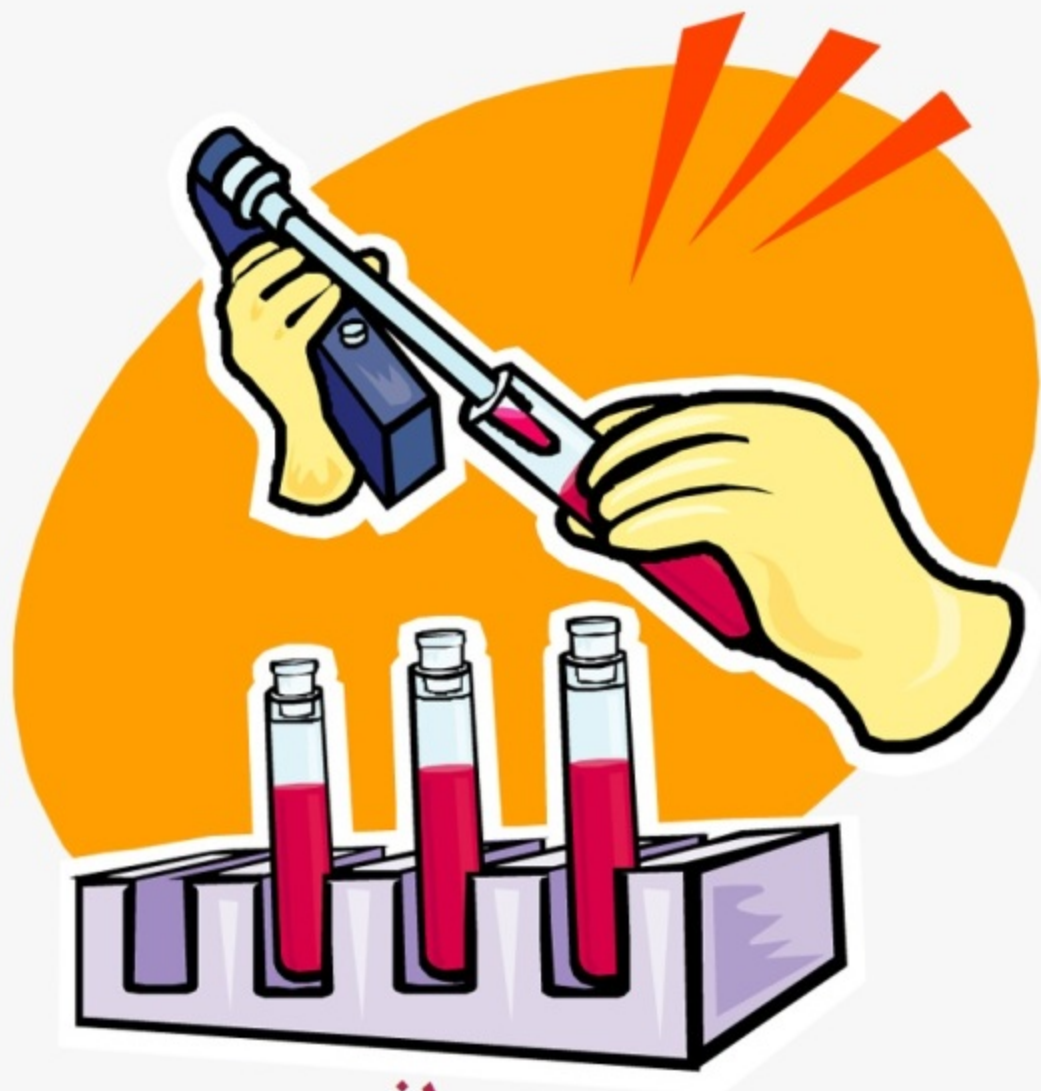


بیوشیمی متابولیزم



مؤلف:

مینا حمزہ نژادی



بيوشيمي متابوليسم

مؤلف: مينا حمزه نژادى

تقدیم به

روح متعالی همسر، زنده یاد علی اصغر رجایی نژاد، که
پاک بود و پاک ماند و پاک رفت .

سرشناسه	:	میثا ممزه نژادی ۱۳۵۶
عنوان و نام پدیدآور	:	بیوشیمی متابولیسم
مشخصات نشر	:	: دانشیاران ایران , تهران
مشخصات ظاهری	:	۱۸۲ص
شابک	:	۹۷۸-۶۲۲-۳۱۶-۱۱۹-۳
وضعیت فهرست‌نویسی	:	فیبای مختصر
یادداشت	:	فهرست‌نویسی کامل این اثر در وب‌گاه http://opac.nlai.ir در دسترس است.

عنوان کتاب: ----- بیوشیمی متابولیسم

تالیف: ----- میثا ممزه نژادی

صفحه آرا و طرح جلد: ----- ممد نظری

چاپ و مصافح: ----- اعظم

تیراژ: ----- ۱۰۰۰ جلد

قطع: ----- وزیری

نوبت چاپ: ----- اول / ۱۴۰۱

شابک: ----- ۹۷۸-۶۲۲-۳۱۶-۱۱۹-۳

قیمت: ----- ۷۰۰۰۰ تومان

انتشارات دانشیاران ایران

تلفن تماس: ۰۹۳۵۴۱۰۵۳۹۶

طبق قانون حمایت از حقوق ناشران و مؤلفان هر شخص حقیقی و حقوقی که تمام یا قسمتی از این اثر را بدون اجازه ناشر و مؤلف، نشر یا عرضه یا تکثیر یا تجدید چاپ نماید مورد پیگیری جدی قانونی خواهد گرفت و مطابق با جرائم قوانین اسلامی برخورد خواهد شد.

فهرست مطالب

پیشگفتار.....	۱۲
فصل اول.....	۱۴
فوران و چگونگی تولید آن در غذا و سرطان زایی اش.....	۱۴
۱-۱ فوران چیست؟.....	۱۴
۲-۱ شکل گیری فوران در غذا.....	۱۵
۱-۲-۱ غذای کودک حاوی ویتامین C.....	۱۷
۲-۲-۱ معتبر سازی روش اندازه گیری HS-LPME برای تعیین ترکیبات فورانی در غذاهای کودک:.....	۱۸
۳-۱ ارزیابی سیستم مدل :.....	۱۹
۴-۱ اثر عوامل داخلی و خارجی.....	۲۰
۱-۴-۱ اثر نوع بافر و PH.....	۲۰
۲-۴-۱ اثر غلظت مختلف اسید آسکوربیک.....	۲۱
۳-۴-۱ اثر نسبت مولار اسید آسکوربیک به دهیدروآسکوربیک اسید :.....	۲۱
۴-۴-۱ اثر حضور پروتئین.....	۲۲
۵-۴-۱ اثر زمان و درجه حرارت گرما دادن روی تشکیل فوران.....	۲۳
۶-۴-۱ اثر سایر ترکیبات روی تشکیل فوران.....	۲۳
۵-۱ فرایند UV :.....	۲۳
۶-۱ اثر بر سلامت.....	۲۵
۷-۱ متابولیسم:.....	۲۶
۸-۱ استراتژی های تکنولوژیکی به منظور کاهش فوران و HMF:.....	۲۸
۹-۱ استراتژی های پیشگیری:.....	۲۹
۱-۹-۱ تغییر در پارامترهای فرآیند:.....	۳۰

- ۳۱-۹-۲ تغییر در فرمولاسیون: ۳۱
- ۳۱-۹-۳ حذف یا جایگزینی اجزا: ۳۱
- ۳۱-۹-۴ افزودن ترکیبات: ۳۱
- ۳۲-۱۰-۱ استراتژی های پس از فرآوری: ۳۲
- ۳۲-۱۰-۱ استراتژی های حذف: ۳۲
- ۳۲-۱۰-۲ پختن در ظروف در باز: ۳۲
- ۳۳-۱۰-۳ حذف فیزیکی: ۳۳
- ۳۴-۱۰-۴ اشعه یونیزه کننده: ۳۴
- ۳۵-۱۱-۱ گزینه های کنترل ۳۵
- ۳۵-۱۲-۱ قانون گذاری ۳۵
- ۳۵-۱۳-۱ مروری بر تحقیقات گذشته فوران: ۳۵

۴۲ فصل دوم..... ۴۲

۴۲ ریز استخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۴۲

- ۴۲ مقدمه ۴۲
- ۴۴-۱-۲ استخراج ۴۴
- ۴۴-۱-۲-۱ خصوصیات حلال ۴۴
- ۴۶-۲-۲ استخراج با حلال ۴۶
- ۴۷-۳-۲ استخراج با فاز جامد (SPE) ۴۷
- ۴۸-۴-۲ ریز استخراج با فاز جامد (SPME) ۴۸
- ۵۰-۴-۲ مزایای میکرو استخراج با فاز جامد ۵۰
- ۵۱-۴-۲ پارامترهای بهینه سازی کردن میکرواستخراج با فاز جامد ۵۱
- ۵۲-۴-۲ عوامل موثر بر مقدار مادهی جذب شده ۵۲
- ۵۲-۴-۴ انواع روشهای نمونه برداری ۵۲

- ۵۴-۴-۲ انتخاب روش استخراج ۵۴
- ۵۴-۴-۲ معایب میکرواستخراج با فاز جامد ۵۴
- ۵۵-۴-۲ انواع فایبرها ۵۵
- ۵۷-۴-۲ انواع روشهای همزدن در میکرواستخراج با فاز جامد ۵۷
- ۵۸-۴-۲ عوامل موثر بر میکرواستخراج با فاز جامد ۵۸
- ۵۸-۴-۲ کاربردهای میکرواستخراج با فاز جامد ۵۸
- ۶۰-۲ سرنگ SPME ۶۰
- ۶۲-۲ مروری بر تحقیقات گذشته SPME ۶۲
- ۶۸-۲ انواع فازهای جامد ۶۸
- ۶۸-۲-۱ کربن (گرافیت) ۶۸
- ۶۸-۲-۲ سیلیکاژل ۶۸
- ۶۹-۲-۳ جاذب پلیمری ۶۹
- ۷۰-۲-۸-۱ آشنایی با پلیمر و پلیمریزاسیون ۷۰
- ۷۰-۲-۸-۱-۱ پلیمر چیست؟ ۷۰
- ۷۰-۲-۸-۲ انواع پلیمر ساختاری ۷۰
- ۷۱-۲-۸-۳ بسپارها از نظر اثر پذیری در برابر حرارت به دو دسته تقسیم می شوند: ۷۱
- ۷۲-۲-۸-۴ انواع پلیمرها بر اساس منبع تهیه ۷۲
- ۷۲-۲-۸-۵ انواع روشهای پلیمریزاسیون ۷۲
- ۷۲-۲-۸-۵-۱ پلیمریزاسیون افزایشی: ۷۲
- ۷۳-۲-۸-۵-۲ پلیمریزاسیون تراکمی ۷۳
- ۷۳-۲-۹ پلیمرهای قالب مولکولی ۷۳
- ۷۵-۲-۹-۱ مزایای پلیمرهای قالب مولکولی ۷۵
- ۷۵-۲-۹-۲ عوامل سازنده یک پلیمر قالب مولکولی ۷۵
- ۷۸-۲-۹-۲-۱ مونومر عاملی ۷۸

- ۸۰.....(قالب).....مولکول هدف (۲-۲-۹-۲).....
- ۸۱.....عامل اتصالات عرضی (۳-۲-۹-۲).....
- ۸۳.....حلال (۴-۲-۹-۲).....
- ۸۵.....آغازگر (۵-۲-۹-۲).....
- ۸۷.....انواع پلیمرهای قالب مولکولی (۳-۹-۲).....
- ۸۷.....۱۰-۲.پلیمر قالب مولکولی کووالانسی.....
- ۸۷.....۱-۱۰-۲.مزایای پلیمرهای قالب مولکولی کووالانسی.....
- ۸۸.....۲-۱۰-۲.معایب پلیمرهای قالب مولکولی کووالانسی.....
- ۸۸.....۱۱-۲.پلیمرهای قالب مولکولی نیمه کووالانسی.....
- ۸۹.....۱۲-۲.پلیمرهای قالب مولکولی غیر کووالانسی.....
- ۸۹.....۱-۱۲-۲.مراحل سنتز پلیمر قالب مولکولی.....
- ۹۰.....۲-۱۲-۲.دلایلی که از روش غیر کووالانسی بیشتر استفاده می شود :.....
- ۹۰.....۱۳-۲.روش های تهیه پلیمر قالب مولکولی.....
- ۹۰.....۱-۱۳-۲.پلیمرزاسیون توده ای.....
- ۹۱.....۲-۱۳-۲.روش پلیمرزاسیون رسوبی.....
- ۹۲.....۳-۱۳-۲.پلیمرزاسیون با تورم چند مرحله ای.....
- ۹۲.....۴-۱۳-۲.پلیمرزاسیون سوسپانسیون.....
- ۹۲.....۵-۱۳-۲.روش پیوند زنی.....
- ۹۲.....۱۴-۲.کاربرد پلیمرهای قالب مولکولی.....
- ۹۳.....۱-۱۴-۲.کاربرد پلیمرهای قالب مولکولی برای ریز استخراج با فاز جامد (SPME).....
- ۹۳.....۱-۱۵-۲.کاربرد پلیمرهای قالب مولکولی در حسگرها.....
- ۹۴.....۲-۱۵-۲.کاربرد پلیمرهای قالب مولکولی در غشاء.....
- ۹۵.....۳-۱۵-۲.کاربرد پلیمرهای قالب مولکولی در کاتالیزورها.....
- ۹۶.....۴-۱۵-۲.کاربرد پلیمرهای قالب مولکولی در کروماتوگرافی.....

فصل سوم.....	۹۸
مطالعات تجربی.....	۹۸
۱-۳. مواد مصرفی.....	۹۸
۲-۳. دستگاہوری.....	۹۹
۱-۲-۳. التراسونیک.....	۹۹
۲-۲-۳. PH متر.....	۱۰۰
۳-۲-۳. بن ماری.....	۱۰۰
۴-۲-۳. کروماتوگرافی گازی (GC).....	۱۰۰
۵-۲-۳. آون.....	۱۰۰
۶-۲-۳. همزن مغناطیسی (هیتر).....	۱۰۱
۷-۲-۳. SPME.....	۱۰۱
۸-۲-۳. دستگاہ (IR).....	۱۰۲
۳-۳. تهیه پلیمر قالب مولکولی.....	۱۰۲
۱-۳-۳. انتخاب عوامل.....	۱۰۲
۱-۱-۳-۳. آنالیت یا نمونه.....	۱۰۲
۲-۱-۳-۳. مونومر عاملی مناسب.....	۱۰۳
۳-۱-۳-۳. عامل اتصال دهنده عرضی.....	۱۰۵
۴-۱-۳-۳. حلال مناسب.....	۱۰۵
۵-۱-۳-۳. آغازگر.....	۱۰۷
۲-۳-۳. روش سنتز پلیمر قالب مولکولی.....	۱۰۷
۴-۳. بهینه سازی شرایط جذب فوران در روش ریز استخراج با پلیمر قالب مولکولی.....	۱۱۰
۱-۴-۳. تعیین ماکزیمم طول موج جذب.....	۱۱۰
۲-۴-۳. بررسی اثر نمک.....	۱۱۰

- ۱۱۱..... ۳-۴-۳. بررسی اثر زمان
- ۱۱۳..... ۴-۴-۳. تأثیر PH محلول بر جذب پلیمر
- ۱۱۴..... ۵-۴-۳. تأثیر دما بر جذب پلیمر
- ۱۱۵..... ۶-۴-۳. شناسایی فوران توسط دستگاه GC
- ۱۱۵..... ۱-۶-۴-۳. برنامه دمایی دستگاه GC برای فوران

۱۱۸ فصل چهارم

۱۱۸ بحث و نتیجه گیری

- ۱۱۸..... ۱-۴. سنتز پلیمر قالب مولکولی و پلیمر شاهد
- ۱۲۰..... ۱-۱-۴. پلیمر یزاسیون پلیمر قالب مولکولی
- ۱۲۲..... ۲-۱-۴. مکانیسم سنتز پلیمر قالب مولکولی
- ۱۲۳..... ۳-۱-۴. طیفهای FT-IR از پلیمر MIP و NIP
- ۱۲۶..... ۲-۴. بهینه سازی شرایط جذب فوران توسط پلیمر قالب مولکولی
- ۱۲۶..... ۱-۲-۴. اثر نمک بر جذب فوران
- ۱۲۷..... ۲-۲-۴. اثر زمان بر جذب فوران
- ۱۲۹..... ۳-۲-۴. اثر دما بر جذب فوران
- ۱۳۰..... ۴-۲-۴. اثر PH محلول بر جذب پلیمر
- ۱۳۱..... ۵-۲-۴. شناسایی فوران توسط دستگاه GC
- ۱۳۴..... خلاصه
- ۱۳۶..... پیوست

پیشگفتار

در این پروژه پلیمر قالب مولکولی جهت استخراج انتخابی فوران تهیه شد. برای تهیه این پلیمر از متاکریلیک اسید (مونومر عاملی)، اتیلن گلیکول دی متاکریلات (عامل برقراری اتصالات عرضی)، ۲ و ۲-آزوبیس ایزو بوتیرو نیتریل (آغازگر)، مخلوطی از پیروول (جایگزین فوران یا مولکول هدف) و متانول (حلال) انجام شد. مواد اولیه پلیمریزاسیون در لوله های موئین قرار داده می شود. پس از اعمال عملیات حرارتی در نهایت لوله موئین را داخل اسید هیدرو فلئوئورید انداخته تا شیشه ی آن را خورده و فیبر بیرون بیاید. حاصل پلیمریزاسیون رادیکالی تشکیل فیبر لوله ای پلیمر قالب مولکولی غیر کوالانسی (MIP) می باشد. به دلیل وجود بر همکنش های غیر کوالانسی بین مولکول هدف و مونومر عاملی مولکول هدف به کمک شستشو حذف می شود و پلیمر قالب گیری شده بدست می آید.

جهت مقایسه کارایی این پلیمر، پلیمر دیگری نیز با همین روش و همین مواد اولیه ساخته شد (NIP پلیمر ناظر)، تنها با این تفاوت که پلیمر جدید فاقد مولکول هدف در ساختار خود است. طیف هر دو پلیمر سنتز شده از طریق اسپکتروسکوپی FT-IR مورد بررسی قرار گرفت هر دو پلیمر دارای شباهت ساختاری هستند همچنین وجود حفره در پلیمر قالب مولکولی با مقایسه دو طیف قابل توجیه می باشد. پلیمر قالب مولکولی سنتز شده با پلیمر شاهد مقایسه شد. خواص پلیمر قالب مولکولی، قابلیت تشکیل پیوند و خاصیت گزینش پذیری پلیمر مورد نظر مورد بررسی قرار گرفت. همچنین جهت بهینه سازی

شرایط جذب پارامترهای مختلف از قبیل pH، زمان جذب، دما و غلظت نمک بررسی شدند.

فصل اول

فوران و چگونگی تولید آن در غذا و سرطان زایی اش

۱-۱ فوران چیست؟

فصل اول: فوران و چگونگی تولید آن در غذا و سرطان زایی اش ۱۵

فوران (C₄H₄O, CAS No.110-00-9) ماده شیمیایی آلی هتروسیکلیک فرار است که اغلب به عنوان ماده واسط در فرآیندهای صنعتی برای تولید مواد پلیمری سنتتیک یافت می شود. فوران ترکیب بسیار متفاوتی از گروه متنوع مواد شیمیایی است که گاهی اوقات به آن در مجموع "فوران ها" اطلاق می گردد و شامل توکسین های آنتی میکروبیال (نیتروفوران ها) و شبه دیوکسین گوناگون است.

نگرانی درباره وجود فوران در غذاها به سال ۲۰۰۴ برمی گردد، زمانی که مطالعه سازمان غذا و دارو (FDA) درباره غذاهای فرآیند شده با حرارت در آمریکا فاش نمود که مقادیر کم فوران را می توان در نسبت های بزرگ غیرقابل انتظار در فرآورده های فرآیند شده در ظروف دربسته مانند قوطی و ظروف شیشه ای یافت. فوران سرطان زای احتمالی انسانی است و بنابراین حتی مقادیر کم آن در غذاها نامطلوب است.

۱-۲ شکل گیری فوران در غذا

پیشرفت تکنولوژی فراوری غذا که شامل سرخ کردن، برشته کردن، کباب کردن، تغلیظ، دود دادن، استریلیزاسیون، پاستوریزاسیون، پرتو دهی، نمک سود کردن، منجمد، کنسرو کردن و اشعه دادن می باشد، ظرفیت ذخیره های غذایی را به میزان زیادی در عصر جدید توسعه داده است.

بیوشیمی متابولیسم

پختن، مطلوبیت (برای مثال، طعم، ظاهر، بافت) و پایداری غذاها را افزایش می دهد، همچنین هضم غذاها را بهبود می بخشد. علاوه بر این میکرو ارگانیسمهای سمی را از بین برده و همینطور عوامل نامطلوب مانند آنزیمهای باز دارنده را بی اثر می کند.

تغییرات شیمیایی در ترکیبات غذا شامل اسیدهای آمینه، پروتئینها، قندها، کربوهیدراتها، ویتامینها و چربیها بوسیله فرایند حرارتی بالا، بر سؤالات متداول در زمینه کاهش ارزش غذایی افزوده است. حتی تشکیل تعدادی از سموم شیمیایی مانند هیدرو کربنهای آروماتیک چند حلقه ای، آکریلامید، اسید آمینه و پروتئین پیرولیز شده و فوران در غذا دیده می شود.

فوران یک ترکیب هترو سیکلیک آروماتیک با یک اتم اکسیژن است. بسیار فرار، مایع بیرنگ، اشتعال زا است.

مشخص شده فوران یک ترکیب سرطانزا است. تشخیص داده شده که فوران در طی حرارت دادن غذا با پیرولیز اجزا سازنده غذا مانند ویتامین C، کربوهیدراتها، پروتئینها، و اسیدهای چرب چند غیر اشباعی و همچنین به وسیله تعامل بین این ترکیبات به وجود می آید. و همینطور پیشنهاد شده است که مؤثرترین پیش ساز فوران اسید اسکوربیک و مشتقات آن می باشد. یکی از محتمل ترین الگوهای تشکیل فوران از پیرولیز گلوکز در شکل ۱ آورده شده است.

فصل اول : فوران و چگونگی تولید آن در غذا و سرطان زایی اش ۱۷

در بین محصولات غذایی آلوده شده بافوران ،غذای کودک شیشه شده به دلیل میزان آسیب پذیری کودکان و نوزادان به مواد مسموم و علاوه بر این دریافت روزانه بالا نسبت به وزن کودک بیشتر مورد توجه قرار گرفته است.بقیه غذاهایی که شکل گیری فوران در آنها رخ می دهد عبارتند از سبزیجات ، میوه ، گوشت وماهی کنسرو شده ، سس ماکارونی ، نوشیدنیهای مغذی ، آبجوها و قهوه ها .

پایین ترین مقدار فوران برای محصولات میوه ای (6-16 ppb) و محصولات گیاهی که فقط حاوی گوشت ، نشاسته برنج و ذرت هستند ، (3-8 ppb) گزارش شده است.و بالاترین مقدار در غذای کودک حاوی سبزیجات یافته شده است .

در مورد فوران در ابتدا فکر می کردند که این ماده فرار در اثر تبخیر ساده از غذا بیرون می روند.برای مثال زمانیکه در قوطی کنسرو و یا شیشه باز می شود. اما ثابت شد که این فکر درست نیست.در حقیقت فوران در غذاها پایدار است.مقادیر فورانی که در طول حرارت دهی در ظروف در بسته در طول فرایند صنعتی شکل می گیرد در هنگام گرم کردن و خوردن غذا خیلی کاهش پیدا نمی کند. جز در موارد پختن و جوش زیاد است که امکان دارد فوران به وسیله تبخیر و حجم زیادی از بخار که آزاد می شود ،تلف می شود.به عبارت دیگر گرم کردن غذا و قرار دادن در ظروف حتی به صورت نیمه هم میتواند سطح فوران را بالا ببرد.

۱-۲-۱ غذای کودک حاوی ویتامین C

بیوشیمی متابولیسم

برای تقلید تشکیل فوران در غذای کودک یک سیستم مدل ساده بر پایه نشاسته که حاوی ویتامین C بود توسعه یافت به هر حال ویتامین C به طور طبیعی، یا از طریق ترکیبات استفاده شده در غذا و یا به صورت غنی سازی شده در این سیستم وجود دارد. پیشنهادی در سال ۲۰۰۴ وجود دارد که شکل گیری فوران از AA می تواند تحت شرایط اکسیداتیو و غیر اکسیداتیو صورت گیرد.

۱-۲-۲ معتبر سازی روش اندازه گیری HS-LPME برای تعیین ترکیبات فورانی در غذاهای کودک:

برای اطمینان از کارایی روش HS-LPME-GC/MS برای انجام تجزیه ی مورد نظر بررسی یک روش ضروری است. معیارهای معتبر سازی یک روش تجزیه ای عبارتند از: صحت، دقت، محدوده ی خطی بودن، حد آشکار سازی و حد اندازه گیری بررسی شدند.

بررسی منحنی درجه بندی ترکیبات فورانی در آب نشان می دهد که این منحنی با ضریب همبستگی بالا ($R^2 > 0.99$) در محدوده ی غلظتی $0/2-200 \mu\text{g/L}$ خطی است. بررسی نتایج مربوط به انحراف استاندارد نسبی نشان دهنده ی دقت خوب روش برای ترکیبات فورانی است ($3/84_7/06\%$) صحت روش اندازه گیری برای ترکیبات فورانی در حد قابل قبول است ($83/80_103/64\%$). مقادیر فاکتور تغلیظ برای فوران 972-، 2 متیل فوران 640 و 2 و 5-دی متیل فوران 503 برابر بوده که برای این روش در حد

فصل اول : فوران و چگونگی تولید آن در غذا و سرطان زایی اش ۱۹

تشخیص روش پیشنهادی برای ترکیبات فورانی $0/021-0/038\text{ng/g}$ می باشد که کمتر از حد تشخیص سایر روش های تجزیه است. حد اندازه گیری به دست آمده برای ترکیبات فورانی توسط این روش نیز ($0/069-0/126\text{ ng/g}$) کمتر از حد اندازه گیری روش های دیگر است (1,2,11,15). مقایسه ارقام شایستگی روش پیشنهادی با دو روش دیگر نشان می دهد که منحنی درجه بندی آن در محدوده ی قابل قبولی برای اندازه گیری ترکیبات فورانی خطی است و دقت، حد تشخیص و حد اندازه گیری روش HS-SPME بهتر از دو روش دیگر است.

۳-۱ ارزیابی سیستم مدل :

فراریت بالای فوران باید در بررسی مورد توجه قرار گیرد و روش تحقیق باید بر اساس تکرارپذیری و تجدید پذیری ارزیابی شود .

کاهش در حجم فضای خالی ظروف آنالیز باعث کاهش سختی در تولید فوران می شود . اگر فضای خالی ظرف کمتر از ۵۰٪ حجم کاهش یابد اثر قابل توجهی در تشکیل فوران مشاهده نشده است .

بنابراین مقدار نمونه در ظروف اثر محدود کننده روی انتقال دما از طریق حرارت دارد و این نشان می دهد که اختلافات مشاهده شده ناشی از اثرات حرارتی نیست .

بیوشیمی متابولیسم

این نتایج پیشنهاد می کنند که حضور بیش از حد اکسیژن باعث افزایش تولید فوران در طول تجزیه حرارتی اسید آسکوربیک می گردد .

در این آزمایشات اثر انتقال نمونه به داخل ظروف آنالیز نیز مورد بررسی قرار گرفت . برای اینکار gr1 از نمونه حرارت دیده و در دو روش یکی با انتقال و دیگری بدون انتقال به ظروف آنالیز شدند . برای نمونه های انتقال یافته میزان فوران $PPb\ 4/7 \pm 4/67$ بوده است . درحالیکه فوران در نمونه هایی که در همان ظرف آنالیز حرارت دیدند دو برابر این غلظت را داشت . ($PPb\ 4/7 \pm 4/128$) این نتایج نشان می دهند که مقدار زیادی از فوران در طی انتقال از دست می رود و در نتیجه مقدار فوران گزارش شده کمتر از مقدار تولید شده است .

اما بر خلاف این عیب انتقال نمونه در آزمایشات دیگر بازهم کاربرد دارد .

در تحقیقات پیشین مشخص شده که تبخیر فوران از شبکه ماده غذایی تا حد زیادی بستگی به محتوای چربی نمونه دارد . بنابراین اگر سیستم مدل حاوی لیپیدها باشد اتلاف فوران در سراسر آنالیز احتمالاً کمتر از مقداری است که گزارش شده است.

۴-۱ اثر عوامل داخلی و خارجی

۱-۴-۱ اثر نوع بافر و PH

فصل اول : فوران و چگونگی تولید آن در غذا و سرطان زایی اش ۲۱

چون PH بعد از گرم کردن و سرد کردن به دست می آید بنابراین بافر ها باید به اندازه کافی قدرت اجتناب از تغییرات PH را در اثر واکنش در طول گرما دهی داشته باشند .

در ارزیابی این فاکتور به نظر می رسد مخصوصاً در PH اسیدی که نوعاً در غذای بچه با پایه میوه وجود دارد تشکیل فوران تحریک می شود .

در PH کمی اسیدی (۶-۶/۵) تشکیل فوران تقریباً ۶-۳ برابر کاهش می یابد .

جدای از اثر PH ترکیب بافر ها نیز می تواند مورد توجه باشد. به نظر می رسد که وجود یون فسفات تولید فوران را افزایش می دهد.

۱-۴-۲ اثر غلظت مختلف اسید آسکوربیک

با تغییر در غلظت AA از $1/0 \text{ mg/g}$ به $5/4 \text{ mg/g}$ در نمونه اختلاف قابل توجهی در غلظت فوران به وجود نیامده است.

فقط در نمونه های حاوی 18 mg/g اسید آسکوربیک فوران به مقدار قابل توجهی بیشتر تولید شده بود.

چون در غذای کودک نرمال میزان ویتامین C حدود $2-15 \text{ mg/g}$ می باشد . بنابراین می توان گفت غلظت AA در این رنج تاثیر قابل توجهی در تولید فوران ندارد .

۱-۴-۳ اثر نسبت مولار اسید آسکوربیک به دهیدروآسکوربیک اسید :

بیوشیمی متابولیسم

ارزیابی این فاکتور نشان داد که نسبت مولار AA/DHA تاثیر زیادی روی شکل گیری فوران ندارد.

مقادیر فوران برای نمونه های حاوی ۱۰۰٪ AA برابر با $2 \pm 7/5$ ppb و در مقایسه با نمونه های $AA40\% \text{DHA}60\%$ حدود $1 \pm 5/5$ ppb و در نمونه های $DHA 80\% / AA20\%$ برابر با $0 \pm 1/5$ ppb بود.

فقط غلظت فوران تشکیل شده از DHA بدون حضور AA در مقایسه با دیگر نتایج به طور قابل توجهی کمتر بود ($ppb 2/0 \pm 5/4$)

۱-۴-۴ اثر حضور پروتئین

مقادیر فوران تشکیل شده از ژل نشاسته ای ذرت مومی حاوی ویتامین C با وجود و عدم وجود پروتئین در آزمایشی با هم مقایسه شده اند.

حضور پروتئین در نمونه های حاوی AA اثری روی تولید فوران نداشت. هر چند در نمونه هایی که DHA موجود بود افزودن پروتئین به طور قابل توجهی تولید فوران را کاهش میداد.

این پدیده می تواند با این حقیقت که DHA نسبت به AA بیشتر با پروتئین واکنش می دهد شرح داده شود به دلیل حضور گروه کربنیل که می تواند سریعتر با زنجیره های پروتئینی نوکلئوفیل به منظور ایجاد سایر ترکیبات واکنش دهد.

۱-۴-۵ اثر زمان و درجه حرارت گرما دادن روی تشکیل فوران

مشاهده شد که درجه حرارت تاثیر زیادی در تشکیل فوران دارد ، مخصوصاً اگر AA در نمونه ها موجود باشد . افزایش درجه حرارت گرما دهی تا ، مقادیر بالای فوران را نتیجه می دهد .

۱-۴-۶ اثر سایر ترکیبات روی تشکیل فوران

به منظور خارج کردن اثرات تحریک کنندگی ممکن یونهای فلزی که به طور بالقوه در نشاسته وجود دارند، آزمایشات گرما دهی روی نشاسته ای که دیالیز شده و نشاسته دیالیز شده ای که یونهای فریک ، فروس و مس به آن اضافه شده بود انجام گرفت . پس از انجام مشاهده شد که نه رفع و نه افزودن یونهای فلزی اثری روی تولید فوران از AA در سیستم حاوی نشاسته ندارد .

۱-۵ فرایند uv :

فوران علاوه بر فرآیند حرارتی در طی فرآیند غیر حرارتی مانند اشعه UV نیز ممکن است به وجود آید .

فرایند UV در کاهش سطح آلودگی میکروبی اهمیت زیادی دارد. این اهمیت ناش از فواید آن مانند هزینه کم، سادگی، اثرات باقیماندگی خیلی کم (چون یک فرآیند سرد و خشک است)، عدم تشکیل باقیمانده های شیمیایی و ترکیبات فرعی میباشد.

در مورد آب میوه ها و سبزیجات بیان شده، که ما باید کاهش ۵ سیکل لگاریتمی را در مورد بیماریزاهای شاخص داشته باشیم.

بنابراین لازم است که تمام قسمت های مایع حداقل تحت اثر میزان ۴۰۰ اشعه UV با طول موج 254 nm قرار بگیرند. در سال ۲۰۰۵ اثر القایی فروکتوز روی تشکیل فوران توسط فرایند UV گزارش شد.

در این تحقیق از آب میوه های طبیعی و بازسازی شده نمونه برداری گردید. در نمونه های بازسازی شده HFCS مورد استفاده قرار گرفت.

مشاهده مطالعه حاضر نقش انفرادی ترکیبات در آب میوه و ضریب جذب آب میوه ها را در شکل -گیری فوران در طول فرایند UV در یک تجربیات کتابخانه ای ارزیابی می کند. سپس این تجربیات به HFCS و آب میوه های بازسازی شده از آن و نمونه هایی از آب سیب و نوشیدنی سیب بسط داده شدند.

در این تحقیق از نمونه های بازسازی شده از شیرین کننده های مختلف مانند فروکتوز، گلوکوز، ساکارز، HFCS و همینطور اسیدهایی مانند مالیک، سیتریک و اسید اسکوربیک استفاده شد.

فصل اول : فوران و چگونگی تولید آن در غذا و سرطان زایی اش ۲۵

در بین ترکیبات مختلف فروکتوز منجر به بالاترین غلظت فوران شد و غلظت کمتر فوران توسط اسید مالیک نتیجه شد. اسید مالیک در نمونه های حاوی HFCS اثر سیزژیستی روی تشکیل فوران داشت.

تشکیل فوران در محلولهای حاوی اسید آسکوربیک متوقف شد . به علاوه اثرات محافظتی اسید اسکوربیک در فرایند پرتودهی UV شناخته شده است در نهایت نتیجه ای که گرفته شد این بود که HFCS در آب میوه ها شکل گیری فوران را در طی فرآیند UV در طی فرایند UV القا می کند بنابراین در این مورد HFCS یک افزودنی ایمن نیست .

۱-۶ اثر بر سلامت

فوران سیتوتوکسین است و کبد اندام هدف برای اثرات سمی حاد است. اما، این مسمومیت، اثر حضور طولانی مدت فوران در رژیم غذایی است و پتانسیل سرطان زایی احتمالی آن از نظر ایمنی غذا دارای اهمیت است. فوران در موش های صحرایی و موش ها سرطان زا بوده و احتمالاً ژنوتوکسیک هم هست. به همین دلیل، از طرف آژانس بین المللی پژوهش سرطان (IARC) به عنوان "سرطان زای احتمالی برای انسان" طبقه بندی شده است. گروه علمی EFSA درباره آلاینده ها در زنجیره غذایی در سال ۲۰۰۴ به این نتیجه رسیدند که تفاوت بین قرارگرفتن انسان در معرض فوران و مقادیر ایجاد کننده اثرات سرطان زایی در حیوانات "نسبتاً کم" بوده است. اما، این نتیجه گیری بر پایه داده های محدود بود و مقدار ریسک

بیوشیمی متابولیسم

سلامتی فوران در غذاها به طور مناسبی تعیین نخواهد شد تا زمانی که داده های بیشتری درباره مسمومیت زایی و قرار گرفتن در معرض فوران برای ارزیابی در دسترس قرار گیرد. محتمل در نظر گرفته می شود که فوران فرآورده جانبی دماهای بالای به کار رفته در فرآیند حرارتی غذاهاست. اما روشی که با آن فوران تولید می شود شناخته شده نیست. با در نظر گرفتن مجموعه متنوعی از غذاها فرآیند شده با حرارت که ممکن است حاوی فوران باشد، محتمل در نظر گرفته می شود که تعدادی از مکانیسم های متفاوت درگیر باشند. منابع پیشنهاد شده تشکیل فوران شامل تجزیه حرارتی قندهای احیاکننده به تنهایی، یا در ترکیب با آمینواسیدها، تجزیه حرارتی بعضی از اسیدهای آمینه، و اکسیداسیون حرارتی اسید آسکوربیک، اسیدهای چرب چند غیراشباعی و کاروتنوئیدها است. حضور باقیمانده های فوران در غذاها کنسرو شده، و فرآورده هایی در ظروف شیشه ای مهرموم شده و ظروف دیگر، احتمالاً نتیجه ترکیب فراری است که در ظرف به دام افتاده است.

۱-۷ متابولیسم:

فوران به طور سریع در بدن جذب می شود اما آن همچنان با کارایی بالا دفع می شود. آزمایشات و ردیابی رادیو اکتیویته نشان داد که ۸۴٪ از دوز مصرف شده فوران از طریق دهان در عرض ۲۴ ساعت در موشها متابولیزه می شود و باقیمانده از طریق تنفس بیرون

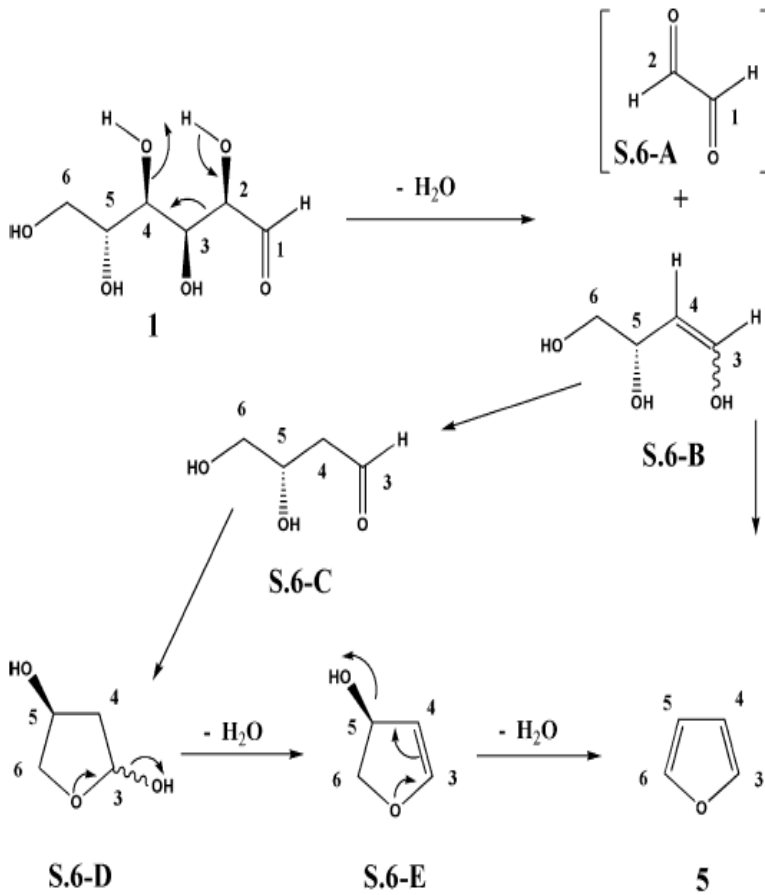
فصل اول: فوران و چگونگی تولید آن در غذا و سرطان زایی اش ۲۷

می رود . ۲۰٪ از مواد رادیو اکتیویته در بیش از ده نمونه دفع شده در ادرار و بیش از ۲۲٪ دفع شدن در مدفوع دیده شد .

اما با تکرار دوزها در جگر تجمع پیدا کرده و فوران جذب شده سریعاً توسط آنزیمها ی سیتو کروم از طریق باز شدن حلقه به فرم و سیس ۲-بوتن-۱، ۴-دی آلدئید متابولیزه شدند که با پروتئین و نوکئوسیدها ترکیب شدند .

فوران و یا ترکیب سیس ۲-بوتن-۱ و ۴دی آلدئید در سلولهای هدف با DNA واکنش داده و باعث تولید تومور می گردند . در رابطه با شکل گیری فوران و اثر شرایط واکنش تحقیقاتی در محصولات مختلف صورت گرفته است .

شکل (۱_۱)



Scheme 6. Glucose pyrolysis: the formation of the dominant labeling pattern in furan (5).

۸-۱ استراتژی های تکنولوژیکی به منظور کاهش فوران و HMF:

علی رغم وجود اطلاعات، هنوز با قطعیت نمیتواند خطرات مرتبط با فوران و HMF وسایرآلوده کننده های غذا از جمله آکریل آمید را توضیح داد. اطلاعات کمی در ارتباط با کاهش فوران و HMF در مواد غذایی وجود دارد. در برخی موارد، اطلاعات درباره ی چگونگی کاهش فوران و HMF میتواند از نتایج تحقیقات مرتبط با اثر ترکیبات مختلف و

فصل اول : فوران و چگونگی تولید آن در غذا و سرطان زایی اش ۲۹

متغیرهای فرآیند برتشکیل این دو مولکول ، بدست آید . مقیاسهای تکنولوژیکی که به منظور کاهش این مولکولها در غذا پیشنهاد شده اند در ارتباط با فرمولاسیون و اقدامات پس از فرآوری است . این کاهش از دو مسیر تکنولوژیکی متفاوت ، قابل انجام است .

اقدامات پیشگیری با هدف تشکیل فوران و HMF در حداقل ممکن طی فرآیند حرارتی. این میتواند از طریق عمل بر پیش سازها و راههای مکانیکی ، از انجام واکنشهای نامطلوب جلوگیری کند .

اقدامات حذفی با هدف حذف یا تجزیه ی HMF و فورانهای از قبل تشکیل شده در محصول نهایی

کاهش فوران و HMF در غذا به علت مشکل بودن راههای موثر و کاربردی در مقیاس صنعتی به موضوع بحث برانگیزی تبدیل شده است . عوامل محدود کننده میتواند شامل تعداد زیاد پیش سازها (از جمله اسید های چرب غیر اشباعی ، اسید آسکوربیک ، کارتنوئیدها) میباشد که برخی از آنها به علت خواص سلامتی بخششان ، جزء ترکیبات مطلوب غذا محسوب میگردند . از آنجایی که تشکیل فوران و HMF همراه با رنگ و طعم مواد غذایی حرارت دیده است ، کاهش تشکیل این مواد بدون در نظر گرفتن خواص حسی غذا ، مشکل میباشد .

۹-۱ استراتژی های پیشگیری:

بیوشیمی متابولیسم

تغییر در پارامترهای فرآیند از جمله اصلاح فرآیند گرم کردن و فرمولاسیون میتواند به عنوان استراتژی‌هایی در نظر گرفته شود:

۱-۹-۱ تغییر در پارامترهای فرآیند:

همانطور که مشخص شده است، تشکیل HMF و فوران با افزایش دما و زمان حرارت دادن افزایش می‌یابد.

Liamacher و همکاران (۲۰۰۷، ۲۰۰۸) نشان دادند تحت شرایط مشابه با استرلیزاسیون و گرم کردن خشک، فوران بیشتری تولید می‌گردد. بنابراین، انتخاب مناسب دما و زمان فرآوری می‌تواند راه مؤثری در کاهش HMF طی حرارت دادن باشد.

فصل اول : فوران و چگونگی تولید آن در غذا و سرطان زایی اش ۳۱

۲-۹-۱ تغییر در فرمولاسیون:

از آنجایی که فرمولاسیون نقش مهمی در تشکیل فوران و HMF دارد به همین علت تغییر آن میتواند یک استراتژی پیش گیری در نظر گرفته شود. تغییر در فرمولاسیون به ۲ طریق محتمل است:

حذف پیش سازهایی با قدرت واکنش دهنده ای زیاد و یا جانشینی آن ها با دیگر ترکیباتی که تمایل کم تری به تشکیل HMF و فوران دارند.

افزودن ترکیباتی که از واکنش تشکیل HMF و فوران جلوگیری می کنند.

۳-۹-۱ حذف یا جایگزینی اجزا:

جایگزینی همه یا قسمتی از قندهای احیاکننده (از جمله فروکتوز و گلوکز) با قندهای غیر احیاکننده (ساکارز) و یا پلی الکل ها (مالتیتول) می تواند منجر به کاهش معنادار تشکیل HMF در سیستم های مدل و محصولات نانوائی گردد.

۴-۹-۱ افزودن ترکیبات:

پتانسیل ترکیبات مختلف ، در کاهش سطح فوران و HMF در چندین تحقیق مورد بررسی قرار گرفته است . مقالات کمی در زمینه ی اثر مهارکننده های رادیکال بر کاهش تشکیل فوران وجود دارد (Seaman, Becalski ۲۰۰۵) گزارش کردند در شرایط پخت تحت فشار

و در حضور استات توکوفرول و BHA، میزان تولید اسیدهای چرب چند اشباعی به شدت کاهش می یابد.

۱-۱۰-۱ استراتژی های پس از فرآوری :

همانطور که گفته شد، برخی از پیش سازهای HMF و فوران به دلیل خواص سلامتی بخش خود، ملکول های مفیدی می باشند. افزودن اسید های چرب غیر اشباع، کارتنوئیدها و اسید آسکوربیک به غذا تحت شرایط اسپتیک و پس از اعمال حرارت، در برخی موارد می تواند علاوه بر ایجاد خواص سلامتی بخش، باعث کاهش تجمع HMF و فوران در غذا گردد. هرچند در مقیاس صنعتی، به دلیل هزینه های بالا، افزودن ملکول به ماده ی غذایی فرآوری شده امکان پذیر نمی باشد. راهکار دیگر برای کاهش HMF و فوران، ایجاد شرایط نامطلوب برای تشکیل این مواد است. درمقایسه با سیستم مدل اسید آسکوربیک، جایگزینی اکسیژن با نیتروژن، منجر به کاهش ۳۰٪ تشکیل فوران میگردد.

۱-۱۰-۱-۱ استراتژی های حذف:

راهکارهای متفاوتی در مقالات به منظور حذف فوران و HMF از محصول نهایی ارائه شده است. این راهکارها شامل استراتژی های مرتبط با فراریت ملکول ۰ از جمله حرارت دهی در ظروف در باز و حذف فیزیکی) و یا واکنش های تخریب ملکول از تیمار خلا با اشعه یونیزه کننده می باشد.

۱-۱۰-۱-۲ پختن در ظروف در باز:

فصل اول : فوران و چگونگی تولید آن در غذا و سرطان زایی اش ۳۳

حرارت دهی غذا در ظروف در باز در مقایسه با انواع در بسته، باعث کاهش معنادار میزان فوران با استفاده از تبخیر که در نتیجه ی فرایت بالای این ماده است، می باشد. کاهش میزان فوران به نوع غذا و شرایط گرم کردن بستگی دارد. پختن در ظروف در باز راه آسانی برای کاهش میزان فوران در غذاهایی از جمله کنسروها محسوب می گردد. پخت خانگی و گرم کردن جزئی مواد حرارت دیده در ظروف در باز، باعث تبخیر فوران شده و بنابراین در کاهش غلظت آن تا اندازه ای نقش دارد.

۱-۱۰-۳ حذف فیزیکی :

استراتژی حذف فیزیکی HMF و فوران با استفاده از تیمار خلا امکان پذیر است. قبل از این، تکنولوژی خلا به منظور حذف آکریل آمید از شیرینی و چیپس سیب زمینی و HMF و فورفورال از قهوه برشته، کاربرد داشته است. با بکارگیری ترکیب دما، فشار و زمان، میزان فورفورال بیشتری در مقایسه با HMF از قهوه حذف می گردد که ناشی از تفاوت در خواص فیزیکوشیمیایی دو ملکول است/ علاوه بر این، تیمار خلا بر پودر قهوه هیدراته شده در aw بالا، اثر بیشتری دارد. این تیمار باعث کاهش معنی دار مواد فرار در سرفضای قهوه می گردد که نتیجه این امر، کاهش شدت بوی قهوه خواهد بود. از آنجایی که خواص فیزیکی و ترکیب ماتریکس، هر دو بر حذف ملکول موثر اند، باید توجه کرد که نحوه ی کاهش فوران و HMF در غذاهای مختلف، متفاوت خواهد بود.

نتایج تحقیقات نشان میدهد تکنولوژی خلا باعث کاهش معنا دار فوران و HMF در بیسکوئیت می گردد. در حالی که این تیمار فقط فوران را از سس بر پایه ی چربی حذف می نماید.

۱-۱۰-۴ اشعه یونیزه کننده:

اشعه گاما در دزهای کمتر از ۱۰ کیلومتری، به طور معناداری میزان فوران را در غذاهای آماده مصرف از جمله سوسیس و فرانکفورتز کاهش می دهد. افزودن سدیم نیترات، سدیم اریتروبات ، گلوکز، عسل و شربت ذرت قبل از اشعه دهی می تواند تشکیل فوران را کاهش دهد. این نتایج در تناقض با تحقیقات قبلی است که نشان میداد اشعه دهی منجر به تجمع فوران در آبمیوه ها می گردد. طی اشعه دهی، رادیکال های آزاد از جمله الکترون های هیدراته شده، رادیکال های هیدروکسیل و اتم های هیدروژن از رادیولیز آب در محلول های آبی و غذاهای پر رطوبت، حاصل می شوند.

این رادیکال های آزاد علاوه بر فوران می توانند یا ملکول های موجود در غذا از جمله قندها، اسید های چرب غیر اشباعی و اسید آسکوربیک واکنش دهند. در نتیجه فوران می تواند تولید و یا تجزیه گردد. افزودن سدیم نیترات قبل از اشعه دهی می تواند به علت واکنش میان یونهای نیتریک و رادیکال های هیدروکسیل، از تشکیل فوران پیش گیری نماید. کاربرد اشعه دهی به عنوان استراتژی کاهش فوران در اروپا قابل انجام نیست و تا کنون فقط در گیاهان معطر خشک شده ، ادویه ها و چاشنی ها کاربرد داشته است. اما

فصل اول : فوران و چگونگی تولید آن در غذا و سرطان زایی اش ۳۵

در امریکا، اشعه دهی برای افزایش ماندگاری و بهبود کیفیت و ایمنی غذاهای قبل بسته بندی شده، کاربرد دارد.

۱-۱۱ گزینه های کنترل

در حال حاضر درباره تشکیل، پیدایش و ریسک بالقوه فوران در غذاها، برای هرگونه گزینه های کنترل معتبری اطلاعات کمی وجود دارد.

FDA برای فوران در غذا برنامه ای عملی را منتشر کرده است. اهداف این برنامه ایجاد روش های تحلیلی مطمئن، جمع آوری داده های بیشتری درباره وجود فوران در رژیم غذایی، فراگیری بیشتر درباره سم شناسی انسانی فوران و تولید داده های کافی برای انجام ارزیابی کامل ریسک است. در اتحادیه اروپا، EFSA برنامه مشابهی از جمع آوری داده ها و ارزیابی ریسک آغاز کرده است.

۱-۱۲ قانون گذاری

تاکنون مقادیر محدودکننده قانونی برای فوران در غذاها وجود نداشته است. هرگونه قانون گذاری آتی بر پایه نتایج فعالیت های مداوم تحلیل ریسک خواهد بود.

۱-۱۳ مروری بر تحقیقات گذشته فوران:

سال انتشار	نویسنده	عنوان	Refrence

1	Determination of Furan Levels in Coffee Using Automated Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography/Mass Spectrometry	Ho, I-Pin; Yoo, Seong-Jae	2, March 2005
2	Determination of dioxins/furans and PCBs by quadrupole ion-trap gas chromatography–mass spectrometry	Jeffry B. Plomley ¹ , Mila Lauševic ² and Raymond E. March ³ ,	18 OCT 2000
3	Analysis of furan in foods by headspace solid-phase microextraction–gas chromatography–ion trap mass spectrometry	M.S. Altaki, F.J. Santos, M.T. Galceran	30 March 2007
4	Rapid determination of furan in heated foodstuffs by isotope dilution solid phase micro-extraction-gas chromatography – mass spectrometry (SPME-GC-MS)	Till Goldmann, ^a Adrienne Périsset, ^a Francis Scanlana and Richard H. Stadler ^b	Issue 6, 2005

5	A study of the spectroscopic and thermodynamic properties of furan by means of photoabsorption, photoelectron and photoion spectroscopy	E.E Renniea, C.A.F Johnsona, J.E Parkera, D.M.P Hollandb, , D.A Shawb, M.A MacDonaldb, M.A Hayesb, L.G Shpinkovac	15 September 1998
6	Development and validation of a solid phase micro-extraction-gas chromatography-mass spectrometry method for the determination of furan in baby-food	Federica Bianchi, , Maria Careri, Alessandro Mangia, Marilena Musci	June 29, 2005
7	Single-Laboratory Validation of a Method for the Determination of Furan in Foods by Using Static Headspace Sampling and Gas	Nyman, Patricia J; Morehouse, Kim M; McNeal, Timothy P; Perfetti, Gracia	5, September 2006

	Chromatography/Mass Spectrometry	A; Diachenko, Gregory W	
8	Furan in the baby-food samples purchased from the Finnish markets – Determination with SPME–GC–MS	Marika Jestoia, , Talvikki Järvinena, Eila Järvenpääb, Heli Tapanainenc, Suvi Virtanenc, Kimmo Peltonena	1 December 2009
9	Determination of melamine and cyanuric acid in powdered milk using injection-port derivatization and gas chromatography–tandem mass spectrometry with furan chemical ionization	Shin-Hwa Tzinga, Wang-Hsien Dingb,	1 October 2010
10	Automated headspace solid-phase microextraction versus headspace for the analysis of furan in foods by gas	M.S. Altaki, F.J. Santos, ,	15 June 200

	chromatography–mass spectrometry	M.T. Galceran	
11	Analysis of dioxins and furans in environmental samples by GC-ion-trap MS/MS	Begoña Fabrellas, , , Paloma Sanza, Esteban Abadb, Josep Riverab, David Larrazábala	June 2004
12	Simultaneous determination of planar chlorobiphenyls and polychlorinated dibenzo-p-dioxins and -furans in Dutch milk using isotope dilution and gas chromatography—high-resolution mass spectrometry	J.A. van Rhijn, W.A. Traag, P.F. van de Spreng, L.G.M.Th. Tuinstra	5 February 1993
13	Precursors, Formation and Determination of Furan in Food	V. A. Yaylayan	February 2006
14	Survey of furan in heat processed foods by headspace gas chromatography/mass	Kim M. Morehousea, Patricia J. Nymana,	4 Jul 2007

	spectrometry and estimated adult exposure	Timothy P. McNeala, Michael J. DiNovia & Gracia A. Perfettia	
15	Tandem-in-Time Mass Spectrometry Method for the Sub-Parts-per-Trillion Determination of 2,3,7,8-Chlorine-Substituted Dibenzo-p-dioxins and -furans in High-Fat Foods	Douglas G. Hayward , † Kim Hooper , ‡ and Denis Andrzejewski †	November 20, 1998
16	DR-CALUX® screening of food samples: evaluation of the quantitative approach to measure dioxin, furans and dioxin-like PCBs	Marie-Louise Scippo, , Gauthier Eppe, Edwin De Pauw, Guy Maghuin-Rogister	8 August 2004
17	Some factors affecting the formation of furan in heated foods	S. Hasnipa, C. Crewsa & L. Castlea	20 Feb 2007
18	Furan Precursors in Food: A Model Study and	Becalski, Adam; Seaman, Stephen	January 2005

	Development of a Simple Headspace Method for Determination of Furan		
19	A review of the occurrence, formation and analysis of furan in heat-processed foods	C. Crews and L. Castle	2007

فصل دوم

ریز استخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۴۳

گسترش آلاینده های شیمیایی در محیط زیست و اکوسیستم زمین نظیر آب، خاک و هوا اثرات مخرب جبران ناپذیری بر جای گذاشته است. بنابراین اندازه گیری و تعیین مقادیر آنها در نمونه های زیست محیطی بسیار حیاتی است. در سال های اخیر توجه زیادی به اندازه گیری و کنترل این آلاینده ها شده است و تحقیقات وسیعی در این رابطه در حال انجام است. ابتلا به بیماری های گوناگون و جدید و نیاز انسان در جهت تشخیص درست و به موقع بیماری ها و شناسایی عوامل بیماری و لزوم ردیابی بیماری و سنتز داروهای جدید با بهترین کیفیت از جمله عواملی است که لزوم بهینه سازی و ابداع روش های جدید در فرایندهای مختلف شیمی از جمله فرایند استخراج را باعث می شود.

آنالیز شیمیایی نمونه های حقیقی نیاز به آگاهی از روش های تجزیه ای و مهارت کافی دارد

این اندازه گیری ها باید دارای صحت و دقت کافی باشند تا نتایج حاصل از آنها قابل اعتماد باشد.

روش های تجزیه ای شامل مراحل نمونه برداری، آماده سازی، جداسازی، اندازه گیری و تحلیل آماری نتایج می باشند. علی رغم پیشرفت های وسیع در تکنیک های اندازه گیری، عملیات آماده سازی و جداسازی نمونه اغلب بر مبنای تکنولوژی های قرن نوزدهم صورت می گیرد. بیشتر روش های قدیمی پر هزینه، وقت گیر، و چند مرحله ای می باشند که باعث هدر رفتن نمونه می شود. به علاوه در این روش ها از مقادیر زیاد حلال های آلی استفاده می شود که برای محیط زیست مضر بوده و مصرف آنها طی قرارداد های بین المللی ممنوع

اعلام شده است. همچنین کوچک سازی و خودکار کردن این روش‌ها مشکل بوده و بنابراین بخش عمده ای از زمان صرف آماده سازی نمونه می‌گردد. به علت غلظت بسیار کم آلاینده‌ها و پیچیدگی بافت نمونه های حقیقی، اهمیت مرحله آماده سازی نمونه بیشتر جلوه می‌کند. امروزه تکنیک‌های متنوعی جایگزین روش‌های کلاسیک شده‌اند که یا عاری از حلال هستند و یا حجم حلال مصرفی آنقدر کوچک است که می‌توان آن‌ها را جزء روش‌های عاری از حلال محسوب کرد. روش‌های آماده سازی نمونه را می‌توان بر اساس نوع فاز استخراج کننده در دسته های مختلفی طبقه بندی کرد، که به ترتیب مورد بررسی قرار می‌گیرند.

۱-۲ استخراج

استخراج روشی است برای جداسازی که مستلزم انتقال جسمی از یک فاز به فاز دیگر می‌باشد. در صنایع غذایی بسیاری از محصولات توسط فرآیند استخراج از مواد خام جداسازی می‌شوند. به بیان دیگر همواره لازم است که گونه شیمیایی مورد نیاز، خالص- سازی شده سپس برای هدف مورد نظر مورد استفاده قرار گیرد. کلیه ی اعمال و فرایندهای فیزیکی یا شیمیایی که در این راستا به کار می‌روند، به نام روش‌های جداسازی نامیده می‌شوند. از روش‌های جداسازی می‌توان رسوب دادن، تبلور مجدد، انجماد، تبخیر، تقطیر، استخراج، کروماتوگرافی،...را نام برد. از موارد فوق کروماتوگرافی و استخراج از جایگاه ویژه ای برخوردار است و فعالیت‌های زیادی جهت افزایش کارایی آن‌ها صورت گرفته است.

۱-۱-۲. خصوصیات حلال

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۴۵

هنگام انتخاب حلال جهت استخراج یک جزء از محلول باید چند اصل کلی را به خاطر

سپرد

(۱) حلال استخراج با حلال محلول اصلی باید غیر قابل اختلاط باشند.

(۲) حلال انتخابی باید برای جزء مورد نظر مناسب‌ترین ضریب پخش و برای ناخالصی‌ها

یا اجزای دیگر ضرایب نامناسبی داشته باشد.

(۳) حلال انتخابی باید مانند تبلور مجدد از نظر شیمیایی با اجزای مخلوط، واکنش

نامناسبی ندهد.

(۴) پس از استخراج باید بتوان حلال را به آسان از جسم حل شده جدا کرد. معمولاً حلال

را با تقطیر جدا می‌کنند.

(۵) حلال باید از لحاظ شیمیایی پایدار باشد.

(۶) حلال باید غیر سمی و غیرقابل اشتعال باشد.

با این وجود این تکنیک دارای چندین نقطه ضعف از جمله تشکیل امولسیون، استفاده از

حجم زیاد حلال، گرانی روش و دشواری در اجرا می‌باشد.

معمولاً بهتر است عمل استخراج در درجه حرارت بالا صورت پذیرد، زیرا:

(۱) با افزایش دما، حلالیت حل شونده در حلال افزایش می‌یابد که این عمل باعث افزایش

غلظت نهایی محلول مادر می‌شود.

(۲) با افزایش دما، ویسکوزیته مایع کاهش و نفوذپذیری آن افزایش می‌یابد که هر دو عامل

باعث افزایش سرعت استخراج می‌شود.

با توجه به اینکه یکی از مهم‌ترین اهداف دنبال شده در روش‌های استخراج دست یابی به فاکتورهای تغلیظ بالا و کاهش حجم حلال‌های سمی مورد استفاده است، به منظور رسیدن به یک روش ایده آل محققان کوچک کردن روش‌های استخراج را در دستور کار خود قرار داده‌اند. در اوایل دهه ۱۹۹۰ میلادی نسل جدیدی از روش‌های استخراج و آماده سازی نمونه به نام روش‌های ریز استخراج معرفی شدند.

۲-۲ استخراج با حلال

همان‌طور که گفته شد، عملیات آماده سازی و جداسازی نمونه اغلب بر مبنای تکنولوژی‌های قرن نوزدهم صورت می‌گیرد. روش‌های قدیمی اغلب پر هزینه و وقت گیر بوده و شامل مراحل متعددی می‌باشند. این روش‌ها به دلیل مصرف زیاد حلال و اثرات مخرب ناشی از آن و همچنین وقت گیر بودن امروزه کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد. از مهم‌ترین این روش‌ها می‌توان استخراج سوکسله، استخراج با سیال فوق بحرانی، استخراج با آب فوق گرم و استخراج مایع-مایع اشاره کرد. روند تکاملی و تدریجی در شیمی تجزیه به سمت ساده سازی و کوچک کردن روش‌های آماده سازی نمونه و همچنین کاهش مصرف حلال آلی است. بنابراین چندین روش ریز استخراج برای کاهش مراحل آنالیز افزایش ورودی نمونه و بهبود کیفیت حساسیت روش‌های تجزیه ای معرفی شده است تعدادی از این روش‌ها شامل موارد ذیل می‌باشد.

۱- ریز استخراج با قطره حلال (SDME)^۱

¹ Single-drop microextraction

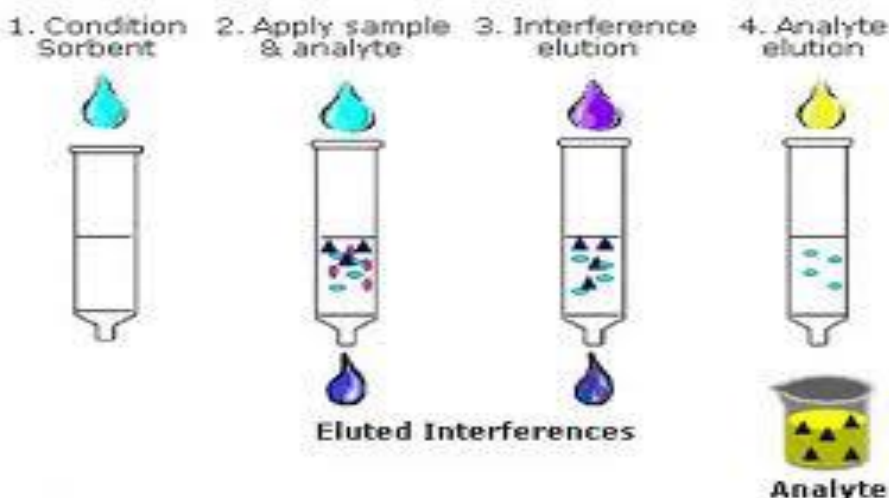
فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۴۷

۲- ریز استخراج با فاز مایع (LPME)^۱

۳- ریز استخراج مایع- مایع پخشی (DLLME)^۲

۳-۲ استخراج با فاز جامد (SPE)

در این روش یک فاز جامد و فاز دیگر مایع یا گاز است و آنالیت به طور گزینش پذیر توسط جاذب جذب می‌شود. در این تکنیک جاذب اغلب در یک ستون کوچک یا کارتریج انباشته می‌شود و شباهت زیادی به ستون کروماتوگرافی مایع دارد. استخراج با فاز جامد به طور وسیعی برای حذف یا تغلیظ آنالیت از نمونه های آبی و محلول‌ها به کار می‌رود. صرف نظر از نوع استخراج با فاز جامد، استخراج در این روش در چهار مرحله متفاوت انجام می‌گیرد که عبارتند: ۱- آماده سازی یا فعال سازی ماده جاذب ۲- عبور نمونه از روی جاذب ۳- شستشوی جاذب ۴- جداسازی آنالیت مورد نظر از جاذب با یک حلال مناسب.



¹ liquid phase microextraction

² Dispersive liquid- liquid phase microextraction

(۱-۲). مراحل استخراج فاز جامد

یکی از مشکلات بزرگ استخراج با فاز جامد، انباشته کردن یکنواخت فاز جاذب است. به طوری که اگر این عمل به خوبی صورت نگیرد باعث کاهش کارایی استخراج می‌شود. بافت نمونه نیز می‌تواند روی توانایی جاذب برای استخراج آنالیت اثر گذار باشد که این اثر به نوعی در گزینش پذیری جاذب دیده می‌شود. واجذب آنالیت از فاز جاذب توسط حرارت یا حلال انجام می‌گیرد. از فواید استخراج با فاز جامد نسبت به روش‌های قدیمی، می‌توان به سرعت بالای استخراج، فاکتور تغلیظ بالا، کاهش مصرف حلال و تکرار پذیری خوب اشاره کرد. (Wang, Jiang et al. 2006)^{۲۰}

۲-۴ ریز استخراج با فاز جامد (SPME)

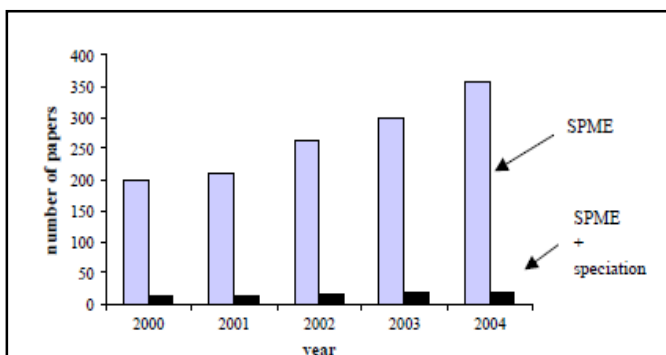
این روش استخراج برای اولین بار توسط پائولیزین^۱ و بلاریدا^۲ در سال ۱۹۸۰ ارائه شده است. در این روش آنالیت توسط فایبر پوشیده شده با لایه‌ی نازک پلیمری جذب می‌شود. میکرواستخراج با فاز جامد یک تکنیک ساده در مقیاس میکرو می‌باشد. مزیتی که این روش دارد عبارت است از اینکه آنالیت‌ها در فاز جامد جمع شده و می‌توان آنها را درون یک دستگاه کروماتوگرافی برای آنالیز تزریق کرد. این روش استخراج با استفاده از مقدار خیلی کم آنالیت طی جذب به داخل فایبر پوشانده شده با سیلیکا انجام می‌شود سپس فایبر را می‌توان به کوره‌ی گرم یک کروماتوگرافی تزریق کرد که آنالیت در اثر حرارت

^۱ Pawliszyn

^۲ Belarida

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۴۹

واجذب می‌شود. اساس میکرواستخراج فاز جامد سرنگ اصلاح شده می‌باشد، یک فایبر سیلیکای گداخته شده به‌وسیله‌ی یک فاز از پلی‌سیلیکان یا برخی پلیمرهای دیگر پوشانده شده است. در میکرواستخراج با فاز جامد فایبر حجم کوچک و ویژه‌ای از فاز استخراجی می‌باشد که با چسب‌های با تحمل دمایی بالا درون لوله زنگ نزن کوچک که انتهای آن به سوزن سرنگ امتداد می‌یابد، چسبیده می‌شود. فایبر شکننده ابتدا درون سوزن سرنگ خودبند محافظت می‌شود سپس در مورد نمونه‌های مایع، فایبر پوشش داده شده درون محلول برای یک دروه‌ی زمانی حدود ۱۵-۲ دقیقه فرو برده می‌شود. نمونه به داخل فایبر جذب سطحی شده سپس فایبر به درون سوزن برگردانده و سوزن از ظرف نمونه خارج می‌گردد. و در این مرحله سوزن حاوی آنالیت استخراج شده به درون ورودی کروماتوگرافی تزریق می‌شود. فایبر در محفظه‌ی تزریق از درون محافظش خارج شده و سپس گرما باعث واجذب نمونه از فایبر گردد و آنالیت در راه ورودی ستون باریک کروماتوگرافی متمرکز می‌شود. شکل ۴ پیشرفت این روش را نشان می‌دهد. در سال ۲۰۰۰ میکرواستخراج با فاز جامد یک روش نسبتاً جدید در عرصه‌ی جداسازی طی سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۴ معرفی شد.



شکل (۲-۲) نمودار پیشرفت میکرواستخراج با فاز جامد از سال ۲۰۰۰.

۲-۴-۱ مزایای میکرو استخراج با فاز جامد

۱- زمان لازم برای رسیدن تعادل بین آنالیت و فایبر پوشش داده شده نسبتاً کوتاه است، در نتیجه زمان جداسازی کوتاه است.

۲- آنالیت در اثر حرارت سریع واجذب شده و به طور کامل درون دستگاه آنالیز می‌شود و نتیجه‌ی آن جداسازی و شناسایی کامل می‌باشد.

۳- هیچ حلالی مورد نیاز نیست.

۴- حد تشخیص کمتر از قسمت در ۱۰۰۰۰۰۰ است.

از میکرواستخراج فاز جامد می‌توان برای تزریق به هر سیستم (کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و کروماتوگرافی گازی) به صورت تقسیمی^۲، غیرتقسیمی^۳ و مستقیم^۴ تزریق کرد.

Rodrigues (Guilherme Dias 2008)^{۳۱}

¹ ppm

² Split

³ Split less

⁴ On-column

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۵۱

۲-۴-۲ پارامترهای بهینه‌سازی کردن میکرواستخراج با فاز جامد

۱- نوع روش استخراج: بسته به نوع آنالیت و ماتریکس نمونه سه نوع روش جداسازی

مورد استفاده قرار می‌گیرد.

۲- نوع پوشش فایبر: انواع پوشش‌های مختلف با توجه به نوع آنالیت جذبی بر روی

فایبر متفاوت است که این تفاوت مربوط به متناسب بودن قطبیت آنالیت و فایبر دارد.

۳- انتخاب صحیح روش مشتق‌سازی: انواع روش‌های مشتق‌سازی برای جذب بهتر

آنالیت در فایبر انجام می‌شود از جمله روش‌های مشتق‌سازی می‌توان به اتیلاسیون، سیلیکاسیون، متاسیون، آلکیلاسیون می‌باشد.

۴- بهینه‌سازی شرایط واجذبی: واجذبی آنالیت بسته به نوع آنالیت با استفاده از

واجذبی حرارتی در دمای مناسب صورت می‌گیرد.

۵- حجم نمونه (در صورتی که حجم نمونه خیلی زیاد باشد اثری در کارایی استخراج

ندارد به عنوان نمونه زمانی که نمونه آب دریا، هوا باشد).

۶- زمان استخراج: این روش یک روش تعادلی می‌باشد بنابراین بایستی زمان استخراج

بهینه‌سازی شود در طول استخراج با افزایش زمان، بازده استخراج افزایش می‌یابد ولی بعد از زمان مشخص بازده استخراج ثابت می‌ماند.

۷- شرایط و موقعیت استخراج

۸- انتخاب استراتژی کالبراسیون

میکرواستخراج با فاز جامد یک فرآیند تعادلی می‌باشد، که به صورت چندکانالی انجام می‌شود. زمانی که فایبر برای استخراج در فضای فوقانی قرار می‌گیرد روش سه‌فازی مطرح است که فاز اول پوشش فایبر، سپس فاز گازی (فضای فوقانی) و در پایان ماتریکس هموزن از جمله آب خالص یا هوا سومین فاز می‌باشد، در طول زمان نمونه‌گذاری، آنالیت در بین سه فاز تعادل را بدون در نظر گرفتن خواص فیزیکی و شیمیایی آنالیت و ماتریکس برقرار می‌کند. (Mester and Sturgeon 2005)^{۳۰}

۲-۴-۳ عوامل موثر بر مقدار ماده‌ی جذب شده

۱- حجم محلول

۲- غلظت اولیه

۳- ضریب توزیع

۲-۴-۴ انواع روش‌های نمونه برداری

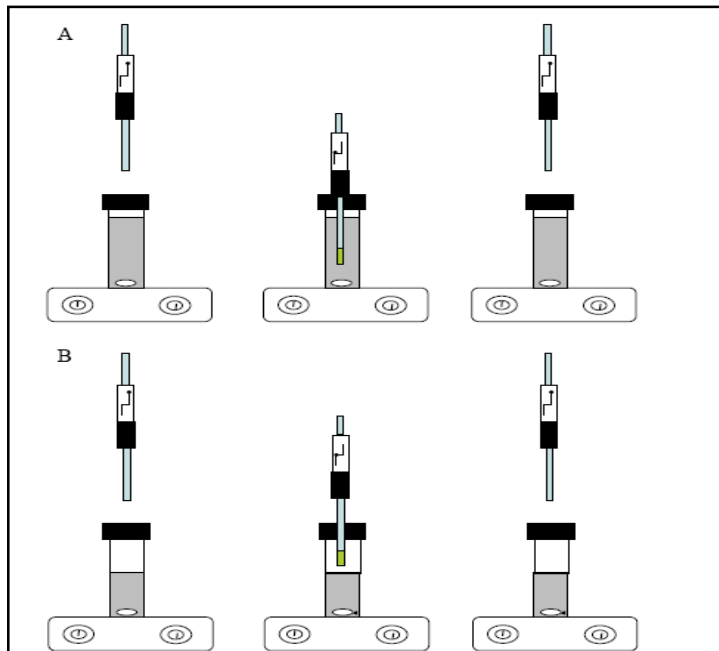
۱- نمونه برداری از داخل محلول

۲- نمونه برداری از فضای فوقانی

۳- نمونه برداری از غشا^۱ (برای آنالیت‌های کثیف استفاده می‌شود).

¹ Membran protected SPME

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۵۳



شکل (۲-۳) انواع روش‌های نمونه‌برداری در میکرواستخراج با فاز جامد (A) نمونه-

برداری به صورت مستقیم (B) از فضای فوقانی.

۲-۴-۵ انتخاب روش استخراج

۱- میکرواستخراج مستقیم : قرار دادن مستقیم فایبر درون نمونه می‌باشد. نمونه ممکن است مایع یا جامد، فرم عادی یک مایع یا گاز مورد آنالیز باشد. در این روش فایبر به داخل نمونه به طور مستقیم گذاشته شده و انتقال به فاز استخراجی انجام می‌شود برای نمونه‌های گازی تجمع طبیعی و نفوذ کافی و به تعادل رسیدن سریع می‌باشد. برای ماتریکس‌های آلی بیشترین تأثیر متعلق به روش هم‌زدن از جمله جریان نمونه، حرکت سریع نمونه به فایبر می‌باشد.

۲- میکرواستخراج فضای فوقانی: فضای فوقانی مکانی است که تنها بخاری از گازها در آنجا قرار گرفته‌اند که این روش استخراج از فضای فوقانی بیشتر برای نمونه‌های گل‌آلود یا فاضلاب‌های کثیف استفاده می‌شود. این روش همچنین برای نمونه‌برداری از ترکیبات فرار متصاعد شده از نمونه‌های جامد نیز استفاده می‌شود. در این روش فایبر برای استخراج در فضای فوقانی قرار می‌گیرد و بخارات جذب فایبر می‌شوند. لازم به یادآوری می‌باشد که تنها ترکیبات فرار با این روش جداسازی می‌شوند.

۲-۴-۶ معایب میکرواستخراج با فاز جامد

۱- قیمت فایبرها بالا می‌باشد.

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۵۵

۲- فایبرها ظریف و شکننده می‌باشند.

۳- عمر فایبرها محدود است.

۴- کار با آن مشکل و بازیابی آن تقریباً غیرممکن است.

۲-۴-۷ انواع فایبرها

۱- فایبر مغز مداد^۱

قبل از انجام آزمایش بایستی یک سری آماده‌سازی‌هایی را روی مغز مداد انجام داد. به این صورت که حدوداً تا دمای ۶۰۰°C در کوره به مدت یک ساعت تحت تأثیر دما حرارت می‌دهند تا مواد معدنی و ناخالصی‌های آلی خارج شود که در نتیجه‌ی آن، به طور کلی مزاحمت‌ها خارج شده و خلل و خرج باقی‌مانده و ترکیبات معدنی را می‌توان تجزیه کرد، که گرافیت همراه خلل و فرج باقی می‌ماند که می‌تواند یک جاذب خوب به شمار رود.

۲- فایبرهای فلزی

– روی با تکیه‌گاه پلیمرهای قالب مولکولی^۲ – مس با تکیه‌گاه سولفید مس^۳

۳- فایبرهای با پوشش پلیمری

¹ Pencil lead fiber

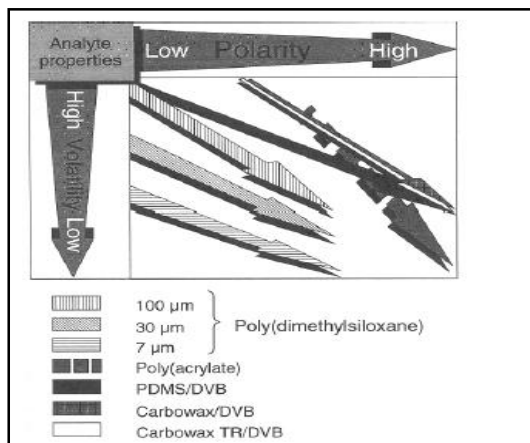
² Zn/MIP

³ Cu/ cus

بیوشیمی متابولیسم

پوشش‌هایی که در میکرواستخراج با فاز جامد استفاده می‌شوند در جدول ۲ ذکر شده

است.



شکل (۲-۴) نمایش پوشش‌های پلیمری بر اساس قطبیت.

Fiber	Film Thickness (μm)	Description	Application
Polydimethylsiloxane (PDMS)	100	Nonbonded	Most commonly used; nonpolar and semipolar volatile analytes
Polydimethylsiloxane (PDMS)	30	Nonbonded	Nonpolar and semipolar volatile and semivolatile analytes
Polydimethylsiloxane (PDMS)	7	Bonded	Less volatile non and semipolar analytes
Polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB)	65	Partially crosslinked	Volatile compounds, amines, nitro aromatics
PDMS/DVB	60	Partially crosslinked	HPLC
Polyacrylate	85	Partially crosslinked	Moderately and highly polar analytes
Carboxen/PDMS	75	Partially crosslinked	Very volatile analytes
Carboxen/PDMS	95	Highly crosslinked	Very volatile analytes
Carboxen/DVB	50/30	Partially crosslinked	Odor compounds
Carbowax/DVB	70	Partially crosslinked	Polar compounds
Carboxen/templated resin	50	Partially crosslinked	HPLC
DVB/carboxen	50/30	Highly crosslinked	Flavors and volatile compounds

جدول (۱-۲) پوشش‌های فایبری همراه با ضخامت و کاربرد.

۲-۴-۸ انواع روش‌های هم‌زدن در میکرواستخراج با فاز جامد

۱- استاتیک

۲- مغناطیس هم‌زن

۳- حلقه هم‌زن فرورونده/ویال متحرک

۴- فایبر جنبشی

۵- نمونه در حال حرکت در ظرف آزمایش^۱

۶- امواج صوتی: عیبی که در این نوع روش هم‌زدن وجود دارد این است که امکان گرم شدن نمونه وجود داشته و باعث کاهش بازده استخراج می‌شود.

۲-۴-۹ عوامل موثر بر میکرواستخراج با فاز جامد

۱- نوع روش هم‌زدن: هم‌زدن می‌تواند مغناطیسی، التراسونیک یا نمونه‌ی در حال جریان باشد.

۲- جنس فایبر: بسته به نوع آنالیت از جنس پلیمرهای مختلف با غلظت‌های متفاوت و همچنین فایبرهای فلزی باشد.

۳- نیروی یونی: زمانی که نمونه در فرم مولکولی استخراج می‌شود، با افزایش نیروی یونی میزان استخراج افزایش می‌یابد.

۴- pH محلول: بایستی به‌گونه‌ای تنظیم شود که نمونه به‌صورت یونی نباشد زیرا جذب فایبر نمی‌شود. بیشتر در مورد ترکیباتی که خاصیت بازی و اسیدی دارند در نظر گرفته می‌شود.

۵- دمای نمونه: جذب آنالیت روی فایبر یک پدیده‌ی گرمازا می‌باشد، بایستی دما بهینه باشد تا کارایی افزایش یابد.

۲-۴-۱۰ کاربردهای میکرواستخراج با فاز جامد

¹ Slow through

۱- استخراج فنول

در مقالات اخیر پائولیزین و همکاران نشان دادند که استخراج با فاز جامد می‌تواند برای استخراج فنول‌ها از نمونه‌های آبی مورد استفاده قرار گیرد. یازده نوع فنل مختلف با استفاده از فایبر پوشش داده با لایه‌ای به ضخامت ۹۵ میکرومتر از پلی‌اکریلات مورد جداسازی شده‌اند. فایبر استخراجی در نمونه آبی در pH حدود ۲ و مدت زمان رسیدن به تعادل در حدود ۴۰ دقیقه می‌باشد با افزایش غلظت نمک زمان تعادل بیشتری نیاز می‌باشد.

۲- ترکیبات هیدروکربن‌های آروماتیک پلی‌سیکلیک^۱ در نمونه‌های مختلف

میکرواستخراج با فاز جامد برای استخراج هیدروکربن‌های پلی‌آروماتیک و بی‌فنیل‌چند کلری با استفاده از فایبر پوشش داده شده با ضخامت ۱۵ میکرومتر پلی‌دی‌متیل‌سیلیکان استفاده می‌شود

۳- ترکیبات آلی فرار

میکرواستخراج با فاز جامد برای ترکیبات آلی فرار در نمونه‌ی آب‌های سطحی و زیرزمینی مورد استفاده قرار گرفته است

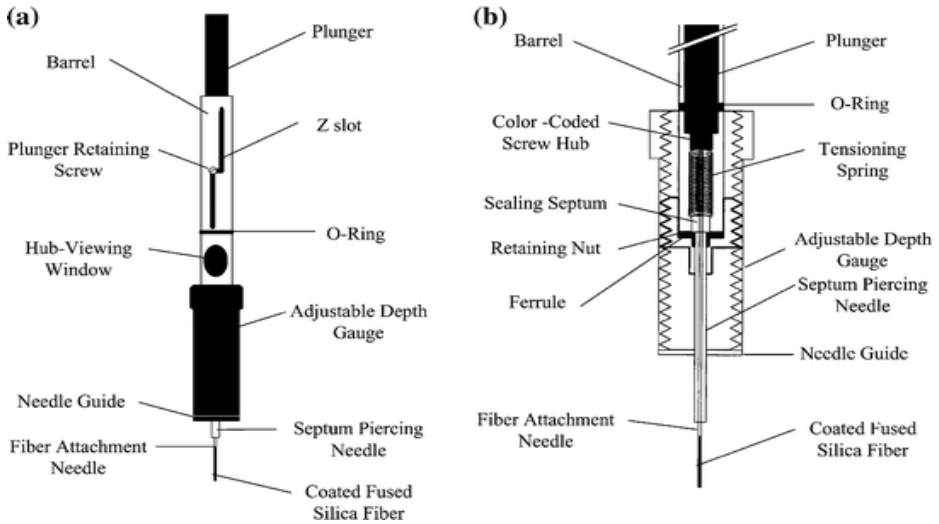
۴- حشره کش‌ها

^۱ PAH (polycyclic aromatic hydrocarbons)

بیوشیمی متابولیسم

کاربرد ارزشمند دیگر میکرواستخراج با فاز جامد در تعیین میزان آلاینده‌ها در حشره‌کش‌ها و سایر پس‌مانده‌ها در آب‌های سطحی و زیرزمینی استفاده شده است.

۵-۲ سرنگ SPME



شکل (۵-۲) سرنگ SPME

فیبر در یک دستگاه مانند سرنگ نصب شده برای حفاظت و سهولت از دست زدن به آن سوزن مورد استفاده به راحتی وارد سوراخ سپتوم ویال نمونه یا انژکتور GC می‌شود در طول استخراج آنالیت و دفع، فیبر را در معرض قرار داده است اما در طول انتقال نمونه به انژکتور GC، آن در داخل سوزن محافظ است بدیهی است، این یک روش ظریف است، و این واقعیت که به هیچ حلالی نیاز نیست یک مزیت متمایز است از سوی دیگر، این یک نقطه ضعف است که فیبر هستند و نسبتاً شکننده هستند، حتی

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۶۱

اگر آنها محافظت می شوند زمانی که نمونه از انژکتور بیرون هستند ، آنها همچنین می توانند از مواد فراری که از نمونه ساخته می شود آسیب می بینند به منظور بهبود استحکام این روش، معرفی شده توسط Lipinski (خودکار) با فاز جامد استخراج پویا (SPDE) است که با استفاده از سوزن آماده از مویرگی از جنس ستون فولاد ضد زنگ، با دیواره داخلی PDMS پوشش داده شده است. Later, D. W., et al. (2008)

۲-۶ مروری بر تحقیقات گذشته SPME

در سال ۱۹۹۸ LS DeBruin و همکاران توسط میکرو استخراج با فاز جامد برای اندازه گیری آمین های معطر Monocyclic از مایعات بیولوژیک استفاده کردند. (1998) LS DeBruin^{۳۳}

در سال ۱۹۹۹ Poon و همکاران با استفاده از روش میکرو استخراج فاز جامد ترکیبات هیدرو کربن های چند هسته ای آروماتیک را در سرم خون انسان ارزیابی کردند. (poon, 1999) lam et al.^{۳۴}

در سال ۲۰۰۰ اسپورکت و همکاران از فضای فوقانی میکرو استخراج با فاز جامد (HS-SPME) در تجزیه و تحلیل مو برای ترکیبات آلی استفاده کردند. (F. 2000) Sporkert^{۳۵}

در سال ۲۰۰۰ Kataoka و همکاران تجزیه و تحلیل مواد غذایی برای ارزیابی ارزش غذایی و کیفیت محصولات تازه و فرآوری شده، و برای نظارت بر مکمل های غذا و دیگر آلاینده های سمی به روش spme اندازه گیری کردند. (Kataoka 2000)^{۳۶}

در سال ۲۰۰۰ Furton و همکاران با استفاده از میکرو استخراج با فاز جامد به ارزیابی از مواد منفجره و باقیمانده مایع احتراق از نمونه های پزشکی قانونی پرداختند. (2000) Furton^{۳۷}

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۶۳

در سال ۲۰۰۴ پسیلاکیس و همکاران بر تخریب شیمیایی سونو فتالات استرها در آب با استفاده از میکرو استخراج با فاز جامد نظارت کردند. تخریب شیمیایی سونو محلول های حاوی غلظت کمی از شش استر فتالات در التراسونیک با فرکانس ۸۰ کیلو هرتز به روش (SPME) مورد بررسی قرار گرفت. (Elefteria Psillakis 2004)^{۳۸}

در سال ۲۰۰۴ جوزن و همکاران اصلاح سرب مداد به عنوان یک فیبر جدید برای میکرو استخراج با فاز جامد. اصلاح الیاف سرب مداد با استفاده از بسیاری از فرآیندهای فعال سازی، برای مثال حرارت دادن در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد. در جریان گاز بی اثر حرارت دادن تحت ریفلاکس با H_2SO_4 غلیظ، ترکیب با NaOH در $400^\circ C$ آماده شده اند و فعال شدن در $600^\circ C$ با بخار آب به مدت ۶۰ دقیقه صورت گرفت. (Djozan, ۲۰۰۴)^{۳۹} Y Assadi

در سال ۲۰۰۷ تامایو و همکاران پلیمرهای قالب مولکولی برای استخراج با فاز جامد و ریز استخراج با فاز جامد در تحولات اخیر و روند آینده مورد بررسی قرار دادند. (F.G. 2007) (Tamayo,^{۴۰}

در سال ۲۰۰۷ Demeestere و همکاران از روش میکرو استخراج فاز جامد برای استخراج ترکیبات آلی فرار (VOCs) از نمونه های آب و هوا استفاده کردند. (demeestere, Dewulf et al. 2007)^{۴۱}

در سال ۲۰۰۷ جوزن و همکاران برای استخراج دی استیل مورفین و ترکیبات مشابه با روش میکرو استخراج با فاز جامد به صورت انتخابی به وسیله ی پلیمر قالب مولکولی مورد مطالعه قرار گرفت. (Djavanshir Djozan 2007)^{۴۲}

در سال ۲۰۰۷ Aguinaga و همکاران شانزده ترکیب از هیدروکربن های چند حلقه ای آروماتیک در شیر و محصولات وابسته به آن مطالعه نمودند و کلیه فاکتور های اثر گذار بر استخراج توسط فیبر پلی دی متیل سلوکسان مورد بررسی قرار دادند. (2007 Aguinaga)^{۴۳}

در سال ۲۰۰۷ ناتالیا کامپیلو و همکاران از SPME برای تعیین تری کربنیل سیکلو پنتا دی انیل منگنز موجود در خاک استفاده کردند. (Natalia Campillo 2007)^{۴۴}

در سال ۲۰۰۸ خاویر میرالس و آنتونیو تورنرو از فضای فوقانی فاز جامد میکرو استخراج (HS-SPME) همراه با گاز برای تعیین مشخصات عطر از محصولات کاکائو مورد استفاده قرار گرفت. (Javier Miralles-Garcia 2008)^{۴۵}

در سال ۲۰۰۸ جوانشیر جوزن و همکاران توسط پلیمر قالب مولکولی علف کش اترازین را در آب و پیاز و برنج به روش spme اندازه گیری کردند. (Djavanshir 2008)^{۴۶}

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۶۵

در سال ۲۰۰۸ پیکورینو و همکاران توزیع ترکیبات آلی فرار سیلیکونی در آب های زیرزمینی با استفاده از فضای فوقانی میکرو استخراج با فاز جامد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. (Giovannella Pecoraino 2008)^{۴۷}

در سال ۲۰۰۹ جوزن و همکاران تهیه و مطالعه اتصال فیبر میکرو استخراج با فاز جامد بر اساس پلیمر قالب مولکولی، برای استخراج انتخابی علف کش های تریازین موجود در آب شیر، برنج، ذرت و پیاز را مورد مطالعه قرار داد. (Djavanshir Djozan 2009)^{۴۸}

در سال ۲۰۰۹ زاکاریدیس و همکاران تعیین بوتیل و ترکیبات فنیل موجود در ادرار انسان با استفاده از روش SPME مورد بررسی قرار دادند. (G.A. Zachariadis 2009)^{۴۹}

در سال ۲۰۰۹ نیکوله و همکاران برای بهینه سازی مصالح ساختمانی جامد و نمونه برداری از روش SPME استفاده کردند. (Jérôme Nicolle 2009)^{۵۰}

در سال ۲۰۱۰ ژوان هی و هکاران برای استخراج انتخابی فتالات در نمونه های آبی به روش میکرو استخراج با فاز جامد با پلیمر قالب مولکولی را مورد مطالعه قرار دادند. (2010) Juan He^{۵۱}

در سال ۲۰۱۰ مننز فیلهو و همکاران برای تعیین سموم از گروه های شیمیایی مختلف در سطح نمونه ی آب های زیرزمینی از روش میکرواستخراج با فاز جامد استفاده کردند. (Adalberto Menezes Filho 2010)^{۵۲}

در سال ۲۰۱۰ لیجون کیو و همکاران تهیه و استفاده از فیبر میکرو استخراج با فاز جامد برای اندازه گیری استروئید های آنابولیک در نمونه های پیچیده را مورد بررسی قرار دادند. (Lijun Qiu 2010)^{۵۳}

در سال ۲۰۱۰ لاوره ریبره و همکاران از فضای فوقانی فاز جامد میکرو استخراج (HS-SPME) توسعه یافته برای تعیین کمیت طیف وسیعی از ترکیبات فرار در انواع شراب مورد استفاده قرار دادند. (Laure Rebière 2010)^{۵۴}

در سال ۲۰۱۰ بهیم بالی و مهاویر تیواری و همکاران توسعه یک روش بسیار حساس و انتخابی hyphenated (پلیمر قالب مولکولی) در ریز استخراج با فاز جامد برای تجزیه و تحلیل اثر اسید فولیک را مورد بررسی قرار دادند. (Bhim Bali Prasad 2010)^{۵۵}

در سال ۲۰۱۱ جوزن و همکاران برای ردیابی متآمفتامین از روش ریز استخراج با فاز جامد از فیبرهای یکپارچه انتخابی با کاربرد بالا بر اساس پلیمر قالب مولکولی استفاده کردند. (Djavanshi Djozan 2011)^{۵۶}

در سال ۲۰۱۲ فانگ جیا و همکاران از روش میکرو استخراج با فاز جامد (SPME) برای تعیین آزادانه غلظت محلول پلی برومینیتد دی فنیل اتر (PBDEs) در رسوبات استفاده کردند. (Jia, cui et al. 2012)^{۵۷}

در سال ۲۰۱۲ کامپیلو و همکاران برای گونه زایی ترکیبات آلی قلع در نمونه ی عسل و شراب از روش SPME استفاده کردند. (Natalia Campillo 2012)^{۵۸}

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۶۷

در سال ۲۰۱۳ آمایره موسی و همکاران با استفاده از الکترو- میکرو استخراج با فاز جامد برای تعیین فتالات استر فنل در خون و نمونه های آب دریا را مورد استفاده قرار دادند.

Amayreh Mousa (2013)^{۵۹}

۲-۷ انواع فازهای جامد

۲-۷-۱ کربن (گرافیت)

نمونه ای از مواد جاذب استخراج فاز جامد، شامل اشکال مختلف کربن است. به عنوان مثال کربن گرافیتی متخلخل (PGC)^۱. این مواد جاذب قادر هستند که آنالیت‌های بسیار قطبی را به دام بیندازند.

کربن فعال به عنوان یک جاذب با ظرفیت جذب بالا و قیمت پایین، کاربردهای فراوانی در فرآیندهای جذب از فاز مایع و یا فاز گاز دارد. از جمله کاربردهای این ماده در جذب از فاز مایع می‌توان به رنگ بری از محلول شکر، تصفیه آب آشامیدنی، تصفیه پساب و در جذب از فاز گاز به استفاده در ماسک‌های گاز و سیستم‌های بازیافت حلال اشاره نمود.

۲-۷-۲ سیلیکاژل

فاز جاذب سیلیکاژل بسیار قطبی می‌باشد که معمولاً عمل جذب در آن به صورت برگشت‌ناپذیر بوده به این دلیل قابلیت انتخابی نداشته و کمتر استفاده می‌شود. برای رفع این عیب به جای گروه‌های OH در سیلیکاژل گروه‌های دیگری جایگزین می‌شوند، که به این گروه‌ها فازهای پیوندی گفته می‌شود. جدول (۲-۲) انواع فازهای پیوندی را که به عنوان فاز جامد در روش استخراج با فاز جامد استفاده می‌شوند را نشان می‌دهد. استفاده

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۶۹

از جاذب‌های سیلیکا، یکی از روش‌های متداول برای استخراج دارو از نمونه‌های بیولوژیک می‌باشد که از انتخاب گری چندانی برخوردار نیستند.

سیلیکاژل		
C ₁₈	اکتادسیل	کاملاً غیر قطبی
C ₈	اکتیل	غیر قطبی
C ₂	اتیل	نسبتاً قطبی
CH	سیکلو هگزین	کاملاً غیر قطبی
PH	فنیل	غیر قطبی
-CN	سیانوپروپیل	قطبی
-NH ₂	آمینو	قطبی

جدول (۲-۲). انواع فازهای پیوندی

۲-۷-۳. جاذب پلیمری

از مهم‌ترین پلیمرهای جاذبی که استفاده می‌شود پلیمرهای قالب مولکولی می‌باشد. پلیمرهای قالب مولکولی در سال ۱۹۹۸ کشف شدند. این پلیمر دارای حفره‌ها به شکل خاص می‌باشد، که آنالیت‌ها در داخل آن قرار می‌گیرند هر کدام از پلیمرها آنالیت‌های خاص را جذب می‌کنند که اساس کار پلیمرهای قالب مولکولی می‌باشد. در قسمت بعد

بیشتر در مورد این پلیمرها توضیح خواهیم داد. (Liu, Zhao et al. 2007)^{۲۹}

۲-۸. آشنایی با پلیمر و پلیمریزاسیون

۲-۸-۱. پلیمر چیست؟

پلیمر به عنوان مولکولی متشکل از واحدهای تکرارشونده کوچکتر تعریف می‌شود. یک مونومر جزء سازنده یک پلیمر است و با سایر مونومرها ادغام می‌شود تا در نهایت پلیمر ساخته شود. مونومرها به وسیله پیوندهای کووالانت به یکدیگر اتصال یافته و زنجیرهای طولی را تشکیل می‌دهند. مونومرها در یک فرایندی به نام پلیمریزه شدن با یکدیگر واکنش داده و زنجیرهای خطی یا شبکه سه‌بعدی را تشکیل می‌دهند. برای اینکه یک مولکول بتواند مونومر باشد، باید دو یا چند محل اتصال داشته باشد، تا از این طریق بتواند با مونومرها اتصال یافته و تشکیل زنجیرهای پلیمری نماید.

۲-۸-۲. انواع پلیمر ساختاری

تعداد واحدهای تکرارشونده در یک مولکول بزرگ درجه بسپارش یا درجه پلیمریزاسیون نامیده می‌شود. بسپارهایی که فقط از یک نوع واحد تکرار شونده تشکیل شده‌اند، جور بسپار^۱ و آن‌هایی که از دو واحد تکرارشونده تشکیل شده‌اند، هم بسپار^۲ نامیده می‌شوند. گاهی لفظ تر پلیمر^۳ نیز برای محصولات حاصل از بسپارش سه تک پار (مونومر) به کار می‌رود.

^۱ (Homopolymer)

^۲ (copolymer)

^۳ (Terpolymer)

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۷۱

در عین حال، در مورد محصولاتی که با بیش از سه تک پار بسپارش شده‌اند، لفظ ناجوربسپار^۱ رایج است.

۲-۸-۳. بسپارها از نظر اثر پذیری در برابر حرارت به دو دسته تقسیم می‌شوند:

۱. ترموپلاستیک‌ها (گرما نرم‌ها)

ترموپلاستیکها، پلیمرهایی هستند که هنگام حرارت دهی ذوب می‌شوند هنگام سرد کردن جامد می‌شوند

۲. ترموستها (گرماسخت‌ها)

ترموستها، بسپارهایی هستند که هنگام حرارت دهی ذوب نمی‌شوند بلکه در دماهای بسیار بالا به صورت برگشت ناپذیری تجزیه می‌شوند.

¹ (Heteropolymer)

۲-۸-۴. انواع پلیمرها بر اساس منبع تهیه

پلیمرها را به سه گروه عمده تقسیم می‌کنند

۱. بیوپلیمرها یا پلیمرهای طبیعی مانند سلولز، نشاسته، پروتئین‌ها و...

۲. پلیمرهای معدنی مانند الماس، گرافیت، اکثر اکسیدهای فلزی و...

۳. پلیمرهای سنتزی پلیمرهایی هستند که منشأ آنها عموماً مونومرهایی از نفت خام و

قطران زغال سنگ است

۲-۸-۵. انواع روش‌های پلیمریزاسیون

معمولاً سنتز پلیمرها به دو صورت انجام می‌گیرد:

۲-۸-۵-۱. پلیمریزاسیون افزایشی^۱:

در این نوع پلیمریزاسیون، از ترکیباتی که باند دوگانه ($C=C$) دارند، پلیمر می‌سازند مثل تولید پلی اتیلن از اتیلن $C_2H_4 \rightarrow (-C_2H_4-)_n$. پیوند دوگانه در معرض حمله به وسیله رادیکال آزاد یا آغازگرهای یونی قرار می‌گیرد و یک مرکز فعال جدید را ایجاد می‌نماید. این مرکز فعال، یک زنجیر در حال رشد را به وجود می‌آورد و مرکز فعال نهایتاً به وسیله یک واکنش پایانی خنثی می‌شود. مولکول‌های مونومر با گذشت زمان به زنجیر در حال رشد اضافه می‌شوند. واکنش، محصول حذف نخواهد داشت. این نوع پلیمریزه شدن در سه مرحله متفاوت، آغاز، انتشار و پایان صورت می‌گیرد.

¹ Addition Polymerization

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۷۳

۲-۸-۵-۲. پلیمریزاسیون تراکمی^۱

اگر در یک پلیمریزاسیون، بر اثر واکنش مونومرها با هم، مولکول‌های کوچکی مثل H_2O و NH_3 و ... خارج شوند، این نوع پلیمریزاسیون را تراکمی می‌نامند.

۲-۹. پلیمرهای قالب مولکولی^۲

پلیمرهای قالب مولکولی از مسائل تحقیقاتی مهم یک دهه اخیر محسوب می‌شوند. این مواد که به آنها آنتی بادیهای مصنوعی هم گفته می‌شود، به گونه ای ساخته می‌شوند که با توجه به ویژگی‌های مولکولی مواد، به شکل قالب آن‌ها درآمده و فقط ماده مورد نظر را جذب می‌کنند و به همین علت هم پلیمر قالب مولکولی نام گرفته‌اند.

ویژگی‌های استثنایی این مواد آن‌ها را برای استفاده در حسگرهای شیمیایی دارورسانی، جداسازی مواد و اندازه گیری دارو مناسب کرده است. ضمن آن که با استفاده از پلیمرهای قالب مولکولی می‌توان ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر بهتر از روش‌های معمول آزمایشگاهی، غلظت مواد مورد نظر در خون یا ادرار را اندازه گیری کرد.

ظهور پلیمرهای قالب مولکولی مربوط به اوائل قرن ۱۹ است و فعالیت‌های مقدماتی آن توسط شیمیدان روسی پولیاکو^۳ انجام شد. به دنبال آن تئوری در مورد تنوع تشکیل آنتی-بادی‌ها در رویارویی با آنتی‌ژن‌های فعال زیستی توسط پائولینگ ارائه شد. طبق تئوری

¹ Condensation Polymerization

² Molecularly Imprinted Polymer

3. Polyakov

پائولینگ هر واحد ساختاری از آنتی‌بادی قادر است ساختار سه بعدی خود را در جهت-یابی‌ها و برهم‌کنش‌های ممکن با آنتی‌ژن تغییر دهد. بنابراین آنتی‌بادی با نقاط نقش شده آنتی‌ژن که به عنوان مولکول هدف یا الگو به کار می‌رود، ترکیب می‌شود که بعدها این تئوری در پلیمرهای قالب مولکولی به کار گرفته شد. (Liu, Feng et al. 1999)^{۲۱}

(Huse, Böhme et al. 2002)^{۲۲} ایده ساخت آنتی‌بادیهای مصنوعی به روش پلیمریزاسیون از سال‌ها قبل وجود داشته است، اما تلاش‌های جدی برای ساخت این نوع مواد به سه دهه اخیر مربوط می‌شود. در سال ۱۹۸۱ برای اولین بار قالب‌گیری مولکولی به روش غیر کووالانسی توسط کلاً مسباح و همکارانش در سوئد به طور موفقیت آمیزی انجام شد. آن‌ها نشان دادند با مخلوط کردن مونومر عاملی و مولکول الگو، اتصالات غیر کووالانسی سریعاً شکل می‌گیرد و با ادامه پلیمریزاسیون، قالب‌گیری مولکولی به نحو مطلوبی انجام می‌شود. امروزه این پلیمرها کاربردهای مختلفی دارند که می‌توان به تهیه ستون‌های کروماتوگرافی، کاتالیزور واکنش‌ها و طراحی حسگرهای شیمیایی اشاره کرد...

در تحقیقات انجام شده در زمینه پلیمرهای قالب مولکولی، جدای از اهمیت مولکول‌های الگوی به کار رفته (داروها، سموم، ترکیبات آلی، کاتیون‌ها و...) توسعه دانش فنی ساخت پلیمرهای قالب مولکولی یا MIP بسیار حائز اهمیت است این پلیمرهای هوشمند، پلیمرهای سنتزی با گزینش پذیری بالا برای مولکول الگو هستند. با توجه به مزایای نظیر گزینش پذیری، آزادی عمل برای طراحی مولکولی، پایداری مکانیکی و شیمیایی، سادگی و ارزان قیمت بودن، تحقیقات گسترده در این زمینه صورت گرفته که منجر به کاربردهای متعدد این تکنیک شده است. (Stevenson 1999)^{۲۳}

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۷۵

اهمیت دیگر پلیمرهای قالب مولکولی در روش‌های جداسازی و اندازه‌گیری داروها، سادگی این روش‌ها و امکان اتوماسیون روش‌هاست. به طور معمول برای اندازه‌گیری ماده در سرم یا خون باید با روش استخراج مایع مایع دارو را از سیال استخراج کرد که این روش به مقدار زیادی حلال آلی نیاز دارد که پرهزینه بوده و از نظر محیط زیستی نیز مضر است. یکی از کاربردهای دیگر این پلیمرهای هوشمند در دارورسانی برای رهاسازی کنترل شده دارو است. شاید در آینده‌ای نزدیک بتوان از این پلیمرها برای دارورسانی هدفمند به سلول‌های سرطانی در بدن استفاده کرد.

۲-۹-۱. مزایای پلیمرهای قالب مولکولی

- (۱) به آسانی تهیه می‌شوند.
- (۲) پایداری شیمیایی و دمایی بالایی دارند.
- (۳) امکان تهیه آن‌ها در اشکال مختلف و در شرایط متفاوت وجود دارد.
- (۴) برای مولکول‌های زیستی می‌توانند استفاده شوند.
- (۵) قابل نگهداری در بازه زمانی طولانی است به طوری که خواص فیزیکی و شیمیایی اصلی خود را حفظ می‌کند.

(۶) به دفعات قابل استفاده است بدون آنکه کارایی آن کاهش یابد

(۷) هزینه تهیه و نگهداری آن پایین است

۲-۹-۲. عوامل سازنده یک پلیمر قالب مولکولی

(۱) مونومر عاملی

(۲) عامل ایجاد کننده اتصالات عرضی

(۳) مولکول هدف(قالب)

(۴) آغازگر

(۵) حلال

MIT^۱ یک تکنیک برای ساخت گیرنده های مصنوعی با پیش فرض انتخابی و ویژه برای یک ماده معین که به عنوان یک ترکیب ایده آل در موارد کاری متفاوت قابل استفاده است. قالب مولکولی؛ ماتریکس پلیمرهای بدست آمده از تکنولوژی قالب گیری مولکولی به عنوان تشخیص دهنده قوی برای شناخت عناصر طبیعی بکار می روند و همانند آنتی بادی ها و گیرنده های بیولوژی هستند همچنین در جداسازی و آنالیز نمونه های پیچیده ای همچون سیالات بیولوژی و نمونه های محیط زیستی مفید می باشند.

پلیمر قالب مولکولی بر اساس شکل گیری یک کمپلکس بین یک مولکول هدف(قالب) و یک مونومر است. در حضور مقدار زیادی از عوامل اتصال دهنده یک شبکه پلیمر سه بعدی شکل می گیرد بعد از اتمام مرحله پلیمریزاسیون قالب از پلیمر جدا می شود شکل و اندازه و عوامل شیمیایی قسمت تشخیص دهنده مکمل مولکول قالب می باشد. معمولاً اثرات متقابل درون مولکولی شبیه پیوندهای هیدروژنی؛ دو قطبی- دو قطبی و اثرات یونی بین مولکول قالب و گروه عاملی حاضر در ماتریکس پلیمر عوامل موثر تشخیص مولکولی را

¹ Molecular Imprinting Technology

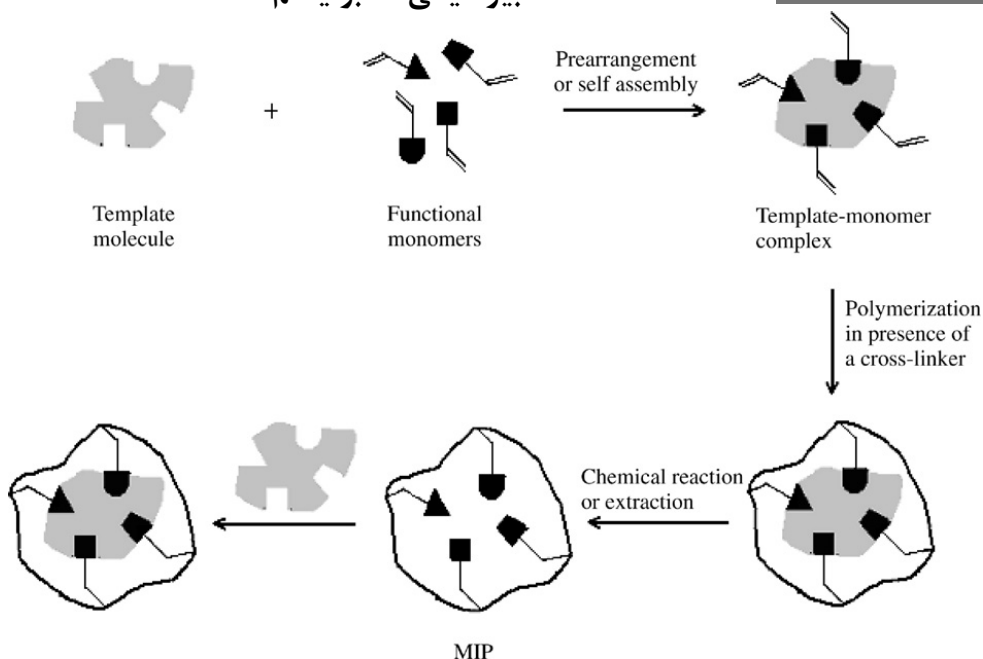
فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۷۷

ایجاد می‌کنند. بنابراین پلیمر حاصل تنها مولکول‌های قالب را تشخیص داده و به صورت انتخابی پیوند می‌دهد.

پلیمرها باید نسبتاً سخت باشند تا مکان‌های خالی ایجاد شده پس از حذف مولکول هدف، دوام داشته از طرف دیگر باید انعطاف‌پذیر هم باشند تا بتوانند مولکول‌های قالب‌گیری شده اولیه را رها سازند و بعد از آن بتوانند مولکول‌های هدف را دوباره جذب سطحی کنند و تعادلی سریع بین دو حالت برقرار باشد. پس با دو وضعیت متضاد روبرو هستیم که نیازمند بهینه‌سازی دقیق است. گاهی سنتز و طراحی MIP سخت است و این تنها به خاطر تعدد متغیرهای درگیر در فرایند است و نیازمند توجه به ماهیت و کیفیت مونومرهای عاملی، عوامل اتصال عرضی، حلال‌ها و آغازگرها و نیز توجه به مدت و دما و طول فرایند پلیمریزاسیون و نحوه شروع می‌باشد. (Alizadeh 2010)^{۲۴}

علاوه بر این پارامترها، بهینه‌سازی محصول نهایی با این همه متغیر سخت است چرا که تغییر در برخی از این متغیرها بر روی ویژگی‌های ریخت‌شناسی و شیمیایی پلیمرهای قالب مولکولی اثرگذار است.

بیوشیمی متابولیسم



(۶-۲). تصویر کلی از پلیمریزاسیون قالب مولکولی

۲-۹-۲-۱. مونومر عاملی

نسبت درست بین مولکول الگو و مونومر از اهمیت زیادی برخوردار می باشد چرا که این نسبت در تعداد حفرها تشکیل شده تأثیر دارد مشخص شده است که نسبت بالاتر مونومر به مولکول الگو منجر به ایجاد محل های گزینش پذیر بیشتری برای جذب سطحی خواهد شد. اگر اتصال بین مونومر و مولکول قالب از نوع کووالانسی باشد نسبت بین مونومر و قالب تنها توسط مکان های فعال در قالب تعیین می شود و افزایش نسبت تأثیری در تشکیل حفرهای مولکولی ندارد. با توجه به برهم کنش غیر کووالانسی بین مونومر و قالب تأثیر تعداد عوامل برهمکنش کننده بر تعداد پیش پلیمر تشکیل شده و تعداد محل های اتصال و اگر در نظر بگیریم که متناظر با افزایش تعداد محل های اتصال در پلیمر قالب مولکولی

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۷۹

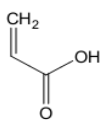
در نهایت افزایش فاکتور گزینش پذیری و انتخاب‌گری در هر گرم از پلیمر را خواهیم داشت. اهمیت تناسب بین مونومر و قالب و بهینه کردن آن مشخص می‌شود. (Stevenson

1999) ۲۳

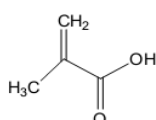
نسبت مرسوم مونومر به مولکول الگو، ۱:۴ است که در برخی از موارد، مقادیر بیشتری از مونومر نیز گزارش شده است. مشخص شده است که نسبت بالاتر مونومر به مولکول الگو منجر به ایجاد محل‌های گزینش پذیر بیشتری برای جذب سطحی خواهد شد. (Nicholls, Andersson et al. 2009) ۲۵

ماهیت مونومر و قالب هم اهمیت دارد. ماهیت مونومر و مولکول الگو به گونه‌ای با هم متناسب باشند (به طور مثال یکی دهنده پیوند هیدروژنی باشد و دیگری پذیرنده پیوند هیدروژنی) تا به حداکثر قابلیت تشکیل کمپلکس و در نهایت قالب‌گیری مناسب نائل آییم.

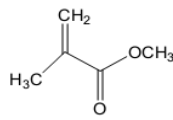
بیوشیمی متابولیسم



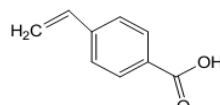
acrylic acid



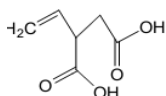
methacrylic acid



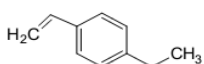
methyl methacrylate



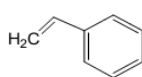
p-vinylbenzoic acid



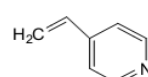
itaconic acid



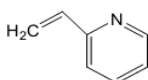
4-ethylstyrene



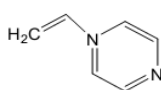
4-ethylstyrene



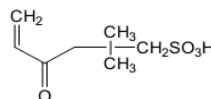
4-vinylpyridine



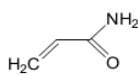
2-vinylpyridine



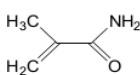
1-vinylimidazole



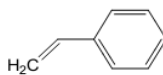
acrylamido-2-methyl-1-propane-sulphonic acid



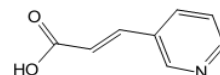
acrylamide



methacrylamide



styrene



trans-3-(3-pyridyl)-acrylic acid

(۷-۲). مونومرهای رایج برای تهیه پلیمرهای قالب مولکولی

۲-۲-۹-۲. مولکول هدف (قالب)

مولکول قالب مانند هسته مرکزی در پلیمر می‌باشد. برهم‌کنش‌های بین مولکول قالب و مونومر تعیین‌کننده تعداد حفرها و کیفیت تشکیل آن‌ها است. مولکول قالب باید طی فرایند پلیمریزاسیون پایدار باشد و خواص فیزیکی و شیمیایی اولیه خود را حفظ کند. همچنین فاقد برهم‌کنش شیمیایی با هر یک از اجزا باشد.

یکی از جذابیت‌های روش قالب‌گیری کردن مولکول‌ها این است که گستره وسیعی از آنالیت‌ها را شامل می‌شود البته مشکل اینجاست که برخی از الگوها را هم نمی‌توان در

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۸۱

شرایط پلیمریزاسیون قالب گیری کرد. آنچه رایج است استفاده از مولکول‌های کوچک است، اما در مورد مولکول‌های بزرگ مانند پروتئین‌ها قالب گیری دشوارتر است. دلیل اول آن، این است که الگوهای بزرگ سخت می‌باشند و از این رو حفره‌های اتصال کاملاً واضح و مشخصی را در طی فرآیند پلیمریزاسیون ایجاد نخواهند کرد. علاوه بر این ساختار بیومولکول‌های بزرگ مثل پروتئین‌ها در شرایط دمایی و نوری در طی فرآیند پلیمریزاسیون ممکن است آسیب ببینند و تخریب شوند. از طرف دیگر نفوذ مولکول‌های بزرگ مثل پپتیدها و پروتئین‌ها در شبکه پلیمر و جذب سطحی شدن در محل‌های قالب گیری شده بسیار دشوار است. (Turiel and Martín-Esteban 2010)^{۲۶}

۲-۹-۲-۳. عامل اتصالات عرضی

اتصال دهنده عرضی، جهت حفظ آرایش سه‌بعدی " مونومر- مولکول الگو " استفاده می‌شود.

یکی از نکات مهم در تهیه پلیمرهای قالب مولکولی پایداری و سختی آنها است. پلیمرها باید نسبتاً سخت باشند تا مکان‌های خالی ایجاد شده پس از حذف مولکول هدف، دوام داشته باشد این مهم وابسته به خواص مونومر ایجاد کننده اتصال عرضی می‌باشد. گزینش پذیری پلیمر، کاملاً با میزان اتصال دهنده عرضی به کار رفته در سنتز پلیمر قالب مولکولی مرتبط است. انتخاب درست عامل اتصالات عرضی، انتخابی پراهمیت است که در واقع پیش برنده واکنش‌های تکمیلی مولکول قالب و مونومر عاملی می‌باشد. خواص فیزیکی پلیمر و

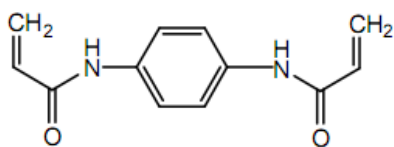
بیوشیمی متابولیسم

دوام و استحکام و همچنین تعداد حفرها تشکیل شده وابسته به خواص اتصال دهنده عرضی است.

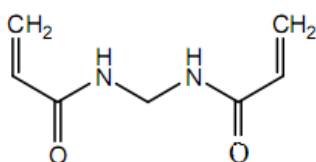
از نقطه نظر پلیمریزاسیون، نسبت‌های بالای اتصال دهنده عرضی مطلوب هستند، برای اینکه باعث می‌شود که به حفرها بزرگ و پایدار برسیم و از نظر پایداری مکانیکی هم به شرایط مطلوبی نائل آییم.

در پلیمرها نسبت اتصال دهنده عرضی بیش از ۸۰٪ است تا خواص فیزیکی و پایداری مد نظر حاصل شود.

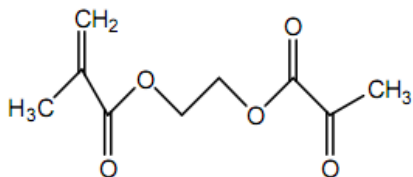
فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۸۳



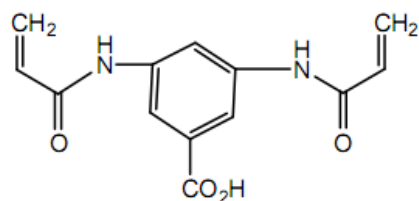
N,N'-1,4-phenylenediacrylamine



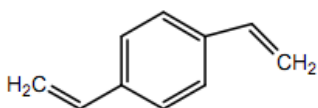
N,N'-methylene-diacrylamide



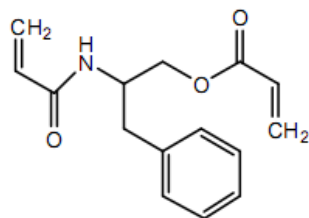
ethylene glycol dimethacrylate



3,5-bis(acryloylamido)benzoic acid



divinylbenzene



N,O-bisacryloyl-phenylalaninol

(۲-۸). ساختار شیمیایی اتصال دهنده‌های عرضی استفاده شده در سنتز پلیمرهای قالب

مولکولی

۲-۹-۲-۴. حلال

یک حلال خوب باید دارای ویژگی‌های ذیل باشد:

(۱) تمام اجزای دخیل در واکنش در آن محلول باشد.

(۲) برهمکنش شیمیایی با اجزا و محصول تولیدی نداشته باشد.

۳) در صورت امکان غیر سمی باشد

۴) به راحتی قابل حذف باشد.

۵) حلال پوشی اجزا به گونه ای باشد که کمترین ممانعت در برهم کنش های بین مولکولی را داشته باشد

در سنتز پلیمرهای قالب مولکولی مرحله تشکیل پیش پلیمر از برهمکنش بین مونومر عاملی و قالب اهمیت زیادی دارد چرا که استحکام پلیمر و اندازه حفرها وابسته به این مرحله می باشد با توجه به وجود نیروهای غیر کووالانسی مانند پیوند هیدروژنی و نیروهای واندروالسی بین مونومر و قالب مولکولی حلال های آپروتیک غیر قطبی کمترین برهمکنش را با مونومر و قالب و تداخل با نیروهای بین مولکولی دارد. حلال هایی با انحلال پذیری کم، در فرایند پلیمریزاسیون زودتر جدا می شوند و تمایل دارند که حفرها بزرگ تر و محصولی با مساحت کمتر را ایجاد کنند. برعکس، حلال هایی با فازهایی با قابلیت حلالیت بیشتر، دیرتر جدا می شوند و محصولی با حفرها ریزتر و مساحت بیشتر ایجاد می کنند. علاوه بر این، استفاده از حلال هایی به لحاظ ترمودینامیکی مناسب هستند که منجر به پلیمری با حفراتی می شود که به لحاظ ساختاری مناسب مولکول الگو می باشند. از سوی دیگر، اگر حلال از نظر ترمودینامیکی ضعیف باشد منجر به ایجاد حفراتی با ساختار نامناسب خواهد شد و مساحت ویژه پلیمر کم خواهد بود.

اگرچه نتایج گزینش و شناسایی مولکول ها با افزایش قطبیت حلال های پروژن، تضعیف خواهد شد ولی باید تأکید کرد که در برخی از موارد برهم کنش های به اندازه کافی قوی

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۸۵

میان مونومر و مولکول الگو در حلال‌های نسبتاً قطبی مانند مخلوط متانول و آب گزارش شده است.

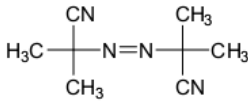
با در نظر گرفتن نقش دوگانه پروژن به عنوان حلال و عامل ایجاد کننده حفره، حلال در پلیمریزاسیون غیر کووالانسی باید به گونه‌ای انتخاب گردد که به طور همزمان احتمال تشکیل کمپلکس بین مونومر عاملی و مولکول الگو را افزایش دهد. بر این اساس، ما نیاز به حلال‌های غیر قطبی و بدون پروتون داریم که این‌ها حلال‌هایی هستند که پیوند هیدروژنی در آن‌ها پایدار است.

در واکنش‌هایی که نیروهای آب‌گریز، پیش برنده ایجاد کمپلکس هستند استفاده از آب به عنوان حلال مناسب خواهد بود.

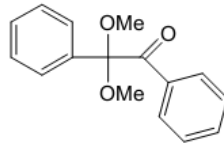
۲-۹-۲-۵. آغازگر

بسیاری از مواد شیمیایی با خواص مختلف می‌تواند به عنوان منبع رادیکال آزاد استفاده می‌شود این مواد بر اثر تحریک با عواملی مانند نور، گرما، امواج UV و... تحریک شده به صورت رادیکالی تجزیه می‌شوند و ذرات رادیکالی فعال تولید می‌کنند. مقدار مصرف این مواد اندک بوده در صد کمی از مونومر عاملی است. به عنوان مثال یک درصد وزنی یا یک درصد مولی نسبت به کل تعداد مول‌های پیوندهای دوگانه قابل شرکت در فرایند پلیمریزاسیون.

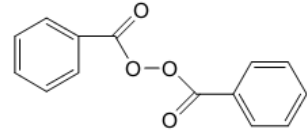
بیوشیمی متابولیسم



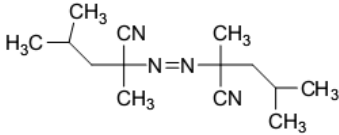
azobisisobutyronitrile



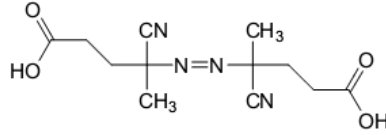
dimethylacetal of benzil



benzoylperoxide



azobisdimethylvaleronitrile



4,4'-azo(4-cyanovaleric acid)

(۹-۲). آغازگرهای رایج مورد استفاده در سنتز پلیمرهای قالب مولکولی

با توجه به خواص گاز اکسیژن عمل پلیمریزاسیون رادیکالی در حضور اکسیژن به صورت مطلوب پیش نمی رود به همین دلیل محیط واکنش باید عاری از اکسیژن باشد. حذف اکسیژن حل شده به سادگی با امواج فرا صوتی یا قرار دادن محلول مونومر تحت یک گاز بی اثر مثل نیتروژن و آرگون ممکن است.

۲-۹-۳. انواع پلیمرهای قالب مولکولی

مهم‌ترین مرحله تشکیل پلیمرهای قالب مولکولی اولین مرحله یعنی برهمکنش میان مونومر و قالب است مولکول هدف پس از پلیمریزاسیون جدا می‌شود و در نتیجه این مولکول هدف اثر خود را در ساختار پلیمر می‌گذارد و این حالت سبب می‌شود تا ما به ویژگی‌های خاص پلیمرهای قالب مولکولی دست پیدا کنیم. جهت تهیه پلیمرها روش‌های گوناگونی استفاده می‌شود. اختلاف میان این روش‌ها مربوط به آرایش اولیه و برهمکنش بین مولکول الگو و مونومرها، پیش از آغاز پلیمریزاسیون می‌باشد. بر اساس نوع نیروهای برهمکنش کننده بین مونومر- قالب نوع پلیمر شامل کووالانس و نیمه کووالانسی و غیر کووالانس داریم.

۲-۱۰-۱. پلیمر قالب مولکولی کووالانسی

ایجاد پیوند کووالانسی بین مونومر و نمونه یا قالب معرف این روش است. با توجه به پایداری پیوند و ایجاد پیش پلیمری یکنواخت، تضمین واکنش قوی در حین فرایند پلیمریزاسیون می‌باشد که منجر به ایجاد محل‌هایی کاملاً مشخص و قطبی برای مولکول هدف بر روی پلیمر خواهد شد. جهت استخراج نمونه پیوند کووالانسی بین مونومر و نمونه باید شکسته شود که توسط واکنش شیمیایی انجام می‌گیرد از مزایای این نوع پلیمر می‌توان به مواردی مانند:

۲-۱۰-۱. مزایای پلیمرهای قالب مولکولی کووالانسی

بیوشیمی متابولیسم

- استحکام خوب پلیمر تشکیل شده از برهمکنش مونومر و قالب
- استوکيومتری مشخص و معین
- جهت تهیه پلیمر قالب مولکولی از روش‌ها و شرایط مختلف پلیمریزاسیون می‌توان استفاده کرد.

۲-۱۰-۲. معایب پلیمرهای قالب مولکولی کووالانسی

- سنتز آن‌ها سخت و غیر اقتصادی است
- پیوند کووالانسی بین نمونه و مونومر عاملی باید به وسیله یک واکنش شیمیایی یا هیدرولیز اسیدی شکسته شود و این محدودیت‌هایی در کاربرد آن ایجاد می‌کند
- تشکیل پیوند و شکسته شدن پیوند آهسته انجام می‌شود. در نتیجه زمان استخراج طولانی است



Covalent imprinting

(۲-۱۰). طرح شماتیک سنتز پلیمر قالب مولکولی کووالانسی

۲-۱۱. پلیمرهای قالب مولکولی نیمه کووالانسی

روش نیمه کووالانسی؛ روشی آمیخته از دو روش کووالانسی و غیر کووالانسی است. به این ترتیب که باندهای کووالانسی بین نمونه و مونومر عاملی قبل از اینکه پلیمریزاسیون صورت

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۸۹

گیرد، ایجاد می‌شود. اما پلیمر سنتز شده، جذب سطحی را بر اساس واکنش‌های غیر کووالانسی با مولکول‌های هدف انجام می‌دهد. روش نیمه کووالانسی دارای دو ویژگی مطلوب روش کووالانسی می‌باشد شامل استحکام و استوکیومتری معین و همچنین ویژگی خوب پلیمر غیر کووالانسی حذف راحت نمونه یا قالب را نیز دارد

۲-۱۲. پلیمرهای قالب مولکولی غیر کووالانسی

پرکاربردترین روش تهیه پلیمرهای قالب مولکولی می‌باشد. این روش بسیار راحت و سریع است. به طور کلی سنتز پلیمر قالب مولکولی طی روش غیر کووالانسی دارای ۳ مرحله است.

۲-۱۲-۱. مراحل سنتز پلیمر قالب مولکولی

۱) مجاورت مونومر عاملی و مولکول نمونه و تشکیل پیش پلیمر این پیش پلیمر از بر هم کنش نیروهای واندر والس، پیوند هیدروژنی، دوقطبی دوقطبی بین مونومر و قالب حاصل می‌شود. وجود گروه‌های عاملی که ایجاد کننده این بر هم‌کنش باشند ضروری است. هر چه تعداد این گروه‌های عاملی بیشتر باشد اندر کنش قوی تر، پیش پلیمر تشکیل شده مستحکم تر و تعداد خوات ایجاد شده بیشتر می‌باشد.

۲- کوپلیمریزاسیون بین پیش پلیمر تشکیل شده، مونومر تشکیل دهنده پیوند عرضی

۳- حذف مولکول قالب یا مولکول هدف از پلیمر تشکیل شده این مرحله به دلیل وجود

نیروهای غیر کووالانسی بین قالب و مونومر عاملی بسیار راحت انجام می‌شود و تنها بایک

شستشوی ساده بایک حلال مولکول قالب حذف می‌شود.

۲-۱۲-۲. دلایلی که از روش غیر کوولانسی بیشتر استفاده می شود :

- ۱- به راحتی سنتز انجام می شود یا سنتز آن بسیار راحت است .
 - ۲- حذف قالب بسیار راحت است و معمولاً به صورت پیوسته انجام می شود .
 - ۳- تنوع گروه های عاملی که قابلیت ساخت پلیمرهای قالب مولکولی با این روش را دارند بسیار زیاد است و این امر باعث گسترش دامنه فعالیت کاری می شود .
- بر همکنش بین مونومر عاملی و قالب در محیط آب گریز مستحکم می باشد و این نیروها در محیط قطبی تضعیف شده و پیش پلیمر مونومر قالب از هم گسیخته می شود.

۲-۱۳. روش های تهیه پلیمر قالب مولکولی

پلیمرهای قالب مولکولی را بر اساس نوع پلیمریزاسیون انجام شده به روش های مختلف تهیه می کنند این روش ها شامل موارد ذیل می باشد:

(۱) پلیمریزاسیون توده های

(۲) پلیمریزاسیون متورم سازی چند مرحله ای

(۳) پلیمریزاسیون سوسپانسیون یا تعلیقی

(۴) پلیمریزاسیون رسوبی

(۵) پلیمریزاسیون قالب سطحی

(۶) پلیمریزاسیون در محل

۲-۱۳-۱. پلیمریزاسیون توده ای

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۹۱

روش پلیمریزاسیون توده ای از روش‌های معمول تهیه پلیمر قالب مولکولی می‌باشد در این روش کلیه مواد شامل مولکول الگو، مونومر و اتصال‌دهنده عرضی و آغازگر در یک حلال همه با هم حل می‌شوند. سپس جهت حذف گاز اکسیژن جریان گاز نیتروژن برای مدت پانزده دقیقه از محلول عبور می‌دهیم و محلول واکنشگرها تحت تأثیر UV یا حرارت برای تخریب فتوشیمیایی یا حرارتی قرار می‌گیرد تا آغازگر رادیکالی تخریب شود و به رادیکال آزاد تبدیل شود. واکنش پلیمریزاسیون به مدت ۱۸ ساعت ادامه می‌یابد. هنگامیکه پلیمرهای قالب مولکولی با این روش تهیه می‌شوند قبل از استفاده خرد شده و برای حذف مولکول قالب در یک حلال قطبی همراه با یک اسید شسته می‌شوند عمل شستشو و حذف قالب توسط دستگاه سوکسله طی چند مرحله انجام می‌شود. این فرایند پلیمریزاسیون بسیار ساده و است و به تجهیزات اضافی و خاصی نیاز ندارد و در اغلب نقاط دنیا مورد استفاده قرار می‌گیرد این روش معایبی دارد مانند صرف وقت زیاد جهت خرد کردن واسیاب پلیمر که این فرایند باعث تولید ذرات پلیمری با عدم یکنواختی در اندازه می‌شود تولید ذرات غیر یکنواخت کارایی استخراج پلیمر را کاهش می‌دهد. (Stevenson 1999)^{۲۳}

۲-۱۳-۲. روش پلیمریزاسیون رسوبی

در این روش طراحی سیستم به گونه ای می‌باشد که اندازه ذرات تولید شده تا حد امکان یکنواخت باشد. در این سیستم زنجیرهای پلیمری پس از رشد و کسب اندازه ای خاص رسوب می‌کنند (پس از رسیدن به یک وزن خاص) علی‌رغم وجود زنجیرهایی با طول بیشتر که بیانگر عدم یکنواختی کامل در ذرات پلیمر سنتزی است ولی در مقایسه با روش

بیوشیمی متابولیسم

توده ای به دلیل یکنواختی بالاتر ذرات درصد جذب سطحی بیشتر می‌باشد و راندمان استخراج بالاتر است .

۲-۱۳-۳. پلیمریزاسیون با تورم چند مرحله ای

در این روش ذرات کروی به دست می‌آید. ابتدا پلیمرهای قالب مولکولی در شکل دانه تولید می‌شود این ذرات که در آب معلق هستند با افزایش یک حلال آلی مناسب متورم می‌شوند تا اندازه $10-5 \mu\text{M}$ را بدست آورند. فرآیند پلیمریزاسیون با افزایش اجزاء لازم آغاز می‌شود. کیفیت این روش از روش رسوبی بهتر می‌باشد .

۲-۱۳-۴. پلیمریزاسیون سوسپانسیون

در این روش ذرات معلق با اندازه $100-50 \mu\text{M}$ از ۲ حلال غیر قابل امتزاج به دست می‌آید. ابتدا تمام مواد لازم جهت پلیمریزاسیون را در یک حلال حل می‌کنیم آنگاه یک حلال غیر قابل امتزاج به آن‌ها اضافه می‌شود این سیستم را شدیداً تکان می‌دهیم. قطارتی در حد میکرو حاصل می‌شود که در پلیمریزاسیون شرکت می‌کنند.

۲-۱۳-۵. روش پیوند زنی

در این روش ذرات قالب در سیلیکات قرار می‌گیرد. پلیمریزاسیون باعث تشکیل شبکه ای اطراف ذرات سیلیکا می‌شود. حال سیلیکات را حذف می‌شود محصول نهایی ذرات کروی شکلی که تصویر آینه ای سیلیکات به دست می‌آید.

۲-۱۴. کاربرد پلیمرهای قالب مولکولی

(۱) ریز استخراج با فاز جامد (SPME)^۱

(۲) حسگرها

(۳) غشاءها

(۴) کاتالیزگرها

(۵) کروماتوگرافی

۲-۱۴-۱. کاربرد پلیمرهای قالب مولکولی برای ریز استخراج با فاز جامد (SPME)^۱

پلیمرهای قالب مولکولی به دلیل انتخاب پذیری بالا و سادگی تهیه و کار به عنوان فاز جامد ریز استخراج مورد استفاده قرار می‌گیرند در مواردی که انالیت دارای غلظت پایین و یا دارای ترکیبات مشابه باشد SPME کارایی قابل قبولی دارد. جهت حداکثر کارایی لازم است که سنتز پلیمر و شرایط استخراج بهینه باشد. کاربرد ریز استخراج فاز جامد با پلیمرهای قالب مولکولی بر پایه شیوه‌ای است که در مورد ریز استخراج فاز جامد دیده می‌شود.

۲-۱۵-۱. کاربرد پلیمرهای قالب مولکولی در حسگرها

پلیمرهای قالب مولکولی به عنوان سیستم‌های رسانش و هدایت و شناسایی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. (Moreira, Queirós et al. 2012)^{۲۷}

مواردی از این کاربردها شامل:

شناسایی هیدروکربن‌های چند حلقه‌ای آروماتیک موجود در آب به روش فلونئورسانس و اندازه‌گیری کمی غلظت به روش طیف سنجی جرمی

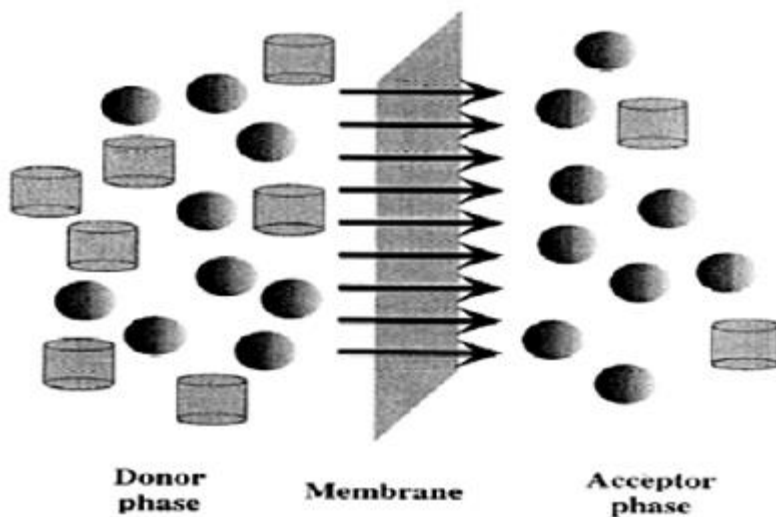
¹Molecularly imprinted solid phase micro extractor

حسگرهای رزونانسی پلاسمایی^۱ به صورت تراشه با استفاده از پلیمر قالب مولکولی که نانوذرات طلا در آن جای گرفته‌اند.

۲-۱۵-۲. کاربرد پلیمرهای قالب مولکولی در غشاء

غشاء مانند فیلتری گزینش پذیر عمل می‌کند که در بیشتر موارد نیروی موثر برای حرکت انالیت در عرض غشاء گرادیان غلظتی می‌باشد. این فرایند را می‌توان بطور موثر با خارج کردن انالیت از فاز گیرنده به صورت تشکیل کمپلکس یا تغییر فرم یونی تسریع کرد. این فرایند می‌تواند برای انتقال یک انالیت فرار از یک مایع به یک فاز گاز با استفاده از فیبرهای توخالی بکار رود. حضور پلیمر قالب مولکولی در غشاء، قابلیت بیشتری را به غشاء خواهد بخشید و غشاء دارای خاصیت گزینش پذیری ویژه خواهد شد. آن‌ها گزینش برای اینکه چه موادی از غشاء عبور کنند و چه موادی عبور نکنند را افزایش می‌دهند.

¹. Surface-plasma



(۲-۱۱). پلیمرهای قالب مولکولی در غشاء

۲-۱۵-۳. کاربرد پلیمرهای قالب مولکولی در کاتالیزگرها

وجود حفرهای خالی قالب مولکول‌های نمونه که برای واکنش‌های کاتالیزگری قابل استفاده است. که کاربردهای آن شامل فعال کردن پلیمرهای قالب مولکولی با استفاده از آنالوگ‌های حالت گذار برای قالب‌هایی حاصل از فرایند هیدرولیز استرها است و هیدرولیزهای استری شامل کوئوردیناسیون یون-فلزی می‌باشد و همچنین یک کاربرد دیگر آن در واکنش حلقه-زایی دیلز-آلدر است.

۲-۱۵-۴. کاربرد پلیمرهای قالب مولکولی در کروماتوگرافی

پلیمرهای قالب مولکولی به عنوان فاز ساکن به خصوص در کروماتوگرافی مایع کاربرد فراوانی دارند. این پلیمرها به عنوان فاز ساکن در کروماتوگرافی استفاده می شوند و به منظور کسب حد اکثر کارایی آنها باید دارای ویژگیهایی باشند اندازه ذرات پلیمر تشکیل دهنده ستون ۱۰-۲ (μm) باشد. (Balamurugan, Gokulakrishnan et al., 2012)^{۲۸}

همچنین پلیمر استفاده شده به عنوان فاز جامد باید دارای حد اکثر تعداد خلل و فرج منظم و یکنواخت

با شد در حالی که حفظ استحکام و مقاومت فیزیکی پلیمر لازم است. شاید بسته بندی، ایزوتروپیک، یا همگرا بدون تفاوت در مسیر جریان فاز متحرک با بالاترین درجه همگنی از خصوصیات تمام انواع ستونهای کروماتوگرافی مانند ستونهای مقدماتی، مویرگی، کلاسیک باشد. پلیمرهای قالب مولکولی را می توان به صورت پودر برای مدت طولانی بدون مواد محافظت کننده نگهداری کرد بدون آنکه خواص آن کاهش یابد و براحتی می توان آن را در یک حلال مناسب حل کرد و در یک ستون کروماتوگرافی بکار برد بدون آنکه نیاز به تمهیدات ویژه باشد. پس از استفاده پلیمر ستون احیا شده و نگهداری میشود برای آنکه در آینده مجدداً استفاده گردد. پلیمرهای قالب مولکولی مورد استفاده در کروماتوگرافی عموماً به روش بالک یا توده‌ای تهیه می‌شوند. پلیمر قالب مولکولی در کروماتوگرافی مایع، به

فصل دوم: ریزاستخراج فاز جامد با استفاده از جاذب پلیمری قالب مولکولی ۹۷

منظور بررسی استحکام ساختاری خود پلیمر قالب مولکولی و ویژگی‌های آن از نظر محل-های اتصال نیز مورد استفاده بوده است. آزمایش کروماتوگرافی این امکان را فراهم می‌سازد که فاکتورهای ظرفیت (K) و فاکتورهای قالب‌بندی (IF) در پلیمرهای قالب مولکولی مشخص گردد. (Balamurugan, Gokulakrishnan et al. 2012)^{۲۸} این معیارها از فاصله زمانی ابقاء مولکول نمونه در ستون کروماتوگرافی پر شده با پلیمر قالب مولکولی (MIP) و ستون دوم پر شده با پلیمر قالب‌گیری نشده (NIP) بدست آمده‌اند. انتخاب‌گری برای ترکیبات دیگر، غیر از آنالیت نیز معمولاً از همین طریق محاسبه می‌گردد.

فصل سوم

مطالعات تجربی

متاکریلیک اسید (MAA)، اتیلن گلیکول دی متاکریلات (EGDMA)، ۲و۲-آزوبیس ایزو بوتیرو نیتریل (AIBN)، متانول ، اسید استیک، اسید نیتریک، سود، استات سدیم ، فوران، پیروول، دی هیدروژن فسفات، استن، سرنگ SPME، دستگاه IR، اتانول، تمام مواد از شرکت مرک خریداری شده است .

۲-۳ دستگاهوری

وسایل استفاده شده در آزمایش برای جداسازی و اندازه گیری فوران به روش (SPME) با استفاده از پلیمر قالب مولکولی عبارتند از:

۱-۲-۳ التراسونیک

التراسونیک مبتنی بر غوطه وری قطعات مورد نظر در یک مایع واسطه می باشد که این مایع توسط یک مولد امواج التراسونیک با فرکانس و شدت بسیار بالایی مرتعش شده و هنگامی که کاویتاسیون به وجود آمده عمل شستشو و پاک کردن قطعه را انجام می دهد.

مدل دستگاه استفاده شده (Parsonic 7500s)

۳-۲-۲ pH متر

اندازه گیری pH یکی از متداولترین تکنیکهای تجزیه است که برای تعیین قدرت اسیدی یا بازی یک نمونه مورد استفاده قرار می گیرد. مدل دستگاه استفاده شده (Jenway 3510)

۳-۲-۳ بن ماری

بن ماری دستگاهی است دارای حوضچه ای استیل که با آب پر می شود و ظروف مختلف آزمایشگاهی درون آن قرار می گیرد. حرکت همرفتی گرما در آب از حرارت مستقیم شعله جلوگیری کرده و سبب ایجاد حرارت یک نواخت و قابل کنترل در بن ماری می شود. مدل دستگاه استفاده شده (Thermostated Water Bath 3430)

۳-۲-۴ کروماتوگرافی گازی (GC)

این روش سریع و ساده است و برای تشخیص ناخالصی‌های موجود در یک ماده فرار یا مقادیر کم مواد ضد آفت در پوست میوه‌جات و اندازه‌گیری گازها و آلودگی مواد به کار می رود. در کروماتوگرافی گازی، فاز متحرک یک گاز است. فاز ساکن یک ماده جاذب جامد یا مایع پوشش داده شده و یا دارای پیوند با یک جامد بر روی دیواره ستون است. مدل دستگاه استفاده شده (Varian CP_3800 GC)

۳-۲-۵ آون

فصل سوم: مطالعات تجربی (۱۰)

فور (آون) PID فن دار دستگاهی است که دارای محفظه آلومینیوم و یا استیل می باشد و توسط المنت های اطراف محفظه ایجاد حرارت قابل کنترل $50^{\circ}C$ الی $250^{\circ}C$ با دقت $2^{\circ}C \pm$ نموده که جهت استریل و خشک نمودن وسایل پزشکی و آزمایشگاهی قابل استفاده می باشد. مدل دستگاه استفاده شده. (شرکت تولید کننده پارس طب نوین)

۳-۲-۶ همزن مغناطیسی (هیتر)

یکی از ابزارهای آزمایشگاهی بوده که برای مخلوط کردن مایعات در آزمایشگاه از آن استفاده می شود. در برخی از انواع همزن مغناطیسی عمل گرم کردن و همزدن مایع بصورت همزمان انجام می شود، به این ترتیب که صفحه ای که ظرف مایع بر روی آن قرار دارد گرم شده و مایع در حال چرخش را گرم می کند. مدل دستگاه استفاده شده (Heidolph)

(Instruments D_91126)

۳-۲-۷ سرنگ SPME

فیبر در یک دستگاه مانند سرنگ نصب شده برای حفاظت و سهولت از دست زدن به آن سوزن مورد استفاده به راحتی وارد سوراخ سپتوم ویال نمونه یا انژکتور GC می شود در طول استخراج آنالیت و دفع، فیبر را در معرض قرار داده است اما در طول انتقال نمونه به انژکتور GC، آن در داخل سوزن محافظ است بدیهی است، این یک روش ظریف است و این واقعیت که به هیچ حلالی نیاز نیست یک مزیت متمایز است از سوی دیگر این یک نقطه ضعف است که فیبر هستند و نسبتاً شکننده هستند، حتی اگر آنها محافظت می

بیوشیمی متابولیسم

شوند زمانی که نمونه از انژکتور بیرون هستند آنها همچنین می توانند از مواد فراری که از نمونه ساخته می شود آسیب می بینند به منظور بهبود استحکام این روش، معرفی شده توسط Lipinski (خودکار) با فاز جامد استخراج پویا (SPDE) است که با استفاده از سوزن آماده از مویرگی از جنس ستون فولاد ضد زنگ، با دیواره داخلی PDMS پوشش داده شده است. مدل استفاده شده (شرکت تولید کننده آذر الکترو)

۳-۲-۸ دستگاه (IR)

دستگاه FT-IR روشی سودمند برای شناسایی ترکیبات آلی و معدنی و گروههای عاملی آنها می باشد. حتی می توان پیوندهای کووالانسی لیگاندهای فلزی را شناسایی کرد. در آزمایشگاهها، کلینیکها، محیط زیست، دانشگاهها و کنترل کیفی در فرآیندهای صنعتی و تجزیه کیفی محصولات و ... کاربرد دارد. حدود ۹۵ درصد کاربرد این دستگاه کیفی بوده که از روی محل پیک صورت می گیرد. مدل دستگاه استفاده شده (Nicolet 6700)

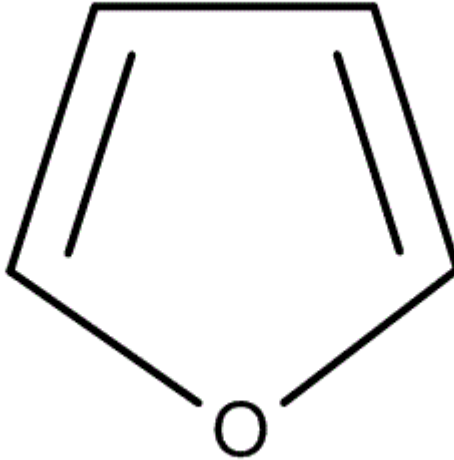
۳-۳. تهیه پلیمر قالب مولکولی

۳-۳-۱. انتخاب عوامل

۳-۳-۱-۱. آنالیت یا نمونه

ماده مورد نظر جهت استخراج فوران (C_4H_4O) است و به صورت مایع بی رنگ، سمی و چربی دوست است که بسیار فرار (نقطه جوش $31^\circ C$) و دارای بوی نا خوشایندی است

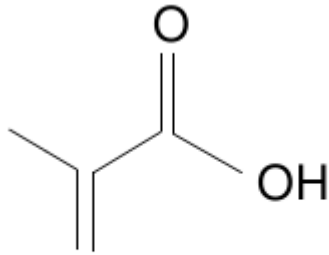
شرایط نگهداری آن دور از نور خورشید و رطوبت می باشد فرمول مولکولی آن C_4H_4O می باشد.



شکل (۳-۱). ساختار مولکول نمونه

۳-۱-۲. مونومر عاملی مناسب

مونومر عاملی مورد استفاده متا اکریلیک اسید است. این مایع چسبناک و بی رنگ، یک اسید کربوکسیلیک با بوی ناخوشایند تند است. در آب گرم محلول بوده و قابل اختلاط با بسیاری از حلال های آلی می باشد. با توجه به ساختار مولکول قالب وامکان برهم کنش های یونی بین مونومر و نمونه، همچنین تشکیل آسان پیوند هیدروژنی بین مونومر و مولکول قالب باعث دستیابی به یک پلیمر قالب مولکولی خوب می شود. (MAA) به طور طبیعی در مقادیر کم در روغن بابونه رومی رخ می دهد.

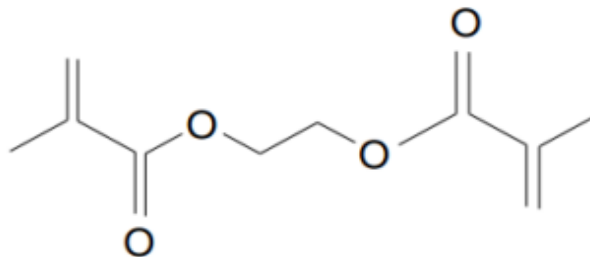


Methacrylic acid (MAA)

شکل (۲-۳). ساختار مونومر عاملی؛ متاکریلیک اسید

۳-۱-۳-۳. عامل اتصال دهنده عرضی

استحکام پلیمر سنتزی یکی از موارد مهم است که وابستگی زیادی به اتصال دهنده عرضی دارد علاوه بر آن ساختار سه بعدی پلیمر قالب مولکولی و به اصطلاح ریخت شناسی آن توسط اتصال دهنده عرضی تعیین می‌شود. عامل اتصال عرضی اتیلن گلیکول دی متاکریلات است به دلیل وجود دو گروه اکریلات سنتز پلیمری سخت، با ریخت شناسی مطلوب حاصل می‌شود. اتیلن گلیکول دی متاکریلات (EGDMA) دی استر متشکیل از تراکم دو معادل اسید متاکریلات و یک معادل اتیلن گلیکول است. اتیلن گلیکول دی متاکریلات را می‌توان در واکنش اتصال عرضی کوپلیمر رادیکال های آزاد استفاده کرد.



Ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA)

شکل (۳-۳). ساختار اتصال دهنده عرضی؛ اتیلن گلیکول دی متاکریلات

۳-۱-۳-۴. حلال مناسب

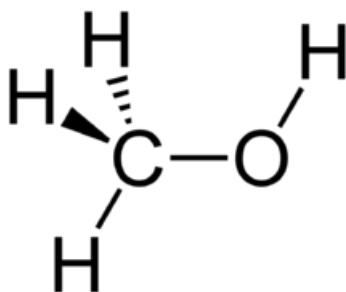
مهم‌ترین ویژگی‌هایی که باید هنگام انتخاب حلال در نظر گرفت

تمام اجزای دخیل در واکنش در آن محلول باشد

حلال پوشی اجزا بگونه ای باشد که کمترین ممانعت در برهم کنش های بین مولکولی مونومر عاملی و قالب را داشته باشد در عین حال قابلیت نفوذ در پلیمروتورم آن را دارا باشد.

در سنتز پلیمرهای قالب مولکولی مرحله تشکیل پیش پلیمر از برهمکنش بین مونومر عاملی و قالب اهمیت زیادی دارد چرا که استحکام پلیمر و اندازه حفرها وابسته به این مرحله می باشد با توجه به وجود نیروهای غیر کووالانسی مانند پیوند هیدروژنی و نیروهای واندروالس بین مونومر و قالب مولکولی حلال های آپروتیک غیر قطبی یا با قطبیت متوسط کمترین برهمکنش را با نیروهای موجود دارد.

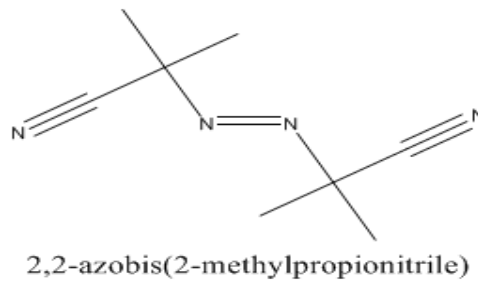
متانول حلال مورد استفاده در این سنتز است. **متانول** یا **متیل الکل** یا **الکل متیلیک** یا **الکل چوب** که ساده ترین نوع الکل هاست با فرمول شیمیایی $\text{C H}_3\text{OH}$ شناخته می شود. متانول از فعالیت بی هوازی گونه های زیادی از باکتری ها تولید می شود و در نتیجه مقدار اندکی از بخار متانول وارد جو می شود و پس از چندین روز به وسیله اکسیژن و با کمک نور خورشید اکسید شده به آب و دی اکسید کربن تبدیل می گردد.



شکل (۳-۴). ساختار حلال مورد استفاده

۳-۳-۱-۵. آغازگر

با توجه به نوع واکنش پلیمریزاسیون از ۲،۲-آزوبیس(۲-متیل پروپیونیتریل) یا AIBN به عنوان آغازگر استفاده شد. این آغازگر به صورت حرارتی و فتوشیمیایی تخریب شده رادیکال تولید می کند. این آغازگر به صورت پودر سفید رنگ محلول در الکل و حلالهای آلی مشترک است، اما در آب نامحلول است. اغلب به عنوان یک فوم در پلاستیک و لاستیک و به عنوان آغازگر رادیکالی استفاده می شود.



شکل (۳-۵). ساختار آغازگر مورد استفاده در این سنتز

۳-۳-۲. روش سنتز پلیمر قالب مولکولی

در این مرحله دو پلیمرتهیه می شود پلیمر اول پلیمر قالب مولکولی (MIP) و پلیمر دوم پلیمر قالب گیری نشده (NIP) است. (NIP) (Non Imprinted Polymer) یا پلیمر قالب گیری نشده دقیقاً در شرایط یکسان با سنتز (Molecular Imprinted Polymer) MIP تهیه می شود تنها تفاوت آن عدم وجود مولکول نمونه یا قالب در فرایند

بیوشیمی متابولیسم

پلیمریزاسیون است. شرایط مقایسه این دو پلیمر معرف کیفیت تکنیک و روش کار می باشد همچنین کارایی و گزینش پذیری پلیمر سنتزی را مشخص می کند.

یک ویال یا شیشه پنی سیلین بزرگ را برداشته و در آن مقدار ۰,۵۵۶۰ میلی لیتر از پیروول به عنوان ماده اصلی یا آنالیت می ریزیم سپس به آن مقدار ۳۰ سی سی متانول به عنوان حلال اضافه کرده و سپس به آن مقدار ۳۰ میلی مول یا ۲,۵۴ میلی لیتر از مونومر عاملی متاکریلیک اسید اضافه می کنیم. سپس شیشه پنی سیلین را به مدت ۵ دقیقه در داخل دستگاه التراسونیک قرار داده تا مخلوط بخوبی هم خورده و در حلال حل شود حال ایجاد کننده پیوندهای عرضی اتیلن گلیکول دی متاکریلات (EGDMA) را به مقدار ۱۲۰ میلی مول یا ۲۲,۶۳۲ میلی لیتر به آن اضافه کرده. و سپس آغازگر (۲'و۲-آزو بیس ایزو بوتیرو نیتریل) را به مقدار ۲۸۰ میلی گرم به مخلوط اضافه می کنیم. مخلوط مورد نظر به مدت ۱۰ دقیقه در محیط گاز نیتروژن قرار گرفته تا اکسیژن حل شده در آن حذف گردد. وجود اکسیژن مانع از فرایند پلیمریزاسیون رادیکالی می شود. سپس لوله های موین کشیده شده به طول ۴ سانتی متر را از این مخلوط پر کرده و دو سر لوله موین را با درپوش یا چسب چسبانده و آن را در داخل حمام آب گرم در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و به مدت ۱۲ ساعت قرار می دهیم تا پلیمر در داخل لوله های موین تشکیل شود. سپس پلیمرهای تشکیل شده را در داخل اسید HF به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه قرار داده تا پلیمر به صورت فیبر یا رشته ای به طور کامل از شیشه جدا شود. سپس فیبر های پلیمری را بوسیله متانول و آب مقطر دوبار تقطیر با نسبت (۱:۴) (V/V) به مدت ۳۰ دقیقه شستشو مدهیم تا عوامل مزاحم حذف شوند. سپس بوسله ی استون و آب مقطر دوبار تقطیر با نسبت (۳۰/۷۰))

فصل سوم: مطالعات تجربی ۱۰۹

(V/V) به مدت ۳۰ دقیقه شتسو می‌دهیم و این کار را چند بار تکرار می‌کنیم تا تمام پیرول یا آنالیت موجود در پلیمر حذف گردد. سپس پلیمرها را در یک کوره کربولیتی در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه همراه با بخار آب حرارت می‌دهیم تا پلیمرها تعدیل گردند. شیوه سنتز NIP دقیقاً مشابه شیوه سنتز MIP است، تنها با این تفاوت که پیرول (ماده اصلی) در فرآیند تهیه NIP استفاده نمی‌شود.

۳-۴. بهینه سازی شرایط جذب فوران در روش ریز استخراج با پلیمر قالب

مولکولی

۳-۴-۱. تعیین ماکزیمم طول موج جذب

ابتدا ۳ محلول استاندارد ۱، ۱۰ و ۱۰۰ ppm از فوران را در دامنه طول موج ۲۰۰-۴۰۰ نانومتر اندازه گیری کرده که ماکزیمم جذب در ۲۱۰ نانومتر بود تمام سنجشهای بعدی در این طول موج اندازه گیری شد.

۳-۴-۲. بررسی اثر نمک

محلول استاندارد فوران به غلظت ۱۰ ppm تهیه شد. همچنین محلول های نمک ۰.۲٪ و ۰.۳٪ و ۰.۴٪ و ۰.۵٪ و ۰.۶٪ ساخته شد. سپس در ۵ تا ویال ۸ ml از محلول ۱۰ ppm فوران و ۱ ml از محلول های نمک (NaCl) میریزیم و فیبر را به اندازه ۱.۵ سانتی متر داخل محلول به مدت ۱۰ دقیقه که زمان بهینه است گذاشته تا توسط دستگاه همزن مغناطیسی با مگنت، محلول هم بخورد و مقدار جذب فیبر را اندازه گیری میکنیم همانگونه که از جدول مشخص است نمک اثر منفی داشته است. برای بدست آوردن غلظت نهایی از فرمول

$$m_1 \cdot V_1 = m_2 \cdot V_2 \text{ استفاده کردیم که } m_1 = \text{غلظت اولیه،}$$

$$V_1 = \text{حجم اولیه، } m_2 = \text{غلظت ثانویه، } V_2 = \text{حجم ثانویه}$$

درصد استخراج	غلظت (mg/L)	نمک
۲۹,۶۰	۷,۰۳	٪۲
۲۱,۳۱	۷,۸۶	٪۳
۱۷,۷۶	۸,۲۲	٪۴
۸,۰۲	۹,۱۹	٪۵
۱۱,۴۴	۸,۸۵	٪۶

جدول (۳-۱). بررسی اثر نمک بر جذب پلیمر قالب مولکولی سنتز شده

۳-۴-۳. بررسی اثر زمان

محلول استاندارد فوران به غلظت ۱۰ ppm (MIP) تهیه شد سپس ۴ ظرف پنی سیلین را برداشته و به هر کدام از آنها مقدار ۸ سی سی از محلول فوران و ۱ سی سی محلول ٪۲ (NaCl) اضافه گردید. در ادامه پلیمر را به اندازه ۱,۵ سانتی متر در داخل محلول (MIP) قرار داده و مانند قبل در هر کدام از ظروف پنی سیلین یک مگنت ریز قرار داده و آنها را بر روی هیتر و با ۶۰۰ rpm دور گذاشته شد. هر یک از مخلوط ها به مدت ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ دقیقه گذاشته تا فوران توسط ذرات پلیمر قالب مولکولی جذب گردد. سپس محلول داخل شیشه پنی سیلین توسط اسپکتروفتومتری uv-vis در طول موج ۲۱۰ nm اندازه گیری شده تا مقدار فوران جذب سطحی نشده تعیین گردد. همانگونه که از جدول (۳-۲)

مشخص است بازه زمانی ۱۰ دقیقه دارای بیشترین جذب بوده و بهترین زمان برای رسیدن به تعادل است.

تفاضل غلظت اولیه از غلظت جذب نشده مقدار فوران جذب شده توسط پلیمر بدست می آید در مبحث جذب توسط پلیمرهای قالب مولکولی اصطلاحات ذیل مطرح می شود. نسبت توزیع فاز (K_d) و ظرفیت جذب سطحی (Q) که با استفاده از معادلات زیر محاسبه شد.

$$K_d = \frac{C_i - C_f}{C_f} \times \frac{V}{W}$$

$$Q = \frac{(C_i - C_f)V}{W}$$

که در اینجا C_i و C_f نشان دهنده غلظت ابتدایی و تعادلی دی اتیل فتالات در فاز آبی است (mg.mL^{-1}) و W وزن پلیمر (g) و V حجم فاز آبی (mL) می باشد.

$$E = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100$$

E درصد استخراج فوران یا نمونه را توسط پلیمر نشان می دهد.

زمان جذب (دقیقه)	غلظت (mg/L)	درصد استخراج
۵	۸,۸۹	۲۲,۸۳
۱۰	۸,۶۹	۲۴,۵۴
۲۰	۸,۹۶	۲۲,۹۴

فصل سوم: مطالعات تجربی ۱۱۳

۳۰	۸,۸۲	۲۳,۹۴
----	------	-------

جدول (۳-۲). بررسی زمان جذب پلیمر قالب مولکولی سنتز شده

۳-۴-۴. تأثیر pH محلول بر جذب پلیمر

در ابتدا بافرهای ۴ تا ۷ تهیه گردید. برای تنظیم pH های اسیدی از بافر استات سدیم استفاده کرده و مقدار ۰,۸۲ گرم را در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به حجم رسانده و با pH متر بافرهای ۴ و ۵ را تنظیم می کنیم و برای تنظیم بافر بازی از سدیم دی هیدروژن فسفات استفاده کرده و مقدار ۱,۲ گرم را در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به حجم رسانده و با pH متر بافر ۷ را تنظیم می کنیم عمل تنظیم کردن به وسیله ی اسید نیتریک (HNO₃) ۰,۱ M و سود (NaOH) ۰,۰۱ M می باشد. در ادامه محلول استاندارد فوران به غلظت ۱۰ ppm تهیه شده، سپس ۴ شیشه پنی سیلین را برداشته و به هر کدام ۱ میلی لیتر NaCl ۰,۲٪ و ۸ میلی لیتر از محلول ۱۰ ppm فوران اضافه گردید سپس برای هر pH مقدار ۱ سی سی بافر مورد نظر را اضافه کرده در ادامه پلیمر را به اندازه ۱,۵ سانتی متر در درون محلول ها گذاشته و به مدت ۱۰ دقیقه روی هیتر با سرعت ۶۰۰ rpm قرار می دهیم. بر اساس نتایج بدست آمده بیشترین جذب در pH = ۶ می گردد.

Ph	غلظت (mg/L)	درصد استخراج
----	-------------	--------------

بیوشیمی متابولیسم

۲۲,۳۴	۸,۶۵	۴
۲۳,۵۲	۸,۵۱	۵
۳۱,۳۲	۷,۶۴	۶
۲۳,۸۷	۸,۴۷	۷

جدول (۳-۳) بررسی اثر pH روی جذب

۳-۴-۵ تاثیر دما بر جذب پلیمر

محلول ۱۰ ppm از فوران را درست کرده سپس ۵ شیشه پنی سیلین را برداشته و به هر کدام ۸ سی سی از محلول ۱۰ ppm (MIP) و ۱ سی سی از نمک ۲٪ را اضافه کرده و پلیمر را به اندازه ۱,۵ سانتی متر در داخل محلول گذاشته و pH آن را بر روی ۶ تنظیم کرده سپس شیشه ها را با سرعت ۶۰۰ rpm بر روی هیتر گذاشته و به ترتیب به ظرف اول دمای ۲۵ درجه و به ظرف دوم دمای ۳۰ درجه و به ظرف سوم دمای ۴۵ درجه و به ظرف ۴ دمای ۶۰ درجه و به ظرف ۵ دمای ۷۵ می دهیم که بر اساس نتایج در دمای ۴۵ درجه پلیمر بیشترین جذب را دارد.

دما	غلظت (mg/L)	درصد استخراج
۲۵	۷,۶۵	۳۲,۲۱

فصل سوم : مطالعات تجربی ۱۱۵

۳۱,۲۵	۶,۵۱	۳۰
۳۶,۵۳	۶,۶۴	۴۵
۲۹,۰۸	۷,۴۷	۶۰
۲۶,۶۸	۶,۸۹	۷۵

جدول (۴-۳) بررسی اثر دما روی جذب

۳-۴-۶ شناسایی فوران توسط دستگاه GC

۳-۴-۶-۱ برنامه دمایی دستگاه GC برای فوران

Tem(c)	Rate(c/min)	Hold(min)	Total(min)
۵۵		۱۵,۰۰	۱۵,۰۰
۲۵۰	۶,۰	۲,۰۰	۴۹,۵۰

جدول (۵-۳) برنامه دمایی دستگاه GC

۱,۲ FLOW

بیوشیمی متابولیسم

در ۵۵ درجه به مدت ۱۵ و در ۲۵۰ درجه با سرعت ۶ به مدت ۲ دقیقه نگه داشته می شود.

برای شناسایی فوران از دستگاه GC استفاده می کنیم. برای این کار سه محلول ۱۰، ۴۰ و ۱۰۰ ppm تهیه گردید. فیبرها را در این محلول ها گذاشته و با یک همزن مغناطیسی توسط یک مگنت به مدت ۱۰ دقیقه هم زده شده اند. سپس فیبرها را از درون محلول ها بیرون آورده و خشک کرده و درون سرنگ SPME قرار داده و سرنگ SPME داخل محل تزریق دستگاه GC گذاشته شد. داده ها در جدول زیر آمده است.

غلظت فوران	Ret.Time	Area
۱۰	۹,۳۶۷	۵۱۰۵۷۷۲
۴۰	۹,۳۷۷	۷۴۷۴۲۰۳
۱۰۰	۹,۴۲۵	۱۴۲۹۹۹۵۱

جدول (۳-۶) داده های دستگاه GC برای فوران

فصل سوم : مطالعات تجربی ۱۱۷

فصل چهارم

بحث و نتیجه گیری

۴-۱. سنتز پلیمر قالب مولکولی و پلیمر شاهد

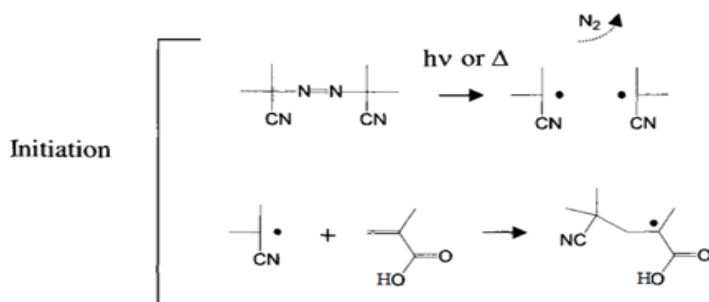
سنتز این پلیمر، پلیمریزاسیون توده‌ای و روش غیرکووالانسی می‌باشد. یک ویال یا شیشه پنی سیلین بزرگ را برداشته و در آن مقدار ۰/۵۵۶ میلی لیتر از دی پیرول به عنوان ماده اصلی یا آنالیت می ریزیم سپس به آن مقدار ۳۰ سی سی متانول به عنوان حلال و مقدار ۳۰ میلی مول یا ۲/۵۴ میلی لیتر از مونومر عاملی متاکریلیک اسید اضافه می کنیم. سپس شیشه پنی سیلین را به مدت ۵ دقیقه در داخل دستگاه التراسونیک قرار داده تا مخلوط بخوبی هم خورده و در حلال حل شود حال ایجاد کننده پیوندهای عرضی اتیلن گلیکول دی متاکریلات (EGDMA) را به مقدار ۱۲۰ میلی مول یا ۲۲/۶۳۲ میلی لیتر به آن اضافه کرده. و سپس آغازگر (۲'و۲-آزو بیس ایزو بوتیرو نیتریل) را به مقدار ۲۸۰ میلی گرم به مخلوط اضافه می کنیم. مخلوط مورد نظر به مدت ۱۰ دقیقه در محیط گاز نیتروژن قرار گرفته تا اکسیژن حل شده در آن حذف گردد. وجود اکسیژن مانع از فرایند پلیمریزاسیون رادیکالی می‌شود. سپس لوله های موین کشیده شده به طول ۴ سانتی متر را از این مخلوط پر کرده و دو سر لوله موین را با درپوش یا چسب چسبانده و آن را در داخل حمام آب گرم در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و به مدت ۱۲ ساعت قرار می دهیم تا پلیمر در داخل لوله های موین تشکیل شود. سپس پلیمرهای تشکیل شده را در داخل اسید HF به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه قرار داده تا پلیمر به صورت فیبر یا رشته ای به طور کامل از شیشه جدا شود. سپس فیبر های پلیمری را بوسیله متانول و آب مقطر دوبار تقطیر با نسبت (۱:۴) (V/V) به مدت ۳۰ دقیقه شستشو مدهیم تا عوامل مزاحم حذف شوند. سپس بوسله ی استون و آب مقطر دوبار تقطیر با نسبت (۳۰/۷۰) (V/V) به مدت ۳۰ دقیقه شستشو مدهیم تا تمام پیرول یا آنالیت موجود در پلیمر حذف گردد. سپس

پلیمرها را در یک کوره کربولیتی در دمای ۲۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه همراه با بخار آب حرارت می دهیم تا پلیمرها تعدیل (اصلاح) گردند. شیوه سنتز NIP دقیقاً مشابه شیوه سنتز MIP است، تنها با این تفاوت که پیرو (ماده اصلی) در فرآیند تهیه NIP استفاده نمی شود.

۴-۱-۱. پلیمریزاسیون پلیمر قالب مولکولی

با توجه به ساختار مونومر بکار رفته و دیگر عوامل کاربردی مشخص می شود که پلیمریزاسیون افزایشی و رادیکالی است و شامل سه مرحله آغاز، انتشار و پایان می باشد پلیمریزاسیون با حمله یک مرکز فعال رادیکالی به پیوند دوگانه مونومر عاملی آغاز می شود و با افزایش مونومرهای عاملی به زنجیر و افزایش طول آن رشد زنجیر را داریم در نهایت با یک واکنش پایانی مرکز فعال حذف شده و پلیمریزاسیون متوقف می گردد.

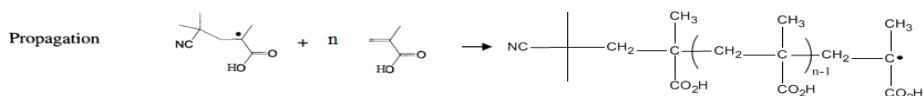
مرحله آغازی: در این مرحله از آغازگر ۲ و ۲-آزو بیس ایزو بوتیرو نیتریل استفاده شد که تحت شرایط دمایی واکنش ایجاد دو مرکز فعال رادیکالی می کند هر رادیکال آزاد قابلیت حمله به یک پیوند دوگانه در مونومر عاملی (متاکریلیک اسید) را دارد با این حمله یک مرکز فعال روی مونومر عاملی ایجاد می شود فعالیت مطلوب این رادیکالهای آزاد ایجاد شده منجر به واکنش های بعدی و افزایش طول زنجیر می شود.



شکل (۴-۱). مرحله آغاز پلیمریزاسیون افزایشی رادیکال آزاد MAA با استفاده از آغازگر

AIBN

انتشار: بر خورد مونومر رادیکالی به پیوند دوگانه مونومر دیگر و ایجاد رادیکال جدید با طول بیشتر رشد زنجیر یا انتشار می گویند این مرحله با افزایش سریع مونومر به زنجیر همراه است عمر زنجیرهای تشکیل شده بسیار کوتاه است و به سرعت وارد واکنش می شوند.

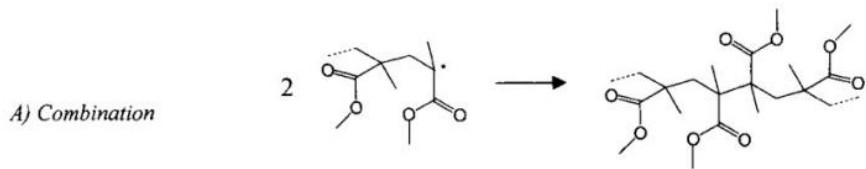


شکل (۴-۲). مرحله انتشار پلیمریزاسیون افزایشی رادیکال آزاد MAA

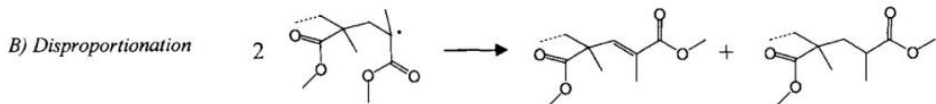
مرحله پایان: آخرین مرحله در فرایند پلیمریزاسیون رادیکال آزاد می باشد و مرحله پایان نام دارد. واکنش انتشار تا اینکه رادیکال آزاد منجر به تشکیل یک پیوند کووالانسی غیر فعال و پایدار شود ادامه می یابد. چندین راه وجود دارد تا زنجیرهای در حال رشد بتوانند در اثر واکنش، مولکولهای خنثی پلیمر را تشکیل دهند. مهم ترین مکانیسم های پایان زمانی اتفاق می افتد که دو زنجیر در حال رشد با یکدیگر بر هم کنش کرده و همزمان به وسیله یکی از واکنش های ویژه، پایان یابند.

بیوشیمی متابولیسم

یکی از واکنش‌های پایان " ترکیب " است که دو زنجیر در حال رشد به یکدیگر متصل شده و یک مولکول پلیمر را تشکیل می‌دهند.



شکل (۳-۴). مکانیسم پایان پلیمریزاسیون رادیکال آزاد MAA به روش ترکیبی واکنش دیگر عبارت است از انتقال یک اتم هیدروژن از یک زنجیر به زنجیر دیگر، که این نوع واکنش را تسهیم نامتناوب می‌گویند.



شکل (۴-۴). مکانیسم پایان پلیمریزاسیون رادیکال آزاد MAA به روش تسهیم نامتناوب به طوریکه ملاحظه می‌شود دو زنجیر در حال رشد به دو زنجیر یا رشته پلیمری تبدیل می‌شود. یکی از این زنجیرهای پلیمری دارای یک گروه غیر اشباع در انتها می‌باشد.

۴-۱-۲. مکانیسم سنتز پلیمر قالب مولکولی

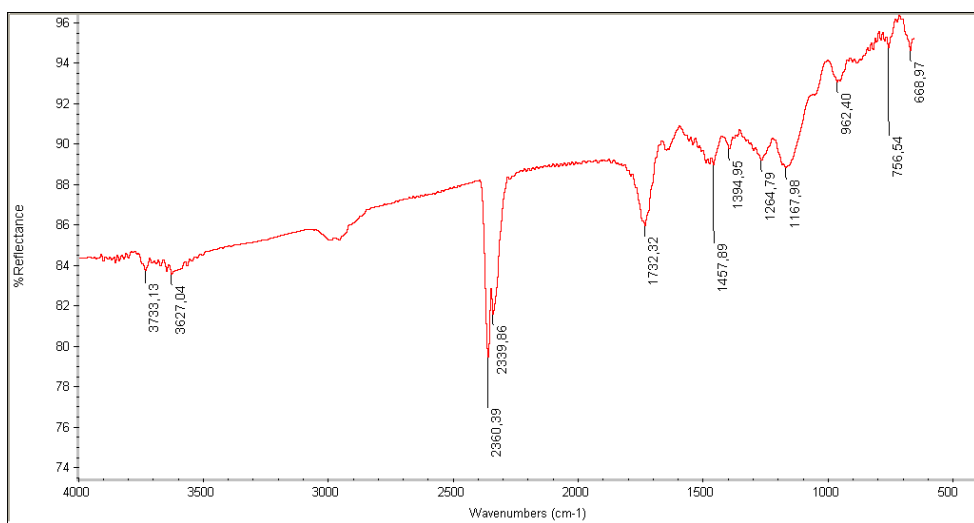
اساس قالب گیری مولکولی شامل سه مرحله است:

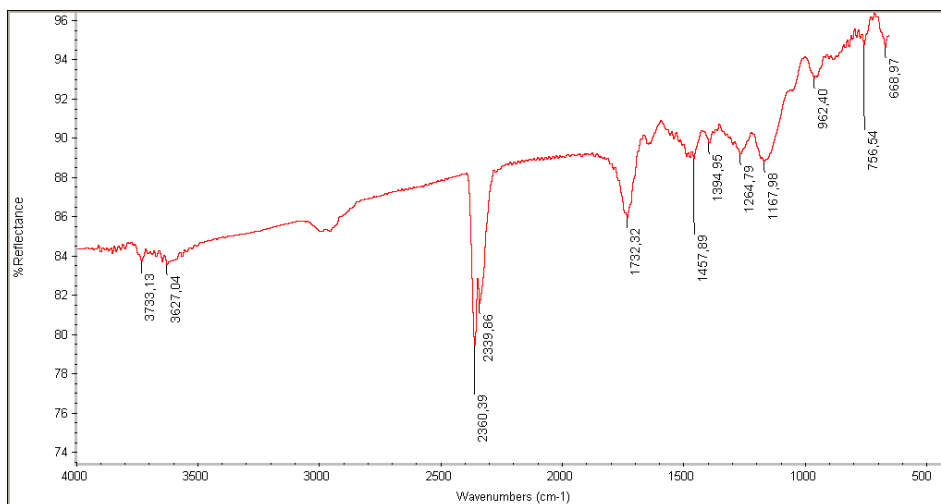
- (۱) تشکیل پلیمر اولیه به صورت کمپلکس بین مولکول الگو و مونومرهای عاملی
- (۲) پلیمریزاسیون کمپلکس اولیه " مونومر-مولکول الگو " در حضور عامل اتصال دهنده

عرضی

۳) استخراج مولکول الگو از ماتریکس پلیمر

۳-۱-۴. طیفهای FT-IR از پلیمر MIP و NIP





شکل (۴-۵) طیف FT-IR از (a) NIP ، (b) MIP ، در محدوده $400-4000 \text{ cm}^{-1}$ در بررسی طیف مادون قرمز این پلیمرها، مشاهده شد که هر دو پلیمر طیف های IR یکسانی دارند که نشان دهنده شباهت در ساختار پایه ای آنهاست. در طیف IR، جذب های سطحی به خاطر کشش OH کربوکسیل در (3500 cm^{-1}) ، کشش گروه کربونیل در (1730 cm^{-1}) ، کشش (C-O) (1260 cm^{-1}) و ارتعاشات (C-H) ($2959-1460$) - ($1390-756$) مشاهده شدند. علاوه بر نتیجه گیری در مورد یکسان بودن ساختار پایه ای هر دو آنها، یک نتیجه مهم از طیف ها حاصل شد که جذب نسبت داده شده به کشش C-H گروه متیلن ($2989,15 \text{ cm}^{-1}$) ، کشش گروه کربونیل (1731 cm^{-1}) ، کشش C-O (1245 cm^{-1}) و ارتعاشات خمشی C-H در CH_2 (1460 cm^{-1}) برای پلیمر قالب مولکولی، تقریباً قویتر از جذب های مربوط به پلیمر ناظر است. تقویت شدن فرکانس جذبی گروه کربونیل در پلیمر قالب مولکولی نشان دهنده افزایش میزان مشارکت گروه های C=O

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری ۱۲۵

مربوط به اتیلن گلیکول دی متاکریلات می باشد. زیرا حضور فوران سبب ایجاد فاصله بین زنجیرهای پلیمر می شود و بنابراین برای اتصالات عرضی بین این زنجیرها باید تعداد مولکول های اتیلن گلیکول دی متاکریلات بیشتری به کار رود. در نتیجه این مشارکت بیشتر عامل شبکه ساز، ارتعاشات کششی ذکر شده نیز در MIP نسبت به NIP بیشتر شده است.

۲-۴. بهینه سازی شرایط جذب فوران توسط پلیمر قالب مولکولی

۲-۴-۱ اثر نمک بر جذب فوران

روش SPME بر روی مقادیر مختلف نمک طعام انجام شد. بازده استخراج مربوط به مقدار استخراج شده فوران در برابر غلظت نمک طعام است. راندمان استخراج تا سطح ۵ درصد (W / V) افزایش یافته است. از نظر تئوری دو اثر مخالف بر روی راندمان استخراج تاثیر دارند.

(۱) افزایش اثر Salting out، که به طور معمول به نفع روش استخراج است.

(۲) افزایش رقابت یونی بین سدیم و فوران برای ایجاد تعامل یونی.

اثر دوم یک عامل نامطلوب است و می تواند کاهش راندمان استخراج بشود. نتایج تجربی در این تحقیق ثابت کرد که مورد اول اثر غالب است.

با توجه به آزمایش (۳-۴-۲) در رابطه با درصد نمک لازم برای جذب فوران توسط پلیمر و ترسیم نمودار جذب نسبت به نمک مشخص شد که نمک اثر منفی بر جذب پلیمر داشته است.

نمک	درصد استخراج فوران
-----	--------------------

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری ۱۲۷

۳۳,۰۴	%۲
۲۵,۱۵	%۳
۲۱,۷۷	%۴
۱۲,۱۵	%۵
۱۵,۷۶	%۶

جدول (۴-۱). درصد استخراج فوران بر اساس نمک

۴-۲-۲. اثر زمان بر جذب فوران

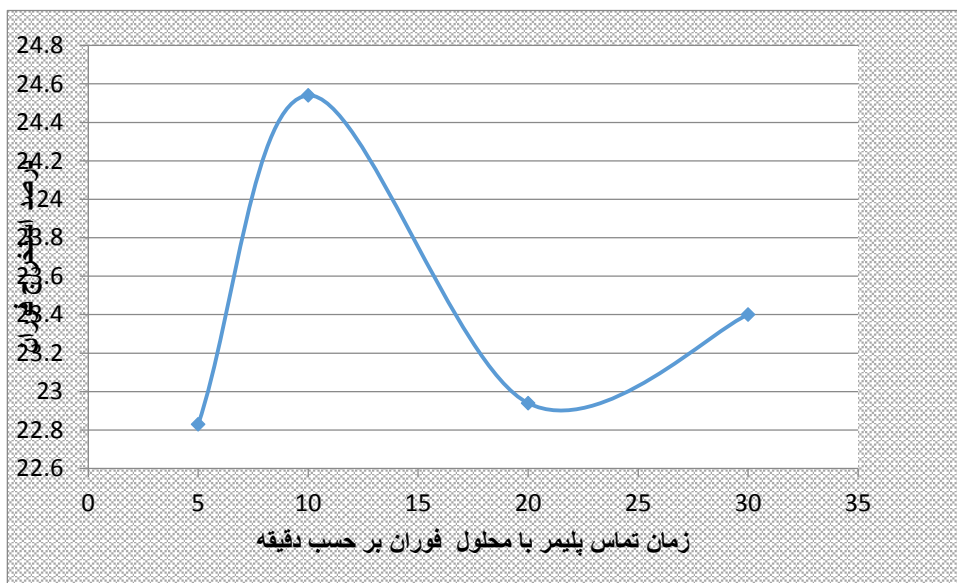
با توجه به آزمایش (۳-۴-۳) در رابطه با بهینه سازی زمان جذب پلیمر و ترسیم نمودار جذب نسبت به زمان مشخص شد که زمان ۱۰ دقیقه لازم است تا عمل استخراج فوران دارای حداکثر راندمان باشد پس از گذشت این مدت تعادلی بین غلظت فوران در محلول و پلیمر حاصل می شود.

زمان تماس پلیمر با محلول فوران بر حسب دقیقه	درصد استخراج فوران
--	--------------------

بیوشیمی متابولیسم

۲۲,۸۳	۵
۲۴,۵۴	۱۰
۲۲,۹۴	۲۰
۲۳,۴۰	۳۰

جدول (۲-۴). درصد استخراج فوران بر اساس زمان



منحنی (۲-۴). درصد استخراج فوران بر اساس زمان

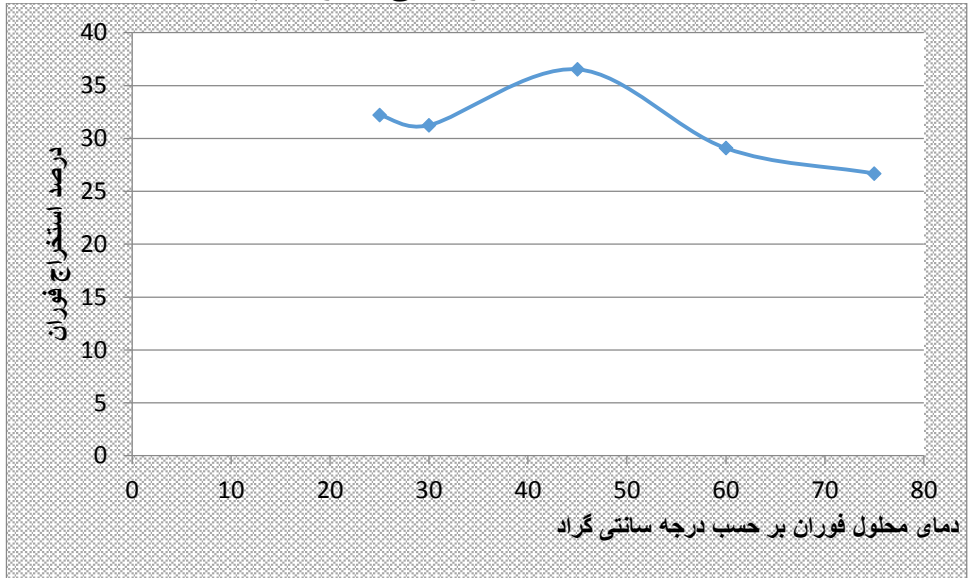
۴-۲-۳ اثر دما بر جذب فوران

با توجه به آزمایش (۳-۴-۵) در رابطه با بهینه سازی دمای جذب پلیمر و ترسیم نمودار جذب نسبت به دما مشخص شد که در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد عمل استخراج فوران دارای حداکثر راندمان باشد

درصد استخراج فوران	دما
۳۲,۱۲	۲۵
۳۱,۲۵	۳۰
۳۶,۵۳	۴۵
۲۹,۰۸	۶۰
۲۶,۶۸	۷۵

جدول (۴-۳). میزان استخراج پلیمر در گستره دما

بیوشیمی متابولیسم



منحنی (۳-۴). درصد استخراج فوران بر اساس دما

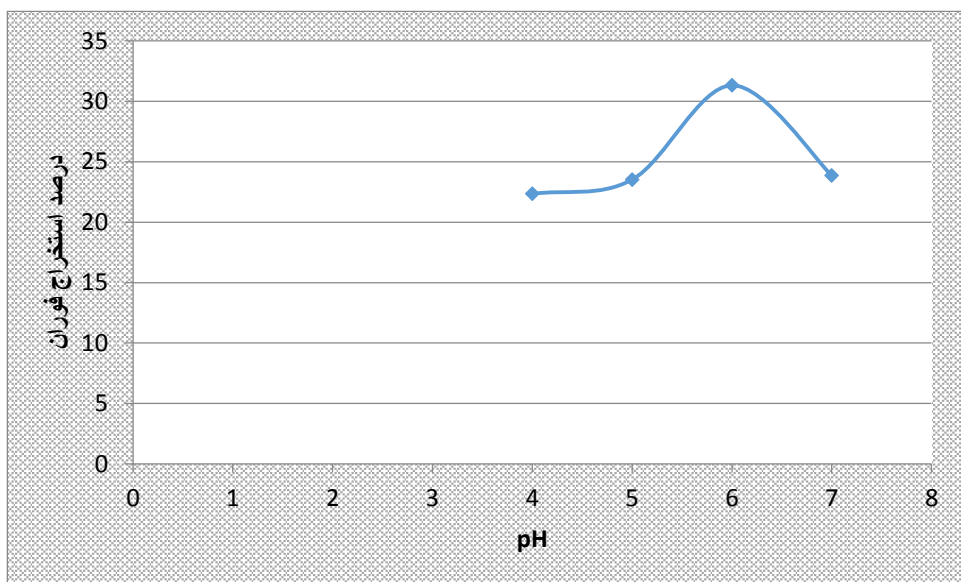
۴-۲-۴. اثر pH محلول بر جذب پلیمر

نتایج بدست آمده از آزمایش (۳-۴-۴) نشان داد که جذب پلیمر در بازه pH (۴-۷) متغیر بوده وابستگی زیادی بین درصد جذب و pH وجود دارد همچنین با رسم نمودار جذب نسبت به pH مشخص شد که بالاترین جذب در $pH=6$ می باشد.

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری ۱۳۱

درصد استخراج	pH محلول فوران
۲۲,۳۴	۴
۲۳,۵۲	۵
۳۱,۳۲	۶
۲۳,۸۷	۷

جدول (۴-۴). میزان استخراج پلیمر در گستره pH= ۴-۷

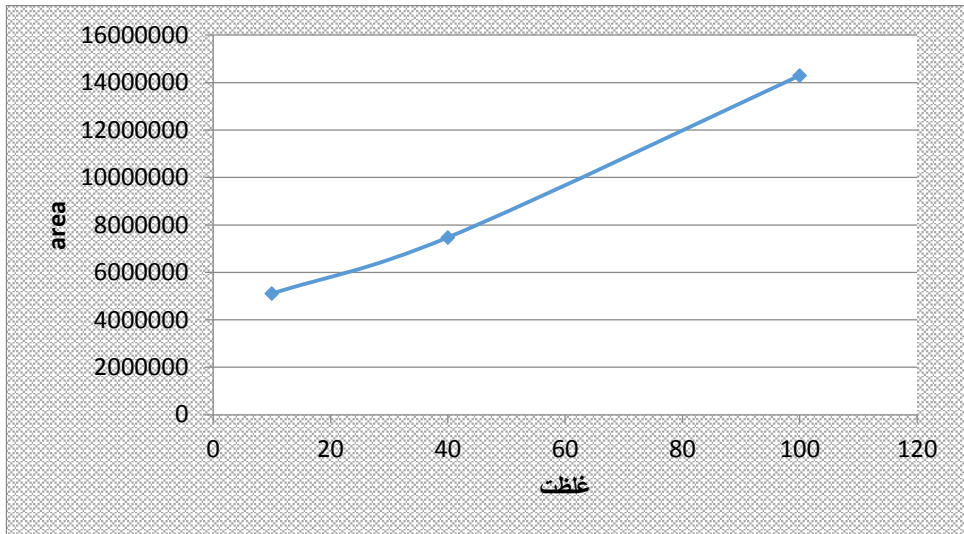


منحنی (۴-۴). درصد استخراج فوران بر حسب pH

۴-۲-۵ شناسایی فوران توسط دستگاه GC

Area	غلظت فوران (ppm)
۵۱۰۵۷۷۲	۱۰
۷۴۷۴۲۰۳	۴۰
۱۴۲۹۹۹۵۱	۱۰۰

جدول (۴-۵) داده های دستگاه GC برای فوران



منحنی (۴-۵) سطح زیر پیک فوران در غلظت های مختلف

در طیف ۱۰ ppm مشاهده می کنیم پیک فوران در ۹,۴ ظاهر شده است. برای اثبات اینکه

این پیک مربوط به فوران است غلظت را ۲ برابر می کنیم، پیک نیز باید بیشتر شود.

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری ۱۳۳

مشاهده می کنیم که در همان ۹,۴ با ۲ برابر شدن غلظت پیک نیز بیشتر شده است

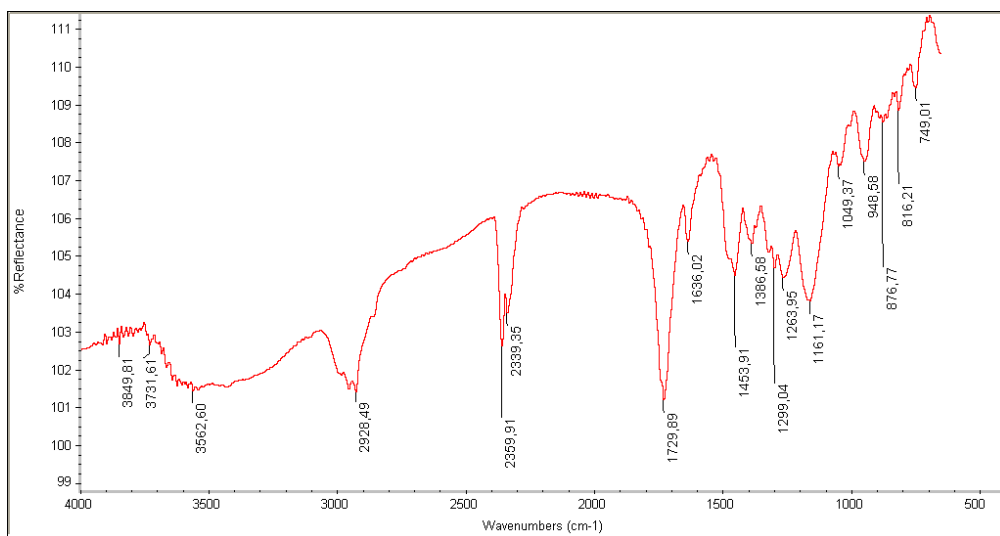
بنابراین این پیک مربوط به فوران است.

میکرواستخراج فاز جامد یک تکنیک ساده در مقیاس میکرو می باشد که در آن از یک سرنگ اصلاح شده استفاده می شود. مزیتی که این روش دارد عبارت است از اینکه آنالیت‌ها در فاز جامد جمع شده و می توان آنها را درون یک دستگاه کروماتوگرافی برای آنالیز تزریق کرد. این روش استخراج با استفاده از مقدار خیلی کم آنالیت طی جذب به داخل فایبر پوشانده شده با سیلیکا انجام می شود سپس فایبر را می توان به کوره ی گرم یک کروماتوگرافی تزریق کرد که آنالیت در اثر حرارت واجذب می شود. که مقدار مواد مصرفی در آن کمتر بوده و از نظر اقتصادی به صرفه تر بوده و دقیق تر می باشد. شرایط مختلف آزمایش برای مثال، نوع حلال شوینده، درصد نمک، دما، تأثیر pH، مدت زمان جذب و غلظت نمونه مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. از آنجائیکه پلیمر قالب مولکولی تهیه شده باید جهت استخراج از محلول های آبی بکاربرده شود در نتیجه بررسی های ما نیز در محلول - های آبی انجام گرفت و آنالیت بر روی MIP و NIP جذب سطحی شد. انتخاب گری MIP از NIP بیشتر بود که نشانه قالب گیری و وجود حفرها خاص در MIP است.

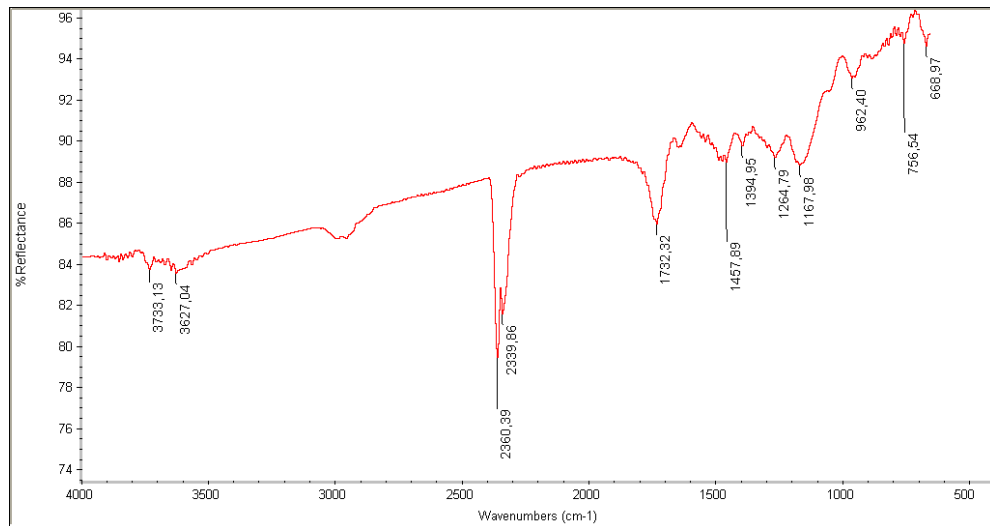
بررسی های انجام شده نشان داد که بالاترین در صد استخراج پس از گذشت ۱۰ دقیقه حاصل می شود با افزایش زمان تغییر محسوسی در غلظت تعادلی بین پلیمر و محلول بوجود نمی آید. از پارامترهای مهم در جذب pH است. با توجه به ساختمان و خواص مولکول هدف pH محیط بر ساختار آن تأثیر می گذارد. $pH=6$ باعث افزایش جذب می شود. از دیگر پارامترها می توان به نمک اشاره کرد که بر روی سرعت و میزان جذب اثر منفی دارد. دما

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری ۱۳۵

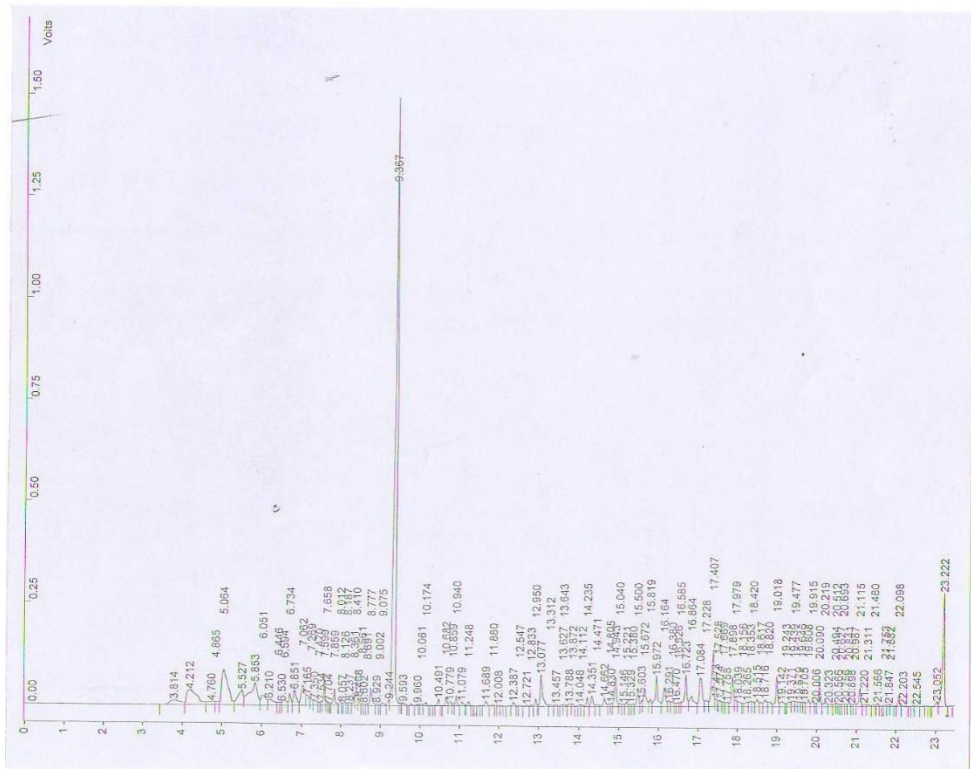
نیز بر میزان جذب پلیمر تاثیر می گذارد. دمای ۴۵ دارای بیشترین جذب فوران در پلیمر می باشد.



طیف FT-IR از NIP، در محدوده $400-4000 \text{ cm}^{-1}$ به روش قرص KBr



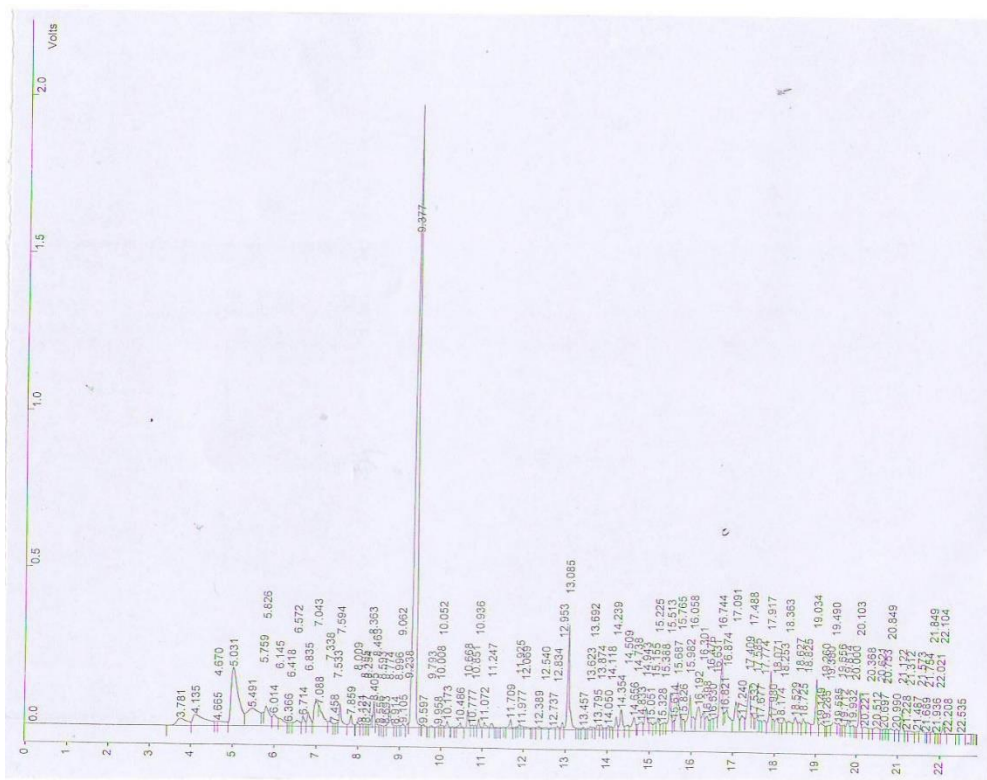
طیف FT-IR از MIP، در محدوده 400-4000 cm⁻¹ به روش قرص KBr



طیف GC برای محلول ۱۰ ppm فوران .

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری ۱۳۹

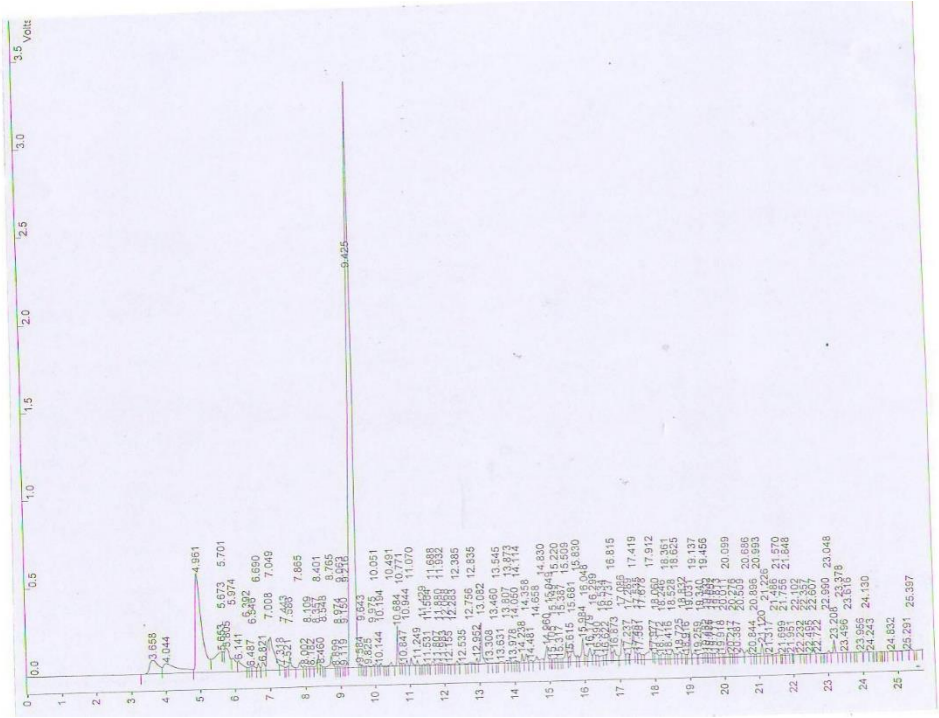
پیوست ۴



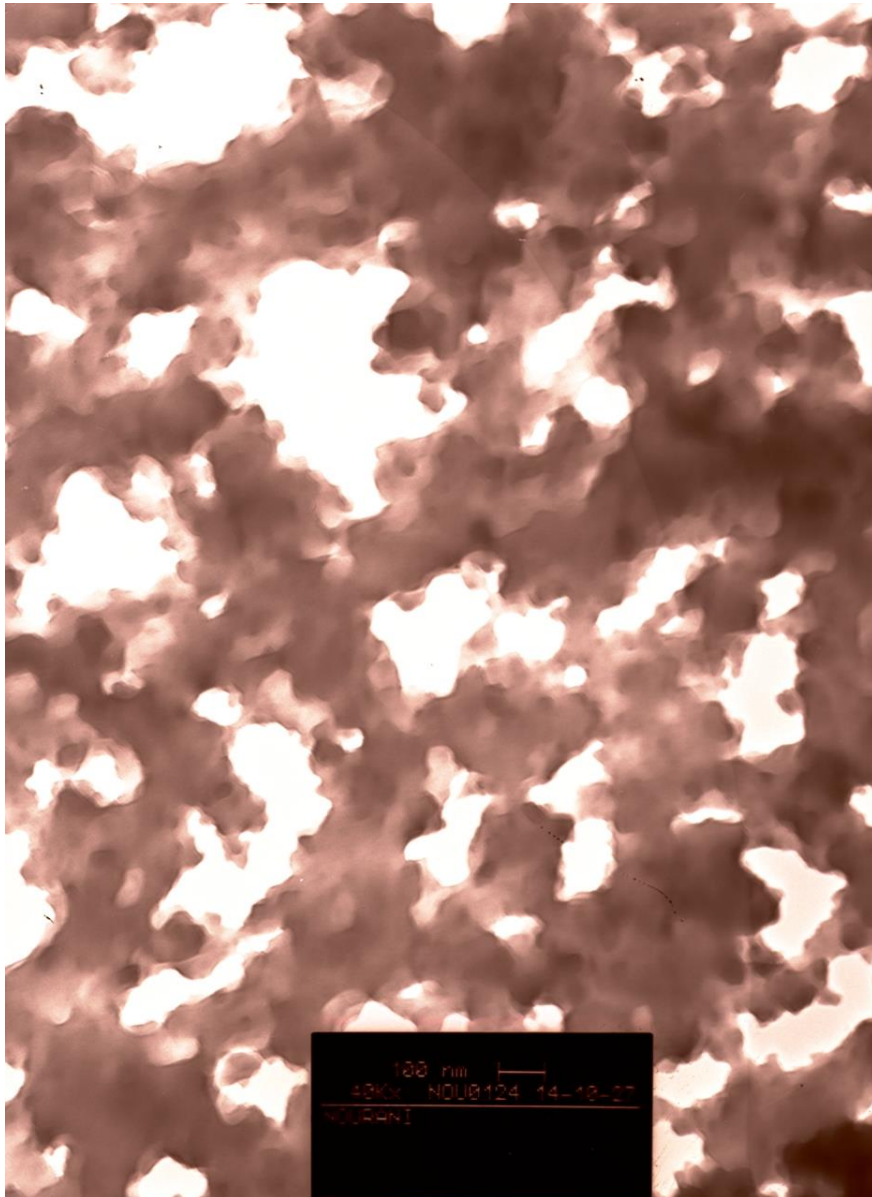
طیف GC برای محلول ۴۰ ppm فوران

پیوست ۵

بیوشیمی متابولیسم

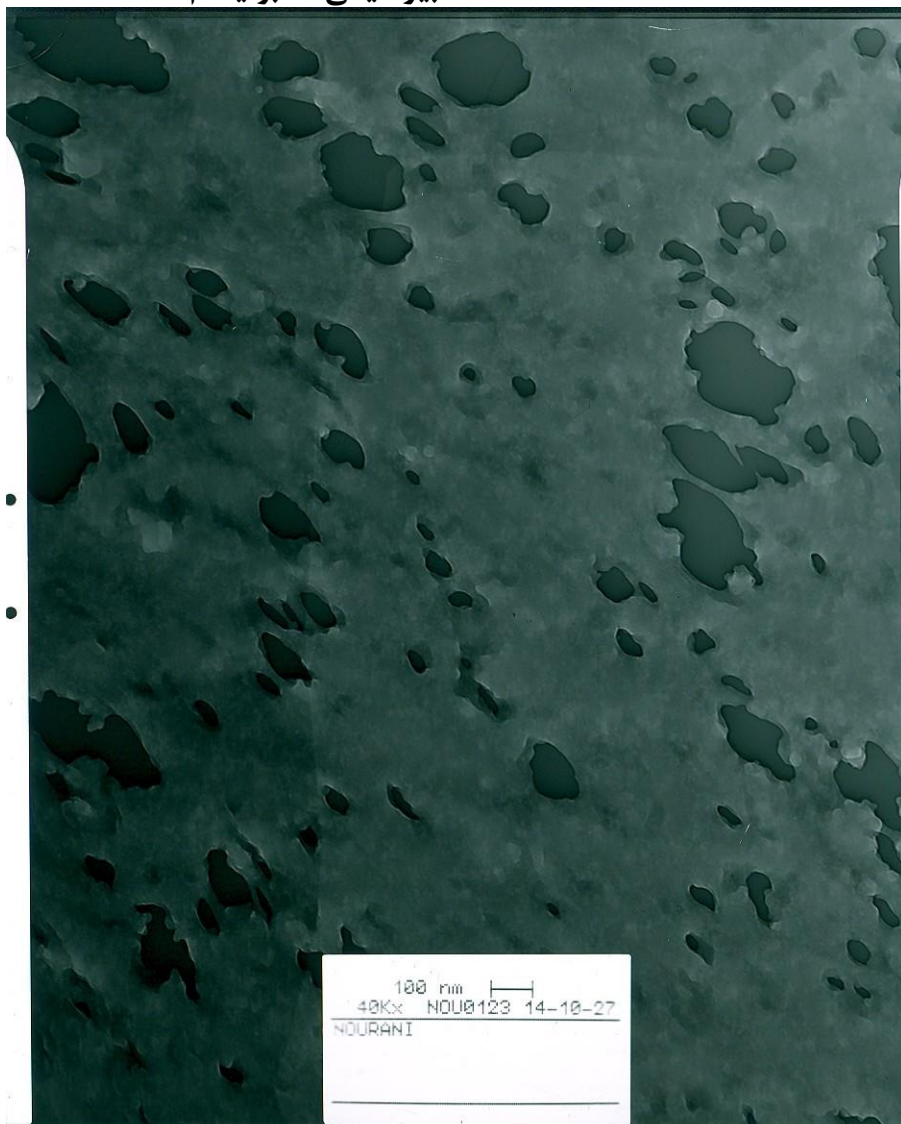


طیف GC برای محلول ۱۰۰ ppm فوران



تصویر TEM از نمونه NIP

پیوست ۷



تصویر TEM از MIP

- 1: Ho, I-Pin; Yoo, Seong-Jae; Tefera, Sebhat(2005).
Determination of Furan Levels in Coffee Using Automated Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Journal of AOAC International
- 2: Jeffry B. Plomley; Mila Laušević and Raymond E. March.(2000)
Determination of dioxins/furans and PCBs by quadrupole ion-trap gas chromatography–mass spectrometry Mass Spectrometry Reviews
- 3: M.S. Altaki, F.J. Santos, M.T. Galceran(2007) Analysis of furan in foods by headspace solid-phase microextraction–gas chromatography–ion trap mass spectrometry. Journal of Chromatography A
- 4: Till Goldmann,*a Adrienne Périsset,a Francis Scanlana and Richard H. Stadlerb . (2005) Rapid determination of furan in heated foodstuffs by isotope dilution solid phase micro-extraction-gas chromatography – mass spectrometry (SPME-GC-MS). Analyst
- 5: E.E Renniea,C.A.F Johnsona, J.E Parkera, D.M.P Hollandb, (1998).
A study of the spectroscopic and thermodynamic properties of furan by means of photoabsorption, photoelectron and photoion spectroscopy. Chemical Physics
- 6: Federica Bianchi, Maria Careri, Alessandro Mangia, Marilena Musci ,(2005). Development and validation of a solid phase micro-extraction–gas chromatography–mass spectrometry method for the determination of furan in baby-food. Journal of Chromatography A

- 7: Nyman, Patricia J; Morehouse, Kim M; McNeal, Timothy P; Perfetti, Gracia A; Diachenko, Gregory W(2006). Single-Laboratory Validation of a Method for the Determination of Furan in Foods by Using Static Headspace Sampling and Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Journal of AOAC International
- 8: Marika Jestoia Talvikki Järvinen, Eila Järvenpääb, Heli Tapanainenc, Suvi Virtanenc Kimmo Peltonena,(2009). Furan in the baby-food samples purchased from the Finnish markets – Determination with SPME–GC–MS. Food Chemistry
- 9: Shin-Hwa Tzinga,Wang-Hsien Dingb.(2010). Determination of melamine and cyanuric acid in powdered milk using injection-port derivatization and gas chromatography–tandem mass spectrometry with furan chemical ionization. Journal of Chromatography A
- 10: M.S. Altaki, F.J. Santos, M.T. Galceran.(2009). Automated headspace solid-phase microextraction versus headspace for the analysis of furan in foods by gas chromatography–mass spectrometry. Talanta
- 11: Begoña Fabrellasa, Paloma Sanza , Esteban Abadb , Josep Riverab, David Larrazábala.(2004) Analysis of dioxins and furans in environmental samples by GC-ion-trap MS/MS. Chemosphere
- 12: J.A. van Rhijn, W.A. Traag , P.F. van de Spreng , L.G.M.Th. Tuinstra(1993). Simultaneous determination of planar chlorobiphenyls and polychlorinated dibenzo-p-dioxins and -furans in Dutch milk using

isotope dilution and gas chromatography—high-resolution mass spectrometry. : Journal of Chromatography A

13: V. A. Yaylayan.(2006). Precursors, Formation and Determination of Furan in Food. Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit

14: Kim M. Morehouse*, Patricia J. Nymana, Timothy P. McNeala, Michael J. DiNovia & Gracia A. Perfettia(2007). Survey of furan in heat processed foods by headspace gas chromatography/mass spectrometry and estimated adult exposure. Food Additives & Contaminants: Part A

15: Douglas G. Hayward ,*† Kim Hooper ,‡ and Denis Andrzejewski,(1998). Tandem-in-Time Mass Spectrometry Method for the Sub-Parts-per-Trillion Determination of 2,3,7,8-Chlorine-Substituted Dibenzo-p-dioxins and -furans in High-Fat Foods.Analytical chemistry

16: Marie-Louise Scippo, Gauthier Eppe, Edwin De Pauw, Guy Maghuin-Rogister(2004) DR-CALUX® screening of food samples: evaluation of the quantitative approach to measure dioxin, furans and dioxin-like PCBs. Talanta

17: S. Hasnipa*, C. Crewsa & L. Castlea(2007) Some factors affecting the formation of furan in heated foods. Food Additives & Contaminants

- 18: Becalski, Adam; Seaman, Stephen(2005). Furan Precursors in Food: A Model Study and Development of a Simple Headspace Method for Determination of Furan. Journal of AOAC International
- 19: C. Crews* and L. Castle(2007) A review of the occurrence, formation and analysis of furan in heat-processed foods. Trends in Food Science & Technology
- 20- Wang, H. Y., et al. (2006). "Syntheses of molecularly imprinted polymers and their molecular recognition study for benzotriazole." Reactive and Functional Polymers 66(10): 1081-1086.
- 21- Liu, Z., et al. (1999). "Experimental studies on affinity chromatography in an electric field." Journal of Chromatography A .852(1): 319-324
- 22- Huse, K., et al. (2002). "Purification of antibodies by affinity chromatography." Journal of biochemical and biophysical methods 51(3): 217-231.
- 23- Stevenson, D. (1999). "Molecular imprinted polymers for solid-phase extraction." TrAC Trends in Analytical Chemistry 18(3): 154-158.
- 24- Alizadeh, T. (2010). "Preparation of molecularly imprinted polymer containing selective cavities for urea molecule and its application for urea extraction." Analytica Chimica Acta 669(1): 94-101.

- 25- Nicholls, I. A., et al. (2009). "Theoretical and computational strategies for rational molecularly imprinted polymer design." Biosensors and Bioelectronics 25(3): 543-552.
- 26- Turiel, E. and A. Martín-Esteban (2010). "Molecularly imprinted polymers for sample preparation: A review." Analytica Chimica Acta 668(2): 87-99.
- 27- Moreira, F., et al. (2012). "Host-Tailored Sensors for Leucomalachite Green Potentiometric Measurements." Journal of Chemistry 2013.
- 28- Balamurugan, K., et al. (2012). "Preparation and evaluation of molecularly imprinted polymer liquid chromatography column for the separation of Cathine enantiomers." Saudi Pharmaceutical Journal 20(1): 53-61.
- 29- Liu, W., et al. (2007). "A cloud point extraction approach using Triton X-100 for the separation and preconcentration of Sudan dyes in chilli powder." Analytica Chimica Acta 605(1): 41-45.
- 30- Mester, Z. and R. Sturgeon (2005). "Trace element speciation using solid phase microextraction." Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy 60(9): 1243-1269.
- 31- Guilherme Dias Rodrigues , Maria do Carmo Hespanhol da Silva , Fernanda Ju´rgensen Paggioli, Luis Luis Henrique Mendes da Silva, Antonio Minim, Jane Se´lia dos Reis Coimbra Liquid-liquid extraction

of metal ions without use of organic solvent, *Separation and Purification Technology* 62 (2008) 687–693.

32- Later, D. W., et al. (2008). "CUSTODION ™ SPME Syringe for Rapid Sample Collection and Sample Preparation of Drinking Water for the GC– MS Determination of Trihalomethanes

33- DeBruin, L. S., et al. (1998). "Solid-phase microextraction of monocyclic aromatic amines from biological fluids." *Analytical chemistry* 70(9): 1986-1992

34- Poon, K.-F., et al. (1999). "Determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in human blood serum by proteolytic digestion—direct immersion SPME." *Analytica chimica acta* 396(2): 303-308

35- F. Sporkert FP. Use of headspace solid-phase microextraction(HS-SPME) in hair analysis for organic compounds. *Forensic Science International* 107 2000:129–48.

36- Kataoka, H., et al. (2000). "Applications of solid-phase microextraction in food analysis." *Journal of Chromatography A* 880(1): 35-62

37- K.G. Furton, J.R. Almirall, M. Bi, J. Wang, L. Wu, *J. Chromatogr. A* 885 (2000) 419

38- Psillakis E, DM, Nicolas Kalogerakis. Monitoring the sonochemical degradation of phthalate esters in water using solid-phase microextraction. *Chemosphere* 54. 2004:849–57. Methamphetamine. *Chromatographia*. 2004:73:975–83.

- 39- Dj. Djozan, Y. Assadi, *Chromatographia* 60 (2004) 313
- 40- F.G. Tamayo ET, A. Mart'ın-Esteban, *. Molecularly imprinted polymers for solid-phase extraction and solid-phase microextraction: Recent developments and future trends. *Journal of Chromatography A*, 1152. 2007:32–40
- 41- Demeestere, K., et al. (2007). "Sample preparation for the analysis of volatile organic ١٤٤-١٣٠ :(compounds in air and water matrices." *Journal of Chromatography A* 1153(1
- 42- Djozan D, TB. Preparation and evaluation of solid-phase microextraction fibers based on monolithic molecularly imprinted polymers for selective extraction of diacetylmorphine and analogous compounds. *Journal of Chromatography A*, 1166. 2007:16–23.
- 43- Aguinaga, N., et al. (2007). "Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons milk and related products using solid-phase microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry." *Analytica chimica acta* 596(2): 285-290
- 44- Natalia Campillo RPN, Manuel Hern´andez-C´ordoba. Solid-phase microextraction combined with gas chromatography and atomic emission detection for the determination of cyclopentadienylmanganese tricarbonyl and methylcyclopentadienyl)manganese tricarbonyl in soils and seawaters. *Journal of Chromatography A*, ١١٧٣. ٢٠٠٧:١٣٩–٤٥
- 45- Ducki S, a, JM-G, a, AZe, a b, et al. Evaluation of solid-phase micro-extraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry

for the headspace analysis of volatile compounds in cocoa products. *Talanta* 74. 2008:1166–74.

46-Djozan, D. and B. Ebrahimi (2008). "Preparation of new solid phase micro extraction fiber on the basis of atrazine-molecular imprinted GC and GC/MS screening of triazine polymer: Application for herbicides in water, rice and onion." *Analytica chimica acta* 616(2): 152-159

47- Pecoraino, G., et al. (2008). "Distribution of volatile organic compounds in Sicilian groundwaters analysed by head space-solid phase micro extraction coupled with gas chromatography mass spectrometry) SPME/GC/MS)." *Water research* 42(14): 3563-3577

48- Djozan, D., et al. (2009). "Preparation and binding study of solid-phase microextraction fiber on the basis of ametryn-imprinted polymer: application to the selective extraction of persistent triazine herbicides in tap water, rice, maize and onion." *Journal of Chromatography A* 1216(12): 2211-2219

49- G.A. Zachariadis a, b, *, ER. Determination of butyl- and phenyltin compounds in human urine by HS-SPME after derivatization with tetraethylborate and subsequent determination by capillary GC with microwave-induced plasma atomic emission and mass spectrometric detection. *Talanta* 78. 2009:570–6

50- Nicolle J, a b, VD, a, PM, b, et al. Optimization of FLEC®-SPME for field passive sampling of VOCs emitted from solid building materials. *Talanta* ۸۰. ۲۰۰۹:۷۳۰–۷

- 51- He, J., et al. (2010). "Preparation and evaluation of molecularly imprinted solid-phase micro-extraction fibers for selective extraction of phthalates in an aqueous sample." *Analytica chimica acta* 674(1): 53-58
- 52- Filho AM, a b, FNdS, a, PAdPP, a c, d., et al. 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* ۹۶. ۲۰۱۰:۱۳۹-۴۵
- 53- Qiu L, a, WL, a, MH, b, et al. Preparation and application of solid-phase microextraction fiber based on molecularly imprinted polymer for determination of anabolic steroids in complicated samples. *Journal of Chromatography A*,1217. 2010:7461-70.
- 54- Rebière L, a, ACC, a, LMS, a, et al. A robust method for quantification of volatile compounds within and between vintages using headspace-solid-phase micro-extraction coupled with GC-MS – Application on Semillon wines. *Analytica Chimica Acta*660. 2010:149-57.
- 55- Prasad BB, MPT, Rashmi Madhuri, Piyush Sindhu Sharma. Development of a highly sensitive and selective hyphenated technique(molecularly imprinted micro-solid phase extraction fiber-molecularly imprinted polymer fiber sensor) for ultratrace analysis of folic acid. *Analytica Chimica Acta*662. 2010:14-22.
- 56- Djozan, D., et al. (2011). "Synthesis and application of high selective monolithic fibers based on molecularly imprinted polymer

for SPME of trace methamphetamine." Chromatographia 73(9-10): 975-983

57- Jia, F., et al. (2012). "Using disposable solid-phase microextraction (SPME) to determine the freely dissolved concentration of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in sediments." Environmental Pollution 167: 34-40

58- Natalia Campillo PVa, Rosa Pen˜alver, Juan I. Cacho, Manuel Hern´andez-Co´rdoba*. Solid-phase microextraction followed by gas chromatography for the speciation of organotin compounds in honey and wine samples: A comparison of atomic emission and mass spectrometry detectors. Journal of Food Composition and Analysis 25 2012:66–73.

59- Mousa, A., et al. (2013). "Application of electro-enhanced solid-phase microextraction for determination of phthalate esters and bisphenol A in blood and seawater samples." Talanta