

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده شیمی

گروه شیمی تجزیه

پایان نامه دکتری

**کاربرد میکرو استخراج با فاز جامد پر شده در سرنگ برای
پیش تغلیظ، جداسازی و اندازه گیری آفت کش های آلی در
نمونه های محیطی با GC/MS**

نگارنده: عبدالله طاقانی

اساتید راهنما:

دکتر ناصر گودرزی

استاد مشاور:

دکتر قدمعلی باقریان

شهریور ۱۳۹۷

تقدیم بہ

ہمسرمہربانم و

دو دلبندم:

ایانا و آمی دنیز

تشکر و قدردانی

اکنون که در سایه لطف و عنایت پروردگار مهربانم توانستم مرحله دیگری از تحصیلات را به پایان برسانم به رسم ادب و سنت حنہ سپاس، لازم میدانم از تمام کسانی که مراد این مسیریاری نمودند، تشکر و قدردانی نمایم.

با سپاس فراوان از استاد فرزانه ام جناب آقای دکتر ناصر کوردزی، که زحمت راهنمایی این رساله را بر عهده داشتند و همواره از راهنمایی ها و نظرات ارزشمند ایشان بهره مند گشتم.

با قدردانی از استاد بزرگوار، جناب آقای دکتر قدح علی باقریان دهمتی، که مشاوره این رساله را پذیرفتند و در مسیر پیشبرد آن بی دریغ مساعدت نمودند.

باتشکر از استاد گرانقدر، جناب آقای دکتر منصور عرب چم جیجلی، که از راهنمایی های ارزنده ایشان در طی دوران تحصیلی و انجام این رساله بهره گرفتم.

با سپاس فراوان و قدردانی از جناب آقای دکتر بهرامیان و سرکار خانم دکتر مصدر الامور ممتحنین داخلی و جناب آقای دکتر علیرضا اصغری ممتحن خارجی و عضو محترم هیات علمی دانشگاه سمنان،

که زحمت داوری و مطالعه رساله را با سه صدر پذیرفته اند و با ارائه پیشنهادات و نظرات ارزنده جهت بهبود آن یاری رسانند.

بانشکر از جناب آقای دکتر باخرد که در سمت نماینده تحصیلات تکمیلی زحمت مدیریت جلسه دفاع از رساله اینجانب را بر عهده داشتند.

با سپاس فراوان از خانواده گرامی و همسر مهربانم که همیشه دیون لطف ایشان هستم.

با سپاس فراوان از جناب آقای دکتر مهدی شکیبافریدر عامل محترم شرکت آب و فاضلاب روستایی استان گلستان و جناب آقای مهندس علیرضا خواستار، مدیر عامل سابق آن شرکت، که با در اختیار قرار دادن تجهیزات آزمایشگاه در راه علم و دانش، اینجانب را در به ثمر رساندن این رساله یاری نمودند.

بانشکر از سرکار خانم فاطمه سادات حجازی نژاد، مدیر محترم اداره کنترل کیفیت شرکت آب و فاضلاب روستایی استان گلستان و جناب آقایان مهندس مهندس بهزاد هرمزی و مسلم محمدی، معاونین محترم شرکت، که فرصت انجام رساله را برای اینجانب فراهم نمودند.

با سپاس فراوان از بهکار گرامی سرکار خانم فاطمه سادات ابطحی و تمامی بهکاران در آزمایشگاه کنترل کیفی شرکت آبفای گلستان و با سپاس از دوستان گرامی آقایان ابوالقاسم صفی نژاد و حسن دانشی نژاد از

دانشجویان دکترای شیمی تجزیه دانشگاه شاهرود و کلیه اساتید و دانشجویان محترم و کارمندان زحماتش
دانشگاه شیمی، کمال تشکر دارم.

تعمد نامه

اینجانب عبدالله طاقانی دانشجوی دوره دکتری رشته شیمی تجزیه دانشکده شیمی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده رساله کاربرد میکرو استخراج با فاز جامد پر شده در سرنگ برای پیش تغلیظ، جداسازی و اندازه گیری آفت کش های آلی در نمونه های محیطی با GC/MS تحت راهنمایی دکتر ناصر گودرزی و مشاوره دکتر قدمعلی باقریان متعهد می شوم:

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است، اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است.

امضای دانشجو: عبدالله طاقانی

تاریخ

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه‌های رایانه‌ای، نرم‌افزارها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می‌باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود .
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

چکیده

در قسمت اول، یک تکنیک ساده، ارزان و سریع براساس روش میکرو استخراج با فاز جامد پر شده در میکرو سرنگ (MEPS) معرفی شد. این تکنیک همراه با GC-MS برای پیش تغلیظ و اندازه گیری ترکیبات کلردار در نمونه های آبی بکار گرفته شد. مقدار ۶/۰ میلی گرم از جاذب نانو لوله کربنی چند دیواره استفاده شد. آنالیت های جذب شده با ۱۰۰/۰ میکرولیتر حلال آلی متیل ایزو بوتیل کتون واجذب گردید. یک میکرولیتر از نمونه پیش تغلیظ شده به دستگاه GC-MS تزریق شد. پارامترهای موثر در استخراج شامل pH نمونه، نوع بافر، نوع و حجم حلال آلی، مقدار جاذب، تعداد دفعات نمونه گیری بررسی شد. فاکتور تغلیظ در گستره ۱۲ الی ۲۶، گستره غلظتی کالیبراسیون و حد تشخیص به ترتیب در محدوده ۰/۳-۳۰ و ۰/۲-۰/۰۸ میکروگرم بر لیتر بدست آمد. دقت روش بین ۸/۵-۱/۹٪ و صحت آن در گستره ۱۰۷-۸۷٪ محاسبه شد. درصد بازیابی روش در نمونه آبی ۱۱۰-۹۲٪ بدست آمد. در قسمت دوم، مقدار ۶/۰ میلی گرم از جاذب نانو دیاتومیت برای پیش تغلیظ بکار گرفته شد. آنالیت های جذب شده با ۱۰۰/۰ میکرولیتر حلال آلی دی کلرومتان واجذب گردید. در شرایط بهینه، مقدار فاکتور تغلیظ ۳۱ الی ۴۵، گستره غلظت و حد تشخیص به ترتیب در محدوده ۰/۶-۴۰/۰ و ۰/۲۵-۰/۰۸ میکروگرم بر لیتر بدست آمد. دقت و صحت به ترتیب در محدوده ۱۲/۱-۳/۵٪ و ۱۰۸-۹۴٪ محاسبه شد. درصد بازیابی روش در نمونه آبی در گستره ۱۱۰-۸۷٪ بدست آمد. در قسمت سوم، جاذب طبیعی نانو پرلیت برای پیش تغلیظ ترکیبات فسفردار استفاده شد. فاکتور تغلیظ ۱۱ الی ۲۵، گستره غلظتی کالیبراسیون در محدود ۰/۶-۳۰/۰ میکروگرم بر لیتر و حد تشخیص در گستره ۰/۷-۰/۳۸ میکروگرم بر لیتر بدست آمد. دقت روش در محدوده ۳/۵-۱/۹٪ و صحت آن در گستره ۱۰۴-۹۴٪ محاسبه شد. درصد بازیابی روش در نمونه آبی در گستره ۱۰۵-۸۲٪ بدست آمد. در قسمت چهارم، جاذب نانو دیاتومیت، برای پیش تغلیظ دو ترکیب فسفردار بکار گرفته شد. فاکتور تغلیظ ۴۲ الی ۵۰، گستره غلظتی کالیبراسیون و حد تشخیص در محدوده ۰/۶-۳۰/۰ و ۰/۷-۰/۱۳ میکروگرم بر لیتر بدست آمد. دقت روش در محدوده ۶/۱-۴/۳٪ و صحت آن در گستره ۱۰۲/۰-۹۷٪ محاسبه شد. درصد بازیابی روش در نمونه آبی در گستره ۱۰۶-۸۸٪ بدست آمد.

واژه های کلیدی: استخراج با فاز جامد پر شده در سرنگ، آفت کش ها، کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری جرمی،

نانو لوله کربنی، نانو دیاتومیت، نانو پرلیت، نمونه های محیطی، GC-MS

مقالاتی که از این رساله در مجلات ISI، علمی پژوهشی و همایش چاپ و یا ارائه شده است:

۱) A. Taghani, N. Goudarzi, and G. A. Bagherian, "Application of multi-walled carbon nanotubes for preconcentration and determination of organochlorine pesticides in water samples by gas chromatography with mass spectrometry", *Journal of Separation Science* ۳۹ (۲۰۱۶). ۴۲۱۹-۴۲۲۶.

۲) A. Taghani, N. Goudarzi, G. A. Bagherian, and M. Arab Chamjangali, "Determination of three organochlorine in aqueous samples by solid-phase extraction based on natural nano diatomite in packed syringe coupled to gas chromatography-mass spectrometry," *Analytical science*, October (۲۰۱۷), vol. ۳۳, pp. ۱۱۳۴-۱۱۴۰.

۳) A. Taghani, N. Goudarzi, G. A. Bagherian, M. A. Chamjangali and A. H. Amin, "Development the nano-perlite as a new natural solid sorbent in preconcentration of organophosphorous pesticides by microextraction in packed syringe coupled with GC-MS, *Journal of Separation Science*. ۲۰۱۸, ۴۱, ۲۲۴۵-۲۲۵۲. DOI: ۱۰,۱۰۰۲/jssc.۲۰۱۷.۱۲۷۶.

۴) عبدالله طاقانی، ناصر گودرزی، قدمعلی باقریان، شهریور ۱۳۹۶، پیش‌تغلیظ سموم هپتاکلر، آلدین و متولاکلر به روش میکرواستخراج با سرنگ پر شده با جاذب طبیعی نانو دیاتومیت و اندازه‌گیری به روش کروماتوگرافی گازی و اسپکترومتری جرمی در آب، هشتمین سمینار ملی شیمی و محیط زیست، دانشگاه خوارزمی کرج.

۵) عبدالله طاقانی، ناصر گودرزی، قدمعلی باقریان، منصور عرب چم جنگلی، شهریور ۱۳۹۶، کاربرد نانو دیاتومیت به عنوان جاذب طبیعی در پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری سموم آلی فسفردار به روش میکرواستخراج با سرنگ پر شده با جاذب به روش کروماتوگرافی گازی و اسپکترومتری جرمی - هشتمین سمینار ملی شیمی و محیط زیست، دانشگاه خوارزمی کرج.

فهرست مطالب، جداول و اشکال

عنوان

صفحه

فصل ۱

مقدمه و تئوری

۱-۱- مقدمه.....	۲
۲-۱- تاریخچه بکارگیری آفت کش ها.....	۳
۳-۱- طبقه بندی آفت کش ها.....	۴
۱-۳-۱- حشره کش های آلی کلردار.....	۴
۱-۱-۳-۱- لیندان.....	۵
۲-۱-۳-۱- هگزاکلو بنزن.....	۶
۳-۱-۳-۱- متوکسی کلر.....	۶
۴-۱-۳-۱- آلدین و هپتاکلر.....	۶
۲-۳-۱- حشره کش های آلی فسفردار.....	۷
۳-۳-۱- علف کش های تری آزین.....	۹
۴-۱- اهمیت اندازه گیری آفت کش ها.....	۹
۵-۱- مروری بر کارهای انجام شده در اندازه گیری ترکیبات آلی کلردار و فسفردار.....	۱۱
۶-۱- آماده سازی نمونه.....	۱۶
۷-۱- استخراج.....	۱۷
۸-۱- روش های استخراج.....	۱۸
۱-۸-۱- استخراج مایع- مایع.....	۱۸
۲-۸-۱- استخراج با فاز جامد.....	۱۹

- ۱-۲-۸-۱- دلایل جایگزینی استخراج مایع- مایع با استخراج با فاز جامد..... ۲۱
- ۱-۲-۸-۲- هدف از استخراج با فاز جامد..... ۲۱
- ۱-۲-۸-۳- خصوصیات فاز جامد..... ۲۲
- ۱-۲-۸-۴- جنبه‌های عملی و مراحل استخراج با فاز جامد..... ۲۳
- ۱-۲-۸-۴-۱- آماده‌سازی ۲۳
- ۱-۲-۸-۴-۲- جذب آنالیت روی فاز جامد ۲۴
- ۱-۲-۸-۴-۳- شستشو ۲۴
- ۱-۲-۸-۴-۴- شویش ۲۴
- ۱-۲-۸-۵- عوامل موثر بر استخراج با فاز جامد..... ۲۵
- ۱-۸-۳- روش‌های میکرو استخراج ۲۵
- ۱-۸-۴- میکرو استخراج با جاذب پر شده در سرنگ ۲۶
- ۱-۸-۴-۱- فرآیند انجام استخراج با جاذب پر شده در سرنگ ۲۷
- ۱-۸-۴-۱-۱- آماده‌سازی سرنگ و فاز جامد ۲۷
- ۱-۸-۴-۱-۲- مرحله نمونه‌برداری و پیش‌تغلیظ ۲۷
- ۱-۸-۴-۱-۳- شستشوی نمونه ۲۸
- ۱-۸-۴-۱-۴- خشک کردن جاذب..... ۲۸
- ۱-۸-۴-۱-۵- شویش ۲۸
- ۱-۹-۱- انواع جاذب‌ها ۲۹
- ۱-۹-۱- سیلیکاژل و ذرات سیلیکای پیوندی ۲۹
- ۱-۹-۲- پلیمرهای رسانا ۲۹
- ۱-۹-۳- کربن ۲۹
- ۱-۹-۴- ذرات نانو لوله‌های کربن..... ۳۰
- ۱-۹-۴-۱- ساختار فیزیکی و شیمیایی نانو لوله‌های کربن ۳۰
- ۱-۹-۴-۲- مروری بر کاربردهای نانو لوله‌های کربنی..... ۳۲
- ۱-۹-۵- جاذب‌های طبیعی دیاتومیت و پرلیت ۳۴
- ۱-۱۰- مقایسه روش استخراج با سرنگ پر شده با سایر روش‌های استخراج با فاز جامد ۳۵

فصل ۲

مواد و تجهیزات

- ۱-۲- واکنشگرها و مواد شیمیایی ۳۸
- ۲-۲- دستگاهها و تجهیزات ۴۰
- ۳-۲- تهیه سرنگ MEPS ۴۳
- ۴-۲- آماده سازی محلول ها..... ۴۳
- ۵-۲- مشخصات جاذب های مورد استفاده..... ۴۶
- ۱-۵-۲- جاذب نانو لوله کربن..... ۴۶
- ۲-۵-۲- جاذب نانو دیاتومیت ۴۸
- ۳-۵-۳- جاذب نانو پرلیت..... ۵۰

فصل ۳

نتایج و بحث

- ۱-۳- پیش تغلیظ آفت کش های کلردار در نمونه های زیست محیطی با استفاده از نانو لوله کربن عامل دار کربوکسیلیکی به روش میکرو استخراج با فاز جامد پر شده در سرنگ و اندازه گیری با کروماتوگرافی گازی- آشکارساز جرمی..... ۵۴
- ۱-۱-۳- شناسایی و تعیین زمان بازداری ترکیبات..... ۵۴
- ۲-۱-۳- بدست آوردن منحنی کالیبراسیون مستقیم ۵۵
- ۳-۱-۳- استخراج و پیش تغلیظ ۵۷
- ۴-۱-۳- بررسی و بهینه سازی فاکتورهای موثر در پیش تغلیظ و اندازه گیری..... ۵۹
- ۱-۴-۱-۳- بررسی اثر pH ۶۰
- ۲-۴-۱-۳- اثر حجم بافر ۶۳
- ۳-۴-۱-۳- اثر حجم و نوع حلال آلی واجذب کننده..... ۶۳
- ۴-۴-۱-۳- بررسی اثر مقدار جاذب..... ۶۶
- ۵-۴-۱-۳- بررسی قدرت یونی ۶۸

۷۰	۳-۱-۴-۶- اثر تعداد مرتبه نمونه گیری.....
۷۲	۳-۱-۵- انتخاب شرایط بهینه میکرو استخراج.....
۷۳	۳-۱-۶- رسم منحنی کالیبراسیون برای اندازه گیری ترکیبات آلی کلردار.....
۷۶	۳-۱-۷- بررسی های آماری و ارقام شایستگی.....
۷۶	۳-۱-۷-۱- تعیین فاکتور پیش تغلیظ.....
۷۸	۳-۱-۷-۲- محاسبه بازده استخراج.....
۷۹	۳-۱-۷-۳- تعیین حد تشخیص و حد اندازه گیری.....
۸۰	۳-۱-۷-۴- دقت و صحت روش.....
۸۱	۳-۱-۸- اندازه گیری آفت کش های کلردار در نمونه حقیقی.....

۳-۲- کاربرد جاذب نانو دیاتومیت برای پیش تغلیظ، جداسازی و اندازه گیری آفت کش های

آلی هگزا کلرو بنرن، هپتاکلر، آلدترین با روش میکرو استخراج با فاز جامد پر شده در سرنگ

در نمونه های زیست محیطی با کروماتوگرافی گازی - آشکارساز جرمی.....

۳-۲-۱- شناسایی و تعیین زمان بازداری ترکیبات.....

۳-۲-۲- بدست آوردن منحنی کالیبراسیون مستقیم.....

۳-۲-۳- بررسی و بهینه سازی فاکتورهای موثر در پیش تغلیظ.....

۳-۲-۳-۱- بررسی اثر pH.....

۳-۲-۳-۲- بررسی اثر نوع محلول بافر.....

۳-۲-۳-۳- اثر حجم و نوع حلال آلی واجذب کننده.....

۳-۲-۳-۴- اثر قدرت یونی.....

۳-۲-۳-۵- اثر تعداد مرتبه نمونه گیری.....

۳-۲-۳-۶- بررسی اثر حجم نمونه آبی.....

۳-۲-۴- انتخاب شرایط بهینه.....

۳-۲-۵- رسم منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ در محلول آبی.....

۳-۲-۶- ارقام شایستگی تجزیه ای روش.....

۳-۲-۶-۱- تعیین فاکتور پیش تغلیظ.....

۳-۲-۶-۲- تعیین حد تشخیص و حد اندازه گیری.....

۳-۲-۶-۳- دقت و صحت روش.....

۷-۲-۳- اندازه گیری آفت کش های هگزا کلرو بنزن، هپتاکلر، آلدین در نمونه حقیقی ۱۱۰

۳-۳- کاربرد نانو پرلایت به عنوان جاذب طبیعی در پیش تغلیظ سموم آلی فسفردار دیازینون، مالاتیون و اتیون با روش میکرواستخراج با سرنگ پر شده با جاذب و اندازه گیری بوسیله کروماتوگرافی گازی و اسپکترومتری جرمی ۱۱۳

۱-۳-۳- شناسایی و تعیین زمان بازدارداری ترکیبات ۱۱۳

۲-۳-۳- بدست آوردن منحنی کالیبراسیون مستقیم ۱۱۶

۳-۳-۳- بهینه سازی فاکتورهای موثر در پیش تغلیظ ۱۱۸

۱-۳-۳-۳- بررسی اثر pH ۱۱۹

۲-۳-۳-۳- اثر حجم بافر ۱۲۳

۳-۳-۳-۳- اثر نوع حلال آلی واجذب کننده ۱۲۳

۴-۳-۳-۳- اثر نمک ۱۲۵

۵-۳-۳-۳- اثر تعداد مرتبه نمونه گیری ۱۲۵

۴-۳-۳-۳- انتخاب شرایط بهینه ۱۲۷

۵-۳-۳- رسم منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ در محلول آبی ۱۲۷

۶-۳-۳- بررسی های آماری و ارقام شایستگی ۱۳۰

۱-۶-۳-۳- تعیین فاکتور پیش تغلیظ ۱۳۰

۲-۶-۳-۳- حد تشخیص روش ۱۳۰

۳-۶-۳-۳- دقت و صحت روش ۱۳۱

۷-۳-۳- اندازه گیری سموم فسفردار در نمونه حقیقی ۱۳۲

۴-۳- کاربرد نانو دیاتومیت به عنوان جاذب طبیعی در پیش تغلیظ سموم دیازینون و اتیون با روش میکرواستخراج با سرنگ پر شده با جاذب و اندازه گیری بوسیله کروماتوگرافی گازی و اسپکترومتری جرمی ۱۳۵

۱-۴-۳- شناسایی و تعیین زمان بازدارداری ترکیبات ۱۳۵

۲-۴-۳- بدست آوردن منحنی کالیبراسیون مستقیم ۱۳۶

۳-۴-۳- بهینه سازی شرایط تجربی ۱۳۷

۱-۳-۴-۳- بررسی اثر pH ۱۳۸

۱۴۱.....	۳-۴-۲- اثر نوع حلال آلی واجذب کننده.....
۱۴۲.....	۳-۴-۳- اثر تعداد مرتبه نمونه گیری.....
۱۴۲.....	۳-۴-۴- انتخاب شرایط بهینه.....
۱۴۴.....	۳-۴-۵- رسم منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ در محلول آبی.....
۱۴۶.....	۳-۴-۶- بررسی های آماری و ارقام شایستگی.....
۱۴۶.....	۳-۴-۴-۱- فاکتور پیش تغلیظ.....
۱۴۷.....	۳-۴-۶-۲- حد تشخیص روش.....
۱۴۷.....	۳-۴-۶-۳- دقت و صحت روش.....
۱۴۸.....	۳-۴-۷- اندازه گیری سموم فسفردار دیازینون و اتیون در نمونه حقیقی.....

فصل ۴

نتیجه گیری

۱۵۲.....	۴-۱- نتیجه گیری.....
۱۵۴.....	۴-۲- پیشنهاد و آینده نگری.....
۱۵۵.....	منابع.....

فهرست جداول

جدول (۱-۱) کاربردهای نانو لوله کربن در اندازه گیری آفت کش ها.....	۳۴
جدول (۲-۱) مقایسه انواع روش های استخراج با فاز جامد	۳۶
جدول (۱-۲) لیست مواد شیمیایی مورد استفاده و فرمول مولکولی آنها.....	۳۹
جدول (۲-۲) شرایط جداسازی دستگاهی و برنامه دمایی بهینه شده.....	۴۲
جدول (۳-۲) اطلاعات فنی نانو لوله کربنی استفاده شده.....	۴۶
جدول (۴-۲) آنالیز شیمیایی نانو لوله کربنی عامل دار کربوکسیلیکی.....	۴۸
جدول (۵-۲) ترکیب شیمیایی نانوپرلیت طبیعی	۵۱
جدول (۱-۳) مشخصات تجزیه ای ترکیبات آلی کلردار	۵۴
جدول (۲-۳) محلول های استاندارد کالیبراسیون مستقیم و حجم های لازم از استاندارد اولیه	۵۶
جدول (۳-۳) نتایج کالیبراسیون مستقیم در غلظت های مختلف ترکیبات آلی کلردار در حلال متیل ایزو بوتیل کتون برای حداقل ۵ مرتبه اندازه گیری	۵۷
جدول (۴-۳) نتایج کالیبراسیون مستقیم شامل گستره دینامیکی، ضریب همبستگی (R^2)، معادله خط و شیب منحنی.	۵۷
جدول (۵-۳) نتایج بررسی تغییرات pH نمونه و تاثیر آن در کارایی پیش تغلیظ نمونه با غلظت ۵/۰ میکروگرم بر لیتر ترکیبات آلی کلردار.....	۶۱
جدول (۶-۳) مساحت های نسبی در حلال های مختلف در پیش تغلیظ نمونه های آلی کلردار.....	۶۴
جدول (۷-۳) بررسی تاثیر مقدار جاذب در کارایی استخراج ترکیبات آلی کلردار.....	۶۷
جدول (۸-۳) مساحت های نسبی در قدرت یونی های مختلف در پیش تغلیظ نمونه های آلی کلردار.....	۶۹
جدول (۹-۳) اثر تعداد مرتبه نمونه گیری در پیش تغلیظ نمونه های آلی کلردار.....	۷۱
جدول (۱۰-۳) شرایط بهینه انتخاب شده در استخراج به روش MEPS.....	۷۳
جدول (۱۱-۳) نتایج حاصل از کالیبراسیون پیش تغلیظ ترکیبات آلی کلردار.....	۷۴
جدول (۱۲-۳) معادله خط، ضریب همبستگی، گستره خطی دینامیکی منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ	۷۴

جدول (۳-۱۳) فاکتور تغلیظ روش برای ترکیبات آلی کلردار.....	۷۷
جدول (۳-۱۴) بازده استخراج برای ترکیبات آلی کلردار	۷۸
جدول (۳-۱۵) حدود تشخیص و اندازه‌گیری روش برای ترکیبات آلی کلردار.....	۸۰
جدول (۳-۱۶) دقت و صحت در شرایط بهینه در اندازه‌گیری ترکیبات آلی کلردار.....	۸۱
جدول (۳-۱۷) مقدار اندازه‌گیری شده و درصد بازیابی در نمونه ۱- آب خروجی چاه.....	۸۳
جدول (۳-۱۸) مقدار اندازه‌گیری شده و درصد بازیابی در نمونه ۲- آب دریای خزر.....	۸۴
جدول (۳-۱۹) مقدار اندازه‌گیری شده و درصد بازیابی در نمونه ۳- رود قره سو.....	۸۵
جدول (۳-۲۰) نتایج کالیبراسیون مستقیم در غلظت‌های مختلف ترکیبات آلی کلردار در حلال دی-کرومتان	۸۸
جدول (۳-۲۱) داده‌های آماری حاصل از رسم منحنی‌های کالیبراسیون.....	۹۳
جدول (۳-۲۲) نتایج بررسی تاثیر pH نمونه در پیش تغلیظ نمونه با غلظت ۵/۰ میکروگرم بر لیتر	۹۱
جدول (۳-۲۳) نتایج بررسی اثر بافرهای مختلف در استخراج ترکیبات آلی کلردار.....	۹۵
جدول (۳-۲۴) مساحت‌های نسبی در حلال‌های مختلف در پیش تغلیظ نمونه‌های آلی کلردار.....	۹۶
جدول (۳-۲۵) نتایج بدست آمده از بررسی افزایش نمک سدیم کلرید در استخراج ترکیبات آلی کلردار	۹۸
جدول (۳-۲۶) اثر تعداد مرتبه نمونه‌گیری در پیش تغلیظ نمونه‌های آلی کلردار.....	۱۰۰
جدول (۳-۲۷) شرایط بهینه استخراج به روش MEPS	۱۰۴
جدول (۳-۲۸) نتایج کالیبراسیون پیش تغلیظ ترکیبات آلی کلردار	۱۰۵
جدول (۳-۲۹) معادله خط، ضریب همبستگی و گستره خطی کالیبراسیون پیش تغلیظ.....	۱۰۵
جدول (۳-۳۰) فاکتور تغلیظ روش برای ترکیبات آلی کلردار	۱۰۸

جدول (۳-۳۱) حدود تشخیص و حدود اندازه گیری روش برای ترکیبات آلی کلردار.....	۱۰۸
جدول (۳-۳۲) دقت و صحت در شرایط بهینه برای ترکیبات آلی کلردار.....	۱۰۹
جدول (۳-۳۳) مقدار اندازه گیری شده و درصد بازیابی در نمونه ۱- آب شهری	۱۱۱
جدول (۳-۳۴) مقدار اندازه گیری شده و درصد بازیابی در نمونه ۲- آب دریای خزر	۱۱۱
جدول (۳-۳۵) مساحت های نسبی در کالیبراسیون مستقیم ترکیبات آلی فسفردار	۱۱۶
جدول (۳-۳۶) گستره دینامیکی، ضریب همبستگی (R^2)، معادله خط و شیب منحنی کالیبراسیون مستقیم	۱۱۷
جدول (۳-۳۷) تاثیر pH نمونه در کارآیی پیش تغلیظ ترکیبات آلی فسفردار	۱۲۰
جدول (۳-۳۸) نتایج حاصل از بررسی تاثیر نوع بافر در پیش تغلیظ ترکیبات	۱۲۲
جدول (۳-۳۹) نتایج حاصل از بررسی تاثیر نوع حلال واجذب کننده در واجذب ترکیبات آلی فسفردار	۱۲۴
جدول (۳-۴۰) نتایج حاصل از بررسی تعداد مرتبه نمونه گیری در پیش تغلیظ ترکیبات آلی فسفردار	۱۲۶
جدول (۳-۴۱) شرایط بهینه استخراج به روش MEPS	۱۲۷
جدول (۳-۴۲) نتایج حاصل از کالیبراسیون پیش تغلیظ	۱۲۸
جدول (۳-۴۳) معادله خط، ضریب همبستگی، گستره خطی کالیبراسیون پیش تغلیظ	۱۲۸
جدول (۳-۴۴) فاکتور پیش تغلیظ روش برای ترکیبات آلی فسفردار.....	۱۳۰

جدول (۳-۴۵) حدود تشخیص روش برای ترکیبات آلی فسفردار	۱۳۱
جدول (۳-۴۶) دقت و صحت در شرایط بهینه به دست آمده برای ترکیبات آلی کلردار	۱۳۲
جدول (۳-۴۷) مقدار اندازه گیری شده و درصد بازیابی در نمونه ۱ (آب شهری).....	۱۳۳
جدول (۳-۴۸) مقدار اندازه گیری شده و درصد بازیابی در نمونه ۲ (خروجی چاه).....	۱۳۳
جدول (۳-۴۹) نتایج کالیبراسیون مستقیم ترکیبات آلی فسفردار در حلال دی کلرومتان	۱۳۶
جدول (۳-۵۰) نتایج کالیبراسیون مستقیم شامل گستره پاسخ، ضریب همبستگی (R^2)، معادله خط و شیب منحنی	۱۳۷
جدول (۳-۵۱) نتایج بررسی تاثیر pH نمونه در پیش تغلیظ ترکیبات آلی فسفردار	۱۳۸
جدول (۳-۵۲) نتایج بررسی تاثیر نوع بافر در پیش تغلیظ ترکیبات	۱۴۰
جدول (۳-۵۳) نتایج بررسی تاثیر نوع حلال واجذب کننده در واجذب ترکیبات آلی فسفردار	۱۴۱
جدول (۳-۵۴) نتایج حاصل از بررسی تعداد مرتبه نمونه گیری در پیش تغلیظ ترکیبات آلی فسفردار	۱۴۳
جدول (۳-۵۵) نتایج کالیبراسیون پیش تغلیظ ترکیبات دیازینون و اتیون.....	۱۴۵
جدول (۳-۵۶) معادله خط، ضریب همبستگی، گستره خطی منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ	۱۴۵
جدول (۳-۵۷) فاکتور تغلیظ روش برای ترکیبات آلی کلردار در غلظت ۵/۰ میکرو گرم برلیتر.....	۱۴۷
جدول (۳-۵۸) حدود تشخیص روش برای ترکیبات آلی فسفردار.....	۱۴۷
جدول (۳-۵۹) دقت و صحت در شرایط بهینه	۱۴۸
جدول (۳-۶۰) مقدار اندازه گیری شده و درصد بازیابی در نمونه ۱ (چاه حومه گرگان).....	۱۴۹
جدول (۳-۶۱) مقدار اندازه گیری شده و درصد بازیابی در نمونه ۲ (رودخانه گرگان).....	۱۴۹

فهرست اشکال

- شکل (۱-۱) فرمول ساختاری برخی از آفت کش های آلی ۵
- شکل (۲-۱) فرمول ساختار برخی از آفت کش های آلی فسفردار ۸
- شکل (۳-۱) فرمول ساختاری ترکیبات تری آزین ۹
- شکل (۴-۱) ستون های مورد استفاده در استخراج فاز جامد ۲۰
- شکل (۵-۱) مراحل عملی استخراج با فاز جامد ۲۳
- شکل (۶-۱) شمایی از سرنگ تجاری مورد استفاده در روش استخراج با فاز جامد پر شده در سرنگ ۲۷
- شکل (۷-۱) چند نمونه از نانو لوله های کربنی تک دیواره، چند دیواره دیواره، عامل دار ۳۱
- شکل (۸-۱) واکنش عامل دار کردن نانو لوله های کربنی به روش اکسیداسیون شیمیایی ۳۲

- شکل (۱-۲) شمایی از سیستم طراحی شده سرنگ MEPS ۴۳
- شکل (۲-۲) تصاویر میکروسکوپی نانو لوله کربن ۴۷
- شکل (۳-۲) الگوی پراش اشعه ایکس نانو لوله کربنی..... ۴۷
- شکل (۴-۲) تصاویر میکروسکوپی از نانو دیاتومیت ۴۹
- شکل (۵-۲) تصاویر میکروسکوپی از نانو نانوپرلیت ۵۰
- شکل (۶-۲) پراش اشعه ایکس نانو پرلیت..... ۵۱
- شکل (۱-۳) کروماتوگرام نمونه استاندارد برای تعیین زمان بازداری ترکیبات آلی کلردار ۵۵
- شکل (۲-۳) کروماتوگرام پیش تغلیظ نمونه شاهد ۵۹
- شکل (۳-۳) اثر تغییرات pH نمونه بر کارایی استخراج ترکیبات آلی کلردار..... ۶۲
- شکل (۴-۳) کروماتوگرام نمونه استخراج شده در $pH=6/0$ ۶۳
- شکل (۵-۳) اثر نوع حلال واجذب کننده بر کارایی استخراج ۶۵
- شکل (۶-۳) بررسی اثر حجم حلال واجذب کننده در کارایی استخراج ۶۶
- شکل (۷-۳) اثر مقدار جاذب نانو لوله کربن بر کارایی استخراج ترکیبات آلی کلردار ۶۸
- شکل (۸-۳) اثر قدرت یونی بر کارایی استخراج ۷۰
- شکل (۹-۳) اثر تعداد مرتبه نمونه‌گیری بر کارایی استخراج ۷۲
- شکل (۱۰-۳) منحنی‌های کالیبراسیون پیش تغلیظ برای اندازه‌گیری ترکیبات آلی کلردار در آب..... ۷۵
- شکل (۱۱-۳) کروماتوگرام پیش تغلیظ محلول استاندارد آلی کلردار در آب ۷۶
- شکل (۱۲-۳) نمونه‌ای از کروماتوگرام پیش تغلیظ و تجزیه نمونه حقیقی ۸۶
- شکل (۱۳-۳) کروماتوگرام پیش تغلیظ نمونه شاهد..... ۸۹
- شکل (۱۴-۳) اثر pH نمونه بر کارایی استخراج ترکیبات آلی کلردار ۹۲
- شکل (۱۵-۳) بررسی اثر تغییرات pH نمونه بر کارایی استخراج ترکیبات آلی کلردار ۹۳
- شکل (۱۶-۳) کروماتوگرام نمونه استاندارد آلی کلردار در $pH=6/0$ ۹۴
- شکل (۱۷-۳) اثر نوع بافر کننده بر کارایی استخراج ترکیبات آلی کلردار..... ۹۵
- شکل (۱۸-۳) اثر نوع حلال واجذب کننده بر کارایی استخراج ۹۷
- شکل (۱۹-۳) بررسی اثر افزایش نمک سدیم کلرید در کارایی استخراج ترکیبات آلی کلردار..... ۹۹
- شکل (۲۰-۳) اثر تعداد مرتبه نمونه‌گیری بر کارایی استخراج ۱۰۰
- شکل (۲۱-۳) بررسی اثر حجم نمونه با غلظت ثابت بر کارایی استخراج ۱۰۱

- شکل (۳-۲۲) بررسی حجم نمونه آبی در کارآیی استخراج ترکیبات آلی کلردار..... ۱۰۲
- شکل (۳-۲۳) تغییرات متوسط درصد استخراج ترکیبات با حجم نمونه الف) در مقدار ثابت ۰/۰۲۵
- میکرو گرم هر ترکیب در نمونه، ب) در غلظت ثابت ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر ۱۰۳
- شکل (۳-۲۴) منحنی های کالیبراسیون پیش تغلیظ برای اندازه گیری ترکیبات آلی کلردار..... ۱۰۶
- شکل (۳-۲۵) کروماتوگرام پیش تغلیظ محلول استاندارد ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر ترکیبات آلی کلردار
- ۱۰۷
- شکل (۳-۲۶) کروماتوگرام نمونه حقیقی الف) نمونه آب دریای خزر بدون افزایش ترکیبات آلی کلردار ب) نمونه آب دریای خزر غنی شده با ترکیبات آلی کلردار به غلظت ۵/۰ میکروگرم بر لیتر..... ۱۱۲
- شکل (۳-۲۷) کروماتوگرام نمونه استاندارد برای تعیین زمان بازداری..... ۱۱۴
- شکل (۳-۲۸) طیف جرمی ترکیبات آلی فسفردار ۱۱۵
- شکل (۳-۲۹) منحنی های کالیبراسیون مستقیم ترکیبات آلی فسفردار ۱۱۷
- شکل (۳-۳۰) کروماتوگرام نمونه استاندارد تزریق مستقیم نمونه..... ۱۱۸
- شکل (۳-۳۱) اثر pH نمونه بر کارآیی استخراج..... ۱۲۱
- شکل (۳-۳۲) تاثیر نوع محلول بافر بر کارآیی استخراج..... ۱۲۲
- شکل (۳-۳۳) تاثیر نوع حلال واجذب کننده بر کارآیی استخراج..... ۱۲۴
- شکل (۳-۳۴) اثر تعداد مرتبه نمونه گیری بر کارآیی استخراج..... ۱۲۶
- شکل (۳-۳۵) منحنی های کالیبراسیون پیش تغلیظ ترکیبات آلی فسفردار ۱۲۹
- شکل (۳-۳۶) کروماتوگرام حاصل از پیش تغلیظ نمونه حقیقی با مقدار مشخص اضافه شده از ترکیبات آلی فسفردار به غلظت ۵/۰ میکروگرم بر لیتر ۱۳۴
- شکل (۳-۳۷) کروماتوگرام استاندارد دیازینون و اتیون برای تعیین زمان بازداری..... ۱۳۵
- شکل (۳-۳۸) منحنی های کالیبراسیون مستقیم ترکیبات آلی فسفردار ۱۳۷
- شکل (۳-۳۹) اثر pH نمونه بر کارآیی استخراج ترکیبات دیازینون و اتیون..... ۱۳۹

- شکل (۳-۴۰) تاثیر نوع محلول بافر بر کارآیی استخراج ترکیبات دیازینون و اتیون ۱۴۰
- شکل (۳-۴۱) تاثیر نوع حلال واجذب کننده بر کارآیی استخراج ۱۴۲
- شکل (۳-۴۲) اثر تعداد مرتبه نمونه گیری بر کارآیی استخراج ۱۴۳
- شکل (۳-۴۳) منحنی های کالیبراسیون پیش تغلیظ ترکیبات آلی فسفردار ۱۴۶
- شکل (۳-۴۴) کروماتوگرام پیش تغلیظ نمونه حقیقی با مقدار اضافه شده دیازینون و اتیون به غلظت ۱۰/۰ میکروگرم بر لیتر ۱۵۰

فصل ۱:

مقدمه و تئوری

تولید مواد شیمیایی آلی از اوایل قرن بیستم با رشد صنعتی کشورها به شدت افزایش یافت. با تولید و بهره‌برداری از این ترکیبات، مواد سنتز شده مانند سموم، روغن‌ها، حلال‌ها و سوخت‌ها بر تعداد مواد آلاینده خاک، آب و هوا نیز افزوده شد. بدین ترتیب سهم این ترکیبات در آلودگی محیط زیست افزایش یافت، برای مثال مشتقات نفت منبع اصلی رهاسازی هیدروکربن‌ها در جو هستند.

در دنیای امروز با توجه به افزایش روزافزون جمعیت و محدودیت منابع موجود، بالا بودن تولیدات محصولات کشاورزی در واحد سطح، امری ضروری تلقی می‌شود. از طرفی سالانه درصد بالایی از محصولات توسط آفات، عوامل بیماری‌زا و علف‌های هرز از بین می‌روند که برای جلوگیری از نابودی حدود ۴۰٪ محصولات کشاورزی، ناگزیر به استفاده از سموم دفع آفات نباتی هستیم. علی‌رغم روند رو به رشد استفاده از ابزارهای غیر شیمیایی هنوز استفاده از سموم و مواد شیمیایی به عنوان مهم‌ترین روش در سراسر جهان حتی در پیشرفته‌ترین کشورها در نظر گرفته می‌شود، و نکته قابل توجه اینکه تنوع حشره‌کش‌های مورد استفاده در بخش کشاورزی بسیار فراوان است.

واژه آفت‌کش^۱ یک واژه عمومی است که در برگیرنده‌ی کلیه مواد شیمیایی آلی است که در کشاورزی به منظور ریشه‌کن کردن علف‌های هرز و کنترل شیمیایی موجودات زنده مزاحم و میکرو اورگانیزم‌های مضر به کار برده می‌شود. در بین مواد آلاینده سمی، ترکیباتی را که در محیط‌های آبی دارای خطرات زیست محیطی هستند، آلاینده‌های سمی با اولویت درجه یک نامیده می‌شوند. سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا (EPA)^۲، فهرست این ترکیبات را که شامل ۱۲۹ ماده خاص می‌باشد، مشخص نموده است [۲۱]. این آلاینده‌ها به ۱۰ دسته‌ی ترکیبات آلیفاتیک هالوژن‌دار^۳، فنل-

^۱ - Pesticide

^۲ - United States Environmental Protection Agency

^۳ - Halogenated aliphatic

ها^۱، آروماتیک‌های تک حلقه‌ای، اترها، نیتروز آمین‌ها^۲، فتالات استرها، هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای^۳، آفت‌کش‌ها، بی‌فنیل‌های کلردار^۴ و فلزات سنگین تقسیم می‌شوند.

آبهای سطحی نظیر رودخانه‌ها، تالاب‌ها، مخازن سدها و آب‌های زیرزمینی در اثر سم پاشی تحت تاثیر مستقیم برخی از آلاینده‌ها قرار گرفته و آلوده می‌شوند.

۱-۲- تاریخچه به کارگیری آفت‌کش‌ها

اولین آفت‌کش‌هایی که به کار گرفته شد، مواد ساده‌ای نظیر ترکیبات آرسنیک‌دار، روغن‌های نفتی و حشره‌کش‌های^۵ گیاهی نظیر نیکوتین و پیرترین^۶ بوده اند [۲]. اما با رشد و توسعه سنتز آفت‌کش‌ها و مشخص شدن خواص حشره‌کشی آنها در اوایل دهه ۱۹۳۰، تولید حشره‌کش‌های سنتزی از جمله دی‌کلرو دی‌فنیل تری‌کلرو اتان (د.د.ت)^۷ آغاز شد. پس از آن، در سال ۱۹۴۴ اولین علف‌کش^۸ بنام ۴و۲ دی‌کلرو فنوکسی‌استیک اسید با نام تجاری توفوردی (۲ و ۴-دی)^۹ مورد استفاده قرار گرفت. سپس در سال‌های ۱۹۴۵ تا ۱۹۵۵ نسل دوم آفت‌کش‌ها شامل ترکیبات آلی فسفردار^{۱۰} و کاربامات-ها^{۱۱} تولید و وارد بازار شدند [۴و۳].

^۱ - Phenol

^۲ - Nitrosamines

^۳ - Poly Aromatic Hydrocarbons (PAHs)

^۴ - Chlorinated biphenyls

^۵ - Insecticides

^۶ - Pyrethrin

^۷ - Dichloro diphenyl trichloro ethane (DDT)

^۸ - Herbicide

^۹ - ۲،۴-Dichloro phenoxy acetic acid (۲،۴-D)

^{۱۰} - Organophosphorous compounds

^{۱۱} - Carbamates

۱-۳- طبقه بندی آفت کش ها

آفت کش ها موادی هستند که یک موجود نامطلوب را مهار و یا از بین می برند. این آفت کش ها فرآیند سوخت و ساز مهم در داخل سلول های موجودات را مسدود می کنند. از مهمترین دسته های آفت کش ها می توان به حشره کش ها، علف کش ها، قارچ کش ها^۱ و ... [۵ و ۶]. اشاره نمود. آفت کش ها براساس اتم هایی که در ساختار مولکولی آنها بکار رفته است به دسته های مختلف شامل ترکیبات آلی کلردار^۲، ترکیبات آلی فسفردار، تری آزین ها^۳ و کاربامات ها و یا بر اساس نوع آفت هدف به دسته های حشره-کش ها، علف کش ها و قارچ کش ها طبقه بندی می شوند.

۱-۳-۱- حشره کش های آلی کلردار

این آفت کش ها در دهه های ۱۹۴۰ و ۱۹۵۰ در آمریکای شمالی و اروپای غربی تولید شده اند. اجزای فعال در اکثر این آفت کش ها ترکیبات آلی کلردار بوده که از مهمترین خصوصیات این دسته به موارد پایداری در برابر تجزیه شدن، انحلال پذیری بسیار کم در آب، سمیت نسبتاً زیاد برای حشرات و سمیت کم برای انسان می توان اشاره نمود [۷].

از مهمترین ترکیبات آلی کلردار می توان لیندان (γ-BHC)^۴، هگزا کلرو بنزن^۵، متوکسی کلر^۶، آلدین^۷، هپتا کلر^۸، آلا کلر^۹، متولا کلر^{۱۰}، را نام برد. شکل (۱-۱) فرمول ساختاری برخی از آفت کش های آلی کلردار را نشان می دهد [۷]. حال برخی از ترکیبات فوق از لحاظ درجه سمیت و اهمیت اندازه گیری آنها، به طور خلاصه شرح داده می شود.

^۱ - Fungicides

^۲ - Organochlorine compounds

^۳ - Trizaines

^۴ - Lindane(γ-BHC)

^۵ - Hexachlorobenzene

^۶ - Methoxychlor

^۷ -Aldrine

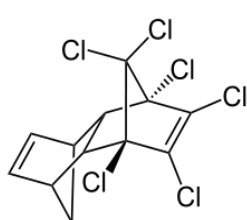
^۸ - Heptachlor

^۹ - Alachlor

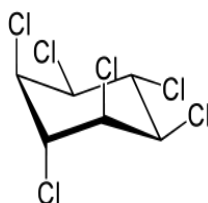
^{۱۰} -Metolachlor

۱-۱-۳-۱- لیندان

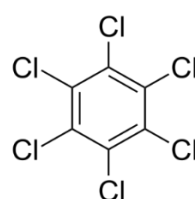
لیندان نام تجاری و مشتق سیکلوهاگزان بوده که در آن یکی از هیدروژن‌های روی هر اتم کربن با کلر جایگزین شده است، یعنی ترکیب ۱،۲،۳،۴،۵،۶-هگزاکلروسیکلوهاگزان می‌باشد. این ترکیب حشره‌کشی بسیار موثر در مقابل انواع وسیعی از حشرات است. در واقع این ترکیب هشت ایزومر دارد، که تنها یکی از ایزومرهای آن که به اصطلاح ایزومر گاما باشد، حشرات را از بین می‌برد. امروزه این ترکیب را لیندان یا γ -BHC می‌شناسند. این ترکیب می‌تواند از پوست نفوذ کرده و موجب عوارض جدی از جمله بیماری‌های عصبی و تنفسی در انسان شود [۷].



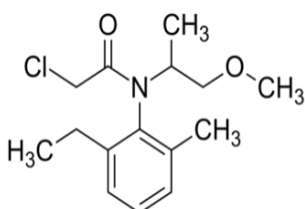
آلدرین



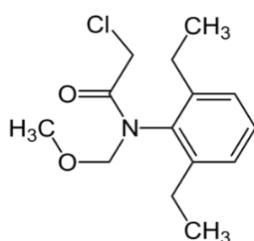
لیندن - γ



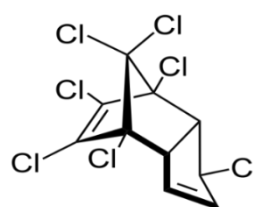
هگزاکلرو
بنزن



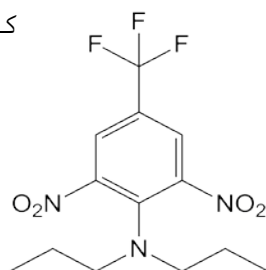
متولا
کلر



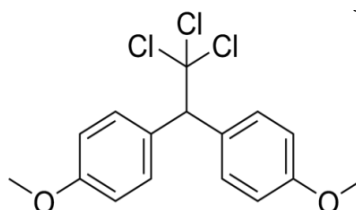
آلاکلر



هپتاکلر



تری
فلورالین



متوکسی
کلر

شکل (۱-۱) فرمول ساختاری برخی از آفتکش‌های آلی [۷].

۱-۳-۲- هگزاکلرو بنزن

این ترکیب به عنوان یک آفت کش در کشاورزی برای محصولات گندم مصرف می شود. حلالیت این ترکیب در آب بسیار پایین و تقریباً نامحلول (۰/۰۰۶۲ میلی گرم در لیتر) است. این ترکیب در صنایع شیمیایی و در فرآیندهای احتراق تولید و به عنوان یک آلاینده محیط زیست در سطح وسیع تلقی می شود. این ترکیب همانند لیندان در جوندگان آزمایشگاهی باعث ایجاد بیماری های کبدی شده است [۷].

۱-۳-۳- متوکسی کلر

متوکسی کلر از نظر ساختاری یک اتان استخلافی است که در یکی از اتم های کربن، هر سه اتم هیدروژن به وسیله اتم های کلر و در اتم کربن دیگر دو اتم هیدروژن به وسیله دو حلقه فنیلی جانشین شده اند. در هر حلقه یک گروه عاملی متوکسی ($-OCH_3$) در موقعیت پارا وجود دارد. این ترکیب تا حدودی در آب حل می شود و در محیط، زیست تخریب پذیر بوده و در بدن موجودات زنده به جای تجمع، دفع می گردند. متوکسی کلر در حال حاضر به طور گسترده در مصارف خانگی و هم کشاورزی برای مهار پشه ها و مگس ها کاربرد دارد [۷].

۱-۳-۴- آلدین و هپتاکلر

حشره کش های آلدین و هپتاکلر که ساختاری دو حلقه ای دارند، دارای پیوند دوگانه ای در حلقه دوم هستند که هر اتم کربن در این پیوند دوگانه به یک اتم هیدروژن متصل می باشد. چنین مولکول هایی در محیط زیست به طور زیست شناختی به اپوکسید تبدیل می شوند و اپوکسیدها نیز می توانند به صورت یک حشره کش عمل کنند.

خاصیت سمی آلدترین برای حشرات بسیار زیاد است، ولی در عوض خاصیت پایداری آن کوتاه است. این حشره کش از طریق تنفس وارد بدن حشره می شود و به علت سمیت زیاد آن برای انسان و حیوان، مصرف آن کم است. آلدترین باعث تحریک و قرمزی پوست می شود [۷].

۱-۳-۲- حشره کش های آلی فسفردار

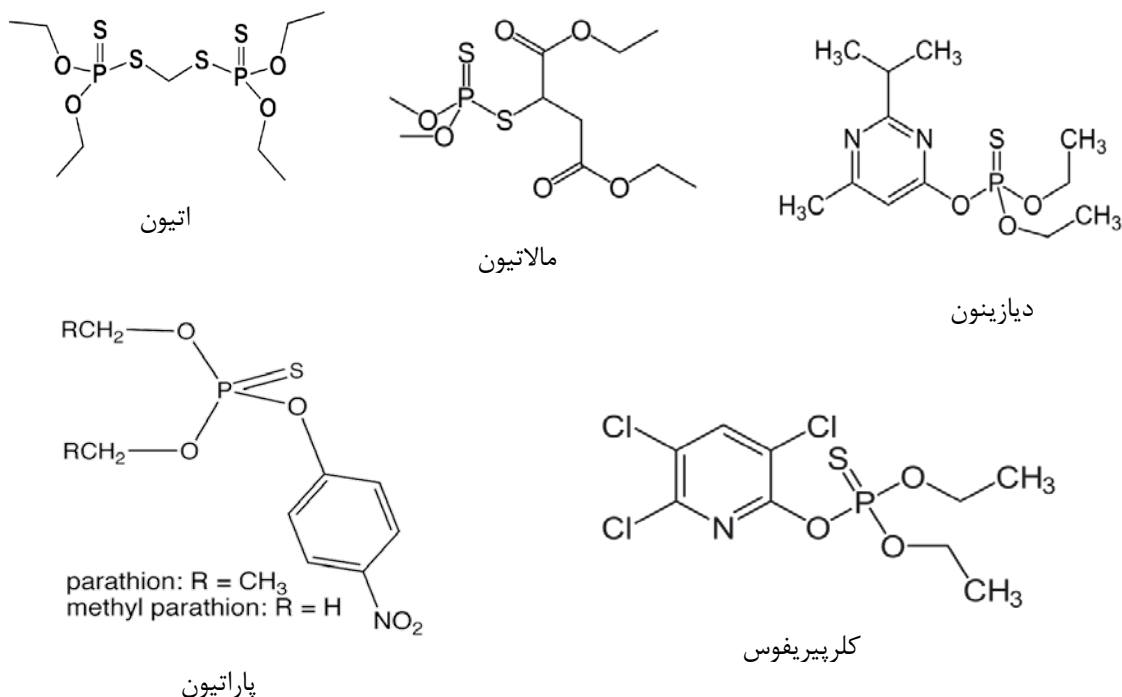
این نوع آفت کش ها پایداری کمتری نسبت به ترکیب های آلی کلردار دارند. اما این ترکیبات برای انسان و سایر پستانداران در مقایسه با دسته دیگر سمیت بیشتری دارند [۷ و ۸]. تماس با این مواد شیمیایی از راه بلعیدن، تنفس و جذب از طریق پوست می تواند مشکلات جدی در سلامتی بوجود آورد. تمام آفت کش های فسفردار دارای یک اتم فسفر مرکزی ۵ ظرفیتی است که در آن اتم فسفر به اتم های گوگرد یا اکسیژن با پیوند دوگانه، دو گروه متوکسی یا اتوکسی با پیوند یگانه و یک گروه بزرگ آلکیل همراه با اتم گوگرد یا اکسیژن متصل شده است، شکل (۱-۲) [۷]. دیازینون^۱، مالاتیون^۲، پاراتیون^۳، متیل پاراتیون^۴، اتیون^۵، کلروپیریفوس^۶، ترکیباتی از نوع آفت کش های فسفردار می باشند. دیازینون یک آفت کش آلی فسفردار که برای مهار حشره ها در منازل و باغ ها و حتی حیوانات خانگی بکار می رود.

پاراتیون، نمونه ای از ترکیب آلی فسفردار است که در آن اتم سولفور با پیوند دوگانه جایگزین اتم اکسیژن متصل به اتم فسفر شده است. این ماده شیمیایی بسیار سمی و نسبت به حشرات به صورت گزینشی عمل نمی کند و مصرف آن می تواند به طور غیر عمدی سبب از بین رفتن پرندگان، زنبورها و دیگر موجودات شود [۹].

^۱ - Diazinon
^۲ - Malathion
^۳ - Parathion
^۴ - Methyl parathion
^۵ - Ethion
^۶ - Chloropyrifos

مالاتیون ترکیب دیگری از حشره‌کش‌های آلی فسفردار است که در آن دو اتم اکسیژن به وسیله گوگرد جانشین شده است. این ماده برای پستانداران سمیت خاصی ندارد ولی برای بسیاری از حشرات، کشنده قوی است. همانند دیازینون در افشانه‌های خانگی برای از بین بردن مگس‌ها و برای محافظت از محصولات کشاورزی بکار می‌رود.

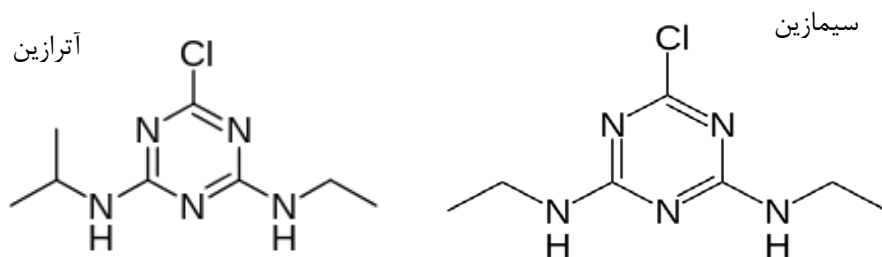
ترکیبات فسفردار که به وفور در بیشتر کشورها استفاده می‌شود، یک دسته مهم از سموم طبقه بندی می‌شود. مصرف بیش از اندازه این ترکیبات باعث آلوده شده آبهای سطحی و زیرزمینی شده و تهدیدی جدی برای سلامتی انسانها و سایر موجودات می‌باشد. در بسیاری از کشورها آبهای سطحی اصلی‌ترین منبع آب‌های آشامیدنی بوده و ضروری است که آلاینده‌های شیمیایی کنترل شود [۱۰ و ۱۱].



شکل (۲-۱) فرمول ساختاری برخی از آفت‌کش‌های آلی فسفردار [۷].

۳-۳-۱- علف‌کش‌های تری‌آزین

این طبقه از آفت‌کش‌ها که جزء علف‌کش‌ها محسوب می‌شوند، بر پایه ساختار متقارن و آروماتیک تری‌آزین استوار می‌باشند [۷]. در تری‌آزین‌هایی که به عنوان علف‌کش استفاده می‌شوند، یک اتم کربن حلقه آزینی به اتم کلر متصل بوده و دو اتم دیگر به دو گروه آمینو متصل می‌باشد. مهمترین ترکیبات این گروه آترازین است که به عنوان آفت‌کش در مزارع ذرت بکار رفته و انحلال پذیری این ترکیب در آب حدود ۳۰ میلی گرم بر لیتر می‌باشد [۷ و ۱۳]. سیمازین نیز یکی دیگر از آفت‌کش‌های خانواده تری‌آزین‌ها است. شکل (۳-۱) فرمول ساختاری آترازین و سیمازین را نشان می‌دهد.



شکل (۳-۱) فرمول ساختاری ترکیبات تری‌آزین [۷].

۴-۱- اهمیت اندازه‌گیری آفت‌کش‌ها

آفت‌کش‌های آلی کلردار و فسفردار ترکیباتی هستند که برای سلامتی و محیط زیست مضر هستند. بنابراین ضروری است که مقادیر آنها در آب آشامیدنی، آب‌های سطحی و سایر محیط‌ها پایش و اندازه‌گیری شود [۱۳]. اگر چه ترکیبات آلی فسفردار نسبت به ترکیبات آلی کلردار مقاومت و پایداری کمتری در محیط زیست دارند، اما این ترکیبات می‌توانند در زنجیره غذایی تجمع پیدا کنند و باعث ایجاد خطرات برای سلامتی انسان شوند [۱۴]. ترکیبات آلی کلردار مواد شیمیایی سنتزی و جزء آلاینده‌های مقاوم در نمونه‌های محیط آبی هستند [۱۵]. بنابراین به خاطر سمیت و تجمع آنها،

برای بسیاری از کاربردها ممنوع و یا محدود شده است. مطالعات نشان می‌دهد که آفت‌کش‌های کلردار اثرات مخرب در سیستم ایمنی داشته و باعث افزایش بیماری سرطانی شده است [۱۶]. در گزارش فالک^۱ و همکارانش [۱۷] اشاره شده است که این ترکیبات سبب گسترش سرطان‌های پستان در زنان شده است. علت این بیماری را به برهم‌کنش‌های احتمالی این ترکیبات با گیرنده‌های استروژن نسبت داده‌اند. بسیاری از ترکیبات آلی کلردار، به دلیل اثرات مخرب و دارا بودن پتانسیل ایجاد بیماری سرطانی و موتاژنی جزء ترکیبات ممنوعه طبقه بندی شده اند [۱۸]. اگر چه این ترکیبات از جمله لیندن، آلدین، دی‌الدین چندین سال است که مصرف آنها ممنوع شده است، اما به دلیل مقاومت و پایداری بسیار بالا و خواص چربی‌دوستی آنها هنوز در بسیاری از نمونه‌های زیست محیطی یافت شده است [۱۹-۲۲]. بعضی از مطالعات حضور این ترکیبات آلاینده را نه تنها در آب‌های سطحی و زیر زمینی بلکه در آب‌های آشامیدنی و آب باران و حتی یخ‌های کوهها را نیز اثبات نموده‌اند [۲۳، ۲۵]. ترکیبات آلی کلردار که ممنوع شده اند جای خود را به ترکیبات آلی فسفردار داده اند. این ترکیبات به دلیل قیمت پایین‌تر، دسترسی بودن و کارایی بهتر و پایداری کمتر در محیط زیست نسبت به ترکیبات آلی کلردار در سطح وسیع تری استفاده می‌شود [۲۵]. ترکیبات آلی فسفردار و نیتروژن دار در موجودات زنده به عنوان بازدارنده گیرنده‌های عصب نقش دارند. مطالعات انجام گرفته در آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا (USEPA) نشان داده است که در فرایند تصفیه آب و کلرزنی آن، اتم گوگرد که با پیوند دوگانه به اتم فسفر متصل است، با اکسیژن جابجا می‌شود که در این عمل درجه سمیت این ترکیبات بیشتر می‌شود. این مطالعه آورده است که درجه سمیت مالاتیون بیش از ۱۰۰ برابر و درجه سمیت دیازینون بیش از ۱۰ برابر افزایش یافته است [۲۶]. بنابراین اندازه‌گیری این آفت‌کش‌ها در آب و نمونه‌های محیطی برای حل بسیاری از مشکلات بیولوژیکی و زیست محیطی ضروری است.

^۱-Falck

۱-۵- مروری بر کارهای انجام شده در اندازه‌گیری ترکیبات آلی کلردار و فسفردار

امروزه به طور گسترده اندازه‌گیری ترکیبات آلی در آب، خاک، نمونه‌های محیطی و بیولوژیکی پس از آماده‌سازی نمونه به روش‌های مختلف، انجام می‌گیرد. در این بخش چند مورد از کارهای انجام شده در اندازه‌گیری‌های ترکیبات آلی کلردار و فسفردار در نمونه‌های مختلف به روش‌های تجزیه ای به طور اجمالی توصیف می‌شود.

در سال ۲۰۰۵ کی. کونکا^۱ و همکارانش از روش استخراج با فاز جامد برای اندازه‌گیری بی‌فیل-های کلردار و ترکیبات آلی کلردار استفاده نموده است [۲۷].

در سال ۲۰۰۷، شوو ونگ^۲ و همکارانش، از نانو لوله کربنی چند دیواره و روش استخراج با فاز جامد برای اندازه‌گیری ۱۲ نوع سم از جمله اتیون و متوکسی کلر در نمونه‌های آبی استفاده کردند و پارامترهای موثر بر استخراج را بررسی نمودند. آنها حد تشخیص روش را در گستره ۰/۰۳ - ۰/۰۱ میکرو گرم بر لیتر و مقادیر بازیابی را ۷۳/۱۰ - ۸۲٪ گزارش کردند [۲۸].

در سال ۲۰۰۸ سانچز برون^۳ و همکارانش، با استفاده از روش استخراج با فاز جامد پخشی به وسیله آلومینا، ۱۶ نوع ترکیب آلی کلردار از جمله هپتاکلر، لندان، هگزاکلرو بنزن، آلدین و ... را در فاضلاب اندازه‌گیری نمودند. آنها مقادیر حد تشخیص روش را در گستره ۰/۰۵ - ۰/۰۸ میکرو گرم بر لیتر گزارش داده اند [۲۹].

در سال ۲۰۰۸، کاتسوما و همکارانش^۴، از نانو لوله کربنی چند دیواره^۵ برای استخراج دیازینون در نمونه‌های آب شرب استفاده نمودند. سپس با استونیتریل آنالیت‌ها را واجذب نموده و با استفاده از روش کرماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)^۶ همراه با آشکارساز UV^۱ اندازه‌گیری نمودند. در شرایط بهینه شده مقدار حد تشخیص را ۰/۰۶ میکرو گرم بر لیتر گزارش کردند [۳۰].

^۱ - K. Conka

^۲ - Shou Wange

^۳ - Sanchez Brunete

^۴ - Katsuma

^۵ - Multi-walled carbon nanotubes (MW-CNTs)

^۶ - High performance liquid chromatography (HPLC)

در سال ۲۰۰۸، ال. ام. راولو پروز^۲ و همکارانش، از تکنیک استخراج با فاز جامد و جاذب نانو لوله کربن چند دیواره برای اندازه‌گیری همزمان ۷ نوع سموم فسفره از جمله دیازینون و مالاتیون در نمونه‌های آب شرب معدنی و آب‌های سطحی استفاده کردند. آنها در تحقیق خود از ۴۰/۰ میلی گرم جاذب نانو لوله کربن و ۸۰۰ میلی لیتر نمونه آب با ۲۰/۰ میلی لیتر حلال دی‌کلرومتان استفاده نمودند و مقادیر بازیابی را در گستره ۱۱۹٪ - ۴۰٪ گزارش دادند [۳۱].

راولو پروز و همکارانش همچنین در سال ۲۰۰۸، با استفاده از ۴۰/۰ میلی گرم جاذب نانو لوله کربنی چند دیواره، تعداد ۸ نوع از ترکیبات فسفردار در آب میوه را جداسازی و پیش تغلیظ نمودند. نمونه استخراج شده را توسط دستگاه تجزیه‌ای کروماتوگرافی گازی همراه با آشکارساز نیتروژن-فسفر اندازه‌گیری نموده و حد تشخیص روش را در گستره ۱/۸۵-۷/۳۴ میکرو گرم بر لیتر گزارش کردند [۳۲].

جی پینگ ما^۳ و همکارانش در سال ۲۰۰۹، با استفاده از ستون‌های تجاری جاذب با فاز جامد اکتا دسیل‌سولفونات ODS (۲۵۰ میلی گرم بر ۲ میلی لیتر از شرکت آلگا^۴) و ستون جاذب LC-۱۸ (۲۵۰ میلی گرم بر ۲ میلی لیتر از شرکت ساپلکو^۵) با روش استخراج با فاز جامد، ۴ نوع ترکیب فسفردار شامل دیکلوروف^۶، متیل پاراتیون، مالاتیون و پاراتیون را در آب‌های سطحی جداسازی و پیش تغلیظ انجام داده و با دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با آشکارساز اسپکترومتر جرمی شناسایی و اندازه‌گیری نمودند. در این مقاله گستره خطی روش ۰/۱-۲/۰ میلی گرم بر لیتر و مقادیر بازیابی در گستره ۷۷٪ - ۵۹/۵٪ گزارش شده است [۳۳].

^۱ - Ultra violet (UV)

^۲ - L. M. Ravelo- Perez

^۳ - Jiping Ma

^۴ - Alega company

^۵ - Suppelc company

^۶ - Dichlorov

در سال ۲۰۰۹ وای. دی. آل دگز^۱ و همکارانش، از تکنیک استخراج با فاز جامد و جاذب نانو لوله کربن برای اندازه گیری همزمان سموم آترازین، متیداتیون و پروپوکسور در نمونه‌های آب شرب و مخازن آبی استفاده کرده است [۳۴].

در سال ۲۰۰۹ کیو. لی^۲ و همکارانش، استفاده از نانو لوله‌های کربنی چند دیواره و نانو لوله‌های کربنی تک دیواره^۳ اکسید شده توسط هوا، را برای جداسازی و پیش تغلیظ ۶ نوع از ترکیبات فسفردار در آب پیشنهاد دادند. فرآیند اکسید کردن نانو لوله کربن سبب القای گروه‌های عاملی قطبی در سطح جاذب شده و باعث بهبود توانایی در جذب ترکیبات آلی می‌شود. نمونه استخراج شده را توسط دستگاه تجزیه‌ای کروماتوگرافی گازی با آشکارساز فتومتری شعله‌ای اندازه گیری نموده و حد تشخیص روش را در گستره ۰/۱۲ - ۰/۰۷ میکرو گرم بر لیتر گزارش کرده اند [۳۵].

در سال ۲۰۱۲، یوان یوان کی^۴ و همکارانش، با استفاده از فیبر گرافن^۵ پوشش داده شده بر روی سیم استیل به روش میکرو استخراج با فاز جامد^۶، سموم آلی کلردار شامل هگزاکلرو بنزن، هپتاکلر، آلدین، کلردان، اندرین و د.د.ت را جداسازی، پیش تغلیظ و اندازه‌گیری نمودند. گستره خطی در این روش ۰/۰۱-۱ میکرو گرم بر لیتر برای هگزاکلروبنزن و ۰/۱-۱۰۰ میکروگرم بر لیتر برای هپتاکلر و آلدین گزارش شده است [۳۶].

در سال ۲۰۱۲، حسن سرشتی^۷ و همکارانش، برای پیش تغلیظ ۱۳ نوع سموم اورگانو فسفره در نمونه های آب، روش های استخراج با فاز جامد و سپس میکرو استخراج مایع- مایع پخشی را بکار بردند، و سپس با دستگاه کروماتوگرافی گازی اندازه‌گیری نمودند. آنها در این تحقیق ترکیبات فسفردار از جمله دیازینون، مالاتیون، فوزالون^۸، فنتیون^۱ و اتیون از نمونه‌های آبی به حجم ۱۰۰ میلی

^۱ - Y.D. Al-Degs

^۲ - Q. Li

^۳ - Single-walled carbon nanotubes(MW-CNTs)

^۴ - Yuanyuan Ke

^۵ - Graphene

^۶ - Solid phase microextraction (SPME)

^۷ - Hassan Sereshti

^۸ - Phosalone

لیتر را توسط ستون‌های فاز جامد تجاری (ستون ۱۰۰ میلی گرمی C₁₈ شرکت واریان^۲) تغلیظ و جداسازی نمودند [۳۷].

حبیب باقری^۳ و همکارانش در سال ۲۰۱۲، با روش میکرو استخراج با فاز جامد پر شده در سرنگ و با تهیه جاذب نانو کامپوزیت^۴ پلی‌دی‌فنیل‌آمین، ۱۴ نوع ترکیبات و سموم آلی از جمله آترازین، لیندان، دی‌اینون، اتیون و ... را در نمونه‌های زیست محیطی اندازه‌گیری کردند. آنها با استفاده از روش اکسید کردن دی‌فنیل‌آمین در محلول سولفوریک اسید حاوی نانو لوله کربن به مقدار ثابت و در حضور ستیل تری متیل آمونیم برمید (CTBA^۵)، نانو کامپوزیت ملغمه شده با پلی‌دی فنیل آمین تهیه کردند. این ترکیب نانو کامپوزیتی به عنوان فاز جاذب در روش میکرو استخراج با فاز جامد پر شده در سرنگ استفاده شد [۳۸]. ایشان و همکارانش، همچنین در سال ۲۰۱۲، با استفاده از شبکه پلیمری نانو سیم پلی آنیلین به عنوان فاز جاذب قوی و با روش میکرو استخراج با فاز جامد پر شده در سرنگ (MEPS)^۶، ۱۱ نوع سم شامل ترکیبات آلی کلردار و فسفردار از جمله آترازین، لیندان، دی‌ازینون و اتیون را در نمونه‌های آبی استخراج و پیش تغلیظ نموده و با روش دستگاهی کروماتوگرافی گازی همراه با آشکارساز اسپکترومتري جرمی اندازه‌گیری نمودند [۳۹]. حد تشخیص را در گستره ۰/۳ - ۰/۰۷ میکرو گرم بر لیتر و گستره خطی دینامیکی را ۲۰۰ - ۰/۵ میکرو گرم بر لیتر گزارش نموده و بازیابی روش را نیز ۱۰۶٪ - ۶۶٪ ثبت نمودند.

در سال ۲۰۱۲، علی مهدی نیا^۷، استفاده از روش میکرواستخراج با فاز جامد بر پایه پیرول سولفون شده برای اندازه‌گیری ترکیبات لیندان، هپتاکلر، آلدین و اندوسولفان را ارائه نمود [۴۰].

در سال ۲۰۱۳، گلوریا گ. ناچ^۱ و همکارانش، با استفاده از جاذب‌های تجاری از نوع C₁₈ و به روش میکرو استخراج با فاز جامد پر شده در سرنگ، به جداسازی و پیش تغلیظ ترکیبات کلروبنزن از

^۱ - Phenthion

^۲ - Varian company

^۳ - Habib Bagheri

^۴ - Nanocomposite

^۵ - Cetyltrimethylammonium bromide(CTAB)

^۶ - Microextraction in packed syringe (MEPS)

^۷ - A. Mehdinia

جمله هگزاکلو بنزن در نمونه های آبی پرداخته و با روش تجزیه ای کروماتوگرافی گازی و آشکارساز اسپکترومتری جرمی، اندازه گیری کردند [۴۱].

در سال ۲۰۱۳، ام . ای گونزالز کاربلو^۲، با استفاده از روش استخراج با فاز جامد و جاذب نانولوله کربنی چند دیواره، ۱۵ نوع سم فسفره از جمله دیازینون و مالاتیون در آب را با دستگاه کروماتوگرافی گازی و آشکارساز نیتروژن- فسفر اندازه گیری کردند. آنها در این روش از ۱۳۰ میلی گرم جاذب و ۲۰۰ میلی لیتر نمونه آب برای استخراج سموم استفاده کرده و با ۲۵ میلی لیتر حلال دی کلو متان واجذب و شویش کردند. همچنین حدود تشخیص روش را در گستره ۹۳/۶ – ۱/۱۶ نانوگرم بر لیتر و بازیابی را در گستره ۱۰۷٪ - ۶۷٪ گزارش نمودند [۴۲].

مهدی نیا همچنین در سال ۲۰۱۴، پیش تغلیظ و اندازه گیری آلی کلردار در نمونه های آب دریا را با استفاده از روش استخراج با فاز جامد بر پایه ترکیبات نانو پلی پیرو^۳ و پلی آنیلین^۴، و اندازه گیری با دستگاه تجزیه ای کروماتوگرافی گازی و آشکارساز اسپکترومتری جرمی^۵ گزارش کرده است. در تحقیق ایشان، جاذب از جنس پلی پیرو^۳ و پلی آنیلین^۴ به عنوان فاز جامد برای استخراج ترکیبات استفاده شده است. گستره خطی اندازه گیری این روش ۵/۰-۲۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر برای ترکیبات آلی کلردار شامل هپتاکلر، آلدین، دی آلدین، اندرین و د.د.ت گزارش شده است. حد تشخیص روش نیز برای ترکیبات فوق به ترتیب ۰/۳۹، ۰/۲۸، ۰/۴۷، ۰/۵۱ و ۰/۳۱ میکروگرم بر لیتر به ثبت رسیده است [۴۳].

در سال ۲۰۱۵، شیان لی^۶، از جاذب C_{۱۸} در روش استخراج با فاز جامد، برای اندازه گیری ۶ نوع ترکیب آلی کلردار از جمله هگزاکلو بنزن در نمونه های آبی استفاده نموده است. در این روش، حد تشخیص برای هگزاکلو بنزن برابر ۰/۱۵ میکرو گرم بر لیتر گزارش شده است [۴۴].

^۱ - Gloria. G. Nach

^۲ - M. Angel Gonza ´lez- Carbelo

^۳ - Polypyrrole

^۴ - Polyaniline

^۵ - Gas chromatography- Mass spectrometry detector (GC-MS)

^۶ - Siyan. Li

در سال ۲۰۱۵، لی^۱ و همکارانش، با استفاده از جاذب C_{18} و روش استخراج با فاز جامد، ترکیبات آلی کلردار در آب را با روش تجزیه‌ای کروماتوگرافی گازی همراه با آشکارساز اسپکترومتری جرمی اندازه‌گیری نموده‌اند. در این مقاله گستره خطی روش ۲/۰-۵۰۰/۰ میکروگرم بر لیتر و حد تشخیص ۰/۰۵-۰/۵ نانوگرم بر لیتر گزارش شده است [۴۵].

۱-۶- آماده سازی نمونه

طی سالهای گذشته در بسیاری از کشورهای پیشرفته و در حال توسعه، انواع مختلفی از مواد شیمیایی در صنایع مختلف تولید و مصرف شده‌اند. این مواد به صورت پساب و به روش‌های مختلف وارد محیط زیست گردیده و امروزه اثرات نامطلوب این مواد بر روی سلامتی بشر مشخص شده است. بنابراین شناسایی و اندازه‌گیری این ترکیبات جهت کنترل خطرات زیست محیطی ناشی از آنها یک اقدام اساسی و مهم است. در طی دهه‌های گذشته، تلاش‌های زیادی در زمینه توسعه و ابداع روش‌های نوین به منظور اندازه‌گیری این مواد سمی و سرطان‌زا صورت گرفته است. از آن جایی که ارائه این مواد در نمونه‌های حقیقی به همراه بافت نمونه و زمینه به دستگاههای تجزیه‌ای ممکن نیست و از طرفی این دستگاهها قابلیت تشخیص غلظت‌های بسیار کم را ندارند، لذا روش‌های آماده‌سازی نمونه در طی دهه‌های اخیر رشد چشمگیری پیدا کرده‌اند [۴۶].

غلظت پایین ترکیبات در آب و نمونه‌های زیست محیطی و بافت پیچیده برخی از نمونه‌ها، سبب می‌شوند که در کارهای تجزیه‌ای قبل از جداسازی و اندازه‌گیری ترکیبات، مراحل آماده‌سازی نمونه‌ها که امری ضروری است، انجام گیرد. آماده‌سازی نمونه مرحله‌ای اساسی و ضروری در اندازه‌گیری‌های تجزیه‌ای است که به مفهوم تبدیل بافت واقعی به نوعی نمونه است که برای اندازه‌گیری‌های تجزیه‌ای مناسب باشد. آماده‌سازی نمونه اغلب وقت‌گیر، کسل‌کننده، و از نظر زمانی یک عامل محدود کننده در اندازه‌گیری ترکیبات مورد نظر است. بنابراین کاهش زمان مرحله آماده‌سازی نمونه‌ها برای شیمی‌دانان

^۱ - Xe. J. Li

اهمیت زیادی دارد و باید با یافتن تکنیک‌های جدید آن را کاهش داد. آماده‌سازی نمونه به دلایل زیر انجام می‌گیرد [۴۷]:

- ✓ تبدیل گونه به فرم مناسب تر برای جداسازی و تشخیص بهتر
 - ✓ حذف مزاحمت‌ها به خصوص مزاحمت های ناشی از بافت نمونه در مراحل جداسازی و تشخیص نمونه که این کار عمل گزینش پذیری روش را نیز افزایش می دهد.
 - ✓ تغلیظ آنالیت به منظور اندازه‌گیری مقادیر کم آن.
- یکی از این قدیمی‌ترین روش‌های آماده‌سازی نمونه، فرایند استخراج است که در آن آنالیت‌ها به کمک یک حلال مناسب از بافت نمونه جدا می‌شوند [۴۸].

۷-۱- استخراج

فرآیند استخراج از اساسی‌ترین روش آماده‌سازی نمونه می‌باشد که به منظور جدا کردن و پیش-تغلیظ مقادیر اندک آنالیت از بافت نمونه (جامد، مایع، گاز) بکار می‌رود. یک روش استخراج ایده‌آل روشی است که سریع، ساده، ارزان و تکرارپذیر بوده و از بازیابی کمی خوبی برای آنالیت مورد نظر برخوردار باشد، بدون اینکه آنالیت را از دست داده و یا تخریب نماید. همچنین این روش باید با حجم کم نمونه انجام پذیرد، از گزینش پذیری بالایی برخوردار بوده و استفاده از حلال در آن به حداقل برسد. بعلاوه اینکه از قابلیت خودکارسازی و استفاده به صورت پیوسته برخوردار باشد و نیازی به تغلیظ و یا کاهش حجم فاز استخراجی (حلال) نیز نداشته باشد [۴۹].

در تمامی روش‌های تجزیه‌ای، برای راحتی و سرعت بیشتر انجام مراحل آزمایش، همواره این تمایل وجود دارد که سیگنالی به دست آید که با غلظت آنالیت مورد نظر در نمونه رابطه مستقیم داشته باشد، اما متأسفانه روش‌های تجزیه‌ای به اندازه کافی از گزینش پذیری و حد تشخیص مناسب برخوردار نیستند. مشکل دیگر روش‌های تجزیه ای این است که آنالیت‌ها همیشه دارای غلظت مناسب برای اندازه‌گیری‌ها نمی‌باشد. بنابراین در اغلب روش‌ها و اندازه‌گیری‌های تجزیه‌ای یک مرحله

جداسازی یا پیش تغلیظ و به طور کلی آماده‌سازی نمونه الزامی است. تجهیزات مورد نیاز برای جداسازی و پیش تغلیظ به روش اندازه‌گیری و به نوع نمونه مورد نظر بستگی دارد [۵۰].

۸-۱- روش‌های استخراج

استحصال یک گونه‌ی شیمیایی از نمونه‌های طبیعی یا آزمایشگاهی به منظور آنالیز شیمیایی یا خالص‌سازی برای اهداف کاربرد دارویی، خوراکی و صنعتی آنها مستلزم حذف سایر گونه‌های شیمیایی همراه در داخل نمونه است. به بیان دیگر همواره لازم است که گونه‌ی شیمیایی مورد نیاز خالص‌سازی شده سپس برای اهداف نامبرده مورد استفاده قرار گیرد. کلیه‌ی اعمال و فرایندهای فیزیکی یا شیمیایی که در این راستا به کار می‌روند، به نام روش‌های جداسازی نامیده می‌شوند. از روش‌های جداسازی می‌توان ته‌نشینی، بلورسازی مجدد، انجماد، تبخیر، تقطیر، استخراج مایع-مایع، استخراج فاز جامد، استخراج قطره‌ای، میکرواستخراج با فاز جامد، استخراج با گاز، مبادله‌ی یونی، جذب سطحی، کروماتوگرافی، الکتروکروماتوگرافی، الکترودیالیز، دیالیز و ... نام برد. یکی از روش‌های کلاسیک استخراج بر پایه توزیع انتخابی گونه تجزیه شونده یا مزاحم بین دو فاز غیر قابل امتزاج در هم می‌باشد که از مهمترین روش‌ها، استخراج مایع-مایع (LLE)^۱ [۵۱] و استخراج بر روی فاز جامد (SPE)^۲ است [۵۲ و ۵۳].

۸-۱-۱- استخراج مایع - مایع

استخراج مایع-مایع که به آن استخراج با حلال نیز می‌گویند، استخراج توسط یک حلال آلی غیرقابل امتزاج با آب صورت گرفته و پس از انجام استخراج، با حرارت دادن حلال را تبخیر کرده و گونه‌ها را تغلیظ می‌کنند. از استخراج مایع-مایع به طور گسترده‌ای به عنوان یک تکنیک آماده‌سازی

^۱ - Liquid-liquid extraction (LLE)

^۲ - Solid-phase extraction (SPE)

برای جداسازی و پیش تغلیظ آنالیت‌های آلی و معدنی در نمونه‌های آبی استفاده می‌شود. با این وجود این تکنیک دارای چندین نقطه ضعف از جمله تشکیل امولسیون، استفاده از حجم زیاد حلال، وقت گیر بودن و دشواری در اجرای روش می‌باشد. از این رو تلاش‌های زیادی انجام گرفت تا اینکه استخراج مایع-مایع با روش‌های میکرواستخراج جایگزین شود [۵۴].

از روش‌های میکرو استخراج با فاز مایع می‌توان تکنیک‌های زیر را نام برد:

الف) میکرواستخراج قطره‌ای تنها^۱ [۵۵]

ب) میکرواستخراج فاز مایع با فیبر توخالی^۲ [۵۶ و ۵۷]

ج) میکرو استخراج فاز مایع-مایع پخشی^۳ [۵۸]

۱-۸-۲- استخراج با فاز جامد

این روش برای اولین بار در سال ۱۹۵۰ برای آنالیز آنالیت‌های آلی در آب انجام شد که در این روش از ترکیبات کربنی به عنوان جاذب و از حلال‌های آلی به عنوان فاز شویشی استفاده شده است. در کاربردهای روتین، بیشتر جاذب‌ها به شکل‌های ستونی و یا صفحه‌ای می‌باشند. مکانیسم استخراج با فاز جامد همانند استخراج مایع-مایع می‌باشد. استفاده از ستون‌های تجاری استخراج با فاز جامد در سال ۱۹۷۰ معرفی شد، که شمایی از آن در شکل (۱-۴) نشان داده شده است. از آن زمان این روش به سرعت رشد کرده و به طور موفقیت‌آمیزی از فازهای سیلیکاژل پیوندی نیز به عنوان جاذب استفاده شده است [۵۹]. شکل (۱-۴) انواع قالب‌های مختلف ستون مورد استفاده در استخراج با فاز جامد را نشان می‌دهد [۵۹].

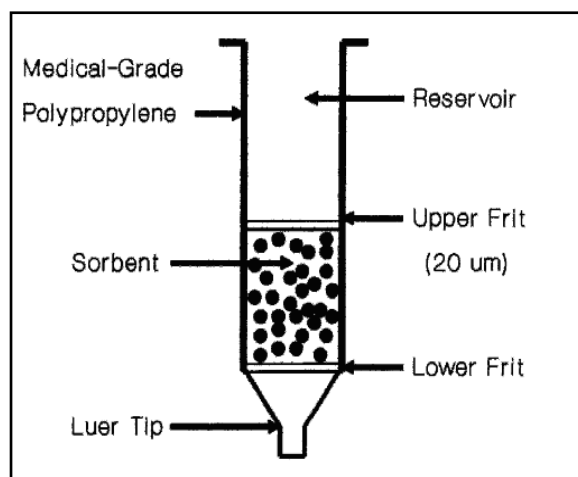
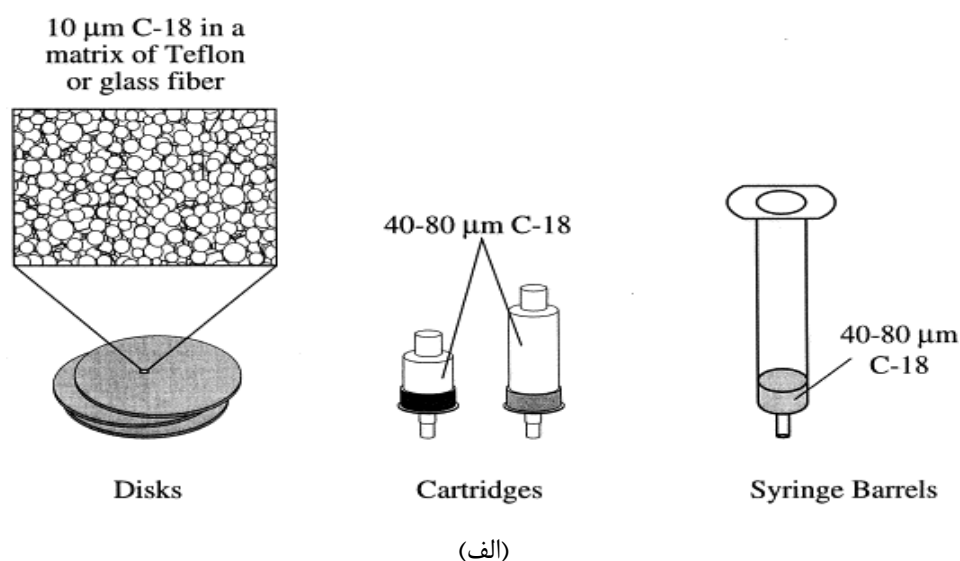
استخراج با فاز جامد یکی از پرکاربردترین تکنیک‌های تهیه و آماده‌سازی نمونه‌ها و پیش‌تغلیظ آنالیت‌ها در تجزیه نمونه‌های زیست محیطی می‌باشد. پایه و اساس این تکنیک، جذب آنالیت‌ها از فاز

^۱ - Single drop micro extraction (SDME)

^۲ - Hollow fiber liquid – phase microextraction (HF-LMPE)

^۳ - Dispersive Liquid – liquid microextraction (DLLME)

آبی به داخل جاذب است. آنالیت‌ها سپس با حلال آلی مناسب شویش شده و با دستگاه‌های تجزیه‌ای مثل کروماتوگرافی گازی، کروماتوگرافی مایعی با کارایی بالا و ... ، اندازه‌گیری می‌شوند. در مقایسه با روش‌های قدیمی استخراج مایع-مایع، این تکنیک بسیار ساده‌تر و به حجم کمتری از حلال‌های آلی نیاز دارد. بنابراین ضرورتی ندارد که مقدار زیادی از حلال آلی تبخیر شود تا حجم آن کمتر و در نتیجه فاکتور تغلیظ افزایش یابد [۶۰].



شکل (۴-۱) ستون‌های مورد استفاده در استخراج فاز جامد: (الف) انواع قالب‌های ستون، (ب) مشخصات ستون [۵۹]

۱-۸-۲-۱- دلایل جایگزینی استخراج مایع - مایع با استخراج با فاز جامد

- ۱- نیاز به مقدار زیاد حلال آلی را حذف می‌کند.
- ۲- در این روش برای انتقال آنالیت یک کارتریج کوچک نیاز است در حالی که استخراج مایع-مایع به بطری‌های شیشه‌ای زیاد آزمایشگاهی نیاز دارد.
- ۳- استفاده از این روش آسان است و با استفاده از یک کارتریج تنها انجام می‌شود.
- ۴- ذرات چربی تشکیل شده در آب در استخراج مایع-مایع برای نمونه‌های بیولوژیکی و آب فاضلاب مشکل‌ساز می‌باشد.
- ۵- کارتریج مورد استفاده در این روش نسبتاً ارزان است و حدوداً ۱۰-۵ برابر پایین‌تر از قیمت مربوط به استخراج مایع-مایع می‌باشد و همچنین این کارتریج‌ها می‌توانند بازیابی شده و برای آزمایش‌های دیگر استفاده شوند.
- ۶- کارتریج ساخته شده از جنس پلی‌پروپیلن می‌باشد، بنابراین آلودگی که رخ می‌دهد بسیار کمتر از ظروف شیشه‌ای می‌باشد.
- ۷- انعطاف‌پذیری استخراج با فاز جامد بیشتر از استخراج مایع-مایع می‌باشد. حلال‌های قابل دسترس برای این روش بسیار فراوان است، اما برای استخراج مایع-مایع محدود می‌باشد [۶۱].

۱-۸-۲-۲- هدف از استخراج با فاز جامد

به طور کلی می‌توان گفت که استخراج فاز جامد به عنوان یک روش ساده و ایمن جانشین مناسبی برای استخراج مایع-مایع می‌باشد. مزایای استخراج فاز جامد شامل بازیابی بالای آنالیت، خالص سازی مواد استخراج شده، خودکارشدن آسان، تطابق و سازگاری با کروماتوگرافی و کاهش مصرف حلال‌های آلی می‌باشند، و لذا کاربردهای وسیعی را در آماده سازی نمونه‌های زیست محیطی، کلینیکی و داروسازی پیدا کرده است. پیشرفت‌های اخیر در زمینه ایجاد روش‌های پیوسته، امکان خودکارسازی فرآیند آماده سازی نمونه و انتقال مستقیم آن به کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی مایعی را فراهم

نموده است. خودکار کردن روش استخراج فاز جامد دارای مزایایی از قبیل ایمنی بیشتر، نتایج بهتر و قیمت کمتر می باشد. با این کار می توان آنالیت را از نمونه های بیولوژیکی نظیر خون، سرم و ادرار که ممکن است حاوی ویروس و مواد خطرناکی باشند جدا کرد. بنابراین می توان مزایای روش را به شرح زیر خلاصه کرد [۶۲].

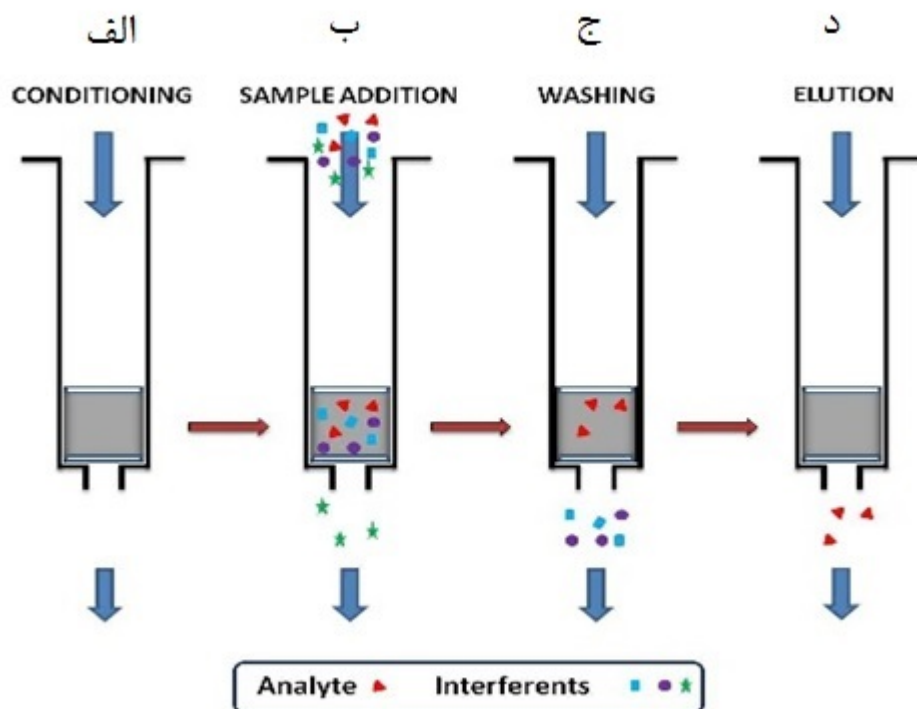
- ۱- فاز جاذب جامد است.
- ۲- مقادیر مصرفی حلال آلی ناچیز است.
- ۳- فاکتور تغلیظ بالاست.
- ۴- امکان تغلیظ نمونه ی رقیق شده وجود دارد.
- ۵- امکان استفاده آسان و خودکار سازی با سایر دستگاه های تجزیه ای وجود دارد.
- ۶- مواد مورد استفاده، آلوده کننده های محیط زیست نمی باشند.
- ۷- با محیط زیست سازگار می باشد.
- ۸- قابلیت خودکار سازی دارد.

۱-۸-۲-۳- خصوصیات فاز جامد [۶۲]

- ۱- پایداری شیمیایی داشته باشد.
- ۲- قابلیت جذب و واجدبی انتخابی داشته باشد.
- ۳- اندازه ی ذرات کوچک باشد تا سطح تماس بیشتر باشد.
- ۴- فرآیند جذب و واجذب تکرارپذیر باشد.
- ۵- فاز جامد جاذب خالص بوده و ناخالصی نداشته باشد.

۱-۸-۲-۴- جنبه‌های عملی و مراحل استخراج با فاز جامد

روش استخراج با فاز جامد، به طور کلی شامل مراحل آماده سازی، استخراج، شستشوی مزاحمت-ها و شویش آنالیت‌ها است که در زیر توضیح داده می شوند [۶۳]. شکل (۵-۱) مراحل روش استخراج با فاز جامد را نشان می‌دهد.



شکل (۵-۱) مراحل عملی استخراج با فاز جامد [۶۲]
الف: آماده سازی ب: استخراج و بازداری ج: شستشوی مزاحمت‌ها د: شویش آنالیت

۱-۸-۲-۴-۱- آماده‌سازی

این مرحله برای آماده کردن فاز جامد جهت برهمکنش کامل و تکرارپذیر آن با نمونه صورت می‌گیرد. قبل از مرحله جذب، فاز جامد با یک حلال مناسب شسته می‌شود تا با مرطوب شدن سطح جاذب، گروه‌های عاملی سطح جاذب حلال پوشی شوند. برای آماده‌سازی فاز جامد، یک حلال آلی از میان فاز جامد در داخل کارتریج عبور داده می‌شود. فاز جاذب، جامد خشک است که اغلب دارای زنجیرهای C_{18} است که این کربن‌ها در هم فرو رفته‌اند و بایستی باز شوند تا مقدار روزنه‌هایی که

آنالیت‌ها در آن قرار می‌گیرد به بیشترین مقدار برسد، برای این کار، حلال آلی می‌تواند متانول یا اتانول باشد. مثلاً برای آماده‌سازی یک فاز جامد حامل C_{18} ، ابتدا با متانول و سپس با آب شستشو داده می‌شود.

۱-۸-۲-۴-۲- جذب آنالیت روی فاز جامد

در مرحله دوم استخراج با فاز جامد، نمونه مورد نظر را توسط مکش (خلا کم)، فشار یا پمپ کردن، آرام آرام و به طور پیوسته به داخل فاز جامد عبور می‌دهند تا گونه مورد نظر طی برهم‌کنشی که با ذرات جامد دارد روی آن جذب می‌شود. در این مرحله باید توجه کرد که جریان عبور محلول از ستون سرعت مناسب داشته باشد.

۱-۸-۲-۴-۳- شستشو

احتمال دارد که در مرحله جذب و استخراج ترکیبات مورد نظر، تعدادی از ترکیبات ناخواسته بازداري شده و همراه با آنالیت شویش داده شوند. برای حداقل کردن این تداخلات که در مرحله اندازه‌گیری ممکن است ایجاد شود، یک یا چند مرحله شستشو بین مراحل بازداري و شویش لازم است. شستشو باید به وسیله‌ی حلالی مناسب انجام گیرد که خود آنالیت را نمی‌شوید، بلکه مزاحمت‌هایی که همراه با آنالیت در فاز جامد جذب شده‌اند را پاک می‌کند. در این مرحله نیاز به تنظیم pH وجود دارد، برای مثال اگر شویش آنالیتی در pH قلیایی صورت گیرد مرحله شستشو باید دارای محیط اسیدی باشد.

۱-۸-۲-۴-۴- شویش

در این مرحله آنالیت‌های جذب شده بر روی جاذب توسط یک حلال مناسب شویش شده و به یک فاز مایع برای کارهای تجزیه‌ای منتقل می‌شوند. این شوینده می‌تواند یک حلال آلی، یک اسید

یا باز، یا مخلوطی از این‌ها باشد. در این مرحله معمولاً از حلال‌های آلی از جمله متانول [۶۴-۶۶]، اتیل استات [۶۷ و ۶۸]، دی‌کلرو متان [۶۹-۷۱]، و مخلوط متانول و آب [۷۲-۷۴]، متانول و استونیتریل [۷۵ و ۷۶]، استونیتریل و آب [۷۷]، استفاده می‌شود.

۱-۸-۲-۵- عوامل موثر بر استخراج با فاز جامد

۱- pH محلول: برای حذف کامل مزاحمتها و استخراج انتخابی آنالیتها بایستی pH نمونه، بهینه-سازی شود.

۲- نوع حلال: بسته به نوع آنالیت در جداسازی، حلالهای مختلف مورد استفاده قرار میگیرد.

۳- حجم حلال واجذبی: مقدار حلال واجذبی هر چه کمتر باشد، فاکتور تغلیظ افزایش می یابد.

۴- حجم نمونه: هرچه مقدار نمونه عبوری از فاز جامد بیشتر باشد، آنالیت بیشتری جذب می‌شود، فاکتور تغلیظ بیشتر می‌شود.

لازم به یادآوری است که هر چه مقدار آنالیت جذبی با مقدار واجذبی آن از جاذب برابر باشد، مقدار بازده استخراج افزایش می‌یابد. [۷۹].

۱-۸-۳- روش های میکرو استخراج

میکرو استخراج به روش‌هایی اطلاق می گردد که در آنها حجم فاز استخراجی بسیارکوچکتر از حجم نمونه است و بنابراین به دلیل ظرفیت پایین فاز استخراجی، استخراج به طور کامل صورت نمی‌گیرد و فقط کسر کوچکی از نمونه به داخل فاز استخراج کننده منتقل می‌شود [۷۹].

روش‌های معمول استخراج شامل مراحل متعددی بوده و انجام آنها مستلزم مصرف مقادیر زیاد و در بعضی موارد انواع متفاوتی از حلال‌های آلی با درجه خلوص بالا می باشد که اکثراً سرطان‌زا و سمی و گران بوده و تاثیرات بدی بر سلامت انسان و محیط زیست دارند. از این رو، در دهه‌های اخیر تلاش‌های زیادی شده است تا روش‌های آماده‌سازی نمونه را بهبود بخشند و در زمان، هزینه و کار صرفه

جویی کنند. همچنین این روش‌ها مستقل از حلال بوده و یا با حجم کمی از حلال انجام می‌گیرند و از حساسیت خوبی نیز برخوردار می‌باشند. مینیاتوری کردن روش و کم کردن حلال‌های مصرفی راهگشای این مشکلات بود تا اینکه روش‌های میکرو استخراج ابداع شدند. بهترین روش‌های میکرو استخراج به دو دسته کلی میکرو استخراج با فاز مایع (LPME)^۱ و میکرو استخراج با فاز جامد (SPME)^۲ طبقه بندی می‌شوند.

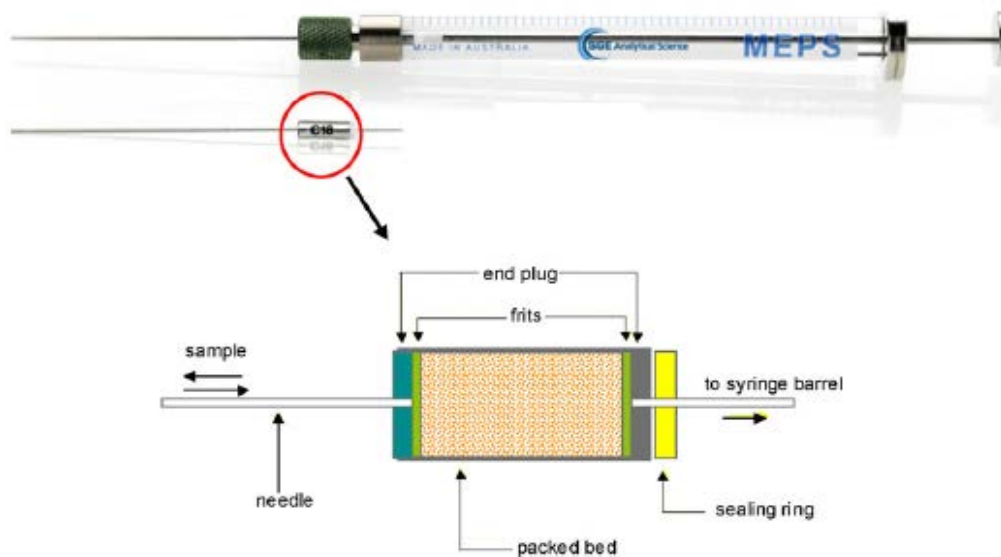
۱-۸-۴- میکرو استخراج با جاذب پر شده در سرنگ^۳ (MEPS)

این تکنیک یک روش نسبتاً جدید برای استخراج با فاز جامد در مقیاس کوچک و مینیاتوری است که برای اولین بار توسط محمد عبدالرحیم در سال ۲۰۰۴، ابداع شد [۸۰-۸۴]. به علت کوچک شدن مقدار جاذب و حجم‌های حلال و نمونه، این تکنیک را گاهی استخراج با فاز جامد میکرو (μ -SPE) نیز می‌نامند. در این تکنیک، مراحل آماده‌سازی نمونه همانند استخراج با فاز جامد بوده ولی در مقیاس کوچک شده و مینیاتوری است که با جاذب بسیار کم در حدود ۲ میلی گرم که در داخل یک میکروسرنگ ۲۵۰ میکرولیتری در میان دو صفحه پلی پروپیلینی قرار داده شده است، انجام می‌گیرد. این روش بسیار سریع، ساده و یک روش با مصرف حلال بسیار کم بوده و کارایی و بازیابی نسبتاً خوبی در مقایسه با روش SPE دارد. عمل استخراج با حرکت رفت و برگشت پیستون در داخل سرنگ یا کارتریج و هدایت نمونه به درون فاز جامد به صورت دستی یا اتوماتیک انجام می‌گیرد. آنالیت‌ها در فاز جامد جذب و سپس با حلال آلی شستشو داده شده و از فاز جامد خارج می‌شود. شمایی از سرنگ تجاری مورد استفاده در استخراج با فاز جامد پر شده در سرنگ در شکل (۱-۶) نشان داده شده است.

^۱ - Liquid- phase micro extraction (LPME)

^۲ - Solid- phase micro extraction (SPME)

^۳ - Micro extraction in packed syringe (MEPS)



شکل (۶-۱) شمایی از سرنگ تجاری مورد استفاده در روش استخراج با فاز جامد پر شده در سرنگ [۸۴].

۱-۴-۸-۱- فرآیند انجام استخراج با جاذب پر شده در سرنگ

۱-۴-۸-۱- آماده سازی سرنگ و فاز جامد

محلولهای شستشوی زیر می‌تواند برای آماده‌سازی فاز جامد، مورد استفاده قرار گیرد.

۱ - محلول شستشوی قوی: حلال‌های آلی متانول یا استونیتریل با ۱۰٪ تا ۲۰٪ حجمی/حجمی

ایزوپروپانول که گاهی دارای ۰/۲٪ فرمیک اسید است.

۲ - محلول شستشوی ضعیف: آب خالص یا محلول آبی ۵٪ حجمی/حجمی متانول می‌تواند به

عنوان محلول شستشو استفاده شود [۸۳].

۱-۴-۸-۱-۲- مرحله نمونه‌برداری و پیش‌تغلیظ [۸۳]

در این مرحله، نمونه از فاز آبی به داخل سرنگ هدایت شده و دوباره به نمونه اصلی برگردانده می

شود، این عمل به تعداد ۲۰ الی ۳۰ مرتبه انجام می‌گیرد.

برای بالا بردن دقت روش بهتر است که موارد زیر در مرحله استخراج ترکیبات در زمان نمونه گیری از بافت نمونه، رعایت گردد [۸۴ و ۸۵]:

(۱) نمونه‌های بیولوژیکی و یا نمونه‌های غلیظ، ابتدا با آب مقطر و یا با محلول ۰/۱٪ اسید فرمیک رقیق می‌شود.

(۲) در صورت کدر بودن نمونه یا داشتن ذرات جامد معلق، نمونه با عمل سانتریفیوژ صاف می‌شود.

(۳) در صورت لزوم، به کمک محلول بافر، pH نمونه به حد مطلوب رسانده می‌شود.

(۴) در صورت تاثیر قدرت یونی، این فاکتور با افزودن نمکی مثل NaCl تثبیت می‌گردد.

۱-۸-۴-۳- شستشوی نمونه

برای نمونه‌های با بافت پیچیده که ممکن است ترکیبات ناخواسته در آن وجود داشته باشد، برای حذف آنها از یک حلال آلی با رقت ۵٪ حجمی / حجمی استفاده می‌شود. برای نمونه‌های آبی نیز می‌توان از آب مقطر بافری شده استفاده کرد [۸۳].

۱-۸-۴-۴- خشک کردن جاذب

پس از نمونه‌برداری و شستشوی فاز جامد برای خشک کردن جاذب و حذف آب باقی‌مانده از سطح آن و دیواره کارتریج، از گاز نیتروژن آزمایشگاهی استفاده می‌شود. این عمل با هدایت گاز نیتروژن به مدت ۱-۲ دقیقه انجام می‌گیرد [۸۳].

۱-۸-۴-۵- شویش

برای شویش آنالیت‌ها و خارج کردن آنها از فاز جامد سیر شده یکی از حلال‌های آلی متانول، استون، هگزان نرمال، استونیتریل و یا ایزو بوتیل متیل کتون می‌تواند استفاده شود. حجم حلال مورد نیاز در این تکنیک ۵۰ تا ۲۰۰ میکرولیتر می‌باشد [۸۳].

۹-۱- انواع جاذب‌ها

انواع جاذب‌هایی که در استخراج با فاز جامد استفاده می‌شوند، معمولاً به دسته‌های زیر طبقه‌بندی می‌شوند:

۹-۱-۱- سیلیکاژل و ذرات سیلیکای پیوندی

از کاربردهای سیلیکاژل^۱ میتوان به کاربرد آن به عنوان یک کاتالیزور، ماده خشک کن یا در کروماتوگرافی اشاره کرد. 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 هیدروکسیل (OH) در سیلیکاژل، گروه‌های دیگری جایگزین می‌شوند، که به این گروه‌ها، فازهای پیوندی گفته می‌شود [۸۶].

۹-۲- پلیمرهای رسانا^۲

پلیمرهای آلی سطح و ظرفیت زیادی برای جذب ترکیبات دارند و در اکثر موارد ترکیبات جذب شده به راحتی و به طور کلی با حجم اندکی از یک حلال، واجذب می‌شوند. نوعی از این پلیمرها که بیشتر استفاده می‌شود، پلی‌دی‌وینیل‌بنزن^۳ می‌باشد [۸۷].

۹-۳- کربن

کربن با دارا بودن امتیازاتی از قبیل پایداری گرمایی بالا، پایداری زیاد در مقابل نور، ساختمان متخلخل و محکم، پایداری مکانیکی بالا، نسبت سطح به حجم زیاد و دست یابی به خلوص بالا دارای ظرفیت بالائی برای جذب گونه‌های مختلف می‌باشد که آن را برای جداسازی یونها و گونه‌های آلی از محیط آبی مناسب می‌نماید [۸۸ و ۸۹].

^۱ - Silica-gel

^۲ - Conductive polymer

^۳ - Poly divinylbenzene

۱-۹-۴- ذرات نانو لوله‌های کربنی

۱-۴-۹-۱- ساختار فیزیکی و شیمیایی نانو لوله‌های کربن

کربن می‌تواند شکل‌های پایدار و متفاوت از گرافیت و الماس تشکیل دهد که این تفاوت، دانشمندان را برای بررسی و تولید شکل‌های دیگر کربن ترغیب نمود.

در سال ۱۹۹۱، سومیو ایچی^۱ [۹۰] یک نوع از ساختار بسیار ریز از کربن را تهیه نمود. میکروسکوپ الکترونی نشان داد که این ذرات گرافیت سوزنی شکل از لوله‌های گرافیتی هم مرکز با قطر ۴ تا ۳۰ نانومتر و طول حدود ۱ میکرومتر تشکیل شده است. این ذرات کربنی به صورت صفحات گرافن در اندازه‌های مولکولی می‌باشند. دو سال بعد نانو لوله‌های کربنی تک دیواره با قطر حدود ۱۰-۱ نانومتر تهیه شدند [۹۱-۹۳]. سپس با استفاده از فاز گازی، ساختار جدیدی از کربن به فرم نانو لوله کربن چند دیواره^۲ (MW-CNT) که دارای قطرهای متفاوت و بزرگتر در حدود ۵ تا دهها نانومتر هستند، تهیه شدند [۹۴]. امروزه نانو لوله کربن در مقادیر زیاد با تعداد دیواره‌های نسبتاً ثابت با روش‌های مختلف قوس الکتریکی^۳ [۹۵]، برش لیزری^۴ [۹۶]، و نشانیدن با بخار شیمیایی^۵ [۹۴]، تهیه می‌شود. شکل (۷-۱) دو نمونه از نانو لوله‌های کربنی را نشان می‌دهد [۹۷].

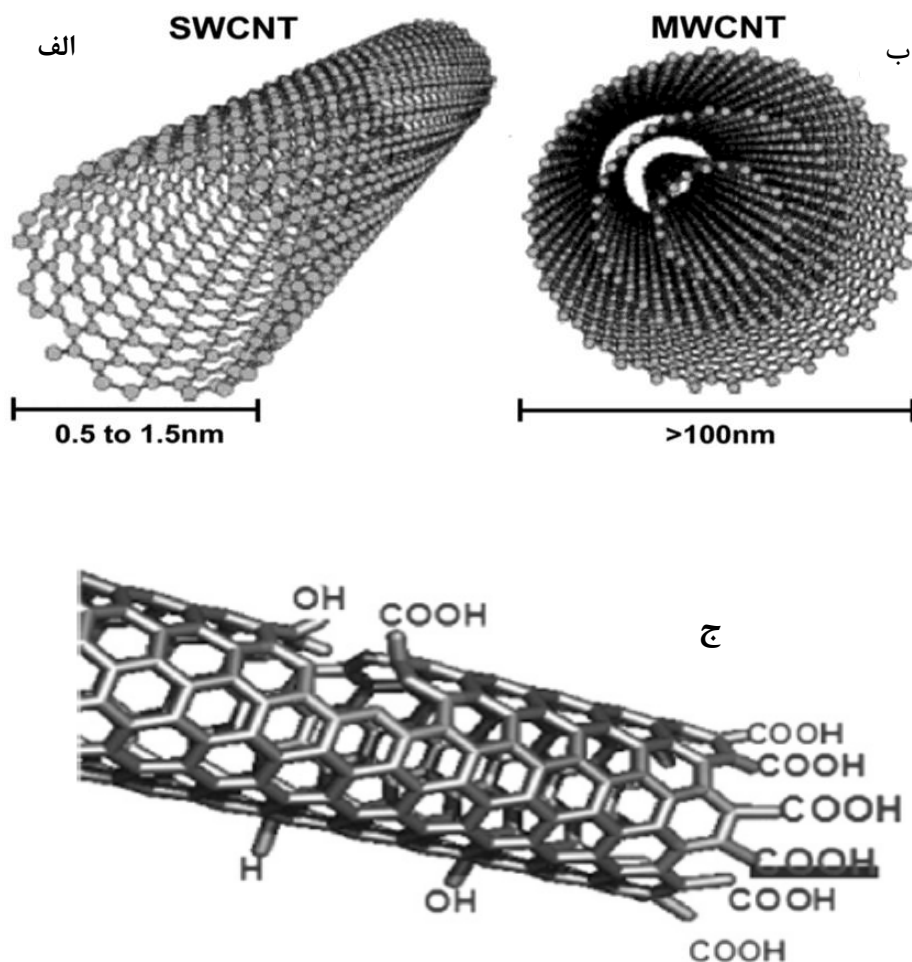
^۱ - Sumio Iijima

^۲ - Multi-walled carbon nanotube

^۳ - Arc-discharge

^۴ - Laser ablation

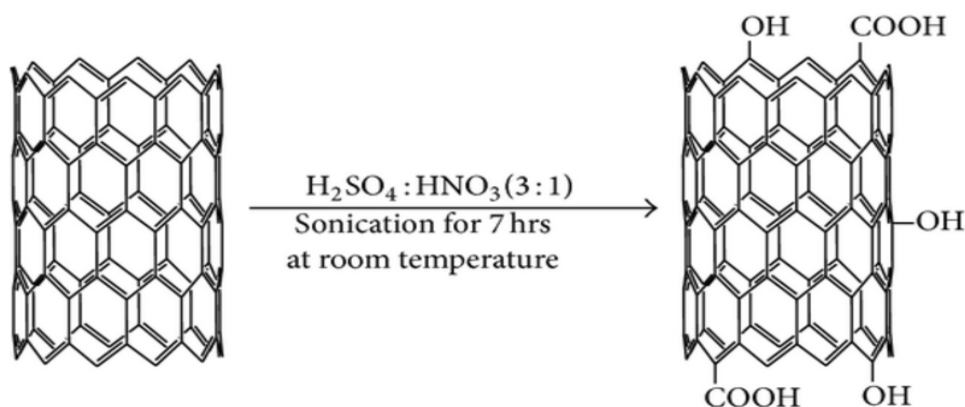
^۵ - Chemical vapor deposition



شکل (۷-۱) چند نمونه از نانو لوله های کربنی
 (الف) تک دیواره (ب) چند دیواره دیواره [۹۷]، (ج) عامل دار کربوکسیلیک هیدروکسیل [۹۸].

نانولوله های کربنی به دلیل خواص منحصر به فرد، کاربردهای گوناگونی دارند. نانو لوله های کربنی به دلیل سطح آب گریز تمایل به تجمع دارند، بنابراین برای پراکندگی بهتر در محلول ها و پلیمرها سطح آن ها با گروه های عاملی مختلف اصلاح می شوند. جداره خارجی نانو لوله های خام از نظر شیمیایی خنثی است که برای کاربردهای نانو لوله ها مطلوب نیست. یکی از روش های غلبه بر این مشکل عامل دار کردن نانو لوله های کربنی است. عامل دار کردن نانو لوله های کربنی باعث گسترش کاربردهای نانو لوله ها در زمینه های مختلف و بهبود خواص آن ها می شود. طی عامل دار کردن نانو لوله ها با اسیدها، گروه های عاملی اکسیژن دار به سطح نانو لوله های کربنی متصل می شوند که روی سطح نانو لوله ها بارهای منفی ایجاد می کنند و باعث پایداری سوسپانسیون نانو لوله ها در حلال ها

می‌شوند [۹۹]. عامل‌دار کردن نانو لوله‌های کربنی به دو صورت کوالانسی و یا غیر کوالانسی صورت می‌گیرد [۱۰۰]. یکی از راههای عامل‌دار کردن نانو لوله‌های کربنی، پیوند دادن گروه‌های عاملی دارای اتم‌های اکسیژن، فلوئور و نیتروژن با ایجاد پیوند کوالانسی می‌باشد. اکسیداسیون شیمیایی نیز یکی از راههای عامل‌دار کردن نانو لوله‌های کربنی است که طی این روش، گروه‌های عاملی مختلفی از جمله کربوکسیل‌ها، گروه‌های انیدرید کربوکسیلی، هیدروکسیل‌ها و کربونیل‌ها روی سطح نانو لوله‌های کربنی ایجاد می‌شوند [۱۰۱]. شکل (۸-۱) چگونگی عامل‌دار کردن نانو لوله‌های کربنی به روش اکسیداسیون شیمیایی را نشان می‌دهد [۱۰۲].



شکل (۸-۱) واکنش عامل‌دار کردن نانو لوله‌های کربنی به روش اکسیداسیون شیمیایی [۱۰۲].

۱-۹-۴-۲- مروری بر کاربردهای نانو لوله‌های کربنی

امروزه تکنولوژی نانو یکی از مهمترین علاقمندی‌های علوم بوده که به عنوان کلید قرن حاضر محسوب می‌شود. کاربردهای آن شامل زمینه‌های بیوتکنولوژی، داروسازی، الکترونیک و علوم شیمی می‌باشد. نانوتکنولوژی شامل تولید مواد جدید با اندازه‌های ۱۰۰ نانومتر و حتی کمتر بوده که نانو لوله کربن جزئی از این مواد می‌باشد. ذرات نانو لوله کربن به دلیل داشتن خواص فیزیکی و شیمیایی منحصر به فرد، برای کاربردهای متعددی از جمله شیمی تجزیه به خصوص در تکنیک‌های استخراج با

فاز جامد به دلیل ظرفیت جذب سطحی بالا، مقاومت گرمایی بالا و کاربرد آنها در گستره وسیع pH، به طور وسیع استفاده می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که نانو لوله کربن ظرفیت جذب بالایی برای استخراج مواد دارد. برای بالا بردن ظرفیت جذب لازم است حداقل به مدت ۲ ساعت در دمای ۸۰ تا ۱۲۰ درجه سانتی گراد قرار داشته باشد [۳۱ و ۱۰۳]. سپس به عنوان فاز جامد در فرآیند استخراج استفاده شود. به طور کلی کاربرد روش‌های مختلف استخراج با فاز جامد به دلایلی از جمله کارایی بالای روش استخراج، آسانی روش، پایین بودن حجم حلال مورد نیاز برای استخراج ترکیبات معدنی و آلی از جمله آفت‌کش‌ها روز به روز گسترده‌تر می‌شود. در سال‌های اخیر، استفاده از نانو لوله‌های کربنی در روش‌های استخراج و پیش تغلیظ ترکیبات آلی کلردار و فسفردار توجه بیشتری پیدا کرده است. حدود تشخیص در این روش‌ها معمولاً ۲-۳ میکرو گرم بر لیتر گزارش شده است.

در سال ۲۰۱۰ حاج محمدی و همکارانش [۱۰۴]، برای استخراج سموم فسفره کلروپیریفوس^۱ و فوزالون^۲ از نمونه‌های آب شرب و آب رودخانه به روش کروماتوگرافی مایع، از جاذب نانو لوله‌های کربنی استفاده نموده است. آنها مقدار ۱۰۰ میلی گرم جاذب نانو لوله کربن و ۳ میلی لیتر حلال دی کلرومتان استفاده کرده و بازیابی روش را در گستره ۱۰۰٪ - ۸۵٪ و حد تشخیص ۴/۰۲ - ۱/۰۲ نانوگرم بر لیتر گزارش دادند.

در سال ۲۰۱۳، آنجلا گونزالس^۳ [۴۲]، نانو لوله‌های کربنی را برای اندازه‌گیری ۱۵ نوع سموم فسفره از نمونه‌های زیست محیطی به روش استخراج با فاز جامد پخشی به کار گرفته است.

چند مورد کاربردهای نانو لوله کربن برای استخراج ترکیبات مختلف با فاز جامد در جدول (۱-۱) نشان داده شده است. در این تحقیق نیز از نانو لوله‌های کربنی عامل دار شده کربوکسیلیکی برای پیش تغلیظ و اندازه‌گیری ترکیبات آلی کلردار و فسفردار استفاده شده است.

^۱ - Chloropyrifos

^۲ - Phosalone

^۳ - Miguel Angel Gonzalez- Curbello

جدول (۱-۱) کاربردهای نانو لوله کربن در اندازه گیری آفت کش ها

منبع	نوع / مقدار حلال (میلی لیتر)	مقدار جاذب (میلی گرم)	ویژگی های CNT	نوع نمونه	آنالیت
۳۱	دی کلرومتان / ۲۰	۴۰	MW-CNT ۴۰-۷۰ nm, (O.D: ۱۰-۱۵nm)	آب معدنی و زیرزمینی	آفت کش ها
۳۵	اتیل استات / ۶	۱۰۰	MW-CNT ۸,۶nm (I.D) ۳,۵nm Length	آب رودخانه و شیر برداشت آزمایشگاه	آفت کش های فسفردار
۱۰۵	استون / ۵	۳۰	MW-CNT, ۴۰-۷۰ nm	آب رودخانه، دریا و آشامیدنی	آترازین و سیمازین
۱۰۶	استونیتریل / ۵	۱۰۰	MW-CNT, ۳۰-۶۰ nm	آب رودخانه، فاضلاب و آشامیدنی	آترازین و سیمازین
۱۰۷	متانول / ۸	۳۰۰	SW-CNT و MW-CNT	نمونه های آبی، مواد غذایی، بیولوژیکی،	آفت کش ها
۱۰۸	دی کلرومتان / ۱	۱۰۰	MW-CNT, ۴۰-۶۰ nm	آب شرب و مخزن	آفت ش های کلردار
۱۰۹	استونیتریل	-	C _{۱۸} -MW-CNT	آب	آفت کش ها

۱-۹-۵- جاذب های طبیعی دیاتومیت^۱ و پرلیت^۲

در بین مواد طبیعی، دیاتومیت و پرلیت به عنوان جاذب برای بسیاری از کاربردهای صنعتی و جداسازی صنعتی از جمله جذب سطحی، تصفیه آب و فاضلاب، حذف فلزات سنگین [۱۱۰] و آلاینده های آلی [۱۱۱]، استفاده می شود. دیاتومیت طبیعی با ساختار (SiO_۲.nH_۲O)، سنگ های رسوبی متشکل از ذرات ریز و بی شکل سیلیسی هستند که در اثر تجمع پوسته های سیلیسی جلبک ها و گیاهان دیاتومه تشکیل می شوند [۱۱۲].

در سال ۲۰۱۰، م. آیوا لیوتی^۱ و همکارانش [۱۱۳]، با استفاده از دیاتومیت خام و اصلاح شده مواد فرار آلی از جمله بنزن، تولوئن، اتیل بنزن و زایلن (BTEX)^۲ را از آب حذف نمودند.

^۱ - Diatomite

^۲ - Perlite

در سال ۲۰۱۳، سی. دی. وو^۳ و همکارانش [۱۱۴]، با استفاده از دیاتومیت اصلاح شده با آلومینیم هیدروکسید مواد آلی شامل آنیلین و فنل را از آب حذف کرده است. پرلیت نیز نام عمومی سنگ‌های بی شکل آلومینا-سیلیکات آذرینی بوده که دارای رنگ روشن شفاف تا رنگ های خاکستری و تیره دارند. این نوع از سنگ‌ها در اثر گرمای شدید در دمای ۷۶۰-۹۸۰ درجه سانتی‌گراد ۴ الی ۲۰ برابر افزایش حجم می‌دهند. پرلیت در این شرایط، خواص فیزیکی جذاب از جمله چگالی حجمی کم، هدایت الکتریکی پایین، مقاومت گرمایی و سطح ویژه بالایی دارد [۱۱۵].

از موارد کاربرد پرلیت می‌توان به حذف ترکیبات مضر و سرطان‌زای فنوکسی استیک اسیدها از آب [۱۱۶]، سورفاکتانت [۱۱۷] و کاربردهای صنعتی در تصفیه آب و فاضلاب و حذف فلزات سنگین [۱۱۸ و ۱۱۹] اشاره کرد.

در این تحقیق نیز برای اولین بار، ذرات نانو دیاتومیت و نانوپرلیت به عنوان جاذب طبیعی برای پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری ترکیبات آلی کلردار و فسفردار به روش میکرواستخراج با جاذب پرشده در سرنگ و دستگاه کروماتوگرافی گازی با آشکارساز اسپکترومتر جرمی مورد استفاده قرار گرفته است.

۱-۱۰- مقایسه روش استخراج با سرنگ پر شده با سایر روش‌های استخراج با فاز جامد

روش میکرو استخراج با فاز جامد پرشده در میکرو سرنگ (MEPS) یک نوع روش استخراج با فاز جامد بوده که برای نمونه‌های با مقدار و غلظت بسیار کم تا حجم‌های بیشتر به شکل مینیاتوری طراحی شده است. تفاوت این روش استخراج با SPE کلاسیک این است که در این روش استخراج با یک حجم بسیار کم از حلال و به کمک یک میکروسرنج انجام می‌گیرد در حالی که در روش

^۱ - M. Aivalioti

^۲ - BTEX (benzene, toluene, ethyl-benzene and xylenes)

^۳ - C. D. Wu

کلاسیک به مقدار زیادی از جاذب (حداقل ۱۰۰ میلی گرم) و حلال نیاز است. هم چنین در مقایسه با SPE، این روش آسان، حجم حلال مصرفی بسیار پائین و زمان آنالیز کم می باشد.

زمان استخراج در روش MEPS در حدود ۱ الی ۲ دقیقه، در حالی که برای SPE حدود ۱۵ الی ۲۰ دقیقه و این زمان برای SPME ۲۰ الی ۴۰ دقیقه می باشد

روش SPME برای استفاده های برخط^۱ و برون خط^۲ در سیستم های کروماتوگرافی گازی یا مایعی مناسب است. روش MEPS نیز می تواند به صورت بر خط و برون خط در سیستم های کروماتوگرافی گازی، مایعی و روش های جذب اتمی کوره گرافیتی استفاده شود. همچنین روش SPME در غلظت های پایین آنالیت مناسب بوده در حالی که روش MEPS توانایی استخراج آنالیت های با غلظت بالاتر را ممکن می سازد.

در روش SPME فاز جامد پوشیده شده بر روی جداره سرسنگ^۳، به ماهیت بافت نمونه حساس بوده، ولی روش MEPS، برای هر نوع نمونه ای مناسب می باشد [۱۲۰].

جدول (۲-۱) مقایسه بین روش های SPE، MEPS و SPME را نشان می دهد [۴۱ و ۸۵].

جدول (۲-۱) مقایسه روش MEPS با سایر روش های استخراج با فاز جامد [۴۱ و ۸۵].

پارامتر	MEPS	SPE	SPME
مقدار جاذب	۲-۴ میلی گرم	۵۰-۲۰۰۰ میلی گرم	ضخامت ۱۵۰ میکرومتر
زمان استخراج	۱-۲ دقیقه	۱۵-۲۰ دقیقه	۲۰-۴۰ دقیقه
استفاده مجدد کارتریج	۱۰۰ بار استخراج	یکبار	۵۰ بار استخراج
بازیابی	خوب	خوب	پائین
حساسیت	خوب	خوب	پائین
حجم حلال (ml)	۰/۰۵-۰/۱	۵-۲۵	بدون حلال (در حدود ۰/۱)
خودکار سازی	بله	خیر	بلی

^۱ - Online
^۲ - Off line
^۳ - Needle

فصل ۲:

مواد و تجهیزات

۲-۱- واکنشگرها و مواد شیمیایی

محلول‌های استاندارد مادر^۱ یا محلول‌های استاندارد اولیه^۲ سموم آلاکلر (۱۰۰ میلی گرم بر لیتر درمتانول)، هپتاکلر (۱۰۰ میلی گرم بر لیتر درمتانول)، متولاکلر (۱۰۰ میلی گرم بر لیتر درمتانول) و آلدین (۱۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر درمتانول) از شرکت سیگما-آلدریچ^۳ خریداری شد. هگزاکلرو بنزن (HCB) به صورت پودر با خلوص ۹۹٪ از شرکت فلوکا^۴ تهیه گردید. محلول‌های استاندارد مادر ترکیبات آلی فسفردار شامل دیازینون (۱۰۰ میلی گرم بر لیتر در متانول)، مالاتیون (۱۰۰ میلی گرم بر لیتر در متانول) اتیون (۱۰۰ میلی گرم بر لیتر در متانول) از شرکت سیگما-آلدریچ خریداری شد. تری فلورالین به عنوان استاندارد داخلی^۵ (IS) (۱۰۰ میلی گرم بر لیتر در استونیتریل)، از شرکت سیگما-آلدریچ خریداری شد.

حلال‌های شیمیایی با درجه خلوص کروماتوگرافی گازی شامل متانول (خلوص ۹۹/۸٪)، استون (خلوص ۹۹/۸٪)، استونیتریل (ACN)^۶ (خلوص ۹۹/۵٪)، هگزان نرمال^۷ (خلوص ۹۵٪) و متیل-

^۱ - Stock standard solutions
^۲ - Primary standard solutions
^۳ - Sigma-Aldrich
^۴ - Fluka
^۵ - Internal istandard
^۶ - Acetonitrile
^۷ - n-Hexane

ایزوبوتیل کتون (MIBK)^۱ (خلوص ۹۹/۵٪) به عنوان حلال‌های آلی از شرکت مرک^۲ خریداری شدند. دی‌کلرومتان (DCM)^۳ با خلوص ۹۹/۸٪ از شرکت سیگما-آلد ریچ خریداری شد.

هیدروکلریک اسید ۳۷٪ وزنی-وزنی، سدیم هیدروکسید، پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات، سدیم سیترات و سدیم استات همگی با خلوص تجزیه‌ای جهت تنظیم و تثبیت pH از شرکت مرک تهیه شدند.

لیست مواد شیمیایی مورد استفاده برای انجام کارهای آزمایشگاهی مرتبط با موضوع این رساله در جدول (۱-۲) ارائه شده است. نانو لوله کربن عامل دار کربوکسیلیکی، نانو دیاتومیت و نانو پرلیت نیز به عنوان جاذب در این کار استفاده شد که در بخش (۲-۵) توضیح داده خواهد شد.

جدول (۱-۲) لیست مواد شیمیایی مورد استفاده و فرمول مولکولی آنها

نام ترکیب	فرمول شیمیایی	شرکت سازنده
هگزاکلرو بنزن	C_6Cl_6	فلوکا
آلاکلر	$C_{14}H_2ClNO_2$	سیگما-آلد ریچ
هپتاکلر	$C_{10}H_5Cl_7$	سیگما-آلد ریچ
آلد رین	$C_{12}H_8Cl_6$	سیگما-آلد ریچ
متولاکلر	$C_{15}H_{22}ClNO_2$	سیگما-آلد ریچ
دیازینون	$C_{12}H_{21}N_2O_2PS$	سیگما-آلد ریچ
مالاتیون	$C_{10}H_{19}O_6PS_2$	سیگما-آلد ریچ
اتیون	$C_9H_{22}O_4P_2S_4$	سیگما-آلد ریچ
تری فلورالین	$C_{12}H_{16}F_3N_2O_4$	فلوکا
پتاسیم دی هیدروژن فسفات	KH_2PO_4	مرک
پتاسیم هیدروژن فسفات	K_2HPO_4	مرک
فسفریک اسید	H_3PO_4	مرک
متانول	CH_3OH	مرک
استون	C_3H_6O	مرک
متیل ایزو بوتیل کتون	$C_6H_{12}O$	مرک

^۱ - Methyl isobutyl ketone

^۲ - Merck

^۳ - Dichloro methane (DCM)

مرک	C ₆ H ₁₄	هگزان نرمال
مرک	CH ₂ Cl ₂	دی کلرو متان
مرک	CH ₃ CN	استونیتریل
مرک	HCl	هیدروکلریک اسید ۳۷٪
مرک	NaOH	سدیم هیدروکسید
مرک	NaCl	سدیم کلرید
سیگما-آلدریچ	C ₁₂ H ₁₈ O ₇ .H ₂ O	سیتریک اسید
سیگما-آلدریچ	Na ₂ C ₁₂ H ₂₀ O ₇	سدیم سیترات
سیگما-آلدریچ	NaCH ₃ CO ₂	سدیم استات

۲-۲- دستگاهها و تجهیزات

اندازه گیری سموم مورد نظر توسط دستگاه GC-MS مدل ۶۸۹۰N از شرکت اچیلنت^۱ که مجهز به تزریق کننده انشعابی- غیر انشعابی^۲ و آشکارساز اسپکترومتر جرمی مدل ۵۹۷۵B با کافنده از نوع چهار قطبی^۳ استوانه ای می باشد، انجام گرفت. جداسازی ترکیبات با استفاده از ستون موبینه ای HP-۵ms (اچ-پی متیل فنیل سیلیکون ۵٪، با ضخامت فیلم ۲۵۰ میکرو متر، قطر ستون ۰/۲۵ میلی متر و طول ستون ۳۰ متر) از شرکت اچیلنت (Scientific J&W) انجام گرفت. آنالیز و تحلیل داده های کروماتوگرام توسط نرم افزار ۱۷۰۱ Chemstation صورت گرفت. شناسایی و تایید ترکیبات با استفاده از جستجوی کتابخانه ای انتشارات جان وایلی^۴ انجام گرفت. شرایط جداسازی دستگاهی در جدول (۲-۲) نمایش داده شده است.

برای جداسازی ترکیبات مورد نظر ابتدا شرایط جداسازی شامل برنامه دمایی محفظه گرم کن ستون (آون^۵)، دمای محل تزریق، دمای آشکارساز و سرعت جریان گاز حامل در ستون مورد بررسی قرار گرفت و مقدار بهینه آنها برای جداسازی بدست آمد. برای جداسازی ترکیبات، برنامه دمایی داده

^۱ - Agilent

^۲ - Splitless injector

^۳ - Quadrupole

^۴ - Jon Wiley pesticide library

^۵ - Oven

شده در جدول (۲-۲) مورد استفاده قرار گرفت. در این برنامه دمایی، ابتدا دمای اولیه ستون و آون در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و به مدت ۳/۰ دقیقه در این دما نگهداری شد، سپس با سرعت ۲۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به دمای ۱۸۱ درجه سانتی‌گراد رسانده و به مدت ۳/۰ دقیقه در این دما، ثابت نگهداشته شد. پس از آن دمای ستون با سرعت ۶ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به ۱۹۶ درجه سانتی‌گراد رسانده شد تا جداسازی دو ترکیب آلاکلر و هپتاکلر انجام گیرد. سپس دمای ستون با سرعت ۲۵ درجه سانتی‌گراد تا دمای ۲۸۵ درجه سانتی‌گراد افزایش داده شد. سرعت خطی جریان گاز حامل نیز در سرعت های ۳۶ سانتی متر بر ثانیه تا ۴۰ سانتی متر بر ثانیه بررسی شد و سرعت جریان بهینه برابر ۳۸ سانتی متر بر ثانیه بدست آمد.

برای اندازه‌گیری و تنظیم pH محلول‌ها، از دستگاه pH متر مدل ۸۲۷ ساخت شرکت متروهم^۱ مجهز به الکتروود شیشه‌ای مرکب با الکتروود مرجع نقره- نقره کلرید استفاده شد.

برای برداشتن حجم‌های مورد نیاز از حلال و استانداردها، از میکروپیپت ۲۵/۰ میکرو لیتری با حجم ثابت، میکرو پیپت‌های ۱۰۰/۰ میکرو لیتری، ۱۰۰۰/۰ میکرو لیتری و یا پیپت نمونه بردار^۲ ۱۰/۰ میلی لیتری با حجم قابل تغییر ساخت شرکت برند^۳ آلمان استفاده شد.

برای توزین مواد شیمیایی از ترازوی CP۳۲۴S شرکت سارتوریوس^۴ با دقت اندازه‌گیری ۰/۱ میلی گرم، استفاده شد.

برای تزریق نمونه به دستگاه کروماتوگرافی گازی از میکروسرنج های ۱ میکرو لیتری و ۱۰ میکرو لیتری ساخت شرکت اچیلنت استفاده شد.

^۱ - Mrtrohm
^۲ - Sampler
^۳ - Brand
^۴ - Sartorius

جدول (۲-۲) شرایط جداسازی دستگاهی و برنامه دمایی بهینه شده

شرایط دستگاهی	دستگاه / مدل
نوع تزریق کننده: غیر انشعابی	
دمای محل تزریق: ۲۶۰ °C	
حجم تزریق: ۱/۰ میکرو لیتر	
گاز حامل: هلیوم با خلوص ۹۹/۹۹۹٪	
سرعت گاز حامل در ستون: ۴۰-۳۶ سانتی متر بر ثانیه (بهینه: ۳۸ سانتی متر بر ثانیه)	کروماتوگرافی گازی
نوع فاز ستون مویینه: اچ - پی متیل سیلیکون ۵٪ فنیل (HP-۵ MS)	Agilent ۶۸۹۰N
ضخامت فیلم: ۲۵۰ میکرو متر	
قطر ستون ۰/۲۵ میلی متر - طول ستون ۳۰ متر	
برنامه دمایی آون:	
T.=۱۰۰ °C (۳ min)-۲۵ °C/min to ۱۸۱ °C (۳min), ۶ °C/min to ۱۹۶ °C (۳ min), ۲۵ °C/min to ۲۸۵ °C (۲ min)	
نوع یونش کننده: الکترون یونشی ^۱ (EI)، گستره پویش (۵۰ تا ۴۵۰ m/e)	
زمان تاخیر حلالی ^۲ برای روشن شدن فیلامنت: ۵ دقیقه	
دمای کافنده ^۳ : ۱۵۰ درجه سانتی گراد	آشکار ساز جرمی*
دمای منبع یونیزه کننده ^۴ : ۲۳۰ درجه سانتی گراد	MSD ۵۹۷۵B
دمای رابط ^۵ بین محفظه کروماتوگراف و آشکار ساز: ۲۸۵ درجه سانتی گراد	
مد آشکار ساز: نمایش انتخابی یون ^۶	

* شرایط آشکار ساز شامل دمای کافنده و منبع یونیزه کننده و دمای رابط به توصیه شرکت سازنده دستگاه

انتخاب شده است.

^۱ - Electron ionization (EI)

^۲ - Solvent Delay (min)

^۳ - Separator temprature

^۴ - Ion source temprature

^۵ - Interface temprature

^۶ - Ion selective monitoring (SIM) mode

۲-۳- تهیه سرنگ MEPS

برای تهیه سرنگ MEPS، از سرنگ یک میلی‌لیتری شیشه‌ای انسولین همراه با فیلتر کارتریج^۱های SPE استفاده شد. برای انجام این کار، ابتدا دو عدد صافی صفحه‌ای^۲ متخلخل پلی-پروپیلنی با قطر منافذ ۲۰ میکرومتری و ضخامت ۲/۰ میلی‌متر به اندازه قطر داخلی سرنگ برش داده و سپس یکی از آن‌ها در داخل سرنگ قرار داده شد. مقدار ۶/۰ میلی گرم از جاذب مورد نظر به صورت دستی به داخل سرنگ اضافه شد. پس از آن، یکی دیگر از فريت‌ها را داخل سرنگ قرار داده و به کمک یه میله آنها را به هم فشرده تا تا جاذب به صورت توده‌ای در داخل سرنگ در بین دو صافی صفحه‌ای به عنوان فاز جامد قرار گیرد. شمایی از سیستم طراحی شده سرنگ MEPS در شکل (۲-۱) نشان داده شده است.



شکل (۲-۱) شمایی از سیستم طراحی شده سرنگ MEPS

۲-۴- آماده سازی محلول‌ها

در تهیه تمام محلول‌های آبی مورد استفاده، از آب دیونیزه و مواد شیمیایی با خلوص تجزیه‌ای استفاده شد.

❖ محلول استاندارد اولیه ۱۰۰۰/۰ میلی گرم بر لیتر هگزاکلروبنزن

^۱ - Cartridge

^۲ - Frit

برای تهیه محلول استاندارد اولیه هگزاکلرو بنزن از پودر خالص آن، مقدار ۵۰/۰ میلی گرم از آن در یک بشر کوچک با ترازوی تجزیه‌ای با دقت ۰/۱ میلی گرم توزین و در حلال متانول به طور کامل حل گردید. سپس محلول حاصل به یک بالن ۵۰ میلی لیتری منتقل و به کمک متانول به حجم رسانده شد.

❖ محلول استاندارد اولیه ۱۰۰/۰ میلی گرم بر لیتر هگزاکلروبنزن

این محلول با رقیق سازی محلول استاندارد اولیه در متانول تهیه گردید.

❖ محلول مخلوط ۱۰۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر ترکیبات آلی کلردار

حجم دقیق ۱۰۰/۰ میکرو لیتر از هر یک از محلول‌های استاندارد اولیه ۱۰۰/۰ میلی گرم بر لیتر هگزاکلروبنزن، آلاکلر، هپتاکلر، متولاکلر و آلدین را برداشته و همه آنها را به یک بالن حجمی ۱۰/۰ میلی لیتری انتقال داده و سپس با متانول به حجم رسانده شد. این محلول دارای ۵ ترکیب و هر یک با غلظت ۱۰۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر می‌باشد.

❖ محلول مخلوط ۱۰۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر ترکیبات فسفردار

برای تهیه محلول مخلوط ۱۰۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر ترکیبات آلی فسفردار نیز حجم دقیق ۱۰۰/۰ میکرو لیتر از هر یک از محلول‌های استاندارد اولیه ۱۰۰/۰ میلی گرم بر لیتر دیازینون، مالاتیون و اتیون را برداشته و همه آنها به یک بالن حجمی ۱۰/۰ میلی لیتری انتقال و سپس با متانول به حجم رسانده شد.

محلول‌های استاندارد اولیه و ثانویه، در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

محلول‌های استاندارد کالیبراسیون روزانه در زمان انجام کالیبراسیون دستگاه و یا اندازه‌گیری‌های

تجزیه‌ای با رقیق‌سازی حجم‌های معین از محلول استاندارد ثانویه در آب مقطر تهیه شدند.

هیدروکلریک اسید ۱ مولار از رقیق کردن ۸/۳ میلی لیتر از هیدروکلریک اسید غلیظ (۳۷٪

وزنی- وزنی با غلظت ۱۲ مولار) و رساندن حجم آن به ۱۰۰/۰ میلی لیتر با آب مقطر تهیه گردید.

سدیم هیدروکسید ۱/۰ مولار از حل کردن ۴/۰ گرم سدیم هیدروکسید جامد و خشک با خلوص تجزیه‌ای که با ترازوی ۰/۰۱ گرم توزین شده بود، در حجم ۱۰۰/۰ میلی لیتر آب دیونیزه تهیه گردید. در تهیه تمام نمونه‌های آبی از محلول‌های بافر فسفات، استات و سیتрат به غلظت ۰/۱ مولار استفاده شد.

از پتاسیم دی هیدروژن فسفات و یا دی‌پتاسیم هیدروژن فسفات برای تهیه بافرهای فسفات با غلظت ۰/۱ M در pH های مختلف (گستره ۹/۰-۴/۰) استفاده شد. برای تهیه این محلول‌ها، مقدار ۰/۱ وزن مولی از نمک هر یک از بافرها در بشر توزین و به بالن حجمی ۱۰۰۰/۰ میلی لیتری منتقل و با آب دیونیزه به حجم تقریبی ۹۵۰-۹۰۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس با افزودن قطره قطره از محلول-های هیدروکلریک اسید و یا سدیم هیدروکسید ۱/۰ مولار، pH محلول‌های بافر در مقدار مورد نظر بوسیله pH متر تنظیم گردید. بعد از تنظیم محلول در pH مورد نظر، به حجم یک لیتر رسانده شد.

۵-۲- مشخصات جاذب‌های مورد استفاده

۵-۲-۱- جاذب نانو لوله کربنی

نانو لوله کربنی چند دیواره عامل دار کربوکسیلیک^۱ (COOH-MW-CNTs) با خلوص < ۹۵٪ و شامل ۳/۸۶٪ گروه‌های کربوکسیل با مشخصات داده شده در جدول شماره (۳-۲) [۱۲۱] از شرکت تجاری شنگ‌دو^۲ چین خریداری شد. این ماده به عنوان جاذب در تکنیک MEPS استفاده شد. شکل (۲-۲) تصاویر میکروسکوپی روبشی^۳ و میکروسکوپی الکترونی عبوری^۴ جاذب نانو لوله کربنی عامل دار را نشان می‌دهد [۱۲۱].

جدول (۳-۲) مشخصات و اطلاعات فنی نانو لوله کربنی استفاده شده [۱۲۱]

مقدار	مشخصات
< ۹۵٪	خلوص
۳/۸۶٪	مقدار گروه عاملی کربوکسیلی
۸-۱۰ درصد مولی	نسبت کربن های سطحی
< ۸ نانومتر	قطر خارجی نانولوله ^۵
۵-۲ نانومتر	قطر داخلی نانولوله ^۶
۳۰-۱۰ میکرو متر	طول لوله
< ۵۰۰ متر مربع بر گرم	مساحت سطح ویژه ^۷

^۱ - Carboxylated Purified Multi-walled carbon nanotubes (MW-CNTs-COOH)

^۲ - Chengdu organic chemical- Chinese

^۳ - Scanning Electron Microscopy (SEM)

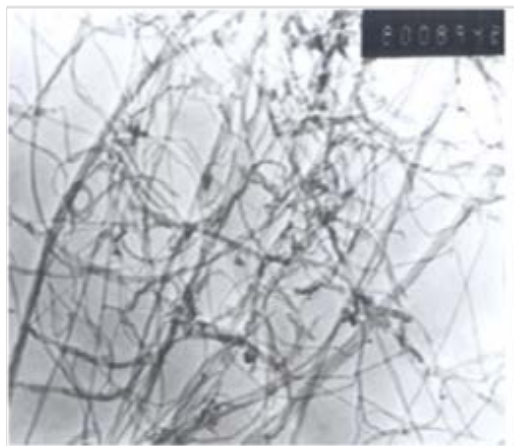
^۴ - Transmission Electron Microscopy (TEM)

^۵ - Outer Diameter(O.D)

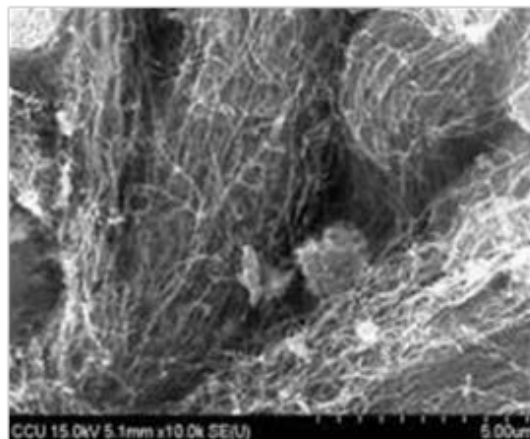
^۶ - Inner Diameter(I.D)

^۷ - Special Surface Area (SSA)

ب

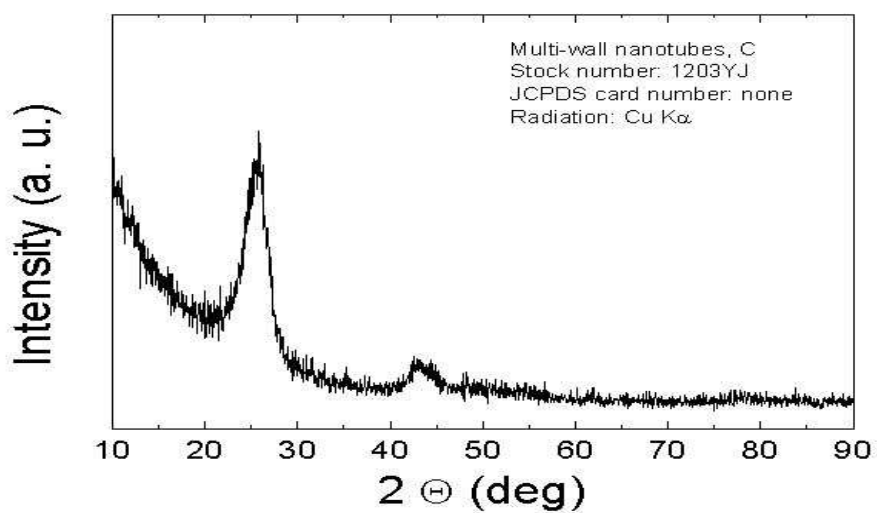


الف



شکل (۲-۲) تصاویر میکروسکوپی نانو لوله کربن عامل دار کربوکسیلیکی
الف) پوششی الکترونی (SEM) ب) تصویر الکترونی عبوری (TEM) [۱۲۱]

برای بررسی درجه خلوص، آنالیز عنصری و اندازه‌گیری ترکیب درصد هر ماده از طیف اشعه ایکس استفاده می‌شود. شکل (۳-۲) الگوی پراش اشعه ایکس برای نانولوله کربنی را نشان می‌دهد.



شکل (۳-۲) الگوی پراش اشعه ایکس نانو لوله کربن عامل دار کربوکسیلیکی [۱۲۱].

جدول (۴-۲) آنالیز شیمیایی ترکیب نانو لوله کربنی را بر اساس نتایج حاصل از پراش اشعه

ایکس^۱ نشان می‌دهد.

جدول (۴-۲) آنالیز شیمیایی نانو لوله کربن عامل دار کربوکسیلیکی [۱۲۱]

عنصر	مقدار بر حسب درصد
کربن	۹۷/۴۶
آلومینیم	۰/۱۹
کلر	۱/۰۲
کبالت	۱/۰۹
گوگرد	۰/۲۴

۲-۵-۲- جاذب نانو دیاتومیت

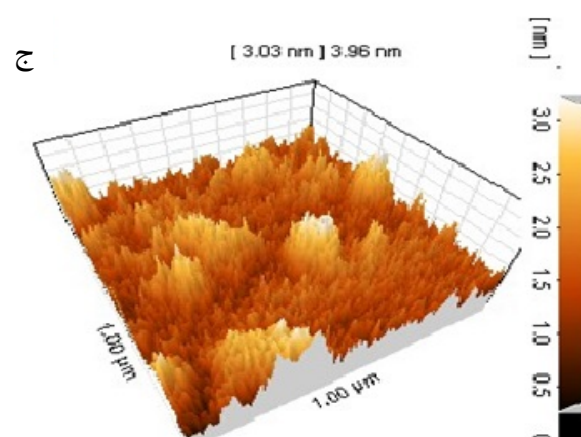
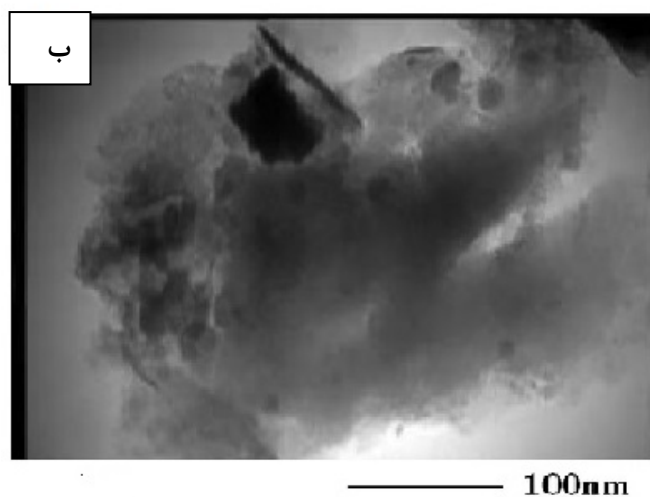
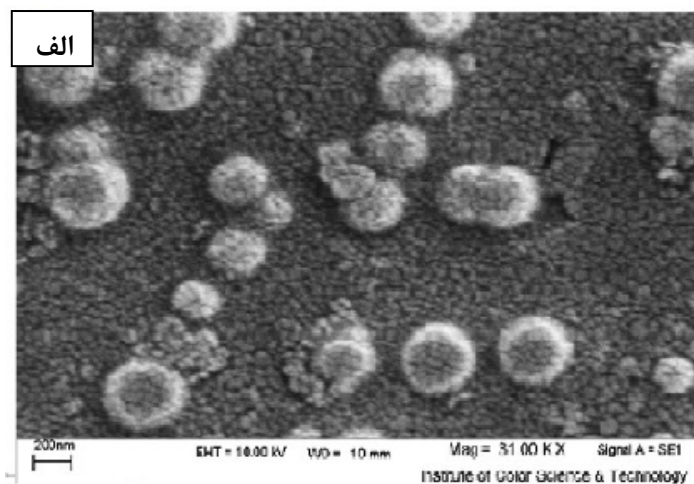
در این تحقیق برای پیش تغلیظ ترکیبات آلی کلردار و فسفردار از نانو ذرات دیاتومیت طبیعی که توسط گروه تحقیقاتی کیومرث سیف پناهی [۱۱۰] تهیه شده است، استفاده گردید. شکل (۴-۲) تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی (SEM)^۲، الکترونی عبوری (TEM)^۳ و نیروی اتمی (AFM)^۴ ذرات نانو دیاتومیت را نشان می‌دهد. مشخصات کامل این نانو ذرات و ترکیب شیمیایی آن در مقاله [۱۱۰] آورده شده است.

^۱ - X- ray diffraction

^۲ - Scanning electron microscopy(SEM)

^۳ - Transmission electron microscopy(TEM)

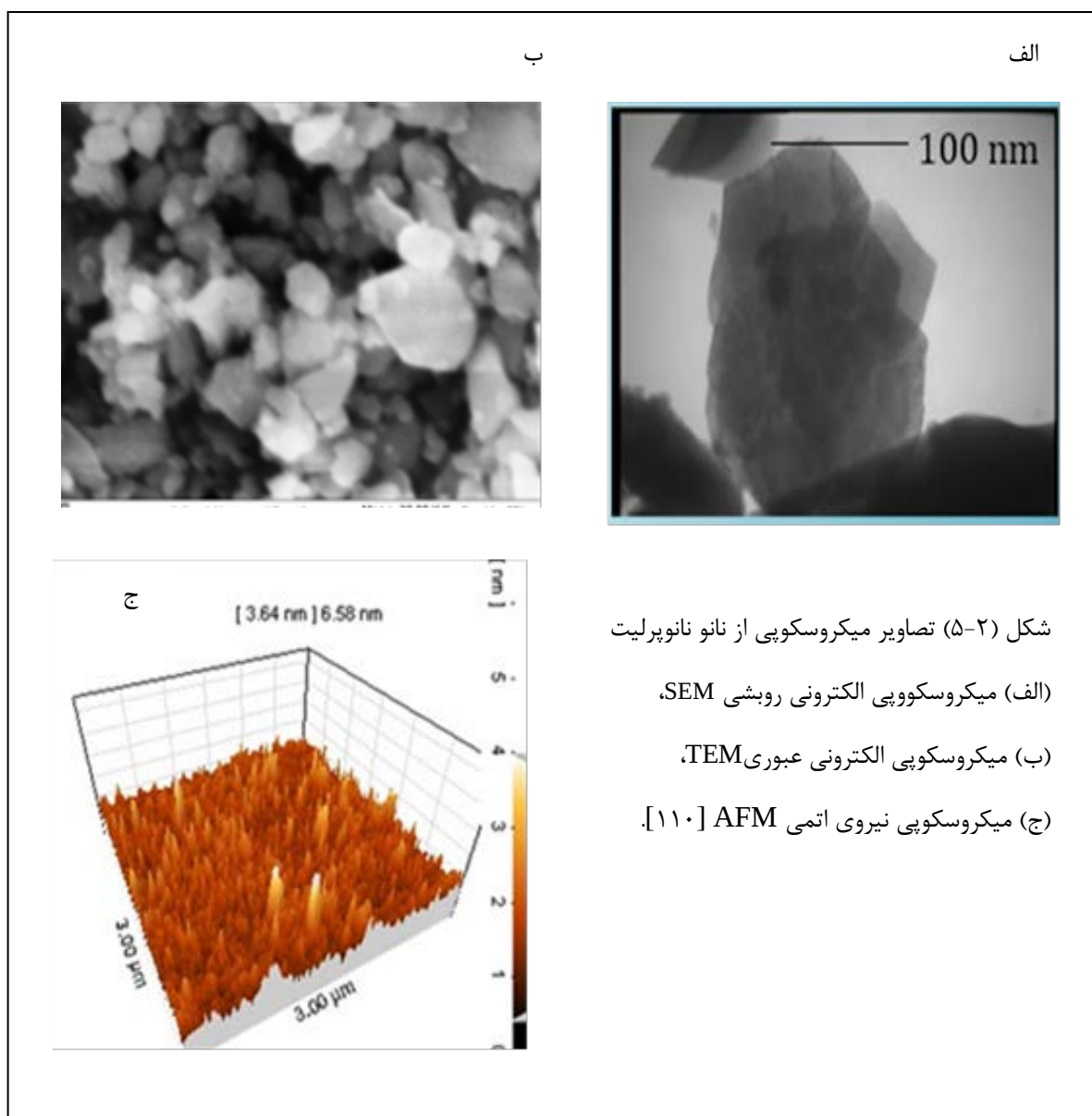
^۴ - Atomic force microscopy(AFM)



شکل (۲-۴) تصاویر میکروسکوپی از نانو دیاتومیت: (الف) میکروسکوپی الکترونی روبشی SEM، (ب) میکروسکوپی الکترونی عبوری TEM، (ج) میکروسکوپی نیروی اتمی AFM [۱۱۰]

۲-۵-۳- جاذب نانو پرلیت

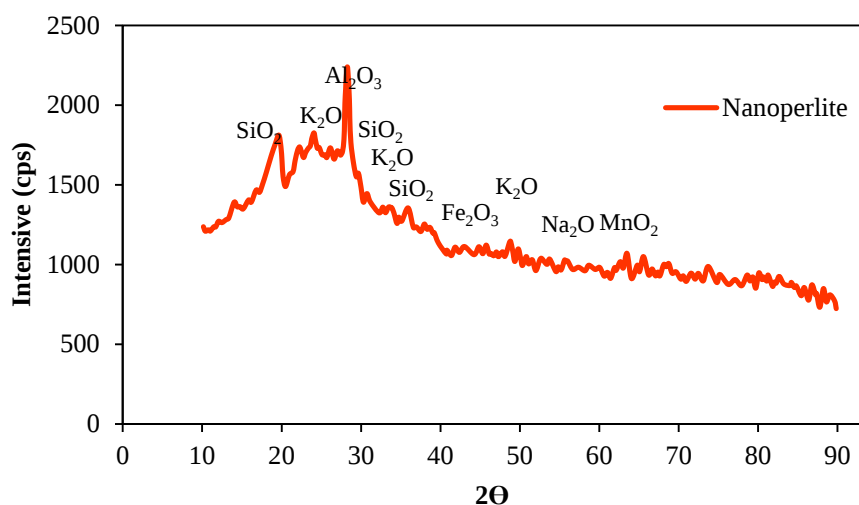
نانو پرلیت به عنوان جاذب طبیعی که توسط گروه تحقیقاتی کیومرث سیف پناهی [۱۱۰] تهیه شده است، برای پیش تغلیظ ترکیبات آلی فسفردار در تکنیک MEPS استفاده گردید. برای بررسی ساختاری ترکیبات نانو از تصاویر میکروسکوپی الکترونی استفاده شده است. شکل (۲-۵) تصاویر میکروسکوپی SEM، TEM و AFM ذرات نانو پرلیت طبیعی را نشان می‌دهد [۱۱۰].



برای بررسی ترکیب شیمیایی ذرات نانو پرلیت نیز از روش پراش اشعه ایکس استفاده شده است که الگوی آن در شکل (۶-۲) آورده شده است. جدول (۵-۲) نیز ترکیب شیمیایی نانوپرلیت را نشان می‌دهد که بیشتر آن را سیلیکات، آلومینا و پتاس تشکیل داده است. این نوع ذرات می‌تواند به عنوان فاز قطبی در برهم کنش‌های شیمیایی عمل کند.

جدول (۵-۲) ترکیب شیمیایی نانوپرلیت طبیعی

درصد وزنی	ترکیب
۵۶/۸۷	SiO _۲
۱۸/۳۶	Al _۲ O _۳
۱۷/۷۰	K _۲ O
۲/۶۱	Na _۲ O
۲/۵۳	Fe _۲ O _۳
۰/۹۶	CaO
۰/۱۹	ZrO _۲
۰/۲	MgO
۰/۲۷	SO _۳
۰/۱۷	TiO _۲
۰/۱۳	MnO _۲
۹۹/۹۹	کل



شکل (۶-۲) پراش اشعه ایکس نانو پرلیت [۱۱۰]

فصل ۳:

نتایج و بحث

۳-۱- پیش تغلیظ آفت‌کش‌های کلردار در نمونه‌های زیست محیطی با استفاده از نانو لوله کربن عامل‌دار کربوکسیلیکی به روش میکرو استخراج با فاز جامد پر شده در سرنگ و اندازه‌گیری با کروماتوگرافی گازی - آشکارساز جرمی

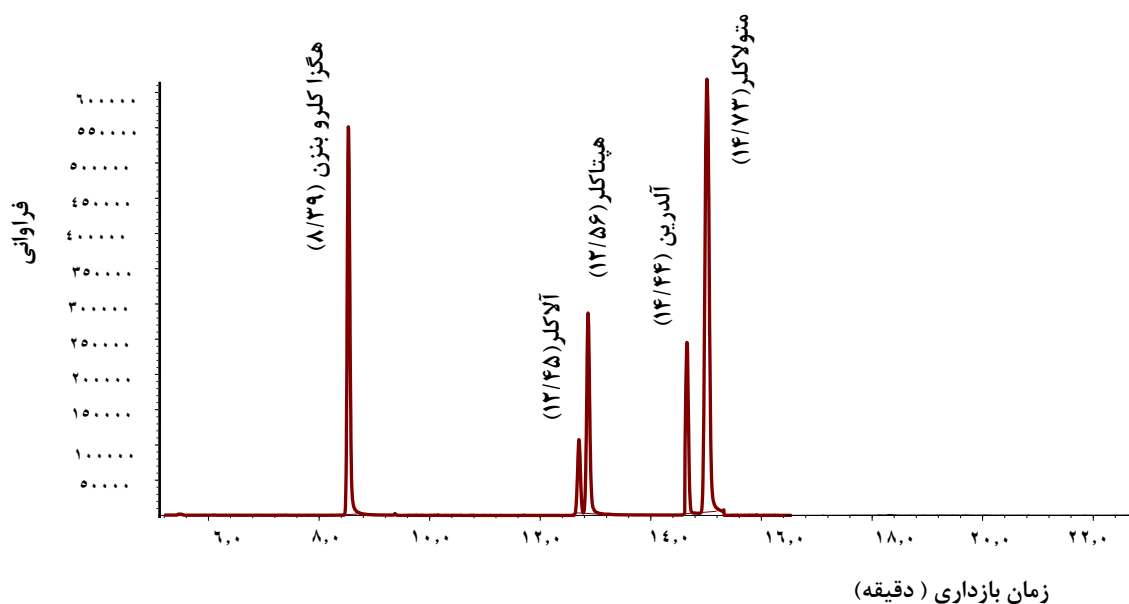
۳-۱-۱- شناسایی و تعیین زمان بازداری ترکیبات

برای شناسایی هر یک از ترکیبات و تعیین زمان بازداری آنها، ابتدا به طور جداگانه مقدار ۱/۰ میکرو لیتر از استاندارد اولیه هر یک از ترکیبات مورد نظر با غلظت ۱/۰ میلی گرم بر لیتر، به دستگاه GC با آشکارساز جرمی در حالت مد پویش^۱ (اسکن) نسبت‌های جرمی، تزریق شد. کروماتوگرام حاصل که دارای یک پیک مشخص باشد، را به عنوان پیک آن ترکیب استاندارد در نظر گرفته و به کمک جستجوی کتابخانه‌ای آشکار ساز جرمی، از پیک مشاهده شده اطمینان حاصل و زمان بازداری این ترکیب تعیین شد. مشخصات و داده‌های تجزیه‌ای ترکیبات اندازه‌گیری شده در جدول (۳-۱) آورده شده است. هم چنین کروماتوگرام تزریق مستقیم نمونه مخلوط استاندارد ۱/۰ میلی گرم بر لیتر ترکیبات آلی کلردار برای تعیین بازداری و تشخیص پیک آن در شکل (۳-۱) آورده شده است.

جدول (۳-۱) مشخصات تجزیه‌ای ترکیبات آلی کلردار

نام ترکیب	زمان بازداری (دقیقه)	جرم یونی انتخاب شده (m/e)
استاندارد داخلی (تری فلورالین)	۷/۵۸	۶۴
هگزاکلرو بنزن	۸/۳۹	۲۸۴
آلاکلر	۱۲/۴۵	۱۹۲
هپتاکلر	۱۲/۵۵	۲۷۲ و ۱۰۰
آلدین	۱۴/۴۴	۹۱ و ۶۶
متولاکلر	۱۴/۷۳	۱۲۶

^۱ -Scan mode



شکل (۱-۳) کروماتوگرام نمونه مخلوط استاندارد ترکیبات آلی کلردار برای تعیین زمان بازداری شرایط جداسازی: غلظت محلول استاندارد آلی کلردار ۱/۰ میلی گرم بر لیتر، حلال متانول، حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر، شرایط دستگاهی مطابق جدول (۲-۲)

همانطور که در شکل (۱-۳) مشاهده می شود پیک های آلاکلر و هپتاکلر نزدیک به هم بوده و بر اساس محاسبه قدرت تفکیک (R_s)، جداسازی دو ترکیب قابل قبول می باشد. مقدار قدرت تفکیک دو پیک بر اساس پهنای و زمان بازداری پیک ها برابر با $R_s = 1/4$ محاسبه شد که بیش از ۹۹٪ جداسازی انجام می شود.

۳-۱-۲- به دست آوردن منحنی کالیبراسیون مستقیم

بدین منظور محلول های استاندارد در گستره غلظتی ۵/۰ تا ۹۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر از هر یک از ترکیبات آلی کلردار مورد نظر در حلال متیل ایزو بوتیل کتون همراه با ۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر از استاندارد داخلی تری فلورالین تهیه شد. سپس از محلول های تازه تهیه شده، مقدار یک میکرو لیتر به دستگاه GC تزریق گردید.

منحنی‌های کالیبراسیون مستقیم از رسم تغییرات سیگنال آنالیت (مساحت نسبی) نسبت به غلظت هر یک از ترکیبات رسم گردید و گستره خطی آشکارساز تعیین شد. غلظت محلول‌های استاندارد در فاز آلی و حجم‌های لازم برای تهیه آنها در جدول (۲-۳) خلاصه شده است.

مساحت نسبی برابر با نسبت مساحت زیر پیک آنالیت به مساحت زیر پیک استاندارد داخلی است. این عبارت در همه شکل‌ها با عنوان $\frac{A_a}{A_{IS}}$ نشان داده شده است، که A_{IS} و A_a به ترتیب برابر با مساحت زیر پیک هر آنالیت و مساحت استاندارد داخلی می‌باشد.

جدول (۲-۳) استانداردهای کالیبراسیون مستقیم و حجم‌های لازم از استاندارد اولیه در حلال متیل ایزو بوتیل کتون

شماره	غلظت محلول‌های استاندارد تهیه شده (بر حسب $\mu\text{g/L}$)	حجم لازم از محلول‌های استاندارد اولیه بر حسب میکرو لیتر	حجم نهایی استاندارد کالیبراسیون (ml)
۱	۱۰/۰	۱۰۰/۰ میکرو لیتر از محلول $1000 \mu\text{g/L}$	۱/۰
۲	۲۵/۰	۲۵۰/۰ میکرو لیتر از محلول $1000 \mu\text{g/L}$	۱/۰
۳	۵۰/۰	۵۰۰/۰ میکرو لیتر از محلول $1000 \mu\text{g/L}$	۱/۰
۴	۱۰۰/۰	۱۰۰۰/۰ میکرو لیتر از محلول $1000 \mu\text{g/L}$	۱/۰
۵	۲۰۰/۰	۲۰۰۰/۰ میکرو لیتر از محلول $1000 \mu\text{g/L}$	۱/۰
۶	۳۰۰/۰	۳۰۰۰/۰ میکرو لیتر از محلول $1000 \mu\text{g/L}$	۱/۰
۷	۵۰۰/۰	۵۰۰۰/۰ میکرو لیتر از محلول $1000 \mu\text{g/L}$	۱/۰
۸	۷۵۰/۰	۷۵۰۰/۰ میکرو لیتر از محلول $1000 \mu\text{g/L}$	۱/۰
۹	۹۰۰/۰	۹۰۰۰/۰ میکرو لیتر از محلول $1000 \mu\text{g/L}$	۱/۰

جدول (۳-۳) میانگین مساحت‌های نسبی پیک‌های ترکیبات آلی کلردار را برای ۵ مرتبه تزریق نمونه‌های استاندارد نشان می‌دهد. داده‌های آماری حاصل از رسم منحنی‌های کالیبراسیون شامل گستره دینامیکی بر حسب میکرو گرم بر لیتر، ضرایب تعیین (R^2)، معادله خط و شیب منحنی هر یک از ترکیبات آلی کلردار در جدول (۴-۳) نمایش داده شده است.

جدول (۳-۳) نتایج کالیبراسیون مستقیم در غلظت های مختلف ترکیبات آلی کلردار در حلال متیل ایزو بوتیل کتون

غلظت آنالیت ($\mu\text{g/L}$)	A_a/A_{IS}				
	متولاکلر	آلدرین	آلاکلر	هپتاکلر	هگزا کلرو بنزن
۱۰/۰	۰/۴۶	۰/۱۴	۰/۱۷	۰/۱۲	۰/۴۴
۲۵/۰	۱/۱۰	۰/۲۸	۰/۴۰	۰/۲۸	۱/۰۷
۵۰/۰	۲/۴۵	۰/۵۴	۰/۹۸	۰/۵۹	۲/۲۵
۷۵/۰	۳/۱۹	۰/۹۱	۱/۴۵	۱/۰۴	۳/۳۰
۱۰۰/۰	۴/۲۲	۱/۱۹	۲/۱۵	۱/۳۷	۴/۶۱
۱۵۰/۰	۶/۰۲	۱/۹۴	۳/۳۱	۲/۲۴	۷/۴۵
۲۰۰/۰	۷/۲۳	۲/۴۷	۴/۳۲	۳/۰۷	۱۰/۳۴
۳۰۰/۰	۱۰/۴۴	۳/۷۱	۶/۷۵	۴/۷۳	۱۵/۶۶
۵۰۰/۰	۱۸/۰۷	۶/۳۹	۱۱/۶۴	۷/۹۳	۲۷/۰۸
۷۵۰/۰	۲۰/۱۵	۸/۱۳	۱۴/۰۰	۹/۹۷	۳۳/۹۶

A_{IS} مساحت پیک مربوط به استاندارد داخلی و A_a مساحت پیک مربوط به آنالیت می باشد.

مقادیر گزارش شده میانگین پنج اندازه گیری تکراری می باشد.

جدول (۴-۳) نتایج کالیبراسیون مستقیم شامل گستره دینامیکی، ضریب تعیین (R^2)، معادله خط و شیب منحنی

نام ترکیب	گستره دینامیکی ($\mu\text{g/L}$)	ضریب تعیین (R^2)	معادله خط
هگزا کلرو بنزن	۱۰/۰ - ۵۰۰/۰	۰/۹۹۹	$y=۰/۰۵۵x-۰/۵۴۷$
هپتاکلر	۱۰/۰ - ۵۰۰/۰	۰/۹۹۹۷	$y=۰/۰۱۶x-۰/۱۵۶$
آلاکلر	۵۰/۰ - ۵۰۰/۰	۰/۹۹۸	$y=۰/۰۲۳x-۰/۲۱۴$
آلدرین	۱۰/۰ - ۵۰۰/۰	۰/۹۹۷	$y=۰/۰۱۳x-۰/۵۰۴$
متولاکلر	۵۰/۰ - ۵۰۰/۰	۰/۹۹۷	$y=۰/۰۳۴x+۰/۴۳۷$

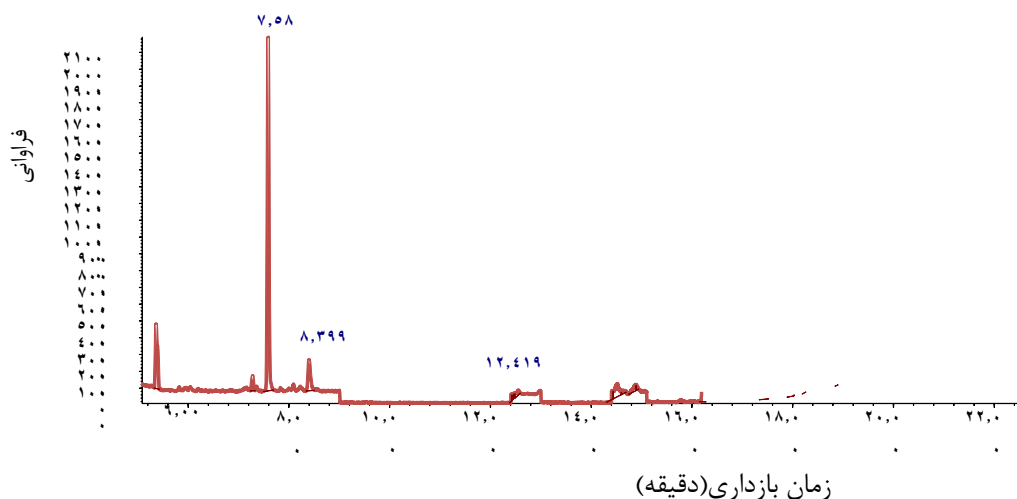
۳-۱-۳- استخراج و پیش تغلیظ

فرآیند استخراج و پیش تغلیظ آنالیت بر روی یک نمونه ۱۰/۰ میلی لیتری بافری شده در pH معین که مقدار معینی از ترکیبات آلی کلردار به آن اضافه شده است، انجام گرفت. روش استخراج به این صورت بود که در آن نمونه از فاز آبی به داخل سرنگ حاوی جاذب نانو لوله کربنی عامل دار هدایت شده و دوباره به نمونه اصلی برگردانده شد. این کار به تعداد ۲۵ مرتبه انجام گرفت. سپس جاذب

داخل سرنگ، با هدایت یک میلی‌لیتر آب مقطر به داخل سرنگ (همانند نمونه‌گیری در مرحله استخراج) به تعداد ۵ مرتبه شستشو داده شد تا مزاحمت‌های ناخواسته از جمله بافر فسفاتی از بین برود. پس از مرحله حذف مزاحم، سرنگ و جاذب و فیلترهای داخل آن با عبور دادن گاز بی اثر نیتروژن با خلوص آزمایشگاهی با سرعت جریان ملایم به مدت یک دقیقه خشک گردید تا آب مقطر باقی مانده و چسبیده به جاذب از بین برود. بعد از انجام فرآیند استخراج، آنالیت‌های جذب شده بر روی جاذب به کمک ۱۰۰/۰ میکرولیتر حلال آلی مناسب، همانند فرآیند پیش تغلیظ و نمونه‌گیری، شویش و واجذب آنالیت‌ها انجام شد. در این مرحله، ابتدا مقدار ۱۰۰/۰ میکرو لیتر حلال مناسب به یک ویال^۱ (ظرف شیشه‌ای کوچک) منتقل و به کمک پیستون سرنگ و نیروی دست، به تعداد ۵ مرتبه حلال به داخل سرنگ هدایت شده تا آنالیت‌ها را از سطح جاذب شویش نماید. یادآوری اینکه سر سرنگ^۲ در مرحله شویش بهتر است از جنس استیل باشد. نمونه استخراج شده در ویال شیشه‌ای ذخیره و نگهداری شد. بلافاصله ۱/۰ میکرو لیتر از نمونه استخراج شده، به دستگاه GC-MS تزریق و جداسازی و اندازه‌گیری‌های تجزیه‌ای انجام شد. شکل (۲-۳) نمونه‌ای از کروماتوگرام تزریق یک میکرو لیتر نمونه استخراج شده از یک محلول شاهد برای بررسی ناخالصی‌های حلال و یا مزاحمت‌های ناشی از اثر بافت جاذب را نشان می‌دهد. محلول شاهد شامل یک نمونه آب خالص بافری شده توسط بافر فسفاتی بدون ترکیبات استاندارد آلی کلردار که همانند نمونه‌های استاندارد، تمام مراحل پیش تغلیظ و واجذب در حلال واجذب کننده دارای ۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر از تری فلورالین با زمان بازداری ۷/۵۸ دقیقه به عنوان استاندارد داخلی انجام شده، می‌باشد.

^۱ - Vial

^۲ - Needle



شکل (۲-۳) کروماتوگرام پیش تغلیظ نمونه شاهد

شرایط: نوع حلال واجذب کننده متیل ایزو بوتیل کتون، حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر؛ غلظت استاندارد داخلی تری فلورالین ۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر، حجم نمونه شاهد ۱۰/۰ میلی لیتر؛ حجم حلال ۱۰۰/۰ میکرو لیتر، وزن جاذب ۶/۰ میلی گرم، تعداد مرتبه نمونه گیری ۲۵ مرتبه، شرایط دستگاهی و جداسازی مطابق جدول (۲-۲)

۳-۱-۴- بررسی و بهینه سازی فاکتورهای موثر در پیش تغلیظ و اندازه گیری

به منظور فراهم نمودن بهترین شرایط برای پیش تغلیظ و همچنین دستیابی به بهترین حساسیت، فاکتورهای مؤثر بر میکرو استخراج، مورد بررسی قرار گرفتند که این فاکتورها عبارتند از:

(۱) pH نمونه

(۲) حجم بافر

(۳) نوع و حجم حلال استخراج کننده

(۴) جرم جاذب

(۵) اثر نمک (قدرت یونی)

(۶) تعداد مرتبه نمونه گیری

تأثیر فاکتورهای موثر بر شدت سیگنال و کارایی استخراج، با روش یک متغیر در یک زمان مورد بررسی قرار گرفتند.

۳-۱-۴-۱- بررسی اثر pH

برای ارزیابی اثر pH بر روی کارائی استخراج سموم کلردار از نمونه‌های آبی، کارآیی استخراج در گستره pH، ۴/۰ الی ۹/۰ در یک مخلوط با پنج ترکیب کلردار به طور همزمان بررسی شد. برای بررسی آن، محلول‌های استاندارد با حجم ۵۰/۰ میلی لیتر با غلظت ۵/۰ میکروگرم بر لیتر هر یک از ترکیبات در محیط آبی تهیه شدند. به ازای هر ۱۰/۰ میلی لیتر حجم نهایی، ۲/۰ میلی لیتر محلول بافر فسفاتی ۰/۱ مولار به آن اضافه و سپس با آب مقطر به حجم رسانده شد. سپس فرآیند پیش تغلیظ و استخراج به کمک سرنگ طراحی شده همراه با جاذب نانو لوله کربنی عامل‌دار کربوکسیلیکی بر روی ۱۰/۰ میلی لیتر نمونه مذکور انجام شد. در تمامی مراحل پیش تغلیظ و بررسی‌های اولیه پارامترهای موثر در کارآیی جذب و پیش تغلیظ، تعداد ۲۵ مرتبه عمل نمونه‌گیری انجام شد. پس از عمل پیش تغلیظ، مرحله خشک کردن جاذب و واجذب ترکیبات از روی جاذب به کمک ۱۰۰/۰ میکرو لیتر حلال متیل ایزو بوتیل کتون، نمونه‌های استخراج شده در ویال نگهداری و برای جلوگیری از کاهش حجم در اثر تبخیر، بلافاصله مقدار ۱/۰ میکرو لیتر از نمونه پیش تغلیظ شده به دستگاه GC تزریق شد. پاسخ‌های آشکارساز دستگاه تجزیه‌ای بر حسب مساحت نسبی نسبت به تغییرات pH در گستره ۴/۰ الی ۹/۰ برای هر یک از ترکیبات آلی کلردار رسم شد شکل (۳-۳). داده‌های حاصل از کروماتوگرام و نتایج بدست آمده از بررسی اثر pH بر روی کارائی استخراج ترکیبات آلی کلردار در جدول (۳-۵) نشان داده شده است.

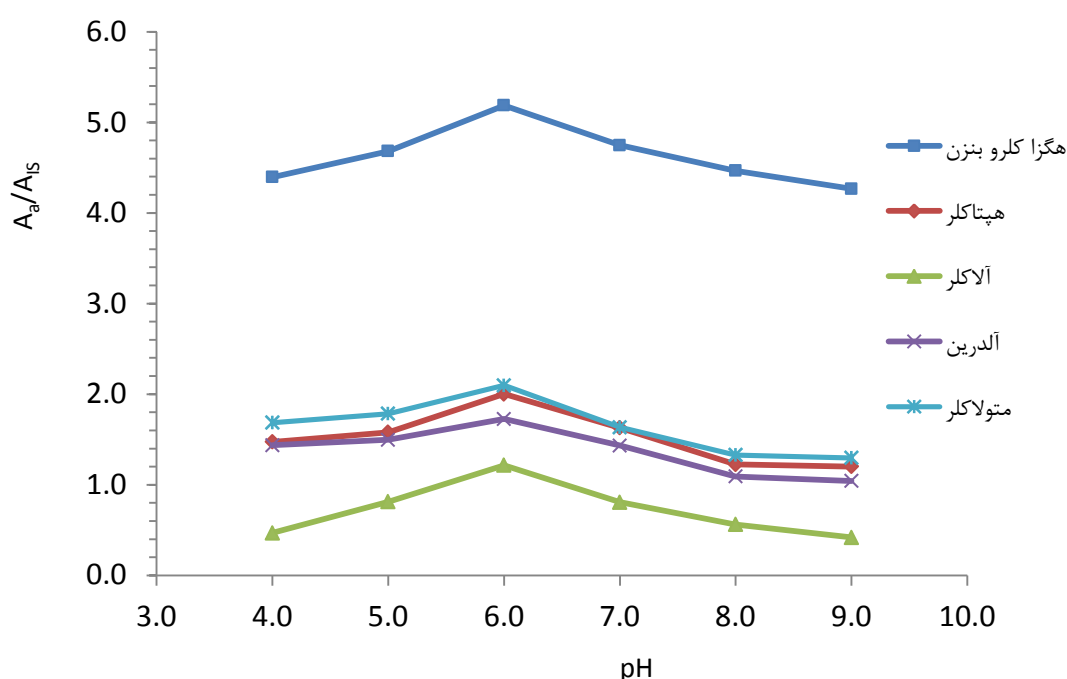
جدول (۳-۵) نتایج بررسی تغییرات pH نمونه و تاثیر آن در کارایی پیش تغلیظ نمونه با غلظت ۵/۰ میکروگرم بر لیتر ترکیبات آلی کلردار با حلال واجذب متیل ایزو بوتیل کتون

نام ترکیب	پارامتر	pH					
		pH=۹/۰	pH=۸/۰	pH=۷/۰	pH=۶/۰	pH=۵/۰	pH=۴/۰
هگزا کلرو بنزن	A_a/A_{IS}	۴/۲۷	۴/۴۷	۴/۷۵	۵/۱۹	۴/۶۸	۴/۳۹
	% RSD	۵/۴	۴/۹	۱۲/۳	۱۱/۹	۹/۸	۱۳/۸
	بازده استخراج %	۱۷/۵۹	۱۸/۳۲	۱۹/۳۵	۲۰/۹۶	۱۹/۱۱	۱۸/۰۷
هپتاکلر	A_a/A_{IS}	۱/۱۸	۱/۲۲	۱/۶۳	۲/۰۰	۱/۵۸	۱/۴۷
	% RSD	۲/۵	۴/۹	۲/۸	۸/۵	۹/۱	۴/۹
	بازده استخراج %	۱۶/۹۱	۱۷/۲۶	۲۲/۳۲	۲۶/۹۷	۲۱/۷۰	۲۰/۳۷
آلاکلر	A_a/A_{IS}	۰/۴۲	۰/۵۶	۰/۸۱	۱/۲۲	۰/۸۱	۰/۴۷
	% RSD	۲/۵	۵/۱	۴/۴	۹/۹	۵/۴	۸/۶
	بازده استخراج %	۵/۴۰	۶/۶۱	۸/۶۹	۱۲/۱۸	۸/۷۴	۵/۸۰
آلدین	A_a/A_{IS}	۱/۰۴	۱/۰۹	۱/۴۳	۱/۷۳	۱/۵	۱/۴۴
	% RSD	۳/۷	۲/۷	۳/۲	۱۲/۵	۵/۲	۱۱/۳
	بازده استخراج %	۱۷/۶۰	۱۷/۸۳	۲۳/۱۷	۲۷/۷۷	۲۴/۱۸	۲۳/۲۳
متولاکلر	A_a/A_{IS}	۱/۳۰	۱/۳۳	۱/۶۳	۲/۱۰	۱/۷۸	۱/۶۹
	% RSD	۴/۰	۶/۸	۹/۶	۱۲/۳	۵/۳	۱۱/۱
	بازده استخراج %	۴/۹۲	۵/۱۲	۶/۸۶	۹/۵۱	۷/۷۱	۷/۱۵

همانطوری که در شکل (۳-۳) مشاهده می‌شود، کارایی استخراج برای ترکیبات آلی کلردار تا pH=۶/۰ افزایش یافته و سپس مقدار آن‌ها کاهش می‌یابد. بنابراین pH نمونه‌های آبی در pH=۶/۰ تنظیم و برای آزمایش‌های بعدی انتخاب گردید..

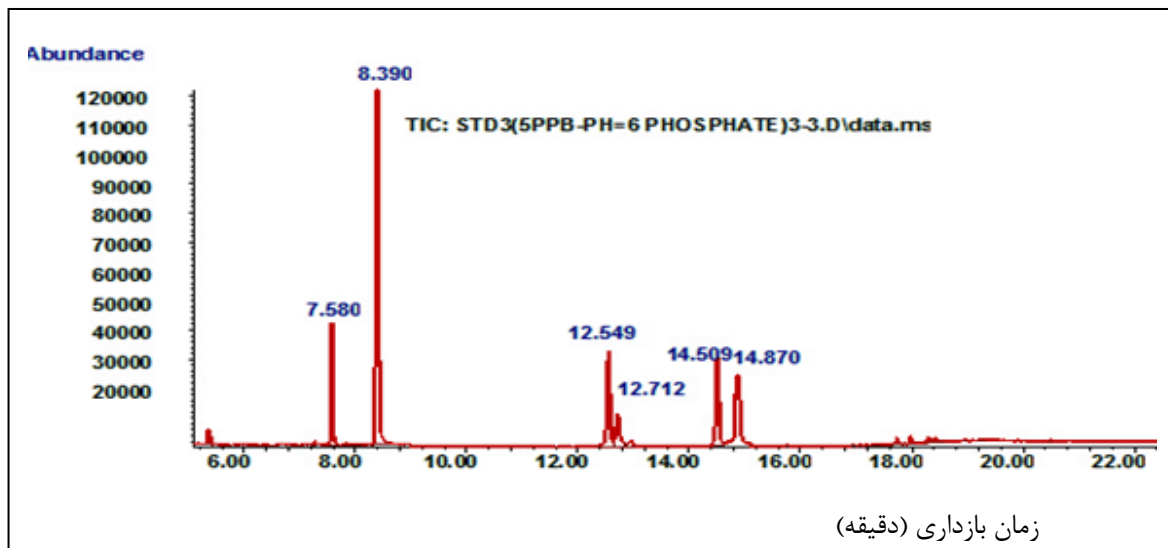
به طور کلی در محیط آبی ترکیبات در حالت خنثی نسبت به حالت یونی بهتر استخراج می‌شوند. با توجه به اینکه ترکیبات آلی کلردار از جمله ترکیبات نسبتاً غیرقطبی هستند توسط جاذب‌های غیر قطبی بهتر استخراج می‌شوند. هم چنین توانایی جاذب در استخراج ترکیبات به شرایط اسیدی و بازی، برهم‌کنش‌ها و نیروهای بین مولکولی، پیوندهای $\pi-\pi$ ، نیروهای دوقطبی-دوقطبی و تعویض یونی بین جاذب و آنالیت بستگی دارد. بنابر این، جاذب نانو لوله کربن با سطح غیر قطبی همراه با گروه

عاملی کربوکسیل (COOH) در محیط اسیدی توانایی بیشتری برای جذب آنالیت دارد. در pH های بالاتر از ۶/۰ به علت از دست دادن هیدروژن و تبدیل گروه عاملی COOH- به حالت کربوکسیلات -COO⁻، دارای سطح قطبی و یونی شده و از توانایی جاذب در جذب آنالیت های غیر قطبی به ویژه ترکیبات هگزاکلرو بنزن، هپتاکلر و آلدین کم می شود. بنابراین pH=۶/۰ می تواند شرایط مناسبی برای استخراج باشد



شکل (۳-۳) اثر تغییرات pH نمونه بر کارایی استخراج ترکیبات آلی کلردار
 شرایط استخراج: حجم نمونه استخراج ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت ترکیبات آلی کلردار ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر، حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر متیل ایزو بوتیل کتون، تعداد ۲۵ مرتبه نمونه گیری، ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی

نمونه ای از کروماتوگرام حاصل از تزریق یک میکرو لیتر نمونه استخراج شده از محلول استاندارد ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر هر یک از ترکیبات آلی کلردار در شرایط بهینه شده pH=۶/۰ در شکل (۳-۴) نشان داده شده است.



شکل (۳-۴) کروماتوگرام نمونه استخراج شده در $\text{pH}=6/0$
 شرایط استخراج: حجم نمونه استخراج $10/0$ میلی لیتر، غلظت ترکیبات آلی کلردار $5/0$ میکرو گرم بر لیتر، حلال 100 میکرو لیتر متیل ایزو بوتیل کتون، $2/0$ میلی لیتر بافر فسفاتی $0/1$ مولار

۳-۴-۱-۲- اثر حجم بافر

در نقطه pH بهینه، اثر حجم بافر فسفاتی نیز مطالعه و بررسی شد. بدین منظور حجم های $0/5$ ، $1/0$ ، $1/5$ ، $2/0$ ، $2/5$ ، $3/0$ و $4/0$ میلی لیتر از بافر فسفات به نمونه استاندارد اضافه شده و حجم نهایی به $10/0$ میلی لیتر رسانده شد. نتایج حاصل نشان داد که کارایی استخراج در محلول بافری فسفاتی با حجم $2/0$ کارایی بهتری نسبت به سایر حجم ها دارد. بنابراین همه محلولهای استاندارد به همراه $2/0$ میلی لیتر محلول بافر $0/1$ مولار با $\text{pH}=6/0$ به حجم رسانده شد.

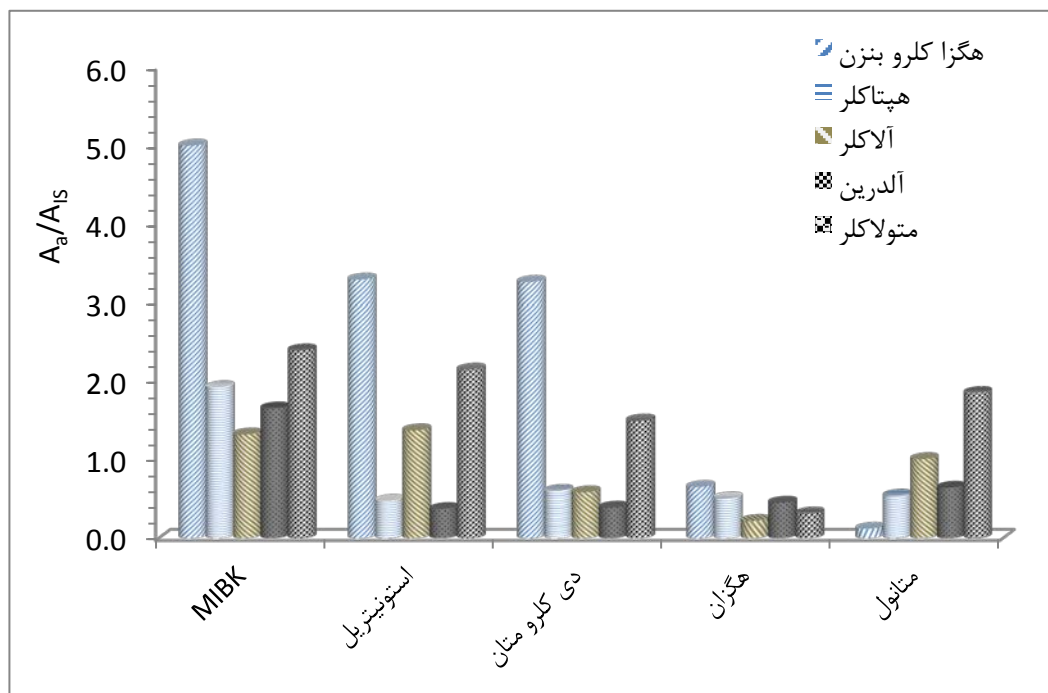
۳-۴-۱-۳- اثر حجم و نوع حلال آلی واجذب کننده

برای رسیدن به کارایی بالای استخراج، انتخاب حلال آلی مناسب، یکی از فاکتورهای مهم می-باشد. بنابراین واجذب سموم استخراج شده از روی سطح جاذب با استفاده از $100/0$ میکرو لیتر از حلال های آلی شامل n -هگزان، متانول، متیل ایزو بوتیل کتون، استونیتریل و دی کلرومتان بررسی

شد. نتایج حاصل از بررسی اثر حلال‌های مختلف در مقدار واجذب سموم آلی کلردار از روی جاذب، در جدول (۶-۳) و شکل (۵-۳) نشان داده شده است. بر اساس نتایج مشخص می‌شود که حلال متیل ایزو بوتیل کتون برای واجذب و شویش سموم کلردار مورد مطالعه، بهتر از سایر حلال‌ها بوده و بنابراین به عنوان مناسب‌ترین حلال واجذب‌کننده انتخاب شد. با توجه به غیر قطبی بودن سطح جاذب نانو لوله کربن و داشتن سطح آبگریز، این جاذب می‌تواند ترکیبات غیرقطبی را بهتر جذب کند و برهمکنش‌های بهتری با ترکیبات آلی کلردار غیرقطبی داشته باشد. در فرایند واجذب، هرچه حلال غیرقطبی‌تر باشد مولکهای غیرقطبی جذب شده در سطح جاذب را بهتر شویش نموده و عمل واجذب بهتر صورت می‌گیرد. بنابراین حلال نسبتاً غیرقطبی متیل ایزوبوتیل کتون نسبت به سایر حلال‌های قطبی مثل متانول، استون و دی کلرومتان ترکیبات غیرقطبی آلی کلردار را بهتر واجذب می‌کند.

جدول (۶-۳) مساحت‌های نسبی در حلال‌های مختلف در پیش تغلیظ نمونه‌های آلی کلردار

نام ترکیب	پارامتر	نوع حلال واجذب‌کننده			
		متیل ایزو بوتیل کتون	استونیتریل	دی کلرو متان	n-هگزان
هگزا کلرو بنزن	A_g/A_{IS}	۵/۰۱	۳/۳۰	۳/۲۷	۰/۶۶
	% RSD	۹/۷	۴/۷	۵/۱	۵/۲
	بازده استخراج %	۲۰/۳۱	۱۴/۰۸	۱۳/۹۷	۴/۴۲
هیپتاکلر	A_g/A_{IS}	۱/۹۴	۰/۴۸	۰/۶۱	۰/۵۲
	% RSD	۹/۱	۱/۸	۸/۶	۷/۳
	بازده استخراج %	۲۶/۲۰	۸/۰۱	۹/۶۱	۸/۴۳
آلاکلر	A_g/A_{IS}	۱/۳۴	۱/۳۹	۰/۶۰	۰/۲۳
	% RSD	۱۱/۲	۵/۵	۹/۸	۸/۵
	بازده استخراج %	۱۳/۲۳	۱۳/۶۷	۶/۹۰	۰/۴۵
آلدین	A_g/A_{IS}	۱/۶۷	۰/۳۸	۰/۴۰	۰/۴۶
	% RSD	۵/۴	۵/۷	۶/۶	۱۲/۳
	بازده استخراج %	۲۶/۹۱	۶/۷۰	۷/۰۰	۸/۰۰
متولاکلر	A_g/A_{IS}	۲/۴۱	۲/۱۷	۱/۵۲	۰/۳۲
	% RSD	۴/۳	۴/۷	۱۲/۵	۱۲/۱
	بازده استخراج %	۱۱/۳۱	۹/۹۱	۶/۱۹	۳/۰

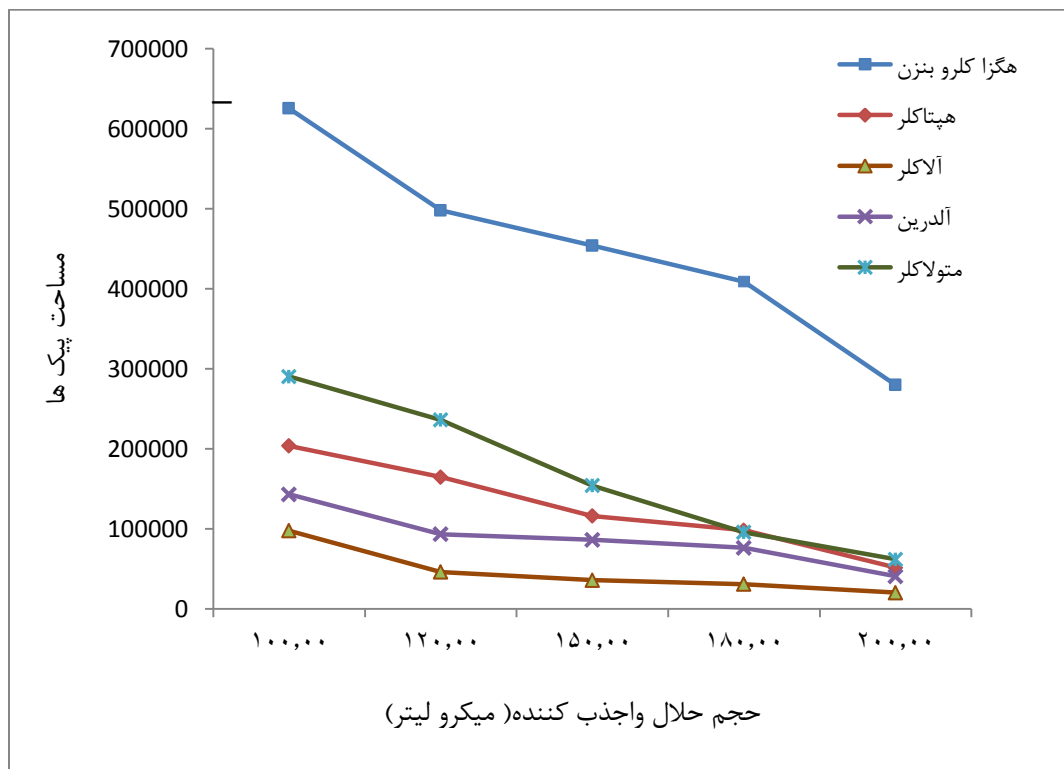


شکل (۳-۵) اثر نوع حلال واجذب کننده بر کارایی استخراج

شرایط استخراج: حجم نمونه استخراج ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت ترکیبات آلی کلردار ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر، pH نمونه برابر ۶/۰، ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۱ مولار، حلال‌های واجذب کننده متیل ایزوبوتیل کتون، استونیتریل، دی کلرو متان، هگزان نرمال، متانول، حجم حلال‌ها ۱۰۰ میکرو لیتر، حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر.

یکی از پارامترهای تاثیرگذار بر کارایی استخراج ترکیبات، حجم حلال واجذب کننده است. برای بررسی این پارامتر موثر، حجم‌های ۱۰۰/۰، ۱۲۰/۰، ۱۵۰/۰، ۱۸۰/۰ و ۲۰۰/۰ میکرو لیتر از حلال متیل ایزو بوتیل کتون برای استخراج ترکیبات آلی کلردار جذب شده بر روی جاذب، بکار گرفته شد. بدین منظور، نمونه‌های استاندارد با غلظت ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر از ترکیبات آلی کلردار در حجم های ۱۰/۰ میلی لیتری در محلول بافری فسفاتی ۰/۰۲ مولار تهیه شدند. مراحل نمونه‌گیری این نمونه‌ها با کمک جاذب انجام شدند. سپس بر روی این جاذب‌ها به کمک حلال واجذب کننده در حجم‌های مشخص شده با ۵ مرتبه شویش، عمل واجذب ترکیبات صورت گرفت. شکل (۳-۶) نمودار-های حاصل از تغییرات سطوح زیر پیک هر یک از ترکیبات آلی کلردار در مقابل حجم حلال واجذب

کننده را نشان می‌دهد. با توجه به اینکه واجذب آنالیت با حجم‌های کمتر می‌تواند فاکتور تغلیظ را افزایش دهد، افزایش شدت سیگنال در حجم‌های پایین حلال واجذب کننده درست و قابل انتظار است. بنابراین حجم ۱۰۰/۰ میکرو لیتر با شدت سیگنال بیشتر انتخاب شد.



شکل (۳-۶) بررسی اثر حجم حلال واجذب کننده

شرایط استخراج: حجم نمونه استخراج ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت ترکیبات آلی کلردار ۵ میکرو گرم بر لیتر، حلال واجذب کننده متیل ایزو بوتیل کتون، pH نمونه برابر ۶/۰، ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۱ مولار، ۶/۰ میلی گرم جاذب نانو لوله کربن، تعداد ۲۵ مرتبه نمونه گیری

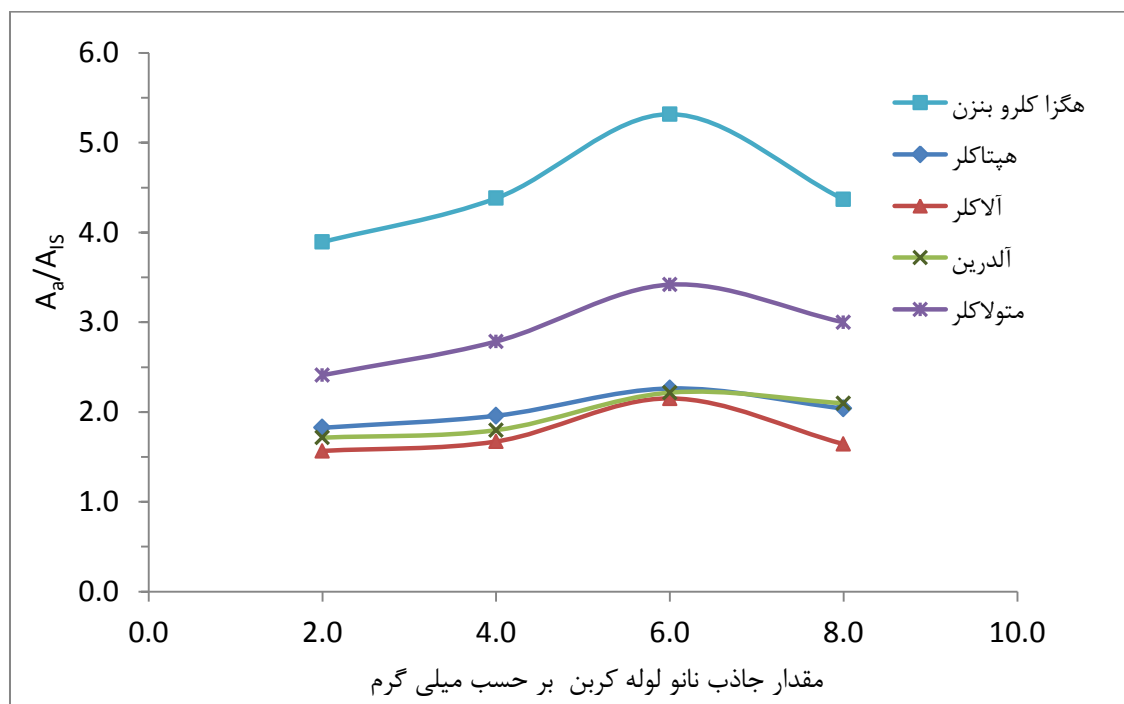
۳-۴-۱-۴- بررسی اثر مقدار جاذب

یکی از پارامترهای موثر در جذب و کارایی استخراج، مقدار و وزن جاذب می باشد. برای بررسی تاثیر این پارامتر در کارایی استخراج، مقادیر ۲/۰، ۴/۰، ۶/۰ و ۸/۰ میلی گرم از جاذب برای پیش تغلیظ ترکیبات آلی کلردار در داخل سرنگ طراحی شده، بکار گرفته شد. نتایج بررسی تاثیر مقدار جاذب در کارایی استخراج ترکیبات آلی کلردار در جدول (۳-۷) و شکل (۳-۷) نشان داده شده است. همان طور

که مشاهده می‌شود کارایی استخراج در مقدار ۶/۰ میلی گرم از جاذب نانو لوله دارای بیشترین مقدار بوده و در مقادیر کمتر به دلیل اشباع شدن سریع مکان‌های جذب آنالیت، کارایی استخراج کم می‌باشد. همین‌طور در مقادیر بالاتر از ۶/۰ میلی گرم از جاذب بکار گرفته شده، به دلیل افزایش فشار ناشی از افزایش ضخامت توده جاذب، کارایی استخراج کاهش می‌یابد.

جدول (۳-۷) بررسی تاثیر مقدار جاذب در کارایی استخراج ترکیبات آلی کلردار

نام ترکیب	پارامتر	مقدار جاذب بر حسب میلی گرم			
		۸/۰	۶/۰	۴/۰	۲/۰
هگزا کلرو بنزن	A_d/A_{IS}	۴/۳۷	۵/۳۲	۴/۳۸	۳/۸۹
	% RSD	۶/۴	۳/۳	۵/۸	۲/۶
	بازده استخراج %	۱۷/۹۷	۲۱/۴۴	۱۸/۰۲	۱۶/۲۳
هپتاکلر	A_d/A_{IS}	۲/۰۴	۲/۲۶	۱/۹۶	۱/۸۲
	% RSD	۶/۵	۴/۵	۱/۶	۶/۳
	بازده استخراج %	۲۷/۴۴	۳۰/۲۳	۲۶/۴۴	۲۴/۷۶
آلاکلر	A_d/A_{IS}	۱/۶۴	۲/۱۵	۱/۶۷	۱/۵۷
	% RSD	۲/۸	۶/۲	۲/۳	۴/۲
	بازده استخراج %	۱۵/۸۰	۲۰/۱۴	۱۶/۰۵	۱۵/۱۶
آلدرین	A_d/A_{IS}	۲/۱۰	۲/۲۲	۱/۸۰	۱/۷۱
	% RSD	۷/۶	۵/۴	۳/۳	۳/۵
	بازده استخراج %	۳۳/۵۶	۳۵/۴۲	۲۸/۸۹	۲۷/۵۷
متولاکلر	A_d/A_{IS}	۳/۰۰	۳/۴۲	۲/۷۹	۲/۴۱
	% RSD	۶/۵	۵/۷	۷/۴	۸/۴
	بازده استخراج %	۱۴/۶۸	۱۷/۰۹	۱۳/۴۶	۱۱/۳۱



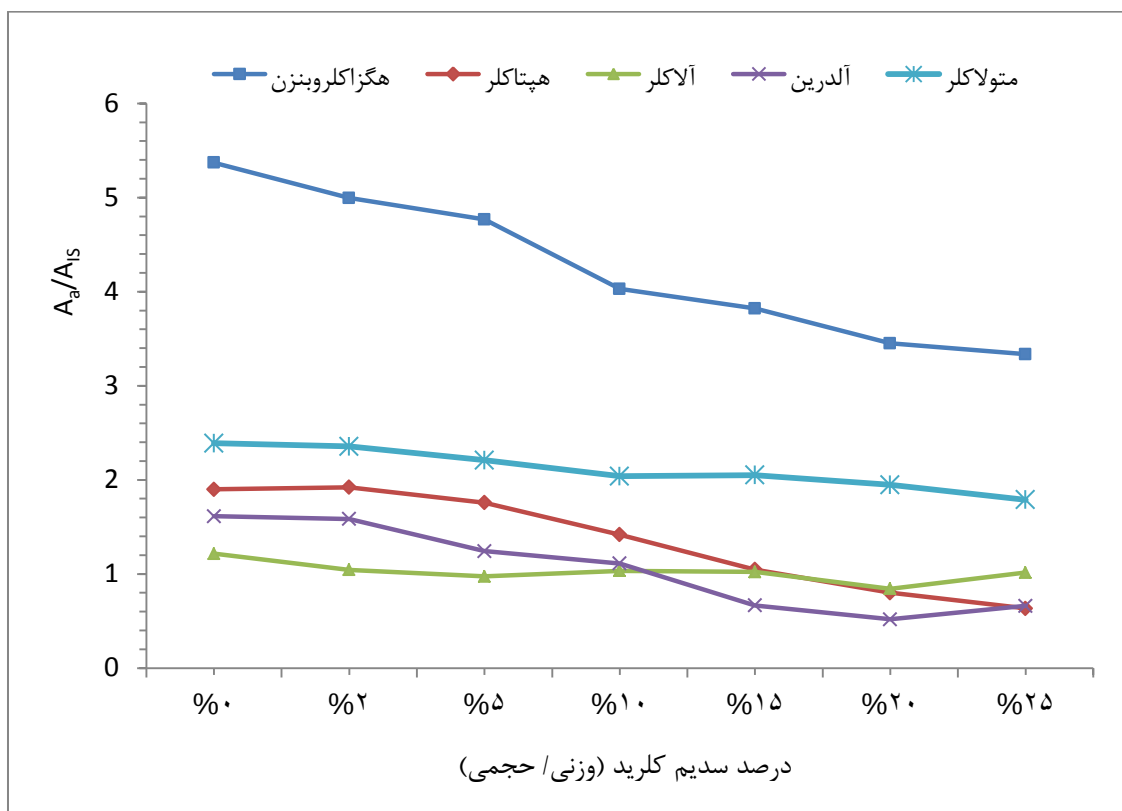
شکل (۳-۷) اثر مقدار جاذب نانو لوله کربن بر کارایی استخراج ترکیبات آلی کلردار
شرایط استخراج: حجم نمونه استخراج ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت ترکیبات آلی کلردار ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر؛ حلال
وا جذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر متیل ایزوبوتیل کتون؛ pH نمونه برابر ۶/۰، ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۱ مولار،
تعداد مرتبه نمونه گیری ۲۵ مرتبه.

۳-۴-۵- بررسی قدرت یونی

معمولاً افزایش نمک با هدف افزایش قدرت یونی محلول‌ها و کاهش حلالیت آنالیت‌های آب‌گریز در فاز آبی و در نتیجه بهبود کارایی استخراج، انجام می‌شود. با این وجود، اثر افزایش نمک به نوع آنالیت-ها و نوع جاذب هم بستگی دارد. در این مطالعه، اثر مقدار سدیم کلرید با افزایش آن در گستره ۱-۲۵ درصد وزنی-حجمی در محلول‌های استاندارد بررسی شد. نتایج حاصل در این مورد نشان می‌دهد که افزایش سدیم کلرید اثر قابل ملاحظه‌ای در کارایی استخراج سموم کلره که باعث بهبود استخراج شود، نداشته بلکه تا حدودی کارایی استخراج بعضی ترکیبات کاهش می‌یابد. بنابراین آزمایش‌های مورد نظر در مراحل بعدی بدون افزایش نمک انجام گرفت. نتایج بررسی اثر قدرت یونی در کارایی پیش تغلیظ ترکیبات، در جدول (۳-۸) و شکل (۳-۸) نشان داده شده است.

جدول (۸-۳) مساحت های نسبی در قدرت یونی های مختلف در پیش تغلیظ نمونه های آلی کلردار

نام ترکیب	پارامتر	درصد وزنی سدیم کلرید					
		٪۰	٪۲	٪۵	٪۱۰	٪۱۵	٪۲۰
هگزا کلرو بنزن	A_a/A_{IS}	۵/۳۷	۵/۰۰	۴/۷۷	۴/۰۳	۳/۸۲	۳/۳۴
	% RSD	۲/۶	۳/۵	۳/۴	۴/۷	۵/۱	۴/۲
	بازده استخراج %	۲۱/۶۴	۲۰/۲۶	۱۹/۴۳	۱۶/۷۳	۱۵/۹۷	۱۴/۶۱
هپتاکلر	A_a/A_{IS}	۱/۹۰	۱/۹۲	۱/۷۶	۱/۴۲	۱/۰۵	۰/۶۵
	% RSD	۴/۱	۶/۱	۳/۲	۳/۴	۱/۵	۲/۴
	بازده استخراج %	۲۵/۶۹	۲۵/۹۶	۲۳/۹۲	۱۹/۶۹	۱۵/۹۴	۱۱/۹۴
آلاکلر	A_a/A_{IS}	۱/۲۲	۱/۰۴	۰/۹۷	۱/۰۳	۱/۰۲	۰/۸۴
	% RSD	۵/۹	۱/۹	۱/۶	۶/۰	۸/۲	۲/۸
	بازده استخراج %	۱۲/۱۸	۱۰/۷۱	۱۰/۱۱	۱۰/۶۲	۱۰/۵۲	۹/۰۰
آلدرین	A_a/A_{IS}	۱/۶۱	۱/۵۸	۱/۲۴	۱/۱۱	۰/۶۷	۰/۵۲
	% RSD	۴/۶	۱/۳	۲/۰	۵/۸	۴/۶	۲/۹
	بازده استخراج %	۲۵/۹۹	۲۵/۵۴	۲۰/۲۰	۱۸/۱۵	۱۱/۲۵	۸/۹۰
متولاکلر	A_a/A_{IS}	۲/۳۹	۲/۳۶	۲/۲۱	۲/۰۴	۲/۰۵	۱/۹۵
	% RSD	۵/۶	۱/۶	۱/۸	۷/۲	۱/۹	۱/۸
	بازده استخراج %	۱۱/۱۸	۱۰/۹۹	۱۰/۱۵	۹/۱۸	۹/۲۵	۸/۶۰



شکل (۳-۸) اثر قدرت یونی بر کارایی استخراج

شرایط استخراج: حجم نمونه استخراج ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت ترکیبات آلی کلردار ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر، حلال واجذب کننده متیل ایزو بوتیل کتون، حجم حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر، حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر، pH نمونه برابر ۶/۰، ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۱ مولار، ۶/۰ میلی گرم جاذب نانو لوله کربن،

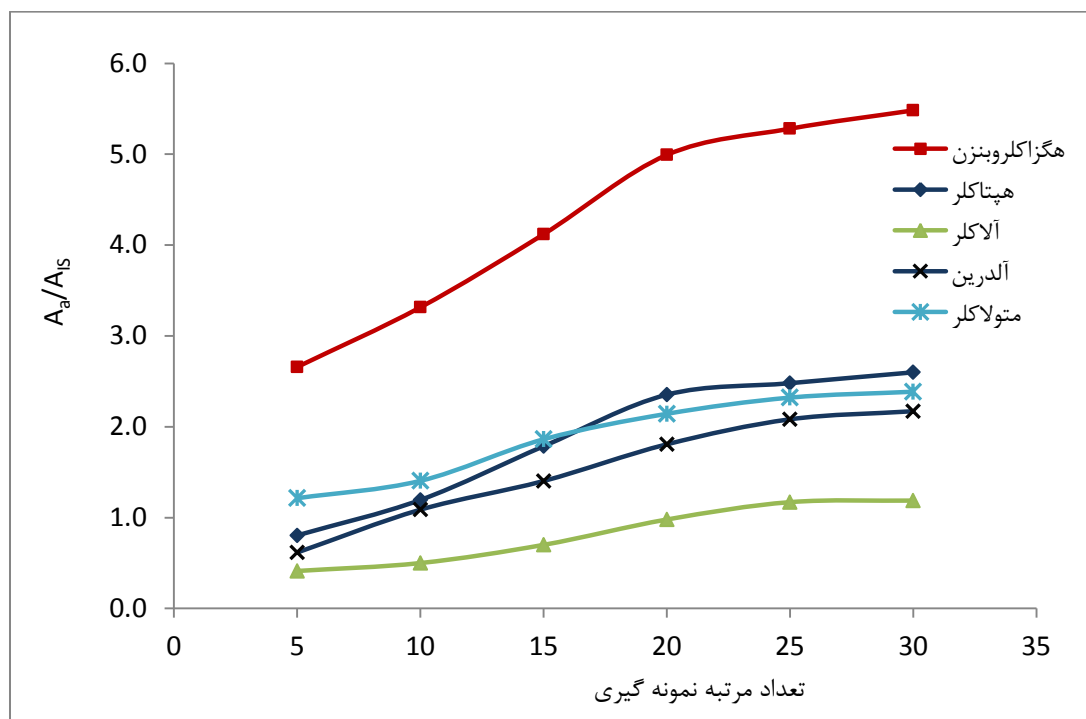
۳-۱-۴-۶- اثر تعداد مرتبه نمونه گیری

در این مطالعه، نمونه توسط نیروی مکانیکی به داخل سرنگ و به درون جاذب، هدایت و سپس به همان نمونه بازگردانده شد، بدون اینکه نمونه در این مدت، تغییر داده شود. اثر تعداد مرتبه نمونه-گیری (تعداد پر و خالی کردن سرنگ) بر روی کارایی استخراج برای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ مرتبه تکرار در یک نمونه ثابت به حجم ۱۰/۰ میلی لیتر بررسی شد. نتایج حاصل از بررسی این پارامتر موثر در جدول (۳-۹) و نمودار تغییرات کارایی استخراج در شکل (۳-۹) آورده شده است. با افزایش تعداد مرتبه‌های نمونه گیری، احتمال جذب ذرات آنالیت در سطح جاذب می‌تواند افزایش یابد، ولی بعد از تعداد معینی با توجه به کاهش غلظت آنالیت‌ها در بافت نمونه، افزایش شدت سیگنال و کارایی

استخراج تغییر چندانی ندارد. بر طبق نتایج حاصل، مشاهده می‌شود که در تعداد بالاتر از ۲۵ مرتبه شدت سیگنال تقریباً ثابت مانده و تغییر محسوسی ندارد. بنابراین با توجه به نتایج، تعداد مرتبه نمونه گیری ۲۵ بار در نظر گرفته شد.

جدول (۳-۹) اثر تعداد مرتبه نمونه گیری در پیش تغلیظ نمونه‌های آلی کلردار

نام ترکیب	پارامتر	تعداد مرتبه نمونه گیری					
		۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰
هگزا کلرو بنزن	A_a/A_{IS}	۲/۶۶	۳/۳۲	۴/۱۲	۴/۹۹	۵/۲۸	۵/۴۸
	% RSD	۱/۸	۵/۶	۱/۳	۲/۹	۲/۶	۴/۳
	بازده استخراج %	۱۱/۷۲	۱۴/۱۲	۱۷/۰۶	۲۰/۲۵	۲۱/۳۱	۲۲/۰۴
هپتاکلر	A_a/A_{IS}	۰/۸۰	۱/۱۹	۱/۷۹	۲/۳۵	۲/۴۸	۲/۶۰
	% RSD	۱/۷	۱۰/۶	۱/۰	۸/۵	۰/۷	۴/۴
	بازده استخراج %	۱۲/۰۰	۱۶/۸۹	۲۴/۲۸	۳۱/۳۶	۳۲/۹۵	۳۴/۴۵
آلاکلر	A_a/A_{IS}	۰/۴۱	۰/۵۰	۰/۷۰	۰/۹۸	۱/۱۷	۱/۱۹
	% RSD	۳/۱	۱۳/۱	۲/۱	۵/۳	۱/۶	۸/۶
	بازده استخراج %	۵/۳۴	۶/۱۰	۷/۷۸	۱۰/۱۶	۱۱/۷۹	۱۱/۹۳
آلدرین	A_a/A_{IS}	۰/۶۲	۱/۰۹	۱/۴۰	۱/۸۱	۲/۰۸	۲/۱۷
	% RSD	۱/۵	۱۲/۹	۲/۶	۲/۴	۲/۵	۱۱/۴
	بازده استخراج %	۱۰/۴۱	۱۷/۷۸	۲۲/۷۱	۲۹/۰۲	۳۳/۳۳	۳۴/۷۱
متولاکلر	A_a/A_{IS}	۱/۲۱	۱/۴۰	۱/۸۶	۲/۱۴	۲/۳۲	۲/۳۹
	% RSD	۲/۷	۵/۳	۲/۵	۳/۹	۱/۸	۴/۰
	بازده استخراج %	۴/۴۵	۵/۵۴	۸/۱۶	۹/۷۷	۱۰/۸۰	۱۱/۱۷



شکل (۳-۹) اثر تعداد مرتبه نمونه‌گیری بر کارایی استخراج

شرایط استخراج: حجم نمونه استخراج ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت ترکیبات آلی کلردار ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر، حلال واجذب کننده متیل ایزو بوتیل کتون، حجم حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر، حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر، pH نمونه برابر ۶/۰، ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۱ مولار، جاذب نانو لوله کربن ۶/۰ میلی گرم،

۳-۱-۵- انتخاب شرایط بهینه میکرو استخراج

با توجه به نتایج حاصل از بررسی و بهینه سازی پارامترهای موثر بر روی استخراج، شرایط بهینه مندرج در جدول (۳-۱۰) انتخاب شد و در رسم منحنی کالیبراسیون مورد استفاده قرار گرفت.

جدول (۳-۱۰) شرایط بهینه انتخاب شده در روش استخراج

شرایط و مقدار بهینه	پارامتر موثر
۶/۰	pH
۲/۰ میلی لیتر	حجم بافر
متیل ایزوبوتیل کتون	نوع حلال واجذب کننده
۱۰۰/۰ میکرو لیتر	حجم حلال آلی
۶/۰ میلی گرم	مقدار جاذب
۲۵ مرتبه	تعداد مرتبه نمونه گیری
<۰.۲	قدرت یونی (درصد نمک)

۳-۱-۶- رسم منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ برای اندازه گیری ترکیبات آلی کلردار

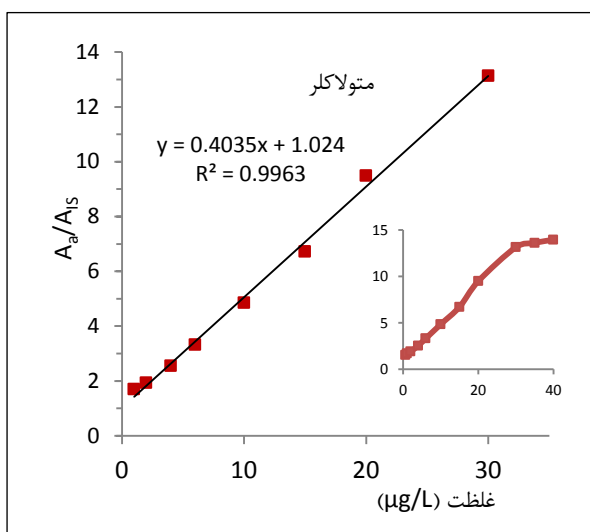
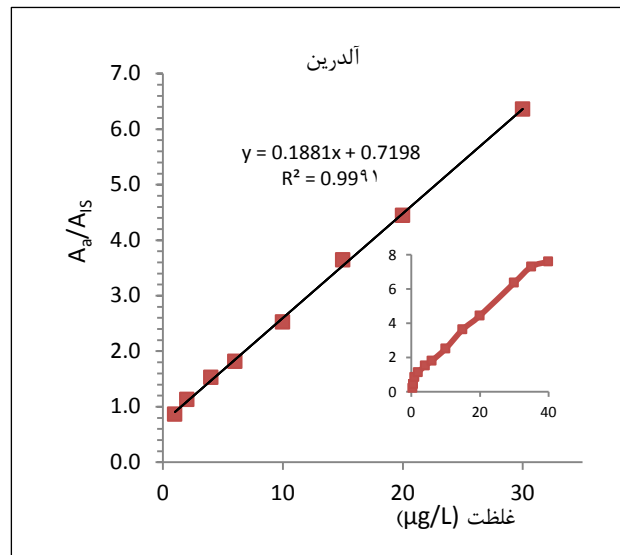
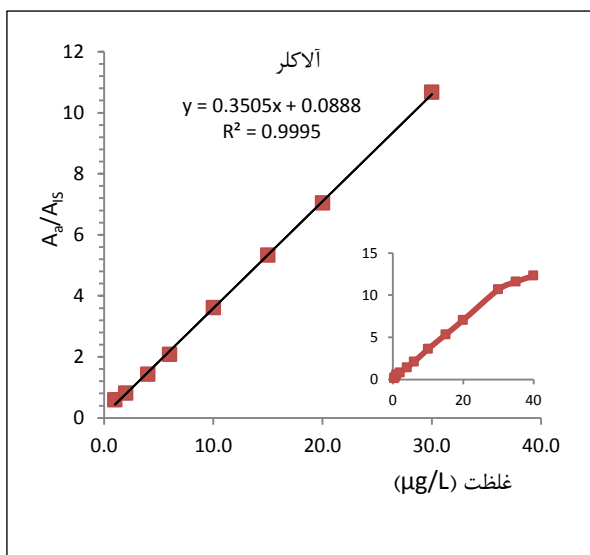
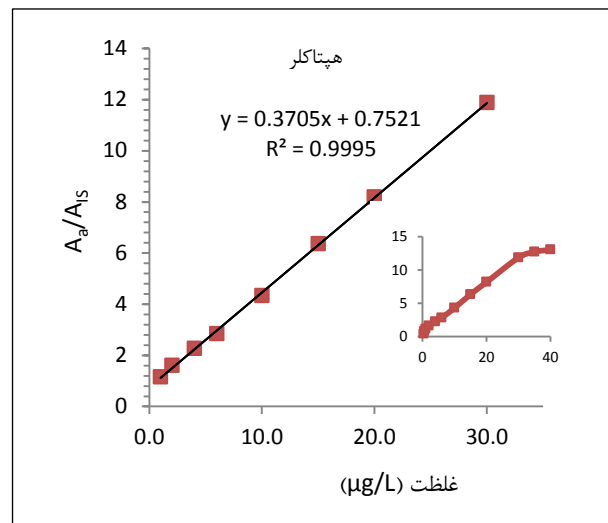
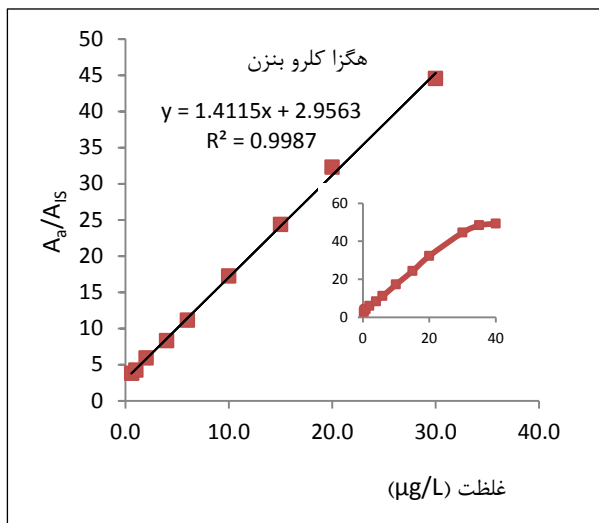
برای رسم منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ، محلول‌های با غلظت‌های متفاوت از ترکیبات آلی کلردار تهیه و در شرایط بهینه مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور محلول‌هایی در گستره غلظتی ۰/۰-۴۰/۰ میکرو گرم بر لیتر تهیه و با روش ارائه شده در بخش (۳-۱-۳) در شرایط بهینه شده، پیش تغلیظ و با دستگاه GC-MS جداسازی و اندازه گیری شد که نتایج حاصل از آن در جداول (۳-۱۱) و (۳-۱۲) آورده شده است. منحنی‌های کالیبراسیون ترکیبات آلی کلردار در شکل (۳-۱۰) نشان داده است.

جدول (۱۱-۳) نتایج حاصل از کالیبراسیون پیش تغلیظ ترکیبات آلی کلردار

غلظت آنالیت ($\mu\text{g/L}$)	A_d/A_{IS}				
	متولاکلر	آلدرین	آلاکلر	هپتاکلر	هگزا کلرو بنزن
۰/۴	۰/۷۹	۰/۲۲	۰/۱۱	۰/۴۴	۲/۶۶
۰/۶	۱/۵۴	۰/۴۴	۰/۲۷	۰/۷۹	۳/۷۶
۱/۰	۱/۷۰	۰/۸۷	۰/۵۹	۱/۱۵	۴/۲۱
۲/۰	۱/۹۳	۱/۱۳	۰/۸۱	۱/۶۰	۵/۹۱
۴/۰	۲/۵۵	۱/۵۳	۱/۴۳	۲/۲۷	۸/۲۹
۶/۰	۳/۳۲	۱/۸۲	۲/۰۸	۲/۸۴	۱۱/۱۲
۱۰/۰	۴/۸۵	۲/۵۲	۳/۶۱	۴/۳۳	۱۷/۲۵
۱۵/۰	۶/۷۲	۳/۶۴	۵/۳۳	۶/۳۶	۲۴/۳۴
۲۰/۰	۹/۴۶	۴/۴۴	۷/۰۴	۸/۱۹	۳۲/۲۵
۳۰/۰	۱۳/۱۳	۶/۳۶	۱۰/۶۷	۱۱/۸۸	۴۴/۵۲

جدول (۱۲-۳) معادله خط، ضریب تعیین، گستره خطی دینامیکی منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ

ترکیبات	معادله خط	R^2	گستره خطی دینامیکی ($\mu\text{g/L}$)
هگزا کلرو بنزن	$y=1/4115x+2/9363$	۰/۹۹۸۷	۰/۳ - ۳۰
هپتاکلر	$y=0/3705x+0/7521$	۰/۹۹۹۵	۰/۷ - ۳۰
آلاکلر	$y=0/3505x+0/0888$	۰/۹۹۹۵	۰/۶ - ۳۰
آلدرین	$y=0/1881x+0/720$	۰/۹۹۹۰	۰/۳ - ۳۰
متولاکلر	$y=0/4035x+1/024$	۰/۹۹۶۳	۰/۴ - ۳۰



شکل (۳-۱۰) منحنی های کالیبراسیون پیش تغلیظ برای

اندازه گیری ترکیبات آلی کلردار در آب

شرایط استخراج: حجم نمونه آب، ۱۰/۰ میلی لیتر غلظت

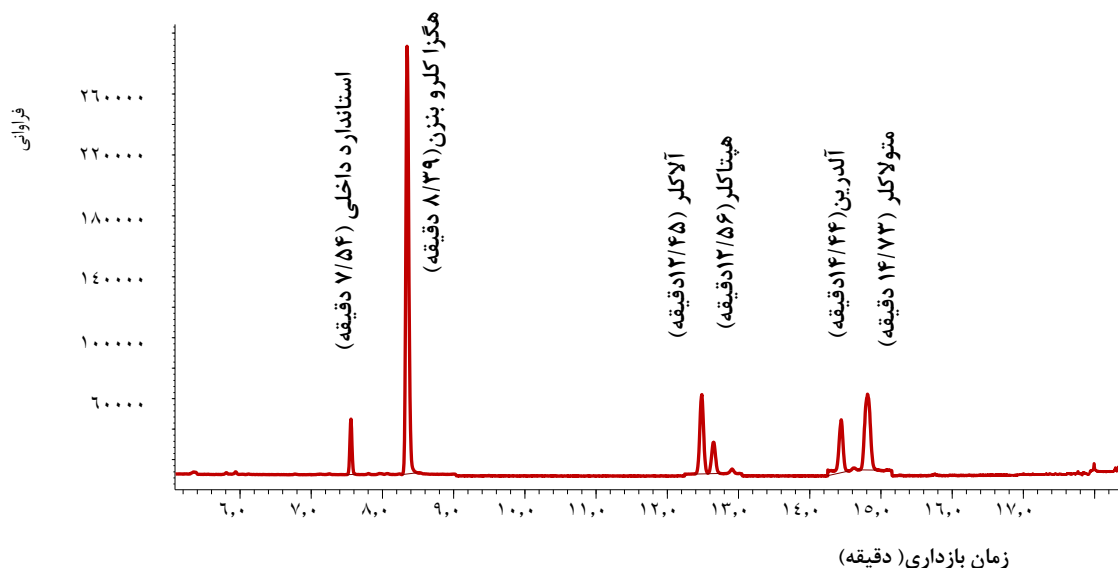
ترکیبات آلی کلردار ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر، حلال واجذب

کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر متیل ایزو بوتیل کتون، ۲/۰ میلی

لیتر بافر فسفاتی ۰/۱ مولار (pH=۶/۰)، ۶/۰ میلی گرم

جاذب نانو لوله کربن، تعداد نمونه گیری ۲۵ مرتبه

شکل (۱۱-۳) نمونه‌ای از کروماتوگرام حاصل از پیش تغلیظ ترکیبات آلی کلردار در غلظت ۱۰/۰ میکروگرم بر لیتر را نشان می‌دهد.



شکل (۱۱-۳) کروماتوگرام پیش تغلیظ ترکیبات آلی کلردار در آب شرایط استخراج: حجم نمونه آبی ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت ترکیبات آلی کلردار ۱۰/۰ میکروگرم بر لیتر، حلال واجذب کننده متیل ایزو بوتیل کتون، pH نمونه برابر ۶/۰، ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۱ مولار، ۶/۰ میلی گرم جاذب نانو لوله کربن، تعداد مرتبه نمونه گیری ۲۵ مرتبه، تری فلورالین (استاندارد داخلی IS)

۷-۱-۳- بررسی‌های آماری و ارقام شایستگی

۳-۱-۷-۱- تعیین فاکتور پیش تغلیظ^۱

یکی از اهداف استخراج، تغلیظ و انتقال بخشی از یک گونه مورد نظر از یک فاز نامناسب به یک فاز مناسب دیگر می‌باشد. در استخراج، فاکتور پیش تغلیظ به صورت نسبت غلظت آنالیت در فاز آلی (حلال واجذب کننده) به غلظت آنالیت در محلول اولیه بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر است.

$$PF = \frac{C_{sed}}{C_{aq}} \quad (۱-۳)$$

^۱ - Preconcentration factor (PF)

PF = فاکتور پیش تغلیظ (غنی سازی)^۱

C_{sed} = غلظت آنالیت استخراج شده در فاز آلی (حلال واجذب کننده)

C_{aq} = غلظت آنالیت در نمونه اولیه (فاز آبی)

برای محاسبه غلظت آنالیت در فاز آلی، از نمودار کالیبراسیون مستقیم استفاده می‌شود. بدین منظور، شدت سیگنال بدست آمده (مساحت نسبی) را در معادله خط کالیبراسیون مستقیم قرار داده و مقدار غلظت پیش تغلیظ شده ترکیبات بدست می‌آید.

فاکتور پیش تغلیظ را می‌توان از منحنی کالیبراسیون نیز محاسبه کرد. بدین صورت که مقدار فاکتور پیش تغلیظ، از نسبت شیب منحنی کالیبراسیون بعد از پیش تغلیظ به شیب منحنی کالیبراسیون مستقیم (بدون پیش تغلیظ) مطابق رابطه (۲-۳) بدست می‌آید که در آن m_1 شیب منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ و m_2 شیب منحنی کالیبراسیون مستقیم می‌باشد. نتایج حاصل در جدول (۳-۱۳) آورده شده است.

$$PF = \frac{m_1}{m_2} \quad (2-3)$$

جدول (۳-۱۳) فاکتور پیش تغلیظ روش برای ترکیبات آلی کلردار

ترکیبات	شیب منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ	شیب منحنی کالیبراسیون مستقیم	PF
هگزا کلرو بنزن	۱/۴۱	۰/۰۵۵	۲۵/۶
هپتاکلر	۰/۳۷	۰/۰۱۶	۲۳/۲
آلاکلر	۰/۳۵	۰/۰۲۳	۱۵/۳
آلدرین	۰/۱۹	۰/۰۱۳	۱۴/۵
متولاکلر	۰/۴۰	۰/۰۳۴	۱۱/۹

^۱ Enrichment factor (EF)

۳-۱-۷-۲- محاسبه بازده استخراج

در روش‌های استخراج، بازده استخراج^۱ (ER) به صورت درصد از نسبت مقدار استخراج شده در فاز

آلی (n_{org}) به مقدار آنالیت کل (n) برحسب میکروگرم به دست می‌آید.

$$ER = \frac{n_{org}}{n_{aq}} \times 100 \quad (3-3)$$

$$ER = \frac{C_{org} \times V_{org}}{C_{aq} \times V_{aq}} \times 100 \quad (4-3) \quad \text{و یا}$$

$$PF = \frac{C_{sed}}{C_{aq}} = \frac{C_{org}}{C_{aq}} \quad \text{چون مطابق رابطه (۱-۳) که :}$$

$$\%ER = \left(\frac{V_{org}}{V_{aq}} \right) \times PF \times 100 \quad (5-3) \quad \text{در نتیجه}$$

در این معادله n_{org} و n_{aq} به ترتیب مقادیر آنالیت بر حسب میکرو گرم در فاز ته نشین شده آلی و نمونه آبی، V_{org} و V_{aq} به ترتیب حجم فاز آلی و محلول نمونه بر حسب لیتر و C_o و C_{org} به ترتیب غلظت آنالیت در فاز آلی و غلظت ابتدایی آنالیت در محلول آبی بر حسب میکرو گرم بر لیتر می‌باشد. در این آزمایش‌ها، پیش تغلیظ با روش MEPS در یک نمونه آبی به حجم ۱۰/۰ میلی لیتر و حجم حلال آلی استخراج کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر انجام گرفت. بنابراین با جایگزینی مقادیر آنها در معادله (۵-۳) و با داشتن مقدار فاکتور پیش تغلیظ، مقدار بازده استخراج بر اساس معادله (۵-۳) محاسبه می‌شود. نتایج درصد استخراج روش در جدول (۱۴-۳) آورده شده است.

جدول (۱۴-۳) بازده استخراج برای ترکیبات آلی کلردار	
ترکیبات	بازده استخراج (%)
هگزا کلرو بنزن	۲۵/۶
هپتاکلر	۲۳/۲
آلاکلر	۱۵/۳
آلدرین	۱۴/۵
متولاکلر	۱۱/۹

^۱ - Extraction recovery (ER)

۳-۷-۱-۳- تعیین حد تشخیص و حد کمی روش

حد تشخیص روش^۱، حداقل غلظت یا وزنی از آنالیت است که می‌تواند با سطح اطمینان مشخصی آشکارسازی شود. برای محاسبه حد تشخیص از رابطه (۷-۳) استفاده شد:

$$LOD = \frac{KS_b}{m} \quad (۶-۳)$$

که در این رابطه:

LOD حد تشخیص روش برای هر ترکیب مورد نظر، S_b انحراف استاندارد سیگنال شاهد (۵ بار تکرار)، m شیب منحنی کالیبراسیون پیش‌تغلیظ و K ضریب اطمینان می‌باشد. همچنین بر طبق استدلال کیزر^۲، مقدار منطقی و قابل قبول برای این ضریب ثابت عدد $K = ۳/۰$ است [۱۲۲].

برای بدست آوردن حد تشخیص، نمونه شاهد در پنج مرحله تزریق و انحراف استاندارد نمونه شاهد محاسبه گردید. با قرار دادن مقادیر انحراف استاندارد شاهد در رابطه (۶-۳) مقدار حد تشخیص روش برای هر یک از ترکیبات آلی کلردار محاسبه شد. همچنین حد کمی روش^۳ (LOQ) با تقسیم کردن ۱۰ برابر انحراف استاندارد سیگنال شاهد بر شیب منحنی کالیبراسیون پیش‌تغلیظ طبق رابطه (۷-۳) به دست می‌آید. حد تشخیص و حد کمی روش در جدول (۱۵-۳) آورده شده است.

$$LOQ = \frac{۱۰S_b}{m} \quad (۷-۳)$$

^۱ - Limit of detection (LOD)

^۲ -Kaizer

^۳ Limit of quantification

جدول (۳-۱۵) حدود تشخیص و اندازه گیری روش برای ترکیبات آلی کلردار

ترکیبات	حد تشخیص روش LOD (µg/L)	حدود اندازه گیری LOQ (µg/L)
هگزا کلرو بنزن	۰/۰۸	۰/۳
هپتاکلر	۰/۲۰	۰/۷
آلاکلر	۰/۱۷	۰/۶
آلدرین	۰/۱۰	۰/۳
متولاکلر	۰/۱۲	۰/۴

۳-۱-۷-۴- دقت و صحت روش

دقت نشان دهنده میزان تکرارپذیری نتایج است و به صورت درصد انحراف استاندارد نسبی بیان می-شود. برای بررسی دقت روش، غلظت‌های ۵/۰، ۱۰/۰ و ۱۵/۰ میکروگرم بر لیتر از هر یک از ترکیبات آلی کلردار در دامنه خطی منحنی کالیبراسیون انتخاب و در شرایط بهینه، عمل استخراج بر روی آن-ها انجام گرفت. برای هر یک از غلظت‌های انتخاب شده تعداد سه بار اندازه گیری تکراری مشابه، شامل تمام مراحل محلول‌سازی، پیش تغلیظ، شویش، واجذب، تزریق نمونه با حجم یکسان و اندازه-گیری دستگاهی انجام گرفت. با استفاده از سیگنال‌های به‌دست آمده برای هر نمونه و نمودارهای کالیبراسیون پیش تغلیظ، غلظت‌های هر یک از ترکیبات اندازه‌گیری شده و درصد انحراف استاندارد نسبی برای هر یک از ترکیبات بر طبق رابطه (۳-۸) محاسبه شد.

$$\% RSD = \frac{S_c}{\bar{C}} \times 100 \quad (3-8)$$

که در آن:

RSD: درصد انحراف استاندارد نسبی

S_c : انحراف استاندارد غلظت های اندازه گیری شده

$\bar{C}$: میانگین غلظت ۳ بار اندازه گیری تکراری

جدول (۳-۱۶) دقت و صحت روش را در اندازه‌گیری ترکیبات آلی کلردار نشان می‌دهد. همان طور که در جدول مشخص است مقادیر t و درصد انحراف نسبی به ترتیب نشان دهنده صحت و دقت خوب

روش است. لازم به ذکر است که در سطح اطمینان ۹۵٪ مقدار t بحرانی برای ۲ درجه آزادی برابر ۴/۳۰ است.

جدول (۳-۱۶) دقت و صحت در شرایط بهینه در اندازه‌گیری ترکیبات آلی کلردار						
ترکیب	غلظت اضافه شده ($\mu\text{g/L}$)	میانگین غلظت اندازه‌گیری شده ($\mu\text{g/L}$)	SD^*	%RSD	t^* محاسبه شده	درصد بازیابی
هگزا کلرو بنزن	۵/۰	۵/۲	۰/۲۶	۵/۰	۱/۳۳	۱۰۴/۰
	۱۰/۰	۱۰/۳	۰/۴۷	۴/۶	۱/۱۰	۱۰۳/۰
	۱۵/۰	۱۴/۹	۰/۲۸	۱/۹	۰/۶۲	۹۹/۰
هیپتاکلر	۵/۰	۵/۱	۰/۲۱	۴/۱	۰/۸۲	۱۰۲/۰
	۱۰/۰	۱۰/۷	۰/۹۳	۸/۷	۱/۳۳	۱۰۷/۰
	۱۵/۰	۱۴/۶	۰/۳۲	۲/۲	۲/۱۶	۹۷/۰
آلاکلر	۵/۰	۴/۷	۰/۱۵	۳/۳	۴/۰۸	۹۴/۰
	۱۰/۰	۸/۷	۰/۵۵	۶/۳	۴/۱۵	۸۷/۰
	۱۵/۰	۱۴/۴	۰/۹۲	۶/۴	۱/۱۳	۹۶/۰
آلدرین	۵/۰	۵/۳	۰/۳۱	۵/۸	۳/۴۱	۱۰۶/۰
	۱۰/۰	۹/۹	۰/۸۴	۸/۵	۰/۲۵	۹۹/۰
	۱۵/۰	۱۴/۳	۰/۲۹	۲/۱	۳/۵۸	۹۶/۰
متولاکلر	۵/۰	۴/۶	۰/۳۴	۷/۷	۳/۰۶	۹۳/۰
	۱۰/۰	۹/۱	۰/۳۸	۴/۲	۴/۱۰	۹۱/۰
	۱۵/۰	۱۴/۴	۱/۰۲	۳/۱	۰/۹۸	۹۶/۰

*Standard Deviation ($n=3$), $t_{\text{tab}}=4.30$, $df=2$

۳-۱-۸- اندازه‌گیری آفت‌کش‌های کلردار در نمونه حقیقی

برای مطالعه اثر بافت نمونه، یک نمونه آب خروجی چاه حومه شهر گرگان، یک نمونه از آب دریای خزر (فاصله ۲۰۰ متری از ساحل بندر ترکمن) و یک نمونه از رودخانه قره سو جمع‌آوری شده و برای اندازه‌گیری سموم کلردار آنها استفاده شد. نمونه‌ها پس از صاف کردن با فیلتر ۰/۴۵ میکرون، در شرایط تجربی بهینه آماده سازی، پیش تغلیظ و آنالیز شد. از نتایج و کروماتوگرام حاصل مشاهده شد

که مقدار ترکیبات کلردار مطالعه شده در آب کمتر از حد تشخیص روش است. سپس مقداری معین از استاندارد ثانویه به نمونه‌های حقیقی اضافه شد تا غلظت هر یک از سموم کلردار به ۲/۰، ۵/۰ و ۱۰/۰ میکروگرم بر لیتر برسد. در این غلظت‌ها نمونه‌ها طبق روش MEPS، با سه بار تکرار، استخراج و پیش‌تغلیظ گردید. غلظت ترکیبات مورد نظر در نمونه‌های پیش‌تغلیظ شده بر اساس منحنی کالیبراسیون پیش‌تغلیظ محاسبه گردید. با آنالیز این نمونه‌های پیش‌تغلیظ شده، بازیابی روش بر طبق رابطه (۹-۳) محاسبه شد.

$$\% \text{Recovery} = 100 \times (C_d - C_{\text{sample}}) / C_s \quad (9-3)$$

که در آن:

C_d : غلظت تعیین شده آنالیت در نمونه حقیقی

C_s : غلظت اضافه شده آنالیت در نمونه حقیقی

C_{sample} : غلظت آنالیت در نمونه حقیقی قبل از افزایش ترکیبات آلی کلردار

غلظت در نمونه (C_d) براساس منحنی کالیبراسیون و غلظت مقدار اضافه شده (C_s) براساس مقدار اضافه شده استاندارد به نمونه، تعیین می‌شود.

نتایج و درصد بازیابی محاسبه شده برای نمونه‌های آنالیز شده در جداول (۱۷-۳)، (۱۸-۳) و (۱۹-۳) نشان داده شده است. نتایج حاصل نشان می‌دهد که روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری ترکیبات کلردار، بازیابی نسبی خوبی داشته و مقدار درصد بازیابی در گستره ۹۲٪-۱۱۰٪ می‌باشد.

جدول (۱۷-۳) مقدار اندازه گیری شده و درصد بازیابی در نمونه ۱- آب خروجی چاه

ترکیبات	مقدار اضافه شده (µg/L)	مقدار اندازه گیری شده (µg/L)	t* محاسبه شده	درصد بازیابی
هگزا کلرو بنزن	۰/۰	<LOD	-	-
	۲/۰	۱/۹	۱/۶	٪۹۵
	۵/۰	۴/۹	۰/۵	٪۹۸/۰
	۱۰/۰	۹/۴	۱/۵	٪۹۴/۰
هپتاکلر	۰/۰	<LOD	-	-
	۲/۰	۲/۱	۰/۷	۱۰۵/۰
	۵/۰	۵/۵	۱/۸	۱۱۰/۰
	۱۰/۰	۱۰/۸	۱/۸	۱۰۸/۰
آلاکلر	۰/۰	<LOD	۰/۹	-
	۲/۰	۱/۹	۲/۱	۹۵/۰
	۵/۰	۴/۷	۲/۴	۹۴/۰
	۱۰/۰	۹/۳	۱/۵	۹۳/۰
آلدرین	۰/۰	<LOD	-	-
	۲/۰	۱/۹	۱/۴	۹۵/۰
	۵/۰	۵/۴	۴/۲	۱۰۸/۰
	۱۰/۰	۱۰/۶	۲/۳	۱۰۶/۰
متولاکلر	۰/۰	<LOD	-	-
	۲/۰	۱/۸	۲/۳	۹۰/۰
	۵/۰	۵/۱	۰/۷	۱۰۲/۰
	۱۰/۰	۹/۸	۰/۵	۹۸/۰

*Standard Deviation (n=۳), $t_{tab}=۴,۳۰$, (df=۲)

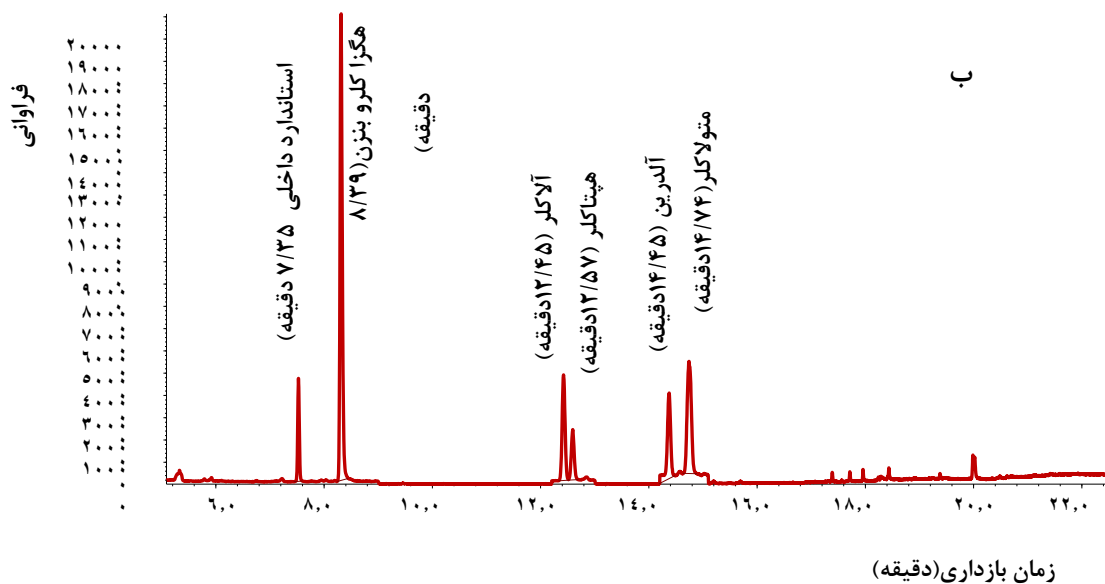
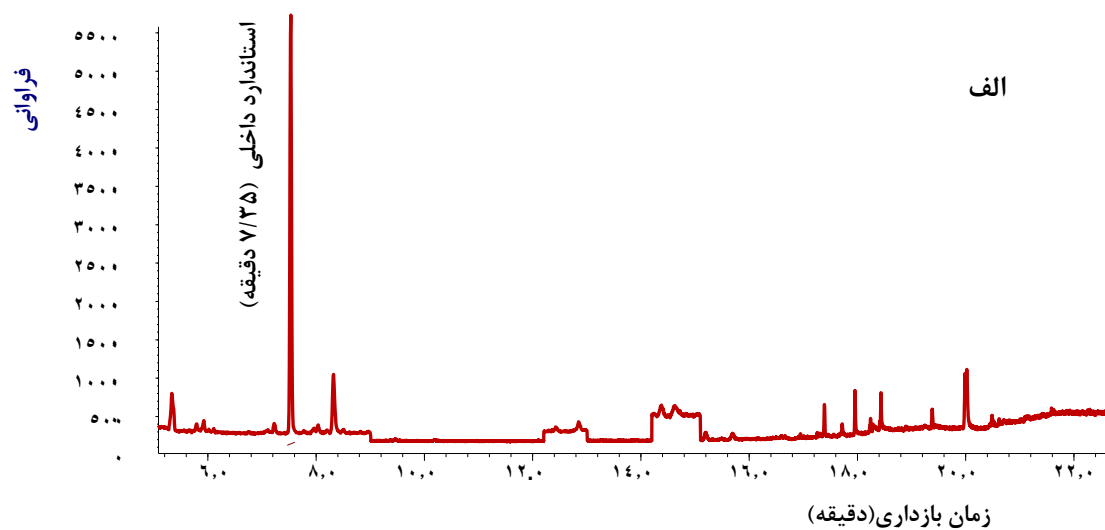
جدول (۳-۱۸) مقدار اندازه گیری شده و درصد بازیابی در نمونه ۲- آب دریای خزر

ترکیبات	مقدار اضافه شده (µg/L)	مقدار اندازه گیری شده (µg/L)	t* محاسبه شده	درصد بازیابی
هگزا کلرو بنزن	۰/۰	۰/۵۰	-	-
	۲/۰	۲/۴	۲/۱	٪۹۵/۰
	۵/۰	۵/۴	۰/۶	٪۹۸/۰
هپتاکلر	۰/۰	۰/۴	-	-
	۲/۰	۲/۴	۰/۰	۱۰۰/۰
	۵/۰	۵/۷	۱/۲	۱۰۶/۰
آلاکلر	۰/۰	<LOD	-	-
	۲/۰	۱/۹	۱/۱	۹۵/۰
	۵/۰	۴/۶	۴/۱	۹۲/۰
آلدرین	۰/۰	۰/۳	-	-
	۲/۰	۲/۴	۲/۶	۱۰۵/۰
	۵/۰	۵/۵	۲/۹	۱۰۴/۰
متولاکلر	۰/۰	<LOD	-	-
	۲/۰	۲/۰	۰/۰	۱۰۰/۰
	۵/۰	۴/۹	۰/۵	۹۸/۰

جدول (۱۹-۳) مقدار اندازه گیری شده و درصد بازیابی در نمونه ۳- رود قره سو

ترکیبات	مقدار اضافه شده (µg/L)	مقدار اندازه گیری شده (µg/L)	t* محاسبه شده	درصد بازیابی
هگزا کلرو بنزن	۰/۰	۰/۳	۱/۳	-
	۵/۰	۵/۷	۳/۳	٪۱۰۸/۰
	۱۰/۰	۱۰/۶	۱/۹	٪۱۰۳/۰
هپتاکلر	۰/۰	۰/۳	-	-
	۵/۰	۵/۳	۲/۶	۱۰۰/۰
	۱۰/۰	۱۱/۲	۱/۵	۱۰۹/۰
آلاکلر	۰/۰	<LOD	-	-
	۵/۰	۵/۳	۱/۳۰	۱۰۶/۰
	۱۰/۰	۱۰/۹	۱/۱	۱۰۹/۰
آلدرین	۰/۰	<LOD	-	-
	۵/۰	۴/۸	۲/۱	۹۶/۰
	۱۰/۰	۹/۸	۳/۱	۹۸/۰
متولاکلر	۰/۰	ND	-	-
	۵/۰	۵/۱	۲/۱	۱۰۲/۰
	۱۰/۰	۹/۵	۲/۹	۹۵/۰

شکل (۱۲-۳) نمونه‌ای از کروماتوگرام‌های حاصل از استخراج و پیش‌تغلیظ نمونه حقیقی بدون افزایش و بعد از افزایش ترکیبات آلی کلردار به غلظت ۵/۰ میکروگرم بر لیتر در نمونه آب دریای خزر را نشان می‌دهد.



شکل (۱۲-۳) نمونه‌ای از کروماتوگرام حاصل پیش تغلیظ و تجزیه نمونه حقیقی

الف) نمونه آب دریای خزر بدون افزایش ترکیبات آلی کلردار

ب) نمونه آب دریای خزر غنی شده با ترکیبات آلی کلردار به غلظت ۵/۰ میکروگرم بر لیتر

شرایط استخراج: حجم نمونه آب ۱۰/۰ میلی لیتر، حلال واجذب کننده متیل ایزو بوتیل کتون، حجم حلال ۱۰۰/۰ میکرو لیتر، حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر، pH نمونه برابر ۶/۰، ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۱ مولار، ۶/۰ میلی گرم جاذب نانو لوله کربن، تعداد مرتبه نمونه گیری ۲۵ مرتبه

۳-۲- کاربرد جاذب نانو دیاتومیت برای پیش تغلیظ، جداسازی و اندازه گیری

آفت کش های آلی هگزاکلروبنرن، هپتاکلر، آلدترین با روش میکرو استخراج با

فاز جامد پر شده در سرنگ در نمونه های زیست محیطی با GC/MS

۳-۲-۱- شناسایی و تعیین زمان بازداری ترکیبات

برای شناسایی هر یک از ترکیبات و تعیین زمان بازداری آنها، ابتدا به طور جداگانه مقدار ۱/۰ میکرو لیتر از استاندارد اولیه هر یک از ترکیبات مورد نظر با غلظت ۱/۰ میلی گرم بر لیتر در حلال متانول، به دستگاه GC با آشکارساز جرمی در حالت مد پویش تزریق شد. کروماتوگرام حاصل که دارای یک پیک مشخص باشد، را به عنوان پیک آن ترکیب استاندارد در نظر گرفته و به کمک جستجوی کتابخانه ای آشکار ساز جرمی، از پیک مشاهده شده اطمینان حاصل و زمان بازداری این ترکیب تعیین شد. مشخصات و داده های تجزیه ای ترکیبات اندازه گیری شده در جدول (۳-۱) آورده شده است.

۳-۲-۲- بدست آوردن منحنی کالیبراسیون مستقیم

بدین منظور محلول های استاندارد در گستره غلظتی ۱۰/۰ تا ۷۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر از هر یک از ترکیبات مورد نظر به همراه تری فلورالین با غلظت ۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر به عنوان استاندارد داخلی، در دی کلرومتان تهیه شد. سپس از محلول های تازه تهیه شده، مقدار ۱/۰ میکرو لیتر به دستگاه GC تزریق شد. منحنی های کالیبراسیون مستقیم از رسم تغییرات سیگنال آنالیت (مساحت نسبی) نسبت به غلظت هر یک از ترکیبات رسم گردید و گستره خطی آشکارساز تعیین شد. جدول (۳-۲۰) میانگین مساحت های نسبی ترکیبات آلی کلردار برای ۵ مرتبه تزریق تکراری نمونه های استاندارد و اندازه گیری سطوح زیر پیک ها را نشان می دهد.

مساحت نسبی برابر با نسبت مساحت زیر پیک آنالیت به مساحت زیر پیک استاندارد داخلی است. این عبارت در همه شکل ها با عنوان $\frac{A_a}{A_{IS}}$ نشان داده شده است، که A_a و A_{IS} به ترتیب برابر با مساحت زیر پیک هر آنالیت و مساحت استاندارد داخلی می باشد.

جدول (۳-۲۰) نتایج کالیبراسیون مستقیم در غلظت های مختلف ترکیبات آلی کلردار در حلال دی کلو متان

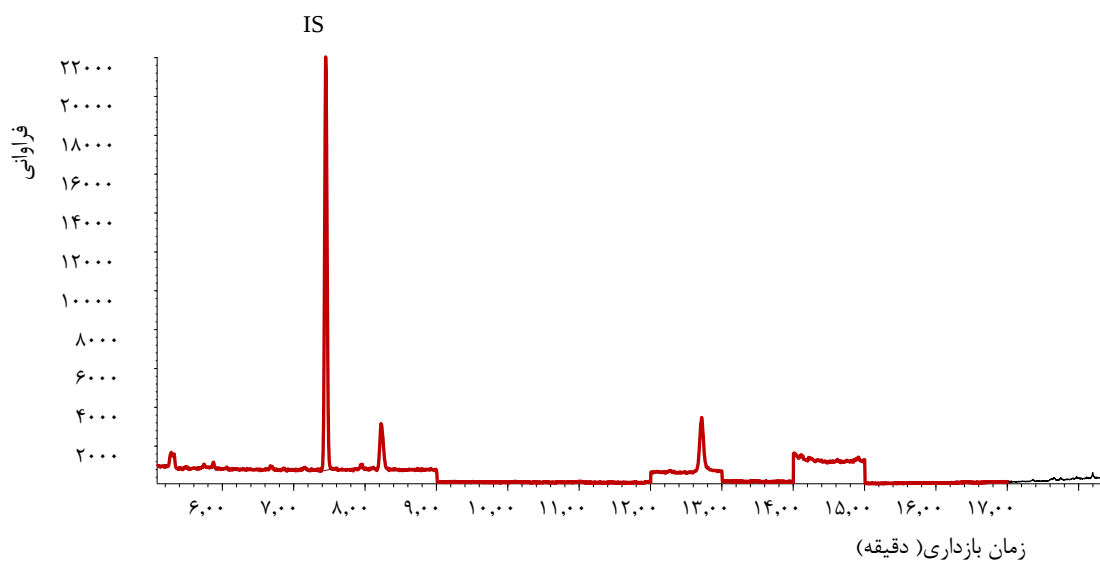
غلظت آنالیت ($\mu\text{g/L}$)	مساحت نسبی (A_a/A_{IS})		
	هگزا کلرو بنزن	هپتاکلر	آلدرین
۱۰/۰	۰/۸۴	۰/۱۹	۰/۲۰
۲۰/۰	۱/۳۱	۰/۳۰	۰/۴۱
۵۰/۰	۲/۵۹	۰/۵۴	۰/۶۴
۱۰۰/۰	۵/۶۱	۱/۱۷	۱/۴۱
۲۰۰/۰	۱۱/۷۷	۲/۷۷	۲/۸۲
۳۰۰/۰	۱۶/۶۳	۴/۳۱	۴/۴۱
۵۰۰/۰	۲۶/۶۴	۷/۶۴	۷/۴۰
۶۰۰/۰	۲۷/۲۸	۸/۵۴	۸/۱۷
۷۵۰/۰	۲۸/۰۶	۹/۲۰	۹/۰۴

داده های آماری حاصل از رسم منحنی های کالیبراسیون شامل گستره دینامیکی بر حسب میکرو گرم بر لیتر، ضریب تعیین (R^2)، معادله خط و شیب منحنی هر یک از ترکیبات آلی کلردار در جدول (۳-۲۱) نمایش داده شده است.

جدول (۳-۲۱) داده های آماری حاصل از رسم منحنی های کالیبراسیون

نام ترکیب	گستره دینامیکی (µg/L)	ضریب تعیین R ²	معادله خط
هگزا کلرو بنزن	۱۰-۵۰۰	۰/۹۹۸۴	$y=0/0532x+0/3296$
هپتاکلر	۱۰-۵۰۰	۰/۹۹۷۸	$y=0/0155x-0/0233$
آلدرین	۲۰-۵۰۰	۰/۹۹۹۰	$y=0/0147x-0/0109$

شکل (۳-۱۳) نمونه ای از کروماتوگرام تزریق ۱/۰ میکرو لیتر نمونه استخراج شده از یک محلول شاهد برای بررسی ناخالصی های حلال و یا مزاحمت های ناشی از اثر بافت جاذب را نشان می دهد.



شکل (۳-۱۳) کروماتوگرام نمونه شاهد

شرایط: حجم آب ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت استاندارد داخلی (IS) ۵۰/۰ میکروگرم بر لیتر، حلال دی کلرو متان، حجم تزریق شده ۱/۰ میکرو لیتر، pH=۶/۰، وزن جاذب نانو دیاتومیت ۶/۰ میلی گرم، شرایط جداسازی مطابق جدول (۲-۲).

۳-۲-۳- بررسی و بهینه سازی فاکتورهای موثر در پیش تغلیظ

به منظور فراهم نمودن بهترین شرایط برای پیش تغلیظ و همچنین دستیابی به بهترین حساسیت، فاکتورهای مؤثر بر میکرو استخراج، مورد بررسی قرار گرفتند که این فاکتورها عبارتند از:

(۱) pH نمونه

(۲) نوع بافر

(۳) حجم بافر

(۴) نوع و حجم حلال استخراج کننده

(۵) اثر نمک (قدرت یونی)

(۶) تعداد مرتبه نمونه گیری

(۷) اثر حجم و غلظت نمونه

تاثیر فاکتورهای موثر بر شدت سیگنال و کارایی استخراج، با روش یک متغیر در یک زمان مورد بررسی قرار گرفت.

۳-۲-۳-۱- بررسی اثر pH

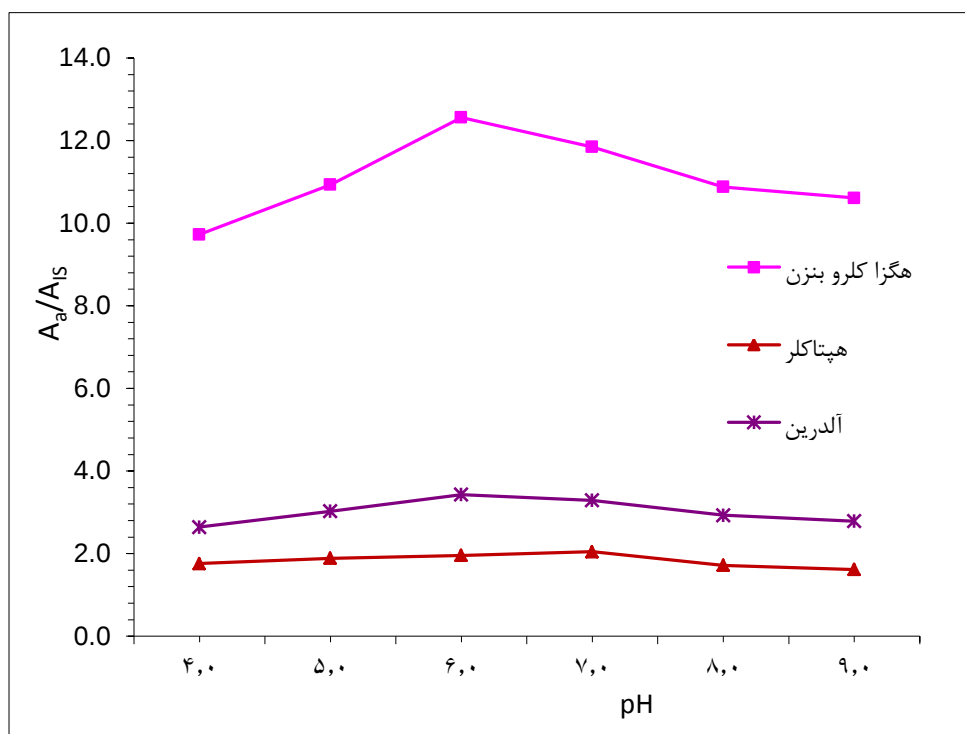
pH نمونه های آبی یکی از فاکتورهای بسیار مهم و موثر در کارایی و بازیابی استخراج آنالیت ها در تکنیک میکرواستخراج با روش MEPS می باشد. برای ارزیابی اثر این فاکتور بر روی کارایی استخراج سموم آلی کلردار از نمونه های آبی، pH نمونه های آبی در گستره ۴/۰ الی ۹/۰ بررسی شد. برای بررسی این فاکتور، محلول های استاندارد با غلظت ۵/۰ میکروگرم بر لیتر هر یک از ترکیبات آلی کلردار در محلول آبی با بافر فسفاتی با غلظت ۰/۰۲ مولار تهیه شد. سپس فرآیند پیش تغلیظ به کمک سرنگ طراحی شده همراه با جاذب نانودیاتومیت انجام شد. در تمامی مراحل پیش تغلیظ و بررسی های اولیه پارامترهای موثر در کارایی استخراج و پیش تغلیظ، تعداد ۲۵ مرتبه عمل نمونه گیری در نظر گرفته شد. پس از عمل پیش تغلیظ و شستشو با آب مقطر و خشک کردن با گاز

نیتروژن، آنالیت‌های جذب شده بر روی جاذب نانودیاتومیت با ۱۰۰/۰ میکرو لیتر حلال دی کلو متان شویش گردید. نمونه‌های استخراج شده در ویال نگهداری و برای جلوگیری از کاهش حجم در اثر تبخیر، بلافاصله مقدار ۱/۰ میکرولیتر از نمونه پیش تغلیظ شده به دستگاه GC-MS تزریق شد. نتایج بدست آمده از بررسی اثر pH بر روی کارایی و استخراج ترکیبات آلی کلردار در جدول (۳-۲۲) نشان داده شده است.

پاسخ‌های آشکارساز دستگاه تجزیه‌ای بر حسب مساحت نسبی نسبت به تغییرات pH در گستره ۴/۰ الی ۹/۰ برای هر یک از ترکیبات آلی کلردار رسم شد که در شکل (۳-۱۴) نشان داده شده است. همانطور که در شکل دیده می‌شود، کارایی استخراج برای ترکیبات آلی کلردار تا pH=۶/۰ افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد. بنابراین تمام نمونه‌های آبی در pH=۶/۰ تنظیم و آزمایش های بعدی در این pH انجام گرفت. به طور کلی در محیط آبی ترکیبات در حالت خنثی بهتر استخراج می‌شوند.

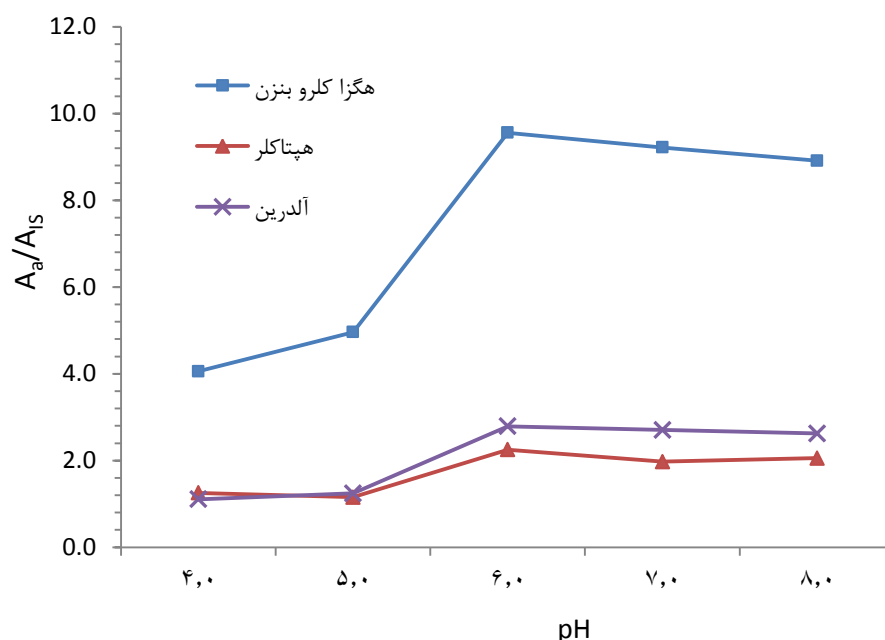
جدول (۳-۲۲) نتایج حاصل از بررسی تاثیر pH نمونه در پیش تغلیظ نمونه آبی با غلظت ۵/۰ میکروگرم بر لیتر

مساحت های نسبی در pH های مختلف							نام ترکیب
pH=۹/۰	pH=۸/۰	pH=۷/۰	pH=۶/۰	pH=۵/۰	pH=۴/۰	پارامتر	
۱۰/۶۱	۱۰/۸۸	۱۱/۸۵	۱۲/۵۶	۱۰/۹۳	۹/۷۳	A_a/A_{IS}	هگزا کلو بنزن
۷/۸	۷/۵	۹/۵	۸/۸	۶/۴	۱۳/۲	% RSD	
۳۸/۶۵	۳۹/۶۶	۴۳/۳۰	۴۵/۹۷	۳۹/۸۶	۳۵/۳۲	بازده استخراج %	
۱/۶۱	۱/۷۲	۲/۰۵	۱/۹۶	۱/۸۹	۱/۷۶	A_a/A_{IS}	هپتاکلو
۱۱/۸	۵/۱	۶/۹	۱۱/۵	۴/۱	۹/۵	% RSD	
۲۳/۸۴	۲۵/۱۶	۲۹/۴۱	۲۸/۲۵	۲۷/۳۸	۲۵/۷۳	بازده استخراج %	
۲/۷۹	۲/۹۳	۳/۲۹	۳/۴۳	۳/۰۳	۲/۶۴	A_a/A_{IS}	آلدین
۱۲/۱	۳/۲	۱۴/۳	۱۷/۶	۱۱/۳	۱۱/۰	% RSD	
۳۹/۴۲	۴۱/۳۳	۴۶/۲۸	۴۸/۱۴	۴۲/۶۵	۳۷/۴۸	بازده استخراج %	



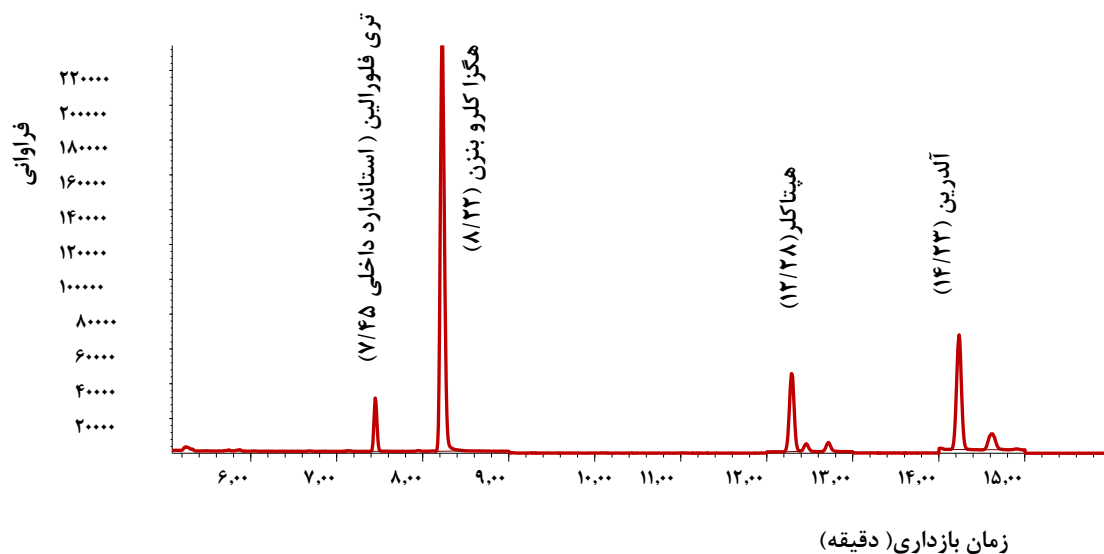
شکل (۳-۱۴) اثر pH نمونه بر کارایی استخراج ترکیبات آلی کلردار در محیط بافر فسفاتی شرایط استخراج: حجم نمونه آبی استخراج شده ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت ترکیبات آلی کلردار ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر، حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرو متان، بافر فسفاتی با غلظت ۰/۰۲ مولار، ۶/۰ میلی گرم جاذب نانو دیاتومیت، تعداد مرتبه نمونه گیری ۲۵ مرتبه، غلظت استاندارد داخلی ۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر

شکل (۳-۱۵) اثر pH و تاثیر آن در کارایی استخراج ترکیبات کلردار در محیط بافر استاتی ۰/۰۲ مولار را نشان می‌دهد. بر طبق نتایج، در بررسی اثر pH در بافر استاتی نیز بیشترین پاسخ تجزیه‌ای در pH=۶/۰ بدست آمده است.



شکل (۳-۱۵) بررسی اثر تغییرات pH نمونه در محیط بافر استاتی بر کارایی استخراج ترکیبات آلی کلردار شرایط استخراج: حجم نمونه آبی استخراج شده ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت ترکیبات آلی کلردار ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر، حلال واجذب کننده دی کلرو متان، تعداد ۲۵ مرتبه نمونه گیری، بافر استاتی ۰/۰۲، جاذب نانو دیاتومیت (۶/۰ میلی گرم)، غلظت استاندارد داخلی ۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر

نمونه ای از کروماتوگرام حاصل از تزریق ۱/۰ میکرو لیتر نمونه استخراج شده از محلول استاندارد ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر هر یک از ترکیبات آلی کلردار، در شرایط بهینه شده pH=۶/۰ در شکل (۳-۱۶) نشان داده شده است.



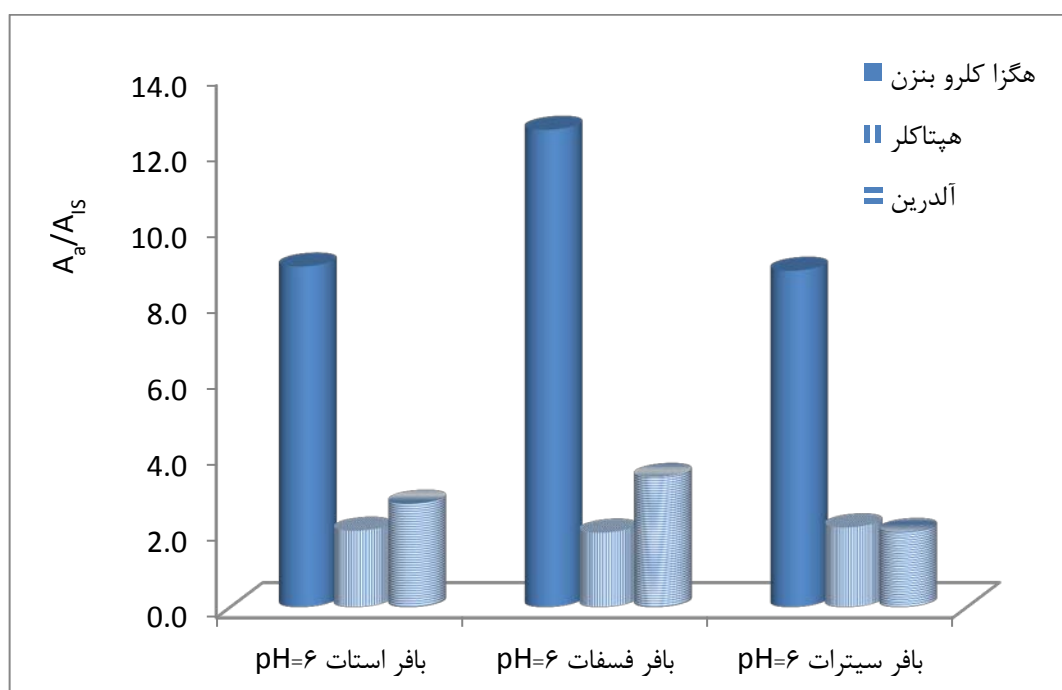
شکل (۱۶-۳) کروماتوگرام حاصل از تزریق نمونه استاندارد ترکیبات آلی کلردار شرایط استخراج: حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر، حجم نمونه آبی استخراج شده ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت ترکیبات آلی کلردار ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر، حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرومتان، تعداد ۲۵ مرتبه نمونه گیری، بافر فسفاتی ۰/۰۲ مولار با $pH=6/0$ ، جاذب نانو دیاتومیت (۶/۰ میلی گرم)، غلظت استاندارد داخلی ۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر

۲-۳-۲- بررسی اثر نوع محلول بافر

در نقطه pH بهینه، تاثیر نوع بافرهای تنظیم کننده pH ، از جمله بافر فسفات، استات، سیترات نیز در غلظت ۰/۰۲ مولار مطالعه و بررسی شد. اثر نوع بافر در استخراج ترکیبات کلردار در شکل (۳-۱۷) نشان داده شده است. نتایج حاصل نشان می دهد که استخراج در محلول بافر فسفاتی کارائی بهتری نسبت به سایر محلول های بافری دارد. بنابراین برای انجام آزمایشات بعدی در محیط بافری فسفاتی با $pH=6/0$ انجام گرفت. مقادیر عددی مساحت نسبی حاصل از نتایج کروماتوگرام در جدول (۲۳-۳) آورده شده است.

جدول (۳-۲۳) نتایج بررسی اثر بافرهای مختلف در استخراج ترکیبات آلی کلردار

نام ترکیب	نوع بافر		
	سیترات	فسفات	استات
هگزا کلرو بنزن	۸/۸۵	۱۲/۵۶	۸/۹۶
هپتاکلر	۲/۱۰	۱/۹۶	۲/۰۱
آلدرین	۱/۹۸	۳/۴۳	۲/۷۳



شکل (۳-۱۷) اثر نوع بافر کننده بر کارایی استخراج ترکیبات آلی کلردار

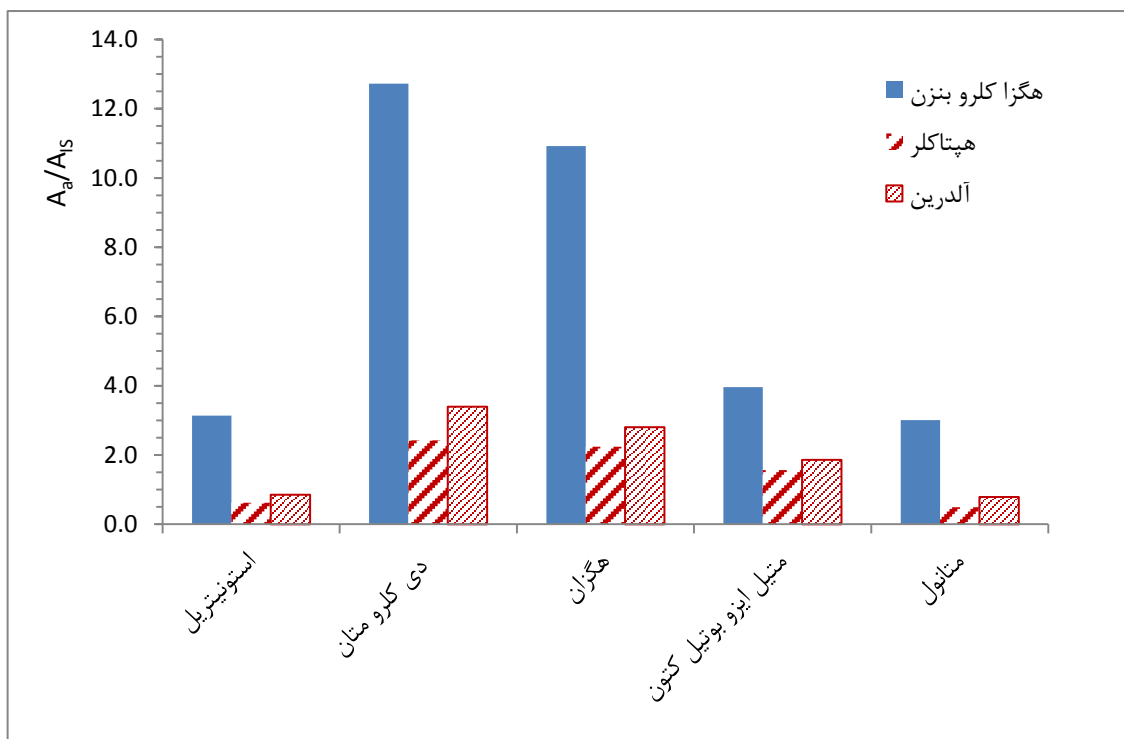
شرایط استخراج: حجم نمونه آبی استخراج شده ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت ترکیبات آلی کلردار ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر، حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرو متان، تعداد ۲۵ مرتبه نمونه گیری، جاذب نانو دیاتومیت (۶/۰ میلی گرم)، غلظت بافرها ۰/۰۲ مولار، غلظت استاندارد داخلی ۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر

۳-۲-۳- اثر حجم و نوع حلال آلی واجذب کننده

برای رسیدن به کارآئی مناسب استخراج، انتخاب حلال آلی مناسب، یکی از فاکتورهای بسیار مهم می‌باشد. بنابراین واجذب سموم استخراج شده از روی سطح جاذب نانودیاتومیت با استفاده از حلال-های آلی شامل n-هگزان، متانول، استونیتریل، متیل ایزوبوتیل کتون و دی‌کلرومتان بررسی شد. برای دستیابی به فاکتور تغلیظ بیشتر، کمترین حجم حلال آلی باید استفاده شود. نتایج حاصل از بررسی حلال‌های مختلف در میزان واجذب ترکیبات آلی کلردار از روی جاذب، در جدول (۳-۲۴) و در شکل (۳-۱۸) نشان داده شده است. از روی شکل مشخص می‌شود که حلال دی‌کلرومتان، برای واجذب و شویش ترکیبات آلی کلردار مورد مطالعه، بهتر از سایر حلال‌ها بوده و بنابراین به عنوان مناسب‌ترین حلال واجذب کننده انتخاب شد.

جدول (۳-۲۴) مساحت های نسبی در حلال‌های مختلف در پیش تغلیظ نمونه‌های آلی کلردار

نوع حلال واجذب کننده					پارامتر	نام ترکیب
متانول	متیل ایزو بوتیل کتون	n-هگزان	دی کلرو متان	استونیتریل		
۳/۰۱	۳/۹۶	۱۰/۹۲	۱۲/۷۳	۳/۱۳	A_d/A_{IS}	
۷/۲	۱/۹	۵/۰	۳/۳	۳/۰	%RSD	هگزا کلرو بنزن
۱۰/۱	۱۳/۶۵	۳۹/۸۰	۴۶/۶۰	۱۰/۵۴	بازده استخراج %	
۰/۵۰	۱/۵۶	۲/۲۴	۲/۴۳	۰/۶۲	A_d/A_{IS}	
۶/۱	۰/۶	۶/۷	۳/۷	۳/۴	%RSD	هیپتاکلر
۶/۷۰	۲۰/۴۶	۲۹/۱۸	۳۱/۶۳	۸/۲۸	بازده استخراج %	
۰/۷۹	۱/۸۶	۲/۸۰	۳/۴۰	۰/۸۵	A_d/A_{IS}	
۵/۰	۱/۰	۱۰/۳	۳/۶	۳/۳	%RSD	آلدرین
۱۲/۲۱	۲۸/۷۶	۳۹/۵۹	۴۷/۷۲	۱۳/۰۶	بازده استخراج %	



شکل (۳-۱۸) اثر نوع حلال واجذب کننده بر کارایی استخراج

شرایط استخراج: حجم نمونه استخراج شده ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت ترکیبات آلی کلردار ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر، حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کربو متان، تعداد ۲۵ مرتبه نمونه گیری، جاذب نانو دیاتومیت (۶/۰ میلی گرم)، غلظت بافر فسفات ۰/۰۲ مولار، غلظت استاندارد داخلی ۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر

پارامتر بسیار مهم دیگر که بر روی کارایی استخراج تاثیر می گذارد، حجم حلال آلی است. برای رسیدن به حجم حلال بهینه، حجم های ۵۰/۰ الی ۲۵۰/۰ میکرو لیتر از حلال برای واجذب ترکیبات از روی جاذب بکار گرفته شده و اثر آن بر روی کارایی استخراج بررسی شد. براساس نتایج حاصل، حجم بهینه ۱۰۰/۰ میکرو لیتر به عنوان حلال بهینه برای واجذب، انتخاب شد.

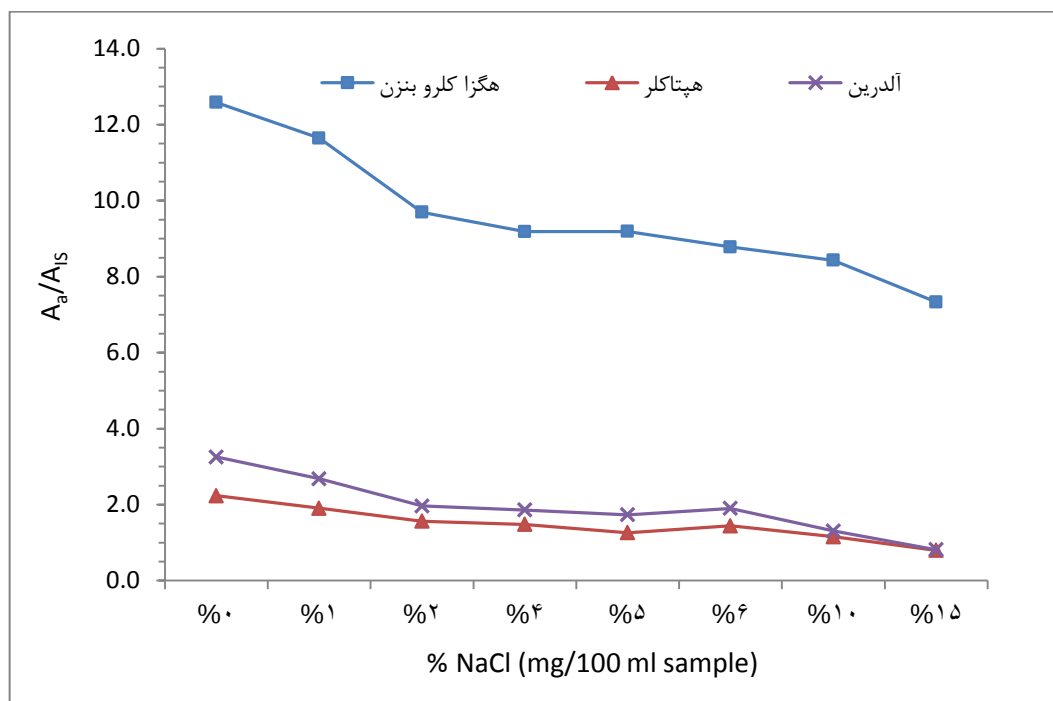
۳-۲-۴- اثر قدرت یونی

به طور کلی جهت افزایش قدرت یونی محلول ها و کاهش حلالیت آنالیت های آبگریز در فاز آبی و در نتیجه بهبود کارایی استخراج، سدیم کلرید به نمونه اضافه می شود. با این وجود، اثر افزایش نمک به

نوع آنالیت‌ها و نوع جاذب هم بستگی دارد. در این مطالعه، اثر مقدار سدیم کلرید با افزایش آن در گستره ۱-۱۵ درصد وزنی-حجمی در محلول‌های استاندارد بررسی شد. نتایج حاصل در این مورد نشان می‌دهد که افزایش سدیم کلرید کاهش قابل ملاحظه‌ای در کارآئی استخراج ترکیبات کلردار نشان می‌دهد. بنابراین آزمایش‌های مورد نظر در مراحل بعدی بدون افزایش نمک انجام گرفت. نتایج بدست آمده از کروماتوگرام‌های حاصل از بررسی اثر نمک سدیم کلراید در جدول (۳-۲۵) و شکل (۳-۱۹) نمایش داده شده است.

جدول (۳-۲۵) نتایج بدست آمده از بررسی افزایش نمک سدیم کلرید در استخراج ترکیبات آلی کلردار

نام ترکیب	پارامتر	درصد سدیم کلرید (وزنی/حجمی)						
		۰/۰٪	۱/۰٪	۲/۰٪	۴/۰٪	۵/۰٪	۶/۰٪	۱۰/۰٪
هگزا کلرو بنزن	A_d/A_{IS}	۱۲/۶	۱۱/۶	۹/۷	۹/۳	۹/۲	۸/۸	۸/۴
	% RSD	۳/۶	۵/۵	۸/۷	۱۲/۳	۱/۱	۸/۱	۱۶/۳
	بازده استخراج٪	۴۸/۵	۴۵/۰	۳۷/۷	۳۶/۰	۳۵/۸	۳۴/۵	۳۲/۹
هپتاکلر	A_d/A_{IS}	۲/۲	۱/۹	۱/۶	۱/۵	۱/۲	۱/۴	۱/۲
	% RSD	۵/۸	۶/۴	۹/۶	۵/۰	۱/۵	۸/۶	۳/۴
	بازده استخراج٪	۳۱/۸	۲۷/۶	۲۳/۲	۲۱/۹	۱۸/۹	۲۱/۶	۱۷/۹
آلدرین	A_d/A_{IS}	۳/۳	۲/۷	۲/۰	۱/۸	۱/۷	۱/۹	۱/۳
	% RSD	۴/۴	۴/۳	۷/۳	۸/۱	۳/۵	۹/۸	۳/۴
	بازده استخراج٪	۴۵/۸	۳۸/۰	۲۸/۲	۲۶/۲	۲۵/۱	۲۷/۳	۱۹/۳



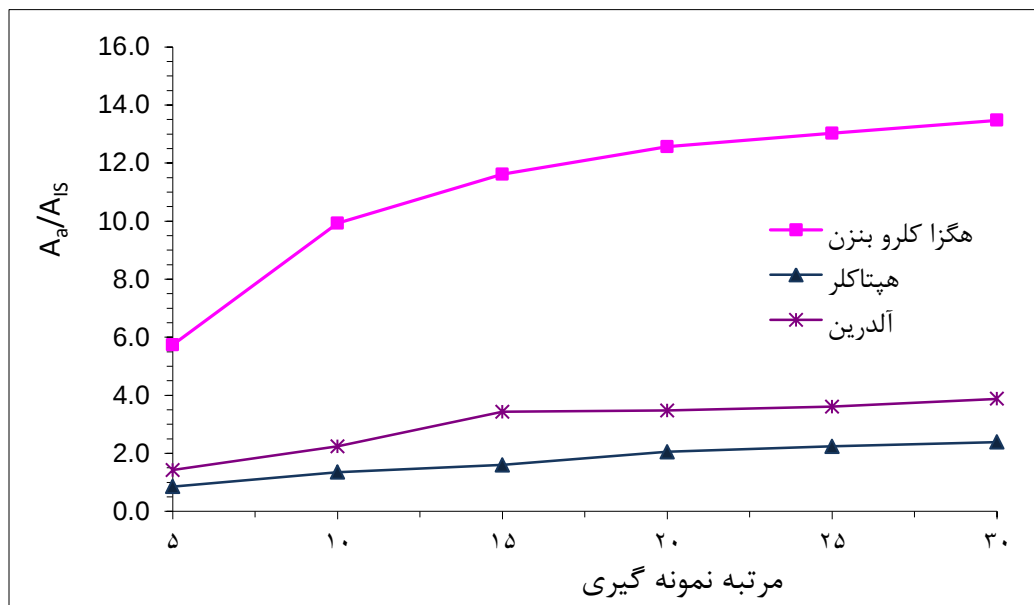
شکل (۳-۱۹) بررسی اثر افزایش نمک سدیم کلرید در کارایی استخراج ترکیبات آلی کلردار
شرایط استخراج: حجم نمونه ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت ترکیبات آلی کلردار ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر، حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرو متان، تعداد ۲۵ مرتبه نمونه گیری، جاذب نانو دیانومیت (۶/۰ میلی گرم)، بافر فسفات ۰/۰۲ مولار، غلظت استاندارد داخلی ۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر

۳-۲-۳-۵- اثر تعداد مرتبه نمونه گیری

در این مطالعه، نمونه توسط نیروی مکانیکی به داخل سرنگ و به درون جاذب، هدایت و سپس مجدداً به همان نمونه بازگردانده می‌شود، بدون اینکه نمونه در این مدت، تغییر داده شود. اثر تعداد مرتبه نمونه‌گیری (تعداد رفت و برگشت پیستون سرنگ) بر روی کارایی استخراج برای ۵ الی ۳۰ مرتبه تکرار در یک نمونه ثابت به حجم ۱۰/۰ میلی لیتر بررسی شد. بر طبق نتایج حاصل، تعداد مرتبه بهینه نمونه‌گیری برای آنالیت‌های مورد مطالعه در یک محلول استاندارد، ۲۵ مرتبه بدست آمد. نتایج به دست آمده از کروماتوگرام‌ها در بررسی اثر تعداد نمونه گیری در جدول (۳-۲۶) و شکل (۳-۲۰) نمایش داده شده است.

جدول (۳-۲۶) اثر تعداد مرتبه نمونه گیری در پیش تغلیظ نمونه‌های آلی کلردار

نام ترکیب	پارامتر	تعداد مرتبه نمونه گیری					
		۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰
هگزا کلرو بنزن	A_a/A_{IS}	۵/۷۳	۹/۹۳	۱۱/۶۱	۱۲/۵۶	۱۳/۰۳	۱۳/۴۸
	% RSD	۱/۸	۸/۳	۸/۶	۱/۱	۴/۸	۸/۴
	بازده استخراج %	۲۰/۳۲	۳۶/۰۸	۴۲/۴۳	۴۵/۹۹	۴۷/۷۵	۴۹/۴۳
هیپتاکلر	A_a/A_{IS}	۰/۸۵	۱/۳۵	۱/۶۰	۲/۰۵	۲/۲۴	۲/۳۹
	% RSD	۱/۹	۷/۶	۸۱۰/۰	۱۴/۰	۲/۸	۱۲/۰
	بازده استخراج %	۱۴/۰۲	۲۰/۴۴	۲۳/۶۶	۲۹/۵۱	۳۱/۹۰	۳۳/۸۶
آلدرین	A_a/A_{IS}	۱/۴۲	۲/۲۴	۳/۴۳	۳/۳۸	۳/۶۱	۳/۸۸
	% RSD	۵/۰	۱۰/۰	۵/۳	۲۱/۷	۱۴/۸	۹/۵
	بازده استخراج %	۲۰/۸۴	۳۱/۹۷	۴۸/۱۹	۴۸/۸۰	۵۰/۵۷	۵۴/۲۳

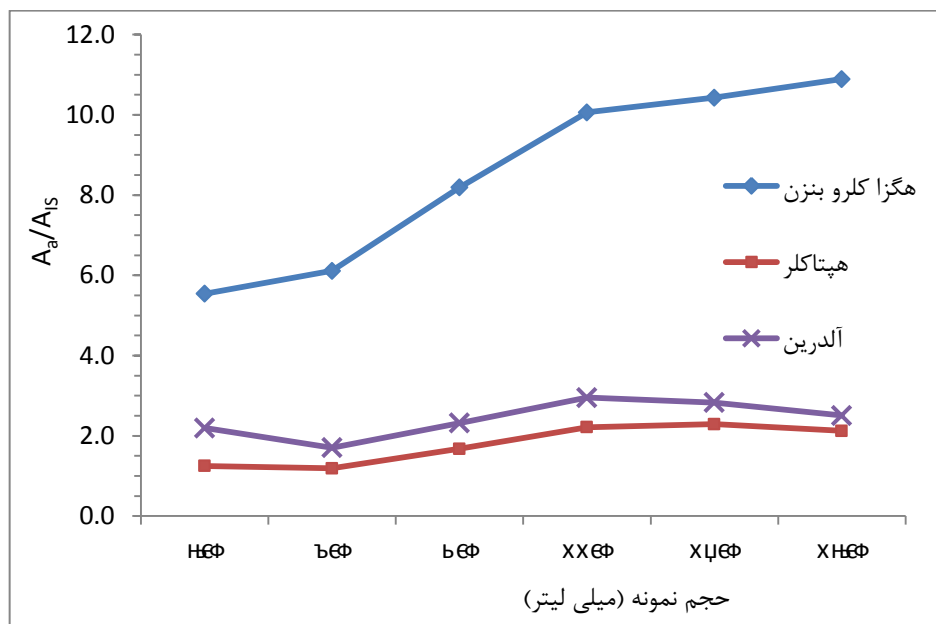


شکل (۳-۲۰) بررسی تعداد مرتبه نمونه‌گیری بر کارایی استخراج

شرایط استخراج: حجم نمونه آبی استخراج شده ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت ترکیبات آلی کلردار ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر، حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرو متان، حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر، جاذب نانو دیاتومیت ۶/۰ میلی گرم، بافر فسفات ۰/۰۲ مولار، غلظت استاندارد داخلی ۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر،

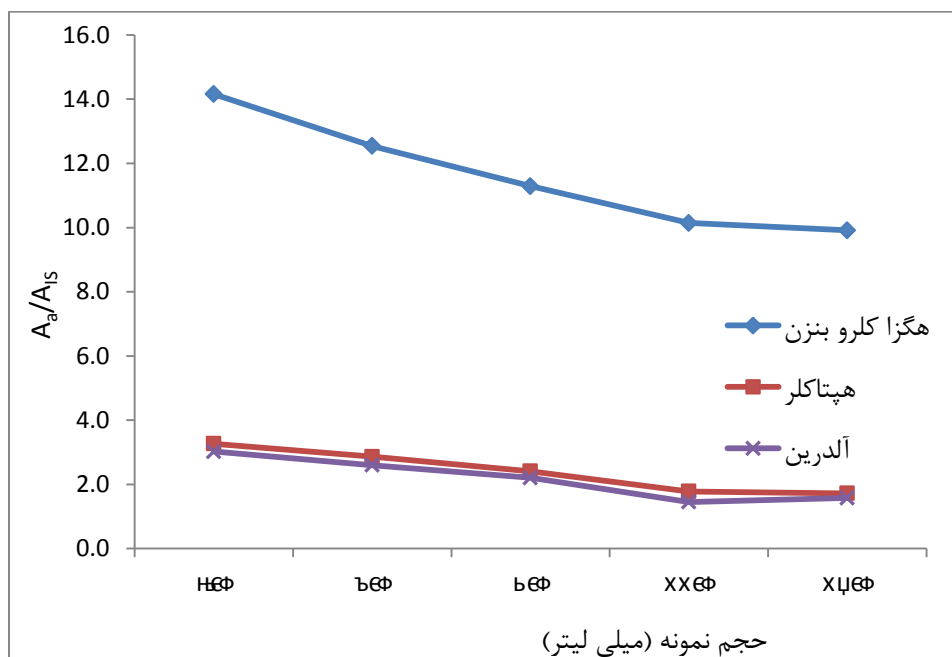
۳-۲-۳-۶- بررسی اثر حجم نمونه آبی

بررسی حجم نمونه در دو حالت غلظت ثابت و مقدار ماده برابر بر حسب میکرو گرم در همه نمونه‌ها انجام گرفت. برای انجام این بررسی در غلظت ثابت، ابتدا ۵۰۰/۰ میلی لیتر نمونه با غلظت ثابت ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر در محلول فسفات ۰/۰۲ مولار تهیه شد. سپس فرآیند پیش تغلیظ در شرایط مشابه با شرایط تجربی بهینه شده سایر پارامترها، در حجم‌های ۵/۰، ۷/۰، ۹/۰، ۱۱/۰، ۱۳/۰، ۱۵/۰ میلی لیتر انجام گرفت. در بررسی حالت مقدار ماده ثابت، نمونه‌های با غلظت‌های متفاوت ولی با مقدار ماده یکسان در همه نمونه‌ها، در حجم‌های ۵/۰، ۷/۰، ۹/۰، ۱۱/۰، ۱۳/۰، ۱۵/۰ میلی لیتر تهیه شد. سپس فرآیند پیش تغلیظ در شرایط مشابه با شرایط تجربی بهینه شده سایر پارامترها، انجام گرفت. نتایج بدست آمده از کروماتوگرام‌های این دو بررسی در شکل‌های (۳-۲۱) و (۳-۲۲) نمایش داده شده است.



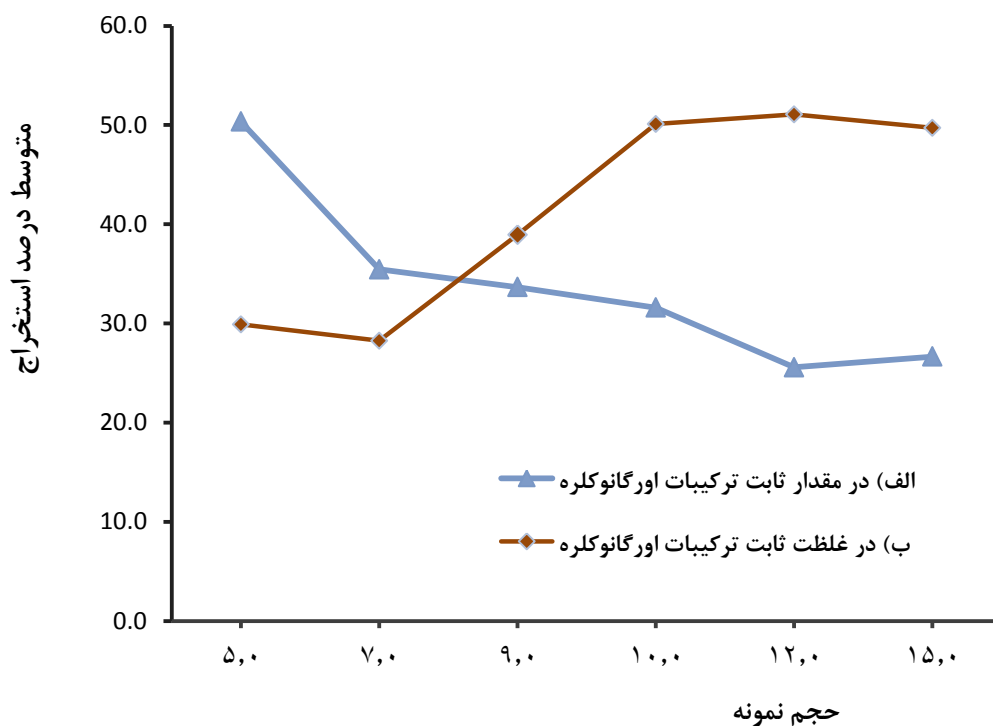
شکل (۳-۲۱) بررسی اثر حجم نمونه با غلظت ثابت بر کارایی استخراج

شرایط استخراج: غلظت ترکیبات آلی کلردار ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر، حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرو متان، جاذب نانو دیاتومیت ۶/۰ میلی گرم، بافر فسفات ۰/۰۲ مولار، غلظت استاندارد داخلی ۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر



شکل (۲۲-۳) بررسی مقدار حجم نمونه آبی در کارآیی استخراج ترکیبات آلی کلردار در مقدار ماده ثابت شرایط استخراج: مقدار ترکیبات آلی کلردار ۰/۰۲۵ میکرو گرم در نمونه، حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرو متان، جاذب نانو دیاتومیت ۶/۰ میلی گرم، بافر فسفات ۰/۰۲ مولار، غلظت استاندارد داخلی ۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر،

شکل (۲۳-۳) محل تلاقی نقطه متوسط نمودارهای حاصل از بررسی استخراج ترکیبات آلی کلردار در دو حالت غلظت ثابت و مقدار ثابت ترکیبات را بر حسب درصد استخراج نشان می‌دهد. از تلاقی دو نمودار می‌توان نتیجه گرفت که حجم نمونه آبی بهینه در حدود ۸ میلی لیتر می‌باشد. با توجه به اینکه در این تحقیق آزمایش‌ها در غلظت ثابت انجام گرفت، حجم بهینه ۱۰/۰ میلی لیتر انتخاب شد که در نمودار نشان داده شده است.



شکل (۳-۲۳) تغییرات متوسط درصد استخراج ترکیبات با حجم نمونه در دو حالت:
 الف) در مقدار ثابت ۰/۰۲۵ میکرو گرم هر ترکیب در نمونه، ب) در غلظت ثابت ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر هر ترکیب
 شرایط استخراج: حجم نمونه استخراج ۱۰/۰ میلی لیتر، حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرو متان، جاذب
 نانو دیاتومیت ۶/۰ میلی گرم، بافر فسفات ۰/۰۲ مولار، غلظت استاندارد داخلی ۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر،

۳-۲-۴- انتخاب شرایط بهینه

بر اساس نتایج و نمودارهای حاصل از بررسی پارامترهای موثر در استخراج ترکیبات آلی کلردار،
 شرایط بهینه مندرج در جدول (۳-۲۷) انتخاب شد و در رسم منحنی کالیبراسیون مورد استفاده قرار
 گرفت.

جدول (۲۷-۳) شرایط بهینه استخراج ترکیبات آلی کلردار به روش MEPS

پارامتر موثر	شرایط و مقدار بهینه
pH	۶/۰
نوع بافر	بافر فسفاتی
نوع حلال واجذب کننده	دی کلرومتان
حجم حلال آلی	۱۰۰/۰ میکرو لیتر
حجم نمونه	۱۰/۰ میلی لیتر
تعداد مرتبه نمونه گیری	۲۵ مرتبه
قدرت یونی (درصد نمک)	<۰/۲

۳-۲-۵- رسم منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ در محلول آبی

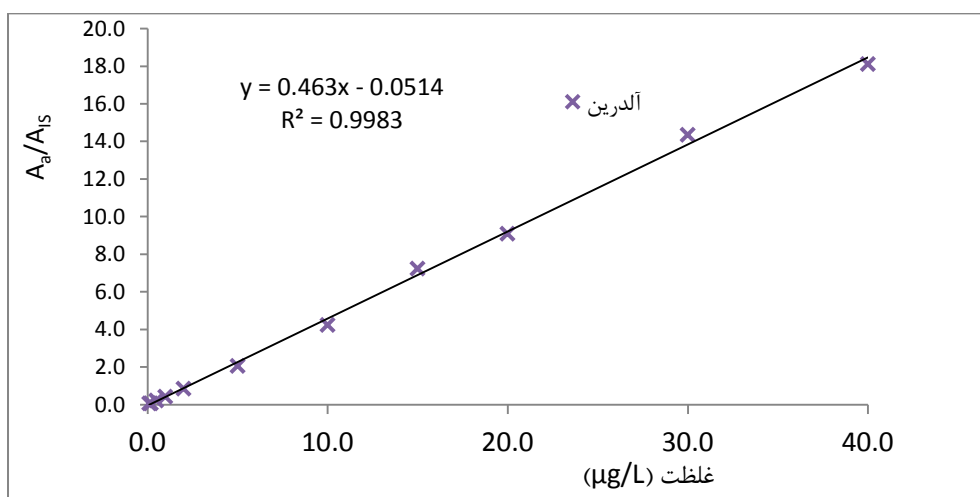
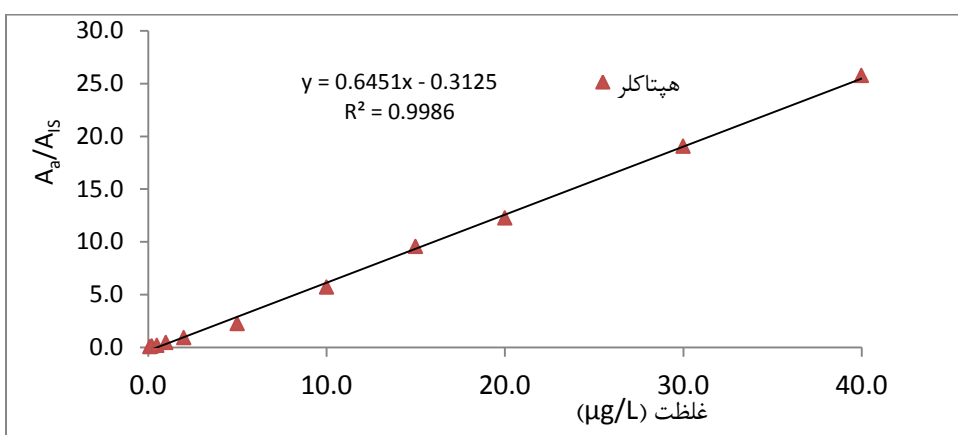
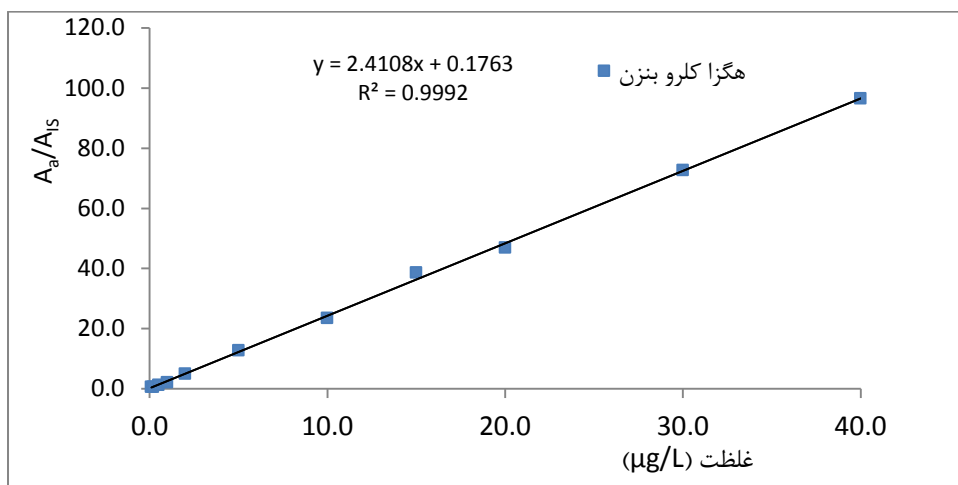
برای رسم منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ، محلول‌های با غلظت‌های متفاوت از ترکیبات آلی کلردار تهیه و در شرایط بهینه مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور محلول‌هایی در گستره غلظتی ۰/۴۰-۰/۲ میکرو گرم بر لیتر تهیه و با روش ارائه شده در بخش (۳-۱-۷) در شرایط بهینه شده، فرآیند پیش تغلیظ انجام و با دستگاه GC-MS جداسازی و اندازه گیری شد که نتایج حاصل از آن در جداول (۳-۲۸) و (۳-۲۹) و شکل (۳-۲۸) آورده شده است. براساس نتایج حاصل از منحنی‌های کالیبراسیون نشان داده در شکل (۳-۲۸)، دامنه خطی ۰/۴۰-۰/۶ با ضریب تعیین ۰/۹۹۸۳ تا ۰/۹۹۹۲ بدست آمد.

جدول (۳-۲۸) نتایج کالیبراسیون پیش تغلیظ ترکیبات آلی کلردار

غلظت آنالیت ($\mu\text{g/L}$)	$A_{\text{a}}/A_{\text{IS}}$		
	هگزاکلرو بنزن	هیپتاکلر	آلدرین
۰/۲	۰/۵۷	۰/۱۴	۰/۰۸
۰/۵	۱/۲۵	۰/۲۱	۰/۲۲
۱/۰	۲/۱۲	۰/۴۶	۰/۴۳
۲/۰	۴/۹۴	۰/۹۳	۰/۸۵
۵/۰	۱۲/۷۳	۲/۲۱	۲/۰۷
۱۰/۰	۲۳/۴۹	۵/۳۲	۴/۲۴
۱۵/۰	۳۸/۵۹	۹/۵۶	۷/۲۳
۲۰/۰	۴۶/۹۱	۱۲/۲۶	۹/۱
۳۰/۰	۷۲/۶۷	۱۹/۰۵	۱۴/۳۵
۴۰/۰	۹۶/۵۳	۲۵/۷۶	۱۸/۱۲

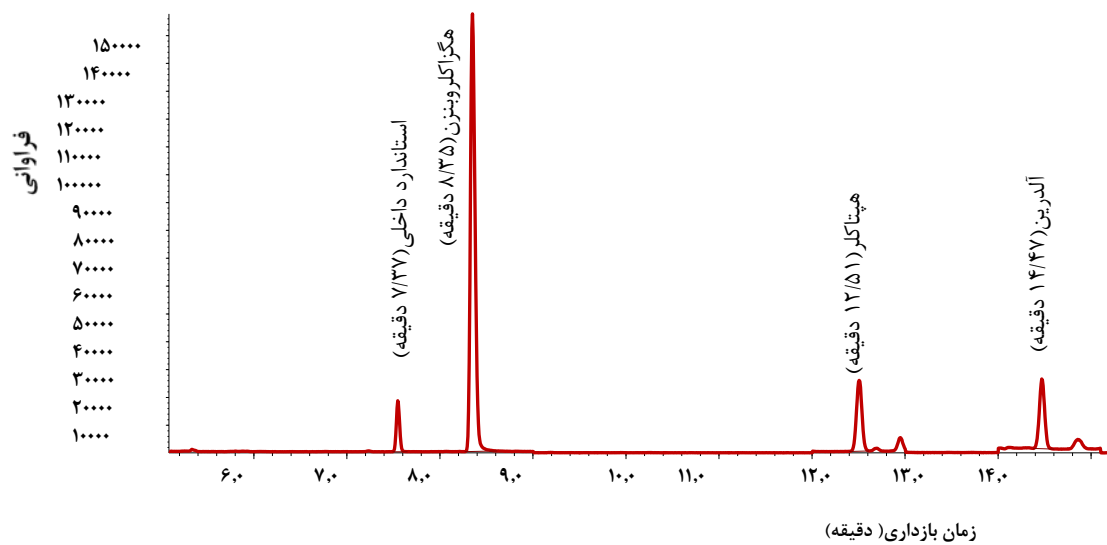
جدول (۳-۲۹) معادله خط، ضریب تعیین و گستره خطی منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ

ترکیبات	معادله خط	R^2	گستره خطی دینامیکی ($\mu\text{g/L}$)
هگزا کلرو بنزن	$y=۲/۴۱۰x+۰/۱۷۶$	۰/۹۹۹۲	۰/۲-۴۰/۰
هیپتاکلر	$y=۰/۶۴۵x-۰/۳۱۲$	۰/۹۹۸۶	۰/۶-۴۰/۰
آلدرین	$y=۰/۴۶۳x-۰/۰۵۱$	۰/۹۹۸۳	۰/۴-۴۰/۰



شکل (۳-۲۴) منحنی های کالیبراسیون پیش تغلیظ برای اندازه گیری ترکیبات آلی کلردار در آب
شرایط استخراج: حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر، غلظت ترکیبات آلی کلردار ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر، حجم نمونه استخراج
۱۰/۰ میلی لیتر، حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرو متان، جاذب نانو دیاتومیت ۶/۰ میلی گرم، بافر
فسفات ۰/۰۲ مولار، غلظت استاندارد داخلی ۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر،

شکل (۳-۲۵) نمونه‌ای از کروماتوگرام حاصل از پیش تغلیظ ترکیبات آلی کلردار در غلظت ۵/۰ میکروگرم بر لیتر را نشان می‌دهد.



شکل (۳-۲۵) کروماتوگرام پیش تغلیظ محلول استاندارد ۵/۰ میکرو گرم بر لیتر ترکیبات آلی کلردار در آب شرایط استخراج: حجم نمونه استخراج ۱۰/۰ میلی لیتر، حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرو متان، جاذب نانو دیاتومیت ۶/۰ میلی گرم، بافر فسفات ۰/۰۲ مولار، غلظت استاندارد داخلی ۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر،

۳-۲-۶- ارقام شایستگی تجزیه‌ای روش

۳-۲-۶-۱- تعیین فاکتور پیش تغلیظ

مقدار فاکتور پیش تغلیظ، از نسبت شیب منحنی کالیبراسیون بعد از پیش تغلیظ به شیب منحنی کالیبراسیون مستقیم (بدون پیش تغلیظ) مطابق رابطه (۳-۲) بدست می‌آید که نتایج حاصل در جدول (۳-۳۰) آورده شده است.

جدول (۳-۳۰) فاکتور تغلیظ روش برای ترکیبات آلی کلردار	
ترکیبات	PF
هگزا کلرو بنزن	۴۵/۳
هپتاکلر	۴۱/۶
آلدرین	۳۱/۴

۳-۲-۶-۲- تعیین حد تشخیص و حد کمی روش

برای بدست آوردن حد تشخیص، نمونه شاهد همانند نمونه‌های استاندارد کالیبراسیون، تهیه شده و با شرایط یکسان فرآیند استخراج انجام گرفت. سپس مقدار ۱/۰ میکرو لیتر از نمونه استخراج شده شاهد، در ۵ بار تزریق و انحراف استاندارد نمونه شاهد و سپس مقدار حد تشخیص و حد کمی روش بر اساس روابط (۳-۷) و (۳-۸) محاسبه گردید. مقادیر حد تشخیص و حد اندازه‌گیری در جدول (۳-۳۱) گزارش شده است.

جدول (۳-۳۱) حدود تشخیص و حدود کمی روش برای ترکیبات آلی کلردار		
ترکیبات	حد تشخیص روش (µg/L)	حد کمی روش (µg/L)
هگزا کلرو بنزن	۰/۰۸	۰/۲۴
هپتاکلر	۰/۲۵	۰/۷۵
آلدرین	۰/۱۲	۰/۳۶

۳-۲-۶-۳- صحت و دقت روش

برای بررسی دقت و صحت روش، غلظت‌های ۵/۰، ۱۰/۰ و ۱۵/۰ میکروگرم بر لیتر از هر یک از ترکیبات آلی کلردار در دامنه خطی منحنی کالیبراسیون انتخاب و در شرایط بهینه، عمل استخراج بر روی آن‌ها انجام گرفت. برای هر یک از غلظت‌های انتخاب شده تعداد ۵ بار اندازه‌گیری تکراری مشابه، شامل تمام مراحل محلول‌سازی، پیش تغلیظ، شویش، واجذب، تزریق نمونه با حجم یکسان و سپس اندازه‌گیری دستگاهی انجام گرفت. با استفاده از سیگنال‌های به‌دست آمده برای هر نمونه و نمودارهای کالیبراسیون پیش تغلیظ، غلظت‌های هر یک از ترکیبات اندازه‌گیری شده و درصد انحراف استاندارد نسبی برای هر یک از ترکیبات بر طبق رابطه (۳-۸) محاسبه شد.

جدول (۳-۳۲) دقت و صحت روش را در اندازه‌گیری ترکیبات آلی کلردار نشان می‌دهد. همان‌طور که در جدول مشخص است مقادیر t و درصد انحراف نسبی به ترتیب نشان دهنده صحت و دقت خوب روش است. لازم به ذکر است که در سطح اطمینان ۹۵٪ مقدار t بحرانی برای ۲ درجه آزادی برابر ۴/۳۰ است.

جدول (۳-۳۲) دقت و صحت در شرایط بهینه در اندازه‌گیری ترکیبات آلی کلردار

ترکیب	غلظت اضافه شده ($\mu\text{g/L}$)	میانگین غلظت اندازه‌گیری شده ($\mu\text{g/L}$)	SD^*	%RSD	t محاسبه شده	درصد بازیابی
هگزا کلرو	۵/۰	۵/۴	۰/۳۳	۶/۲	۱/۹۲	٪۱۰۸
بنزن	۱۰/۰	۱۰/۸	۰/۳۸	۳/۵	۳/۶۷	٪۱۰۸
هپتاکلر	۵/۰	۴/۸	۰/۵۵	۱۲/۱	۴/۱۷	٪۹۶
	۱۰/۰	۹/۵	۰/۶۳	۶/۷	۱/۴۲	٪۹۵
آلدین	۵/۰	۴/۷	۰/۳۹	۹/۴	۳/۶۵	٪۹۴
	۱۰/۰	۹/۶	۰/۷۳	۸/۳	۲/۷۹	٪۹۶

*Standard Deviation ($n=3$) , $T_{\text{tab}(95\%)}$ = ۴,۳, $df=2$

۷-۲-۳- اندازه گیری آفت کش های هگزا کلرو بنزن، هپتاکلر و آلدترین در نمونه حقیقی

برای مطالعه اثر بافت نمونه و قابلیت به کارگیری روش پیشنهادی، یک نمونه آب آزمایشگاه و یک نمونه آب دریای خزر جمع آوری شده و برای اندازه گیری سموم آلی کلردار آنها استفاده شد. نمونه های جمع آوری شده در آزمایشگاه با فیلتر ۰/۴۵ میکرون صاف گردید، سپس در شرایط تجربی بهینه شده، آنالیز گردید. مشاهده شد که هیچ گونه مقدار قابل شناسایی از سموم در آب وجود نداشته و کمتر از حد تشخیص روش است. سپس مقدار معین از استاندارد به نمونه های حقیقی اضافه شد تا غلظت هر یک از ترکیبات آلی کلردار به ۲/۰، ۵/۰ و ۱۰/۰ میکروگرم بر لیتر برسد. در این غلظت ها نمونه ها طبق روش، استخراج و پیش تغلیظ گردید. از نتایج آنالیز این نمونه های پیش تغلیظ شده، برای محاسبه بازیابی استفاده شد. نتایج و درصد بازیابی محاسبه شده برای نمونه های آنالیز شده در جدول های (۳-۳۳) و (۳-۳۴) آورده شده است. نتایج نشان می دهد که روش پیشنهادی برای اندازه گیری ترکیبات کلردار، بازیابی نسبی خوبی داشته و مقدار درصد بازیابی در گستره ۸۷٪-۱۱۰٪ می باشد.

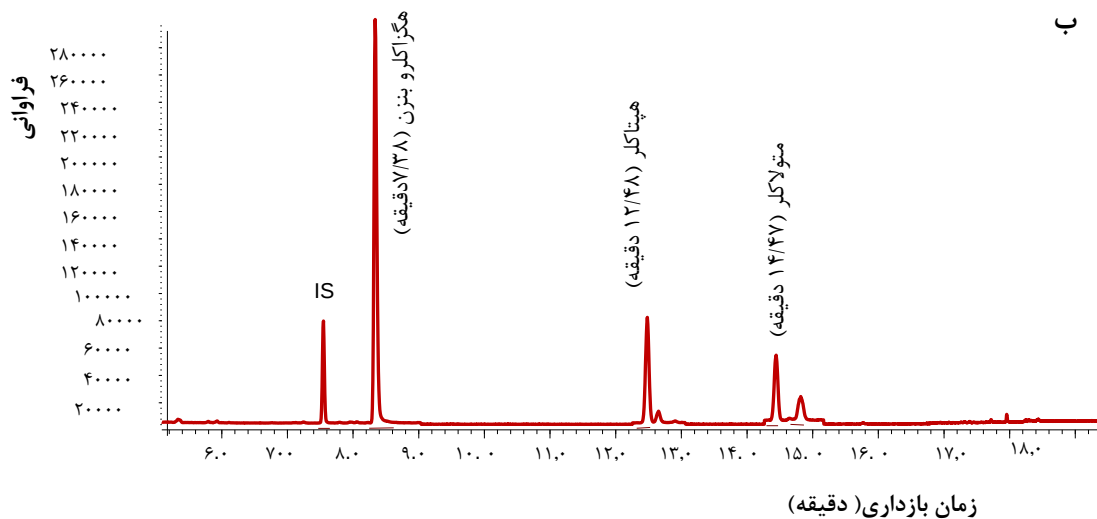
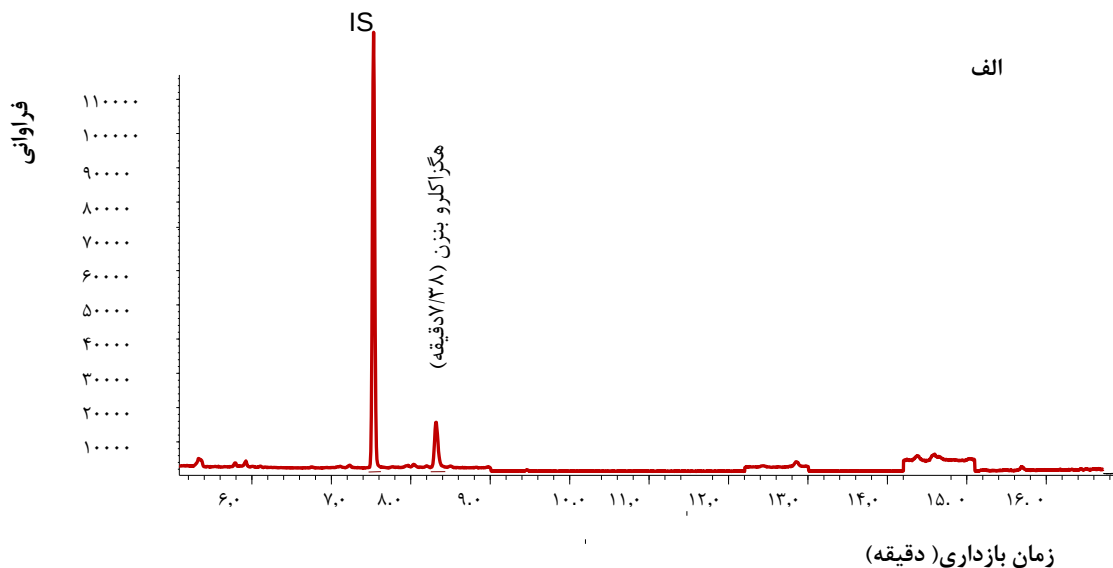
جدول (۳-۳۳) مقدار اندازه گیری شده و درصد بازیابی ترکیبات آلی کلردار در نمونه ۱- آب شهری (آزمایشگاه)

ترکیبات	مقدار اضافه شده (µg/L)	مقدار اندازه گیری شده (µg/L)	مقدار t محاسبه شده	درصد بازیابی
هگزا کلرو بنزن	۰/۰	<LOD	-	-
	۲/۰	۲/۲	۲/۴	٪۱۱۰
	۵/۰	۵/۴	۱/۵	٪۱۰۸
	۱۰/۰	۸/۹	۲/۳	٪۸۹
هپتاکلر	۰/۰	<LOD	-	-
	۲/۰	۲/۱	۰/۸	٪۱۰۵
	۵/۰	۵/۴	۲/۲	٪۱۰۸
	۱۰/۰	۱۰/۶	۱/۵	٪۱۰۶
آلدرین	۰/۰	<LOD	-	-
	۲/۰	۲/۰	۰/۰	٪۱۰۰
	۵/۰	۵/۱	۰/۹	٪۱۰۲
	۱۰/۰	۹/۶	۰/۸	٪۹۶

جدول (۳-۳۴) مقدار اندازه گیری شده و درصد بازیابی در نمونه ۲- آب دریای خزر

ترکیبات	مقدار اضافه شده (µg/L)	مقدار اندازه گیری شده (µg/L)	مقدار t محاسبه شده	درصد بازیابی
هگزا کلرو بنزن	۰/۰	۰/۳	-	-
	۲/۰	۲/۱	۳/۵	٪۹۰
	۵/۰	۵/۱	۰/۶	٪۹۶
	۱۰/۰	۸/۷	۲/۲	٪۸۴
هپتاکلر	۰/۰	<LOD	-	-
	۲/۰	۱/۹	۱/۷	٪۹۸
	۵/۰	۵/۱	۱/۴	٪۱۰۲
	۱۰/۰	۱۰/۳	۱/۶	٪۱۰۳
آلدرین	۰/۰	<LOD	-	-
	۲/۰	۲/۱	۱/۵	٪۱۰۵
	۵/۰	۵/۳	۲/۵	٪۱۰۶
	۱۰/۰	۱۰/۴	۰/۹	٪۱۰۴

شکل (۳-۲۶) نمونه‌ای از کروماتوگرام‌های حاصل از استخراج و پیش‌تغلیظ نمونه حقیقی بدون افزایش و بعد از افزایش ترکیبات آلی کلردار به غلظت ۵/۰ میکروگرم بر لیتر در نمونه آب دریای خزر چاه را نشان می‌دهد.



شکل (۳-۲۶) کروماتوگرام نمونه حقیقی

الف) نمونه آب دریای خزر بدون افزایش ترکیبات آلی کلردار

ب) نمونه آب دریای خزر غنی شده با ترکیبات آلی کلردار به غلظت ۵/۰ میکروگرم بر لیتر

شرایط استخراج: حجم نمونه استخراج ۱۰/۰ میلی لیتر، حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرو متان، حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر، جاذب نانو دیاتومیت ۶/۰ میلی گرم، بافر فسفات ۰/۰۲ مولار، غلظت استاندارد داخلی ۵۰/۰ میکرو گرم بر لیتر،

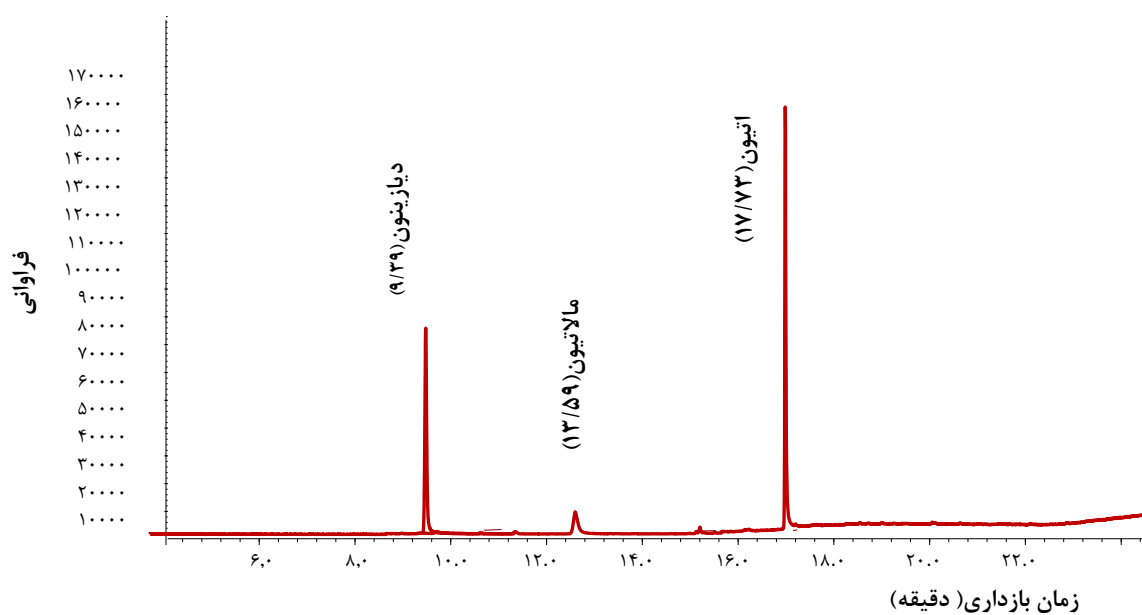
۳-۳- کاربرد نانو پرلایت به عنوان جاذب طبیعی در پیش تغلیظ سموم آلی

فسفردار دیازینون، مالاتیون و اتیون با روش میکرواستخراج با سرنگ پرشده با

جاذب و اندازه گیری بوسیله کروماتوگرافی گازی و اسپکترومتری جرمی

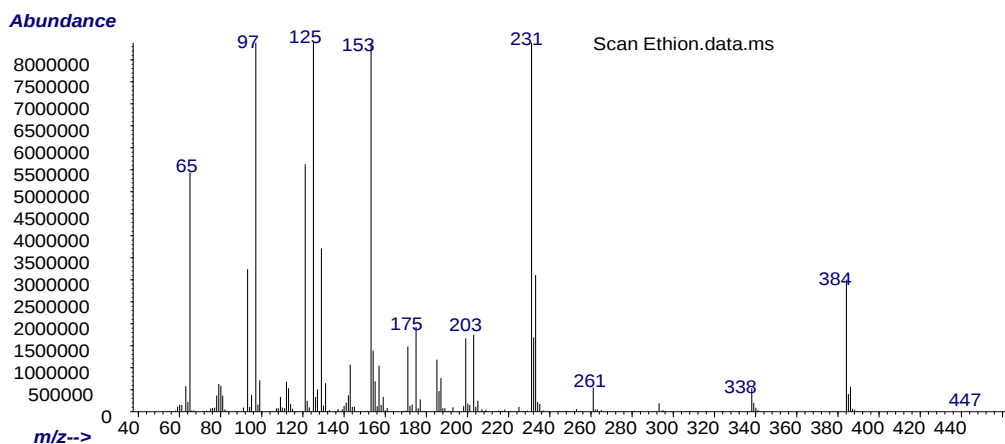
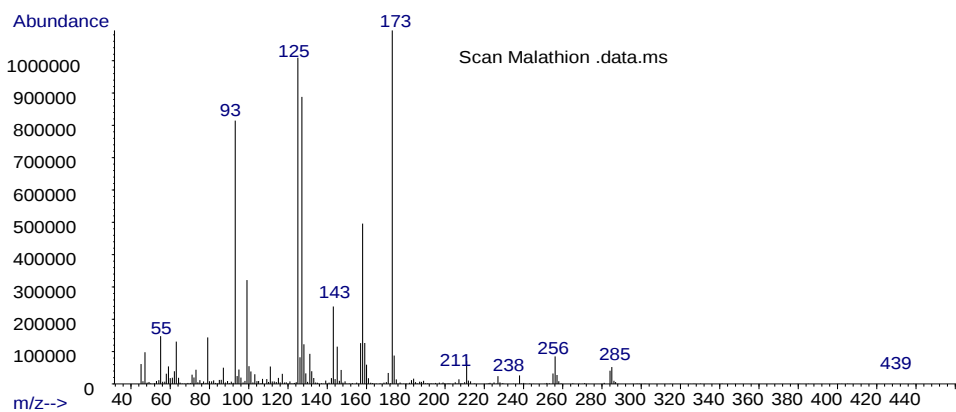
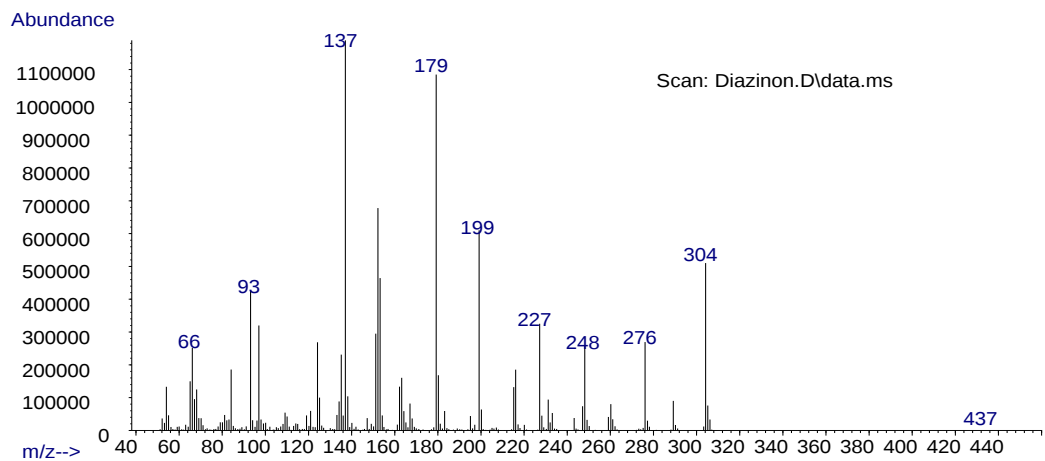
۳-۳-۱- شناسایی و تعیین زمان بازداری ترکیبات

برای شناسایی کروماتوگرام هر یک از ترکیبات و تعیین زمان بازداری آنها، ابتدا به طور جداگانه مقدار ۱/۰ میکرو لیتر از استاندارد اولیه ۱/۰ میلی گرم بر لیتر هر یک از ترکیبات مورد نظر، به دستگاه GC با آشکارساز جرمی در حالت مد اسکن تزریق شد. کروماتوگرام حاصل که دارای یک پیک مشخص باشد، را به عنوان پیک آن ترکیب استاندارد در نظر گرفته و به کمک طیف جرمی و استفاده از جستجوی کتابخانه‌ای آشکار ساز جرمی، از پیک مشاهده شده اطمینان حاصل و زمان بازداری ترکیبات تعیین شد. به کمک طیف جرمی ترکیب نیز اجزای یونی و جرم به بار (m/e) آن در پتانسیل اعمال شده تعیین شد. یک یا دو مورد از نسبت های جرم یون به بار (m/e) با شدت بیشتر، به عنوان جرم های یونی در حالت مد انتخابی یون (SIM) انتخاب و در شرایط دستگاهی و روش جداسازی، اعمال شد. یک نمونه کروماتوگرام حاصل از تزریق ۱/۰ میکرو لیتر از نمونه مخلوط سه ترکیب با غلظت ۱/۰ میلی گرم بر لیتر از هر یک از ترکیبات برای تعیین زمان بازداری پیک های مورد نظر در شکل (۳-۳۳) آورده شده است.



شکل (۲۷-۳) کروماتوگرام نمونه استاندارد برای تعیین زمان بازداری
شرایط: غلظت محلول استاندارد آلی فسفردار ۱/۰ میلی گرم بر لیتر، حلال متانول، حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر،
شرایط جداسازی مطابق جدول (۲-۲)

شکل (۲۸-۳) طیف‌های جرمی دیازینون، مالاتیون و اتریون در شرایط اعمال شده برای دستگاه
اسپکترومتر جرمی را نشان می‌دهد.



شکل (۳-۲۸) طیف جرمی ترکیبات آلی فسفردار الف) دیازینون ب) مالاتیون ج) اتیون

۳-۳-۲- بدست آوردن منحنی کالیبراسیون مستقیم

بدین منظور محلول‌های استاندارد در گستره غلظتی ۱۰/۰ تا ۱۰۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر از هر یک از ترکیبات مورد نظر، در متانول تهیه شد. از محلول‌های تازه تهیه شده، مقدار ۱/۰ میکرو لیتر به دستگاه GC تزریق شد. منحنی‌های کالیبراسیون مستقیم از رسم تغییرات سیگنال آنالیت (مساحت نسبی) نسبت به غلظت هر یک از ترکیبات فسفردار رسم گردید و گستره خطی آشکارساز تعیین شد. جدول (۳-۳۵) میانگین مساحت‌های نسبی پیک‌های ترکیبات آلی فسفردار برای ۳ بار تزریق نمونه‌های استاندارد را نشان می‌دهد.

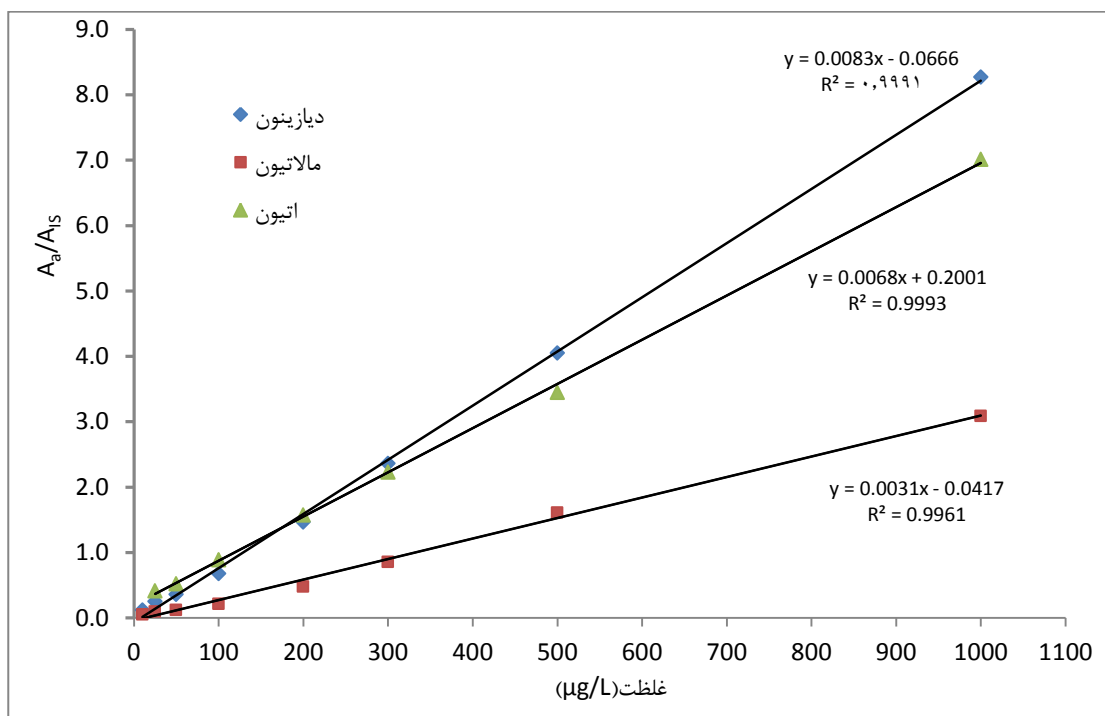
جدول (۳-۳۵) مساحت‌های نسبی در کالیبراسیون مستقیم ترکیبات آلی فسفردار			
غلظت آنالیت (µg/L)	A_a/A_{IS}		
	دiazینون	مالاتیون	اتیون
۱۰/۰	۰/۱۲	۰/۰۵	۰/۲۸
۲۵/۰	۰/۲۵	۰/۱۰	۰/۴۲
۵۰/۰	۰/۳۶	۰/۱۲	۰/۵۲
۱۰۰/۰	۰/۶۸	۰/۲۲	۰/۸۹
۲۰۰/۰	۱/۴۷	۰/۴۸	۱/۵۷
۳۰۰/۰	۲/۳۷	۰/۸۶	۲/۲۳
۵۰۰/۰	۴/۰۵	۱/۶۱	۳/۴۵
۱۰۰۰/۰	۸/۲۷	۳/۰۹	۷/۰۱

داده‌های آماری حاصل از رسم منحنی‌های کالیبراسیون شامل گستره پاسخ خطی بر حسب میکرو گرم بر لیتر، ضریب تعیین (R^2)، معادله خط و شیب منحنی برای هر یک از ترکیبات آلی فسفردار در جدول (۳-۳۶) نمایش داده شده است.

منحنی‌های کالیبراسیون مستقیم ترکیبات آلی فسفردار در حلال دی‌کلرومتان در شکل (۳-۲۹) آورده شده است. این شکل نشان می‌دهد که آشکار ساز جرمی نسبت به دیازینون و اتیون حساس‌تر از مالاتیون بوده و دارای شیب بیشتری در نمودار کالیبراسیون می‌باشد.

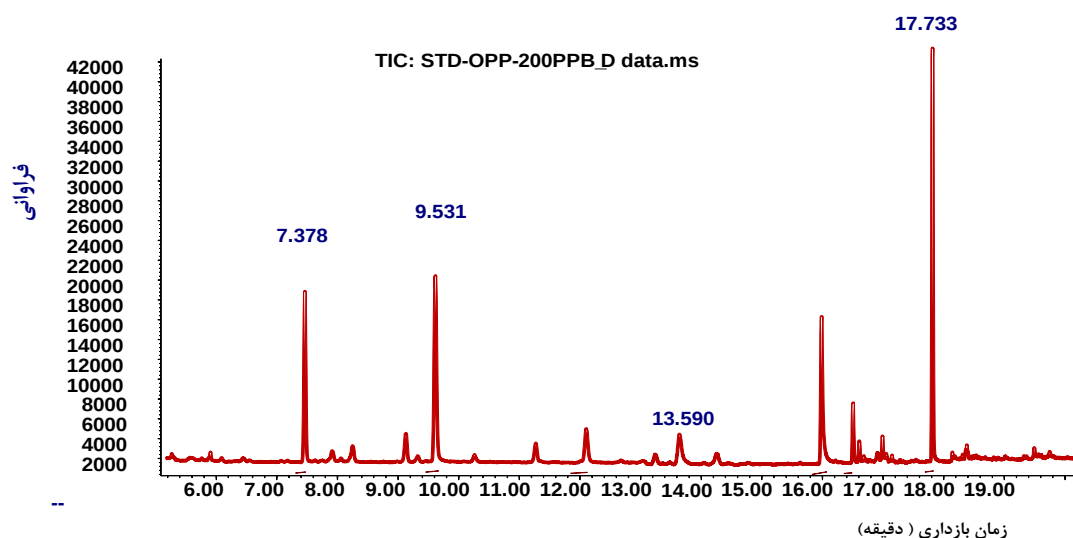
جدول (۳-۳۶) گستره دینامیکی، ضریب تعیین (R^2)، معادله خط و شیب منحنی کالیبراسیون مستقیم

نام ترکیب	گستره پاسخ خطی ($\mu\text{g/L}$)	ضریب تعیین (R^2)	معادله خط
دیازینون	۱۰ - ۱۰۰۰	۰/۹۹۹۰	$y = 0.0083x - 0.0666$
مالاتیون	۱۰ - ۱۰۰۰	۰/۹۹۹۴	$y = 0.0031x - 0.0417$
اتیون	۵۰ - ۱۰۰۰	۰/۹۹۹۳	$y = 0.0068x + 0.2001$



شکل (۳-۲۹) منحنی‌های کالیبراسیون مستقیم ترکیبات آلی فسفردار
شرایط جداسازی: غلظت محلول استاندارد آلی فسفردار ۱/۰ میلی گرم بر لیتر، حلال متانول، حجم تزریق یک میکرو لیتر، استاندارد داخلی تری فلورالین با غلظت ۱۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر؛
شرایط جداسازی مطابق جدول (۲-۲)

نمونه‌ای از کروماتوگرام‌های تزریق ۱/۰ میکرولیتر از محلول‌های استاندارد ۲۰۰/۰ ۰ میکرو گرم بر لیتر هر یک از ترکیبات آلی فسفردار مخلوط در دامنه خطی کالیبراسیون مستقیم در شکل (۳-۳۰) نشان داده شده است.



شکل (۳-۳۰) کروماتوگرام نمونه استاندارد ۲۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر ترکیبات آلی فسفردار. شرایط: حلال دی کلرو متان؛ حجم تزریق، ۱/۰ میکرو لیتر؛ غلظت تری فلورالین (IS) ۱۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر، زمان بازداری ترکیبات (دقیقه): تری فلورالین (IS) (۷/۳۸)، دیازینون (۹/۳۹)، مالاتیون (۱۳/۵۹)، اتیون (۱۷/۸۵).

۳-۳-۳- بهینه سازی فاکتورهای مؤثر در پیش تغلیظ

به منظور فراهم نمودن بهترین شرایط برای پیش تغلیظ و همچنین دستیابی به بهترین حساسیت، فاکتورهای مؤثر بر میکرو استخراج، مورد بررسی قرار گرفتند که این فاکتورها عبارتند از:

(۱) pH نمونه

(۲) نوع بافر

(۳) نوع و حجم حلال استخراج کننده

۴) اثر نمک (قدرت یونی)

۵) تعداد مرتبه نمونه گیری

تاثیر فاکتورهای موثر بر شدت سیگنال و کارایی استخراج، با روش یک متغیر در یک زمان مورد بررسی قرار گرفت.

۳-۳-۱- بررسی اثر pH

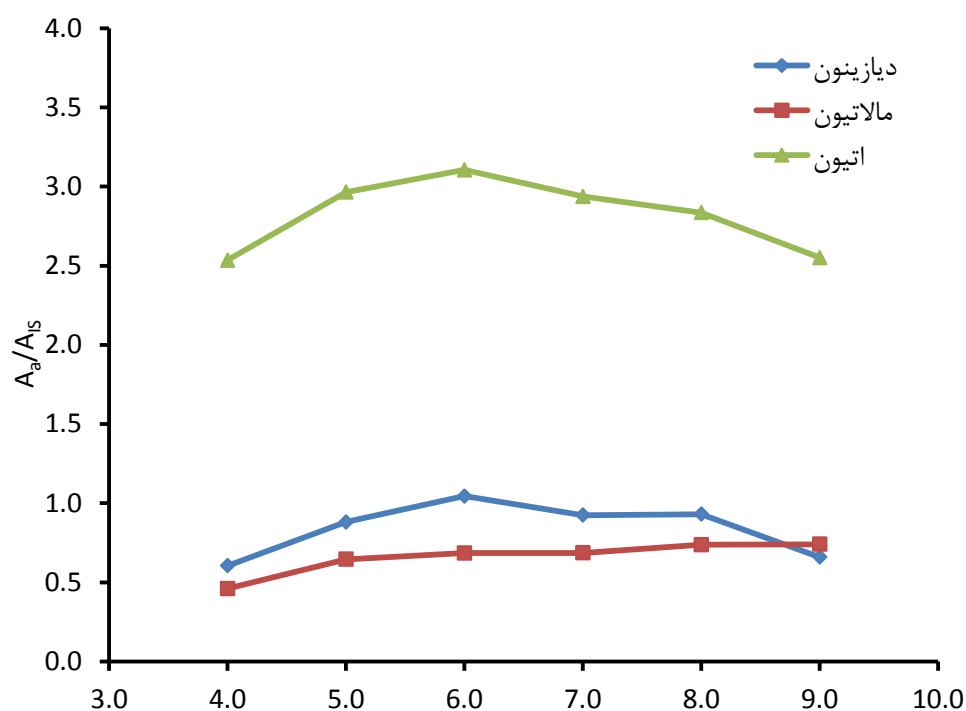
برای ارزیابی اثر pH بر روی کارایی استخراج ترکیبات آلی فسفردار از نمونه‌های آبی، کارایی استخراج در گستره pH ۴/۰ الی ۹/۰ بررسی شد. برای این بررسی، محلول‌های استاندارد با حجم ۵۰/۰ میلی لیتر با غلظت ۱۰/۰ میکروگرم بر لیتر هر یک از ترکیبات در محیط آبی با بافر فسفاتی ۰/۰۲ مولار تهیه گردید. سپس فرآیند پیش تغلیظ به کمک سرنگ طراحی شده همراه با جاذب نانو پرلیت بر روی ۱۰/۰ میلی لیتر نمونه مذکور انجام شد. در تمامی مراحل پیش تغلیظ و بررسی‌های اولیه پارامترهای موثر در کارایی جذب و پیش تغلیظ، تعداد ۲۵ مرتبه عمل نمونه‌گیری انجام شد. پس از عمل پیش تغلیظ، مرحله خشک کردن جاذب با گاز بی اثر نیتروژن و واجذب ترکیبات از روی جاذب به کمک ۱۰۰/۰ میکرو لیتر حلال دی‌کلرومتان، نمونه‌های استخراج شده در ویال نگهداری و برای جلوگیری از کاهش حجم در اثر تبخیر، بلافاصله مقدار ۱/۰ میکرولیتر از نمونه پیش تغلیظ شده به دستگاه GC تزریق شد. پاسخ‌های آشکارساز دستگاه تجزیه‌ای بر حسب مساحت نسبی نسبت به تغییرات pH در گستره ۴/۰ الی ۹/۰ برای هر یک از ترکیبات آلی فسفردار رسم شد. داده‌های حاصل از کروماتوگرام و نتایج بدست آمده از بررسی اثر pH بر روی کارایی و استخراج ترکیبات آلی فسفردار در جدول (۳-۳۷) نشان داده شده است.

اثر تغییرات pH نمونه بر روی کارایی و استخراج ترکیبات در شکل (۳-۳۱) نشان داده شده است. همانطوری که در شکل دیده می‌شود، کارایی استخراج برای ترکیبات آلی فسفردار با افزایش pH نمونه تا ۶/۰، افزایش یافته و سپس با بازی تر شدن محیط نمونه، مقدار کارایی استخراج کاهش

می‌یابد. بنابراین تمام نمونه‌های آبی در $pH=6/0$ تنظیم و آزمایش‌های بعدی در این pH انجام گرفت. با توجه به اینکه ترکیبات آلی فسفردار از جمله ترکیبات نسبتاً قطبی و یا دارای گروه قطبی هستند، توسط جاذب‌های قطبی بهتر استخراج می‌شوند. هم چنین توانایی جاذب در استخراج ترکیبات به شرایط اسیدی و بازی، برهم‌کنش‌ها و نیروهای بین‌مولکولی، پیوندهای $\pi-\pi$ ، نیروهای دوقطبی-دوقطبی و تعویض یونی بین جاذب و آنالیت بستگی دارد. جاذب نانو پرلیت با سطح قطبی، سموم فسفره را با نیروی بیشتری جذب می‌کند. بنابراین برای واجذب ترکیبات نسبتاً قطبی، بایستی از حلال‌های با قطبیت بیشتر استفاده کرد.

جدول (۳۷-۳) تاثیر pH نمونه در کارآیی پیش تغلیظ ترکیبات آلی فسفردار

pH						پارامتر	نام ترکیب
$pH=9/0$	$pH=8/0$	$pH=7/0$	$pH=6/0$	$pH=5/0$	$pH=4/0$		
۰/۶۶	۰/۹۳	۰/۹۲	۱/۰۴	۰/۸۸	۰/۶	A_a/A_{IS}	دیازینون
۴/۶	۱/۸	۴/۴	۳/۶	۲/۴	۳/۶	% RSD	
۸/۷۵	۱۲/۰۱	۱۱/۹۴	۱۳/۳۹	۱۱/۴۲	۸/۰۹	% بازده استخراج	
۰/۸۱	۰/۸۰	۰/۶۹	۰/۶۹	۰/۶۵	۰/۴۶	A_a/A_{IS}	مالاتیون
۴/۶	۷/۳	۹/۶	۴/۵	۲/۵	۲/۳	% RSD	
۲۷/۳۸	۲۷/۱۳	۲۳/۴۶	۲۳/۴۵	۲۲/۱۶	۱۶/۱۹	% بازده استخراج	
۲/۵۵	۲/۸۴	۲/۹۴	۳/۱۱	۲/۹۷	۲/۵۴	A_a/A_{IS}	اتیون
۷/۹	۱۰/۲	۲/۲	۶/۴	۴/۲	۱/۲	% RSD	
۳۴/۵۹	۳۸/۷۵	۴۰/۲۶	۴۲/۷۲	۴۰/۶۷	۳۴/۳۴	% بازده استخراج	



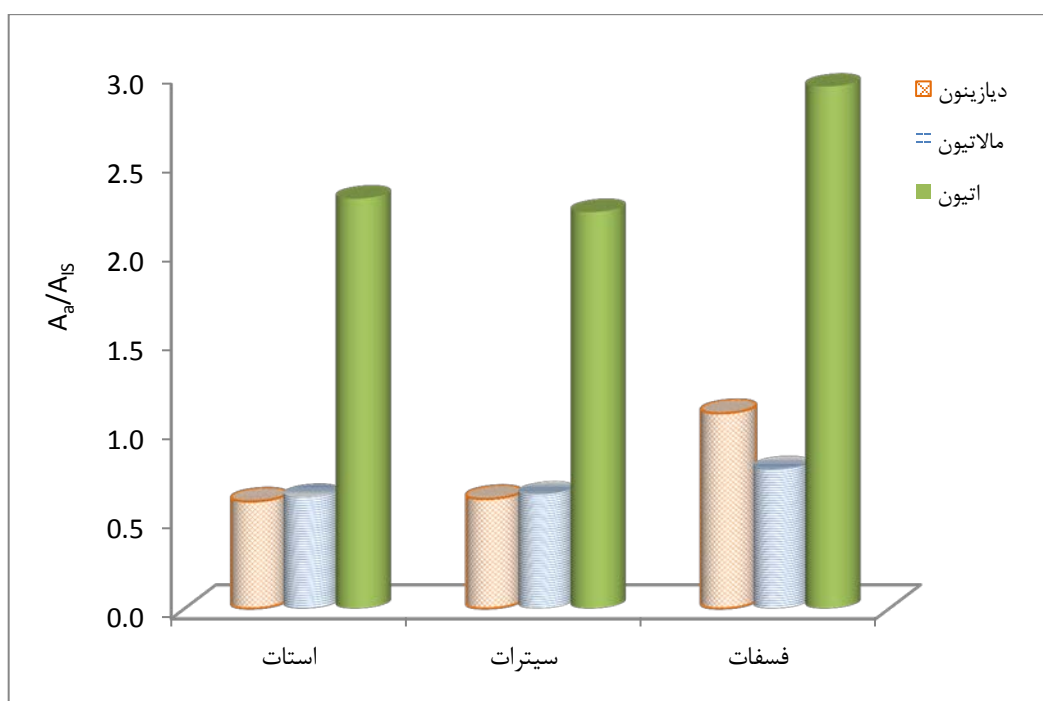
شکل (۳۱-۳) اثر pH نمونه بر کارایی استخراج

شرایط استخراج: حجم تزریق، ۱/۰ میکرو لیتر، نوع حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرو متان، غلظت pH ترکیبات در نمونه استاندارد آبی، ۱۰/۰ میکرو گرم بر لیتر، حجم نمونه آبی ۱۰/۰ میلی لیتر، بافر فسفاتی ۰/۰۲ مولار، تعداد مرتبه نمونه گیری ۲۵ مرتبه، جاذب نانو پرلیت (۶/۰ میلی گرم)، استاندارد داخلی ۱۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر.

در نقطه pH بهینه، نوع بافرهای تنظیم کننده pH، از جمله بافر فسفاتی، استاتی، سیتراتی نیز مطالعه و بررسی شد. نتایج نشان داد که کارایی استخراج در همه محلول‌های بافری نسبتاً مشابه بوده ولی در محلول بافری فسفاتی، اندکی بهتر از دو محلول بافری دیگر می‌باشد. نتایج بدست آمده در جدول (۳۸-۳) و شکل (۳۲-۳) آورده شده است.

جدول (۳-۳۸) نتایج حاصل از بررسی تاثیر نوع بافر در پیش تغلیظ ترکیبات

نام ترکیب	پارامتر	نوع بافر		
		بافر استاتی	بافر سیترا تی	بافر فسفات ی
دیازینون	A_a/A_{IS}	۰/۶۰	۰/۶۱	۱/۱۰
	بازده استخراج %	۸/۰۳	۸/۲۰	۱۴/۰
مالاتیون	A_a/A_{IS}	۰/۶۳	۰/۶۴	۰/۷۸
	بازده استخراج %	۲۱/۵۸	۲۱/۹۴	۲۶/۵۶
اتیون	A_a/A_{IS}	۲/۳۰	۲/۲۲	۲/۹۳
	بازده استخراج %	۳۰/۸۹	۲۹/۷۸	۴۰/۱۳



شکل (۳-۳۲) تاثیر نوع محلول بافر بر کارایی استخراج

شرایط استخراج: حجم نمونه آبی ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت ترکیبات در نمونه استاندارد آبی، ۱۰/۰ میکرو گرم بر لیتر، حجم حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرو متان، حجم تزریق، ۱/۰ میکرو لیتر، تعداد مرتبه نمونه گیری ۲۵ مرتبه، جاذب نانو پرلیت (۶/۰ میلی گرم)، استاندارد داخلی ۱۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر، غلظت محلول های بافر ۰/۰۲ مولار

۳-۳-۳-۲- اثر حجم بافر

در نقطه pH بهینه، اثر حجم بافر نیز مطالعه و بررسی شد. بدین منظور حجم های ۰/۵، ۱/۰، ۱/۵، ۲/۰، ۲/۵، ۳/۰ و ۴/۰ میلی لیتر از بافر فسفات به نمونه استاندارد اضافه شده و حجم نهایی به ۱۰/۰ میلی لیتر رسانده شد. نتایج حاصل نشان داد که کارآئی استخراج تا حدودی در محلول بافری فسفاتی با حجم ۲/۰ میلی لیتر در ۱۰/۰ میلی لیتر نمونه حاصل کارآئی بهتری نسبت به سایر حجم ها دارد. بنابراین به همه محلولهای استاندارد ۲/۰ میلی لیتر محلول بافری اضافه گردید و یا به عبارت دیگر با محلول بافری ۰/۰۲ مولار با $pH=6/0$ به حجم رسانده شد.

۳-۳-۳-۳- اثر نوع حلال آلی واجذب کننده

برای رسیدن به کارآئی بالای استخراج، انتخاب حلال آلی مناسب، یکی از فاکتورهای مهم می باشد. بنابراین واجذب سموم استخراج شده از روی سطح جاذب با استفاده از حلال های آلی شامل متانول، n-هگزان، استونیتریل و دی کلرومتان بررسی شد. نتایج بررسی اثر حلال های مختلف در مقدار واجذب سموم آلی فسفردار از روی جاذب نانو پرلیت، در جدول (۳-۳۹) و شکل (۳-۳۳) نشان داده شده است. بر اساس نتایج نشان داده شده در جدول (۳-۳۹) و شکل (۳-۳۳) مشخص می شود که دی کلرو متان برای واجذب و شویش ترکیبات آلی فسفردار مورد مطالعه، بهتر از سایر حلال ها بوده و بنابراین به عنوان مناسب ترین حلال واجذب کننده انتخاب شد.

هر چه حجم حلال واجذب کمتر باشد، تعداد ذرات آنالیت واجذب شده در واحد حجم حلال، زیادتر خواهد بود و در نتیجه شدت سیگنال افزایش می یابد.

جدول (۳-۳۹) نتایج حاصل از بررسی تاثیر نوع حلال واجذب کننده در واجذب ترکیبات آلی فسفردار

نام ترکیب	پارامتر	نوع حلال			
		استونیتریل	دی کلرومتان	هگزان نرمال	متانول
دیازینون	A_a/A_{IS}	۱/۰۲	۱/۲۶	۰/۵۹	۰/۸۴
	% RSD	۲/۶	۴/۳	۵/۴	۳/۶
	بازده استخراج %	۱۳/۰۵	۱۵/۹۴	۵/۶۵	۱۰/۸۸
مالاتیون	A_a/A_{IS}	۰/۶۹	۰/۷۷	۰/۶۱	۰/۶۱
	% RSD	۶/۸	۲/۳	۲/۵	۷/۸
	بازده استخراج %	۲۳/۵۷	۲۶/۱۲	۲۱/۰۵	۲۱/۰۶
اتیون	A_a/A_{IS}	۲/۸۰	۳/۵۳	۳/۱۵	۲/۴۱
	% RSD	۸/۴	۴/۶	۲/۳	۱/۲
	بازده استخراج %	۳۸/۱۹	۴۵/۵۰	۳۳/۳۷	۳۲/۴۴



شکل (۳-۳۳) تاثیر نوع حلال واجذب کننده بر کارایی استخراج

شرایط استخراج: حجم تزریق، ۱/۰ میکرو لیتر؛ حجم حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر، غلظت ترکیبات در نمونه استاندارد آبی، ۱۰/۰ میکرو گرم بر لیتر، حجم نمونه آبی ۱۰/۰ میلی لیتر، بافر فسفاتی ۰/۰۲ مولار، تعداد مرتبه نمونه گیری ۲۵ مرتبه، جاذب نانو پرلیت (۶/۰ میلی گرم)، استاندارد داخلی ۱۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر.

۳-۳-۳-۴- اثر نمک

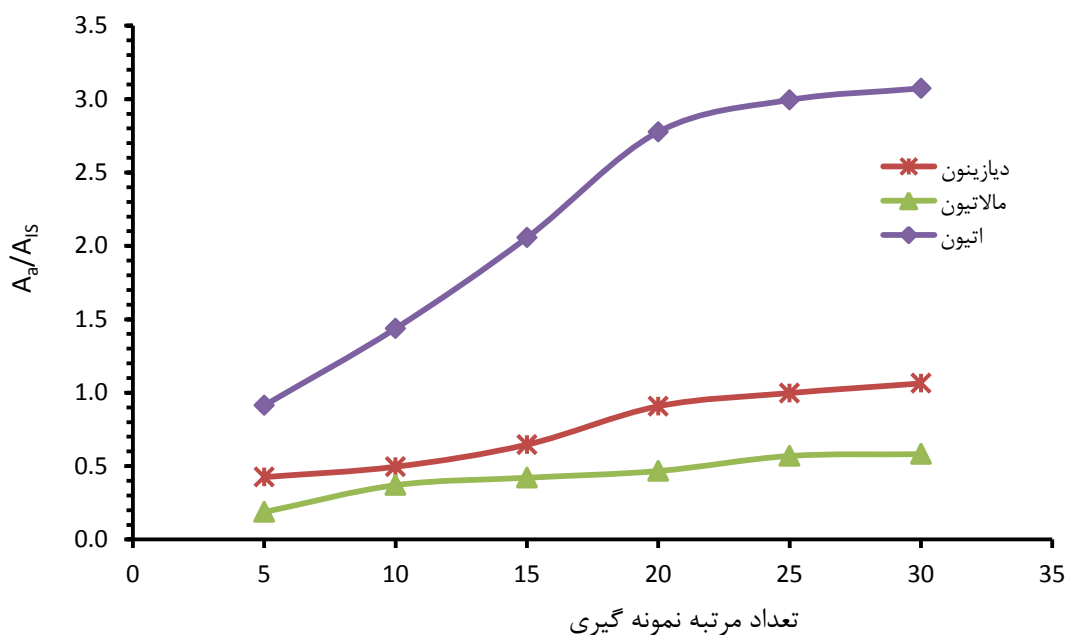
افزایش نمک باعث افزایش قدرت یونی محلول‌ها و کاهش حلالیت آنالیت‌های آبگریز در فاز آبی و در نتیجه بهبود کارآئی استخراج می‌شود. با این وجود، اثر افزایش نمک به نوع آنالیت‌ها و نوع جاذب هم بستگی دارد. در این مطالعه، اثر مقدار سدیم کلرید با افزایش آن در گستره ۱-۲۵ درصد وزنی- حجمی در محلول‌های استاندارد بررسی شد. نتایج حاصل در این مورد نشان داد که افزایش سدیم کلرید اثر قابل ملاحظه‌ای در کارآئی استخراج ندارد. بنابراین آزمایش‌ها در مراحل بعدی بدون افزایش نمک انجام گرفت.

۳-۳-۳-۵- اثر تعداد مرتبه نمونه گیری

اثر تعداد مرتبه نمونه‌گیری بر روی کارآئی استخراج برای ۵ الی ۳۰ مرتبه تکرار در یک نمونه ثابت به حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر بررسی شد. نتایج بررسی اثر تعداد مرتبه نمونه‌گیری در جدول (۳-۴۰) و شکل (۳-۳۴) نشان داده شده است. بر طبق نتایج حاصل، تعداد مرتبه بهینه نمونه‌گیری برای آنالیت-های مورد مطالعه در یک محلول استاندارد، ۲۵ مرتبه بدست آمد.

جدول (۳-۴) نتایج حاصل از بررسی تعداد مرتبه نمونه گیری در پیش تغلیظ ترکیبات آلی فسفردار

نام ترکیب	پارامتر	مرتبه نمونه گیری					
		۳۰	۲۵	۲۰	۱۵	۱۰	۵
دیازینون	A_a/A_{IS}	۱/۰۶	۱/۰۰	۰/۹۱	۰/۶۵	۰/۵۰	۰/۴۳
	% RSD	۵/۳	۳/۴	۴/۴	۶/۲	۳/۲	۳/۳
	بازده استخراج %	۱۳/۶۱	۱۲/۸۲	۱۱/۷۴	۸/۵۹	۶/۷۸	۵/۹۲
مالاتیون	A_a/A_{IS}	۰/۵۸	۰/۵۷	۰/۴۷	۰/۴۲	۰/۳۷	۰/۱۹
	% RSD	۱/۳	۲/۳	۳/۴	۴/۱	۲/۲	۳/۲
	بازده استخراج %	۲۱/۱۰	۱۹/۷۰	۱۶/۴۰	۱۴/۹۱	۱۳/۲۹	۷/۳۹
اتیون	A_a/A_{IS}	۳/۰۷	۲/۹۹	۲/۷۸	۲/۰۶	۱/۴۴	۰/۹۱
	% RSD	۴/۹	۳/۸	۲/۹	۲/۸	۴۷/۲	۲/۶
	بازده استخراج %	۴۲/۲۵	۴۱/۰۹	۳۷/۸۹	۲۷/۲۹	۱۸/۲۰	۱۰/۴۹



شکل (۳-۳) اثر تعداد مرتبه نمونه گیری بر کارایی استخراج

شرایط استخراج: حجم تزریق، ۱/۰ میکرو لیتر؛ حجم حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرومتان، غلظت ترکیبات در نمونه استاندارد آبی، ۱۰/۰ میکرو گرم بر لیتر، حجم نمونه آبی ۱۰/۰ میلی لیتر، بافر فسفات ۰/۰۲ مولار، جاذب نانو پرلیت (۶/۰ میلی گرم)، استاندارد داخلی ۱۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر.

۴-۳-۳ - انتخاب شرایط بهینه

با توجه به نتایج حاصل از بررسی و بهینه سازی پارامترهای موثر بر روی استخراج، شرایط بهینه مندرج در جدول (۴۱-۳) انتخاب شد و در رسم منحنی کالیبراسیون مورد استفاده قرار گرفت.

جدول (۴۱-۳) شرایط بهینه استخراج به روش MEPS	
پارامتر موثر	شرایط و مقدار بهینه
pH	۶/۰
نوع بافر	بافر فسفاتی
غلظت بافر	۰/۰۲ مولار
نوع حلال واجذب کننده	دی کلرو متان
تعداد مرتبه نمونه گیری	۲۵ مرتبه
قدرت یونی (درصد نمک)	بدون افزایش نمک

۵-۳-۳ - رسم منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ در محلول آبی

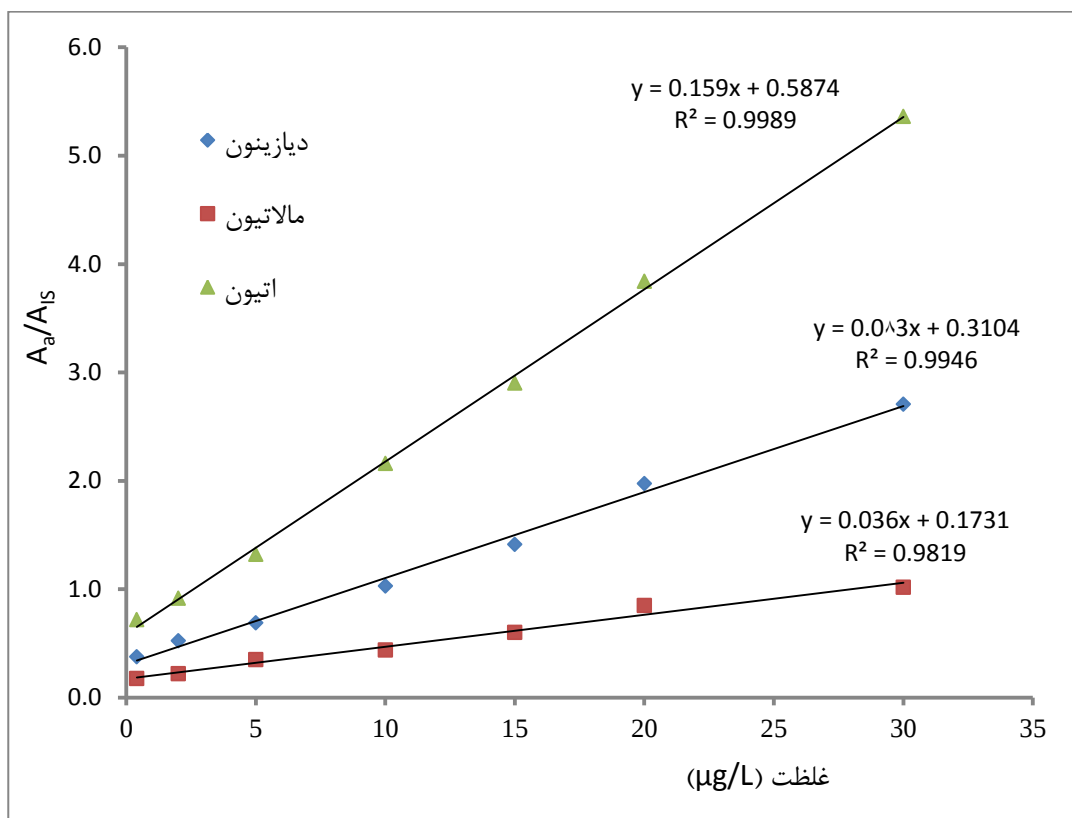
برای رسم منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ، محلول‌های با غلظت‌های متفاوت از ترکیبات آلی فسفردار تهیه و در شرایط بهینه مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور محلول‌هایی در گستره غلظتی ۰-۳۵/۰ میکرو گرم بر لیتر تهیه و در شرایط بهینه شده، پیش‌تغلیظ و سپس با دستگاه GC-MS جداسازی و اندازه گیری شد. نتایج حاصل از آن در جداول (۴۲-۳) و (۴۳-۳) و شکل (۳۵-۳) آورده شده است.

جدول (۳-۴۲) نتایج حاصل از کالیبراسیون پیش تغلیظ

غلظت آنالیت (µg/L)	A_a/A_{IS}		
	دیازینون	مالاتیون	اتیون
۰/۲	۰/۳۲	۰/۱۴	۰/۴۶
۰/۴	۰/۳۷	۰/۱۷	۰/۷۲
۲/۰	۰/۵۲	۰/۲۲	۰/۹۲
۵/۰	۰/۶۹	۰/۳۵	۱/۳۲
۱۰/۰	۱/۰۳	۰/۴۴	۲/۱۶
۱۵/۰	۱/۴۱	۰/۶۰	۲/۹۰
۲۰/۰	۱/۹۷	۰/۸۵	۳/۸۴
۳۰/۰	۲/۷۱	۱/۰۲	۵/۳۶
۳۵/۰	۲/۷۰	۱/۰۶	۵/۶۲

جدول (۳-۴۳) معادله خط، ضریب تعیین، گستره خطی منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ

ترکیبات	معادله خط	R^2	گستره خطی دینامیکی (µg/L)
دیازینون	$y=0.083x+0.310$	۰/۹۹۴۶	۰/۲ - ۳۰/۰
مالاتیون	$y=0.036x+0.173$	۰/۹۸۱۹	۲/۰ - ۲۵/۰
اتیون	$y=0.159x+0.587$	۰/۹۹۸۹	۰/۶ - ۳۰/۰



شکل (۳-۳۵) منحنی های کالیبراسیون پیش تغلیظ ترکیبات آلی فسفردار

شرایط استخراج: حجم تزریق، ۱/۰ میکرو لیتر؛ حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرومتان، غلظت ترکیبات در نمونه استاندارد آبی، ۱۰/۰ میکرو گرم بر لیتر، حجم نمونه آبی ۱۰/۰ میلی لیتر، بافر فسفاتی pH=۶/۰ با غلظت ۰/۰۲ مولار، تعداد مرتبه نمونه گیری ۲۵ مرتبه، جاذب نانو پرلیت (۶/۰ میلی گرم)، استاندارد داخلی ۱۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر.

۳-۳-۶- بررسی های آماری و ارقام شایستگی

۳-۳-۶-۱- تعیین فاکتور پیش تغلیظ

مقدار فاکتور پیش تغلیظ، از نسبت شیب منحنی کالیبراسیون بعد از پیش تغلیظ به شیب منحنی کالیبراسیون مستقیم (بدون پیش تغلیظ) مطابق رابطه (۳-۲) بدست می آید که نتایج حاصل در جدول (۳-۴۴) آورده شده است.

جدول (۳-۴۴) فاکتور تغلیظ روش برای ترکیبات آلی فسفردار در غلظت ۱۰/۰ میکرو گرم بر لیتر

ترکیبات	PF
دیازینون	۱۰/۱
مالاتیون	۱۱/۶
اتیون	۲۳/۴

۳-۳-۶-۲- حد تشخیص روش

در شرایط تجربی بهینه، منحنی های کالیبراسیون پیش تغلیظ نشان می دهد که گستره خطی ۰/۶-۳۰/۰ برای دیازینون و اتیون، و ۲/۰-۲۵/۰ میکروگرم بر لیتر برای مالاتیون، با ضریب تعیین ۰/۹۸۱۹ تا ۰/۹۹۸۹ می باشد. حدود تشخیص برای سموم آلی فسفردار در محدوده ۰/۰۷-۰/۳۸ میکروگرم بر لیتر محاسبه شد که در جدول (۳-۴۵) همراه با حدود کمی روش، آورده شده است.

جدول (۳-۴۵) حدود تشخیص روش برای ترکیبات آلی فسفردار

ترکیبات	حد تشخیص روش LOD (µg/L)	حد کمی LOQ (µg/L)
دیازینون	۰/۰۷	۰/۲۱
مالاتیون	۰/۳۸	۱/۲
اتیون	۰/۱۳	۰/۴

۳-۳-۳-۶-۳- دقت و صحت روش

در شرایط بهینه، دقت روش نیز در غلظت‌های ۵/۰ و ۱۰/۰ میکروگرم بر لیتر بررسی شد. برای محاسبه دقت روش بر حسب درصد انحراف استاندارد (RSD)، هر یک از استانداردهای تهیه شده پس از عملیات پیش تغلیظ و استخراج، سه مرتبه اندازه گیری و با استفاده از رابطه (۳-۸) دقت روش محاسبه گردید.

صحت روش بر اساس میزان بازیابی روش با استفاده از رابطه (۳-۹) بر روی نمونه‌های استاندارد با غلظت‌های ۵/۰ و ۱۰/۰ میکروگرم بر لیتر هر یک از ترکیبات آلی فسفردار بررسی شد. نتایج حاصل در جدول (۳-۴۶) آورده شده است.

نتایج نشان می‌دهد که روش پیشنهادی، تکرارپذیری خوبی دارد، و انحراف استاندارد نسبی در گستره ۳/۵٪-۱/۹٪ برای ۳ بار تکرار می‌باشد. همچنین مقادیر بازیابی در گستره ۱۰۴٪ - ۹۴٪ به دست آمد که نشان می‌دهد که روش پیشنهادی از صحت خوبی برخوردار می‌باشد.

جدول (۳-۴۶) دقت و صحت در شرایط بهینه به دست آمده برای ترکیبات اورگانوکلره

ترکیب	غلظت اضافه شده ($\mu\text{g/L}$)	میانگین غلظت اندازه گیری شده ($\mu\text{g/L}$)	SD^*	%RSD	t محاسبه شده	درصد بازیابی
هگزا کلرو	۵/۰	۵/۱	۰/۱۱	۲/۲	۱/۵۴	۱۰۲/۰
بنزن	۱۰/۰	۱۰/۳	۰/۱۹	۱/۹	۲/۶۷	۱۰۴/۰
هپتاکلر	۵/۰	۴/۹	۰/۰۵	۱/۰	۳/۵۴	۹۸/۰
	۱۰/۰	۹/۶	۰/۱۶	۱/۶	۴/۳۰	۹۶/۰
آلدرین	۵/۰	۴/۸	۰/۱۶	۳/۲	۲/۱۱	۹۶/۰
	۱۰/۰	۹/۴	۰/۲۵	۲/۵	۲/۷۴	۹۴/۰

^aStandard Deviation ($n=3$) , $t_{\text{tab}(95\%)=4,35$, $df=2$

۳-۳-۷- اندازه گیری سموم فسفردار در نمونه حقیقی

برای مطالعه اثر بافت نمونه و قابلیت بکارگیری روش پیشنهادی، یک نمونه آب آزمایشگاه و یک نمونه آب خروجی چاه حومه گرگان جمع آوری و برای اندازه گیری سموم آلی فسفردار آنها استفاده شد. نمونه ها در شرایط تجربی بهینه شده، مورد آزمون قرار گرفت. مشاهده گردید که هیچ گونه مقدار قابل شناسایی از سموم در آب وجود ندارد. سپس مقدار معین از استاندارد ثانویه به نمونه های حقیقی اضافه شد تا غلظت هر یک از ترکیبات آبی فسفردار به ۵/۰ و ۱۰/۰ میکروگرم بر لیتر برسد. در این غلظت ها نمونه ها طبق روش، استخراج و پیش تغلیظ گردید. از اندازه گیری های این نمونه های پیش تغلیظ شده برای محاسبه بازیابی استفاده شد. بازیابی مقادیر ترکیبات آلی استخراج شده طبق معادله (۳-۱۰) محاسبه گردید. نتایج و درصد بازیابی محاسبه شده برای نمونه های آنالیز شده در جداول (۳-۴۷) و (۳-۴۸) نشان داده شده است. نتایج حاصل نشان می دهد که روش MEPS پیشنهادی برای سموم آلی فسفردار بازیابی نسبی خوبی داشته و مقدار درصد بازیابی در گستره ۱۰۵٪-۸۲٪ می باشد.

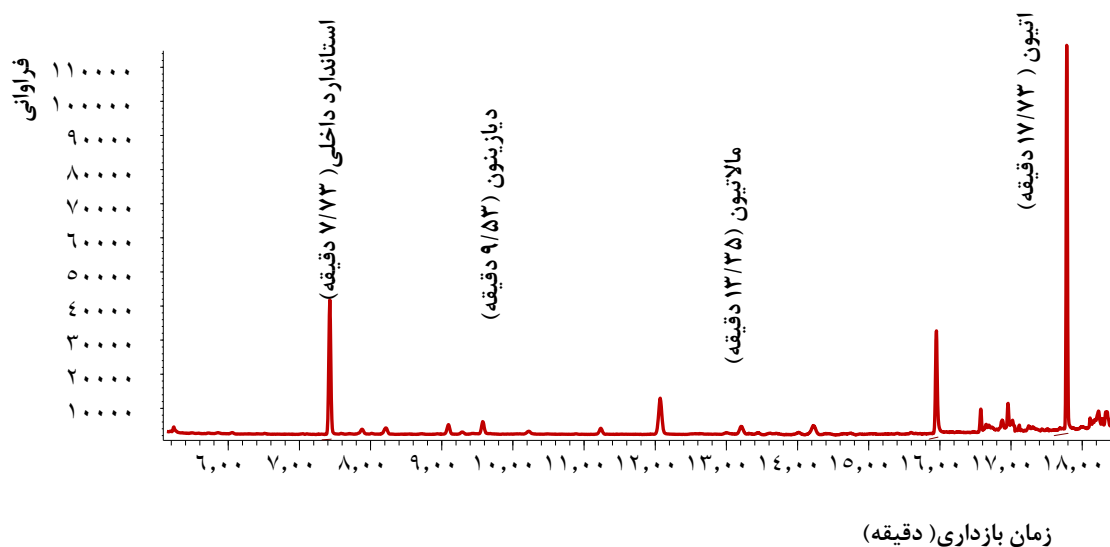
جدول (۳-۴۷) مقدار اندازه گیری شده و درصد بازیابی در نمونه ۱ (آب شهری- آزمایشگاه)

ترکیبات	مقدار اضافه شده (µg/L)	مقدار اندازه گیری شده (µg/L)	t محاسبه شده	درصد بازیابی
دیازینون	۰/۰	<LOD	-	-
	۵/۰	۴/۶	۳/۳	۹۲/۰
	۱۰/۰	۹/۶	۱/۸	۹۶/۰
مالاتیون	۰/۰	<LOD	-	-
	۵/۰	۴/۱	۱/۲	۸۲/۰
	۱۰/۰	۸/۵	۴/۱	۸۵/۰
اتیون	۰/۰	<LOD	-	-
	۵/۰	۴/۶	۳/۶	۹۲/۰
	۱۰/۰	۱۰/۵	۲/۳	۱۰۵/۰

جدول (۳-۴۸) مقدار اندازه گیری شده و درصد بازیابی در نمونه ۲ (خروجی چاه حومه گرگان)

ترکیبات	مقدار اضافه شده (µg/L)	مقدار اندازه گیری شده (µg/L)	t محاسبه شده	درصد بازیابی
دیازینون	۰/۰	<LOD	-	-
	۵/۰	۴/۳	۱/۳	۸۶/۰
	۱۰/۰	۹/۲	۶/۲	۹۲/۰
مالاتیون	۰/۰	<LOD	-	-
	۵/۰	۴/۵	۳/۳	۹۰/۰
	۱۰/۰	۹/۷	۳/۲	۹۷/۰
اتیون	۰/۰	<LOD	-	-
	۵/۰	۵/۱	۱/۹	۱۰۲/۰
	۱۰/۰	۱۰/۷	۲/۲	۱۰۷/۰

شکل (۳-۳۶) نمونه‌ای از کروماتوگرام حاصل از استخراج و پیش‌تغلیظ نمونه حقیقی با استاندارد اضافه شده به غلظت ۵/۰ میکروگرم بر لیتر را نشان می‌دهد.



شکل (۳-۳۶) کروماتوگرام حاصل از پیش‌تغلیظ نمونه حقیقی با مقدار مشخص اضافه شده از ترکیبات آلی فسفردار به غلظت ۵/۰ میکروگرم بر لیتر

شرایط استخراج: حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر؛ حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی‌کلرومتان، حجم نمونه آبی ۱۰/۰ میلی لیتر، بافر فسفاتی $\text{pH}=6/0$ با غلظت ۰/۰۲ مولار، تعداد مرتبه نمونه گیری ۲۵ مرتبه، جاذب نانو پرلیت (۶/۰ میلی گرم)، استاندارد داخلی ۱۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر.

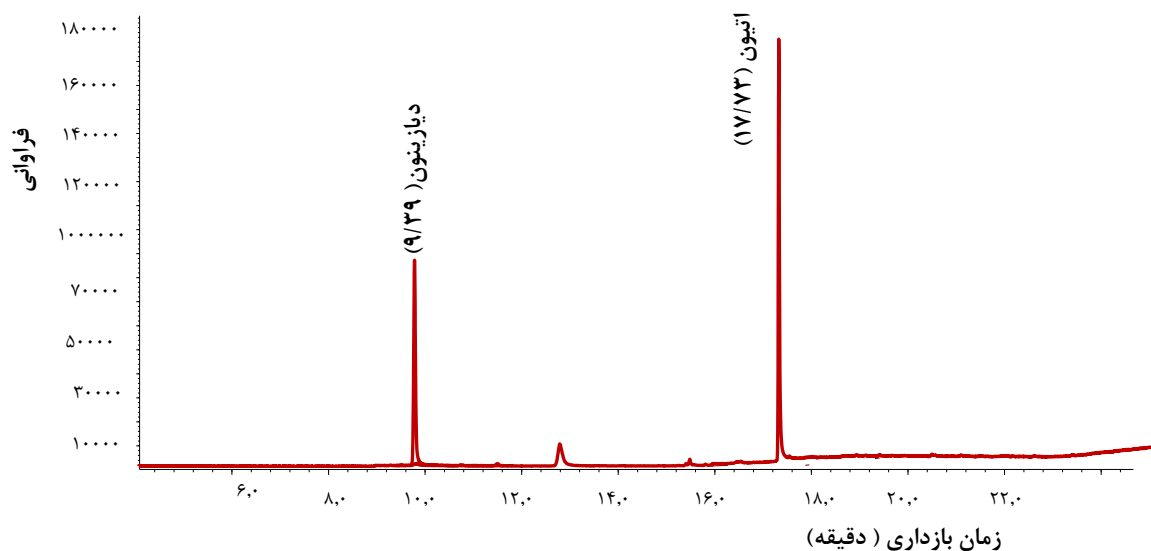
۳-۴- کاربرد نانو دیاتومیت به عنوان جاذب طبیعی در پیش تغلیظ سموم

دiazینون و اتیون با روش میکرواستخراج با سرنگ پر شده با جاذب و اندازه-

گیری بوسیله کروماتوگرافی گازی و اسپکترومتری جرمی

۳-۴-۱- شناسایی و تعیین زمان بازداری ترکیبات

برای شناسایی کروماتوگرام هر یک از ترکیبات و تعیین زمان بازداری آنها، ابتدا به طور جداگانه مقدار ۱/۰ میکرو لیتر از استاندارد اولیه ۱/۰ میلی گرم بر لیتر هر یک از ترکیبات مورد نظر، به دستگاه GC با آشکارساز جرمی در حالت مد اسکن تزریق شد. با استفاده از کروماتوگرام حاصل، زمان بازداری این ترکیب مشخص شد. به عنوان نمونه، کروماتوگرام حاصل از تزریق نمونه مخلوط ۱/۰ میلی گرم بر لیتر از دو ترکیب برای تعیین زمان بازداری آنها در شکل (۳-۳۷) آورده شده است.



شکل (۳-۳۷) کروماتوگرام نمونه استاندارد Diazinon و اتیون برای تعیین زمان بازداری
شرایط: غلظت محلول استاندارد آلی فسفردار ۱/۰ میلی گرم بر لیتر، حلال متانول، حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر

۳-۴-۲- بدست آوردن منحنی کالیبراسیون مستقیم

برای بررسی گستره خطی پاسخ دستگاه اندازه‌گیری، محلول‌های استاندارد در غلظت‌های مختلف در گستره ۱۰/۰ تا ۱۰۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر از هر یک از ترکیبات مورد نظر به صورت مخلوط در فاز دی‌کلرومتان تهیه شد. از محلول‌های تازه تهیه شده، مقدار ۱/۰ میکرو لیتر به دستگاه GC تزریق شد. منحنی‌های کالیبراسیون مستقیم از رسم تغییرات سیگنال آنالیت بر حسب مساحت نسبی نسبت به غلظت هر یک از ترکیبات تنظیم گردید و گستره خطی آشکارساز تعیین شد. روش تهیه محلول-های استاندارد و حجم‌های لازم بر اساس جدول (۳-۲) می باشد. جدول (۳-۴۹) میانگین مساحت-های نسبی ترکیبات آلی فسفردار و دقت بین اندازه‌گیری‌ها را برای سه مرتبه تزریق نمونه‌های استاندارد و اندازه‌گیری سطوح زیر پیک‌ها نشان می‌دهد.

جدول (۳-۴۹) نتایج کالیبراسیون مستقیم ترکیبات آلی فسفردار در حلال دی‌کلرومتان

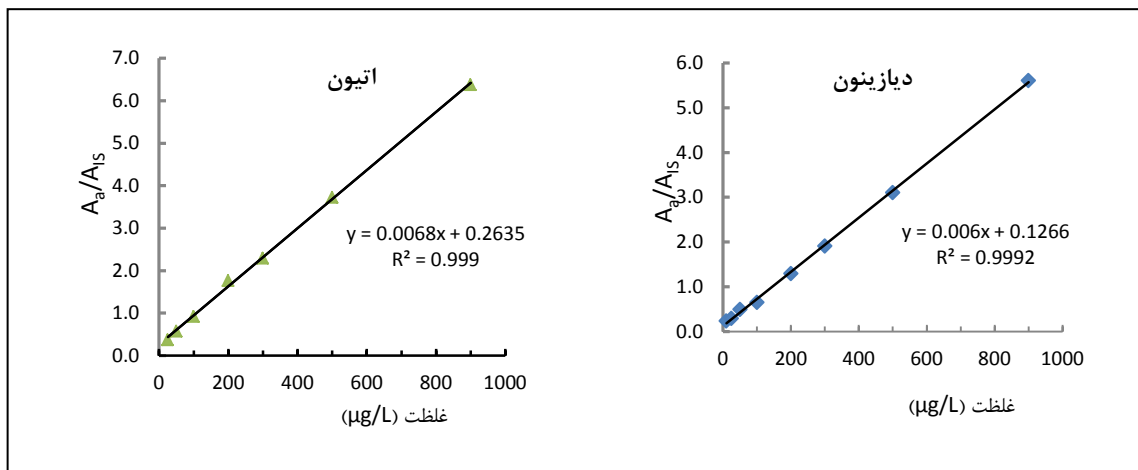
غلظت آنالیت ($\mu\text{g/L}$)	A_a/A_{IS}	
	دیازینون	اتیون
۱۰/۰	۸۰/۲۴	۰/۳۸
۲۵/۰	۰/۳۰	۰/۳۹
۵۰/۰	۰/۵۰	۰/۵۷
۱۰۰/۰	۰/۶۵	۰/۹۲
۲۰۰/۰	۱/۳۰	۱/۷۷
۳۰۰/۰	۱/۹۱	۲/۲۹
۵۰۰/۰	۳/۱۱	۳/۷۳
۹۰۰/۰	۵/۶۱	۶/۳۸

داده‌های آماری حاصل از رسم منحنی‌های کالیبراسیون شامل گستره پاسخ خطی بر حسب میکرو گرم بر لیتر، ضریب تعیین (R^2)، معادله خط هر یک از ترکیبات آلی فسفردار در جدول (۳-۵۰) نمایش داده شده است. شکل (۳-۳۸) منحنی‌های کالیبراسیون مستقیم ترکیبات آلی فسفردار در

حلال دی‌کلرومتان را نشان می‌دهد. این شکل نشان می‌دهد که آشکارساز جرمی نسبت به اتیون حساس تر از دیازینون بوده و دارای شیب بیشتری در نمودار کالیبراسیون می‌باشد.

جدول (۳-۵) نتایج کالیبراسیون مستقیم شامل گستره پاسخ، ضریب تعیین (R^2)، معادله خط

نام ترکیب	گستره پاسخ خطی ($\mu\text{g/L}$)	ضریب تعیین (R^2)	معادله خط
دیازینون	۱۰/۰ - ۱۰۰۰/۰	۰/۹۹۹	$y = 0.006x - 0.1266$
اتیون	۲۵/۰ - ۱۰۰۰/۰	۰/۹۹۹	$y = 0.0068x + 0.2635$



شکل (۳-۳۸) منحنی های کالیبراسیون مستقیم ترکیبات آلی فسفردار

شرایط: حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر؛ حلال ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی‌کلرومتان؛ استاندارد داخلی تری فلورالین ۱۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر؛ شرایط جداسازی مطابق جدول (۲-۲)

۳-۴-۳ - بهینه سازی شرایط تجربی

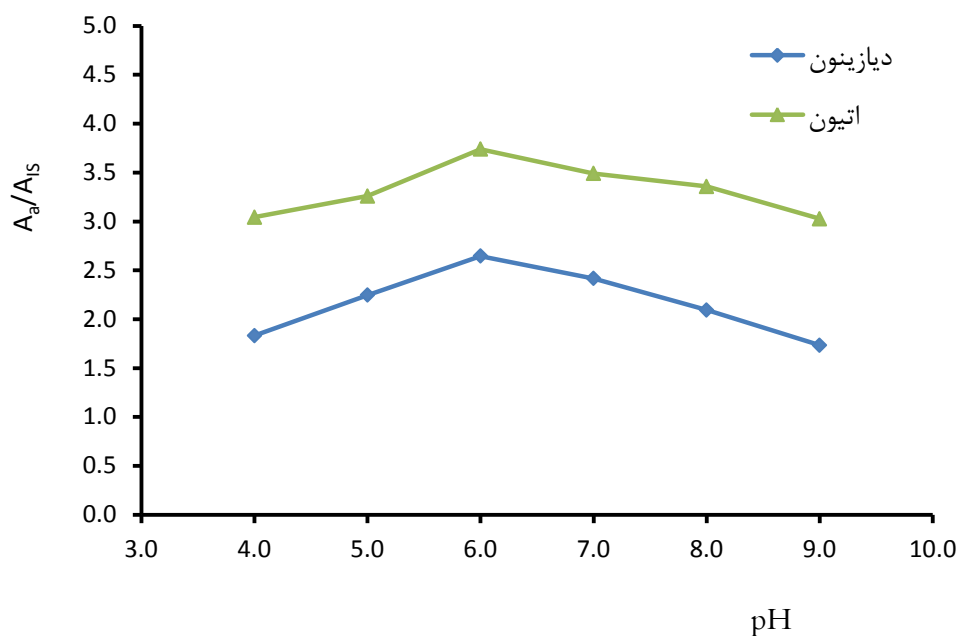
به منظور فراهم نمودن بهترین شرایط برای پیش تغلیظ و همچنین دستیابی به بهترین حساسیت، فاکتورهای مؤثر بر میکرو استخراج شامل pH نمونه، نوع حلال استخراج کننده، حجم حلال استخراج کننده، اثر نمک (قدرت یونی) و تعداد مرتبه نمونه گیری مورد بررسی قرار گرفتند که نتایج حاصل به شرح ذیل آورده شده است.

۳-۴-۱- بررسی اثر pH

pH نمونه‌های آبی یکی از فاکتورهای بسیار مهم و موثر در کارآئی و بازیابی استخراج آنالیت‌ها در تکنیک میکرواستخراج با روش MEPS می‌باشد. برای ارزیابی اثر این فاکتور بر روی کارآئی استخراج سموم از نمونه‌های آبی، pH نمونه‌های آبی در گستره ۴/۰ الی ۹/۰ بررسی شد. برای بررسی این فاکتور، محلول‌های استاندارد با غلظت ۱۰/۰ میکروگرم بر لیتر هر یک از ترکیبات آلی فسفردار در محیط آبی تهیه و با محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲ مولار به حجم رسانده شد. اثر pH بر روی کارآئی استخراج در شکل (۳-۳۹) نشان داده شده است. همانطوری که در شکل دیده می‌شود، کارآئی استخراج برای ترکیبات مورد مطالعه با افزایش pH تا pH=۶/۰ افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد. بر طبق نتایج، بیشترین پاسخ تجزیه‌ای در pH=۶/۰ بدست آمد. بنابراین در آزمایش‌های بعدی نمونه‌های آبی در pH=۶/۰ تنظیم و اندازه گیری ترکیبات آلی فسفردار انجام گرفت. جدول (۳-۵۱) نتایج بدست آمده از کروماتوگرام‌های حاصل از تزریق نمونه‌های مختلف را نشان می‌دهد.

جدول (۳-۵۱) نتایج بررسی تاثیر pH نمونه در پیش تغلیظ ترکیبات

نام ترکیب	پارامتر	pH					
		pH=۹/۰	pH=۸/۰	pH=۷/۰	pH=۶/۰	pH=۵/۰	pH=۴/۰
دیازینون	A_a/A_{IS}	۱/۷۳	۲/۰۹	۲/۴۲	۲/۶۴	۲/۲۵	۱/۸۳
	% RSD	۲/۷	۱/۹	۴/۳	۲/۳	۳/۴	۵/۶
	بازده استخراج %	۲۶/۸	۳۲/۸	۳۸/۲	۴۲/۰	۳۵/۳	۲۸/۴
اتیون	A_a/A_{IS}	۳/۰۳	۳/۳۶	۳/۴۹	۳/۷۴	۳/۲۶	۳/۰۴
	% RSD	۲/۴	۸/۶	۴/۶	۱/۹	۳/۳	۱/۲
	بازده استخراج %	۴۰/۶	۴۵/۶	۴۷/۶	۵۱/۱	۴۴/۱	۴۰/۹

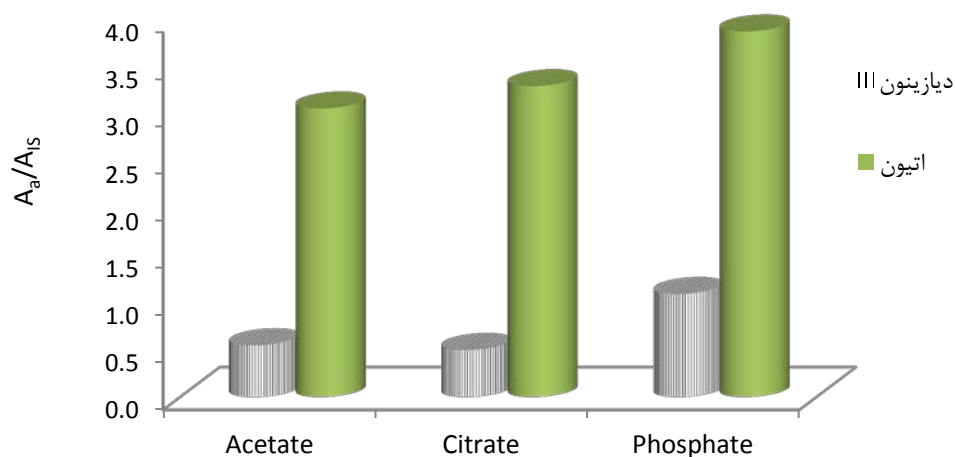


شکل (۳-۳۹) اثر pH نمونه بر کارایی استخراج ترکیبات دیازینون و اتیون
 شرایط استخراج: غلظت دیازینون و اتیون در نمونه استاندارد آبی هر یک ۱۰/۰ میکرو گرم بر لیتر؛ حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر، حجم نمونه آبی ۱۰/۰ میلی لیتر، حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرو متان، بافر فسفاتی ۰/۰۲ مولار، جاذب نانودیاتومیت (۶/۰ میلی گرم)، استاندارد داخلی (تری فلورالین) به غلظت ۱۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر، تعداد مرتبه نمونه گیری ۲۵ مرتبه.

در pH بهینه، نوع بافرهای تنظیم کننده pH، از جمله بافر فسفاتی، استاتی، سیتراتی نیز مطالعه و بررسی شد. نتایج نشان داد که استخراج در محلول بافری فسفاتی کارایی بهتری نسبت به سایر محلول‌های بافری دارد. نتایج بدست آمده برای مقادیر مساحت نسبی پیک‌ها در جدول (۳-۵۲) شکل (۳-۴۰) آورده شده است.

جدول (۳-۵۲) نتایج بررسی تاثیر نوع بافر در پیش تغلیظ ترکیبات

نام ترکیب	پارامتر	نوع بافر		
		بافر فسفات	بافر سیترات	بافر استات
دیازینون	A_a/A_{IS}	۲/۸۷	۱/۷۵	۲/۰۹
	% RSD	۴/۲	۲/۶	۲/۹
	بازده استخراج %	۳۵/۴	۲۱/۸	۳۲/۷
اتیون	A_a/A_{IS}	۴/۰۵	۲/۵۵	۲/۸۱
	% RSD	۴/۱	۶/۸	۳/۲
	بازده استخراج %	۵۵/۷	۳۳/۶	۳۷/۴



شکل (۳-۴۰) تاثیر نوع محلول بافر بر کارایی استخراج ترکیبات دیازینون و اتیون

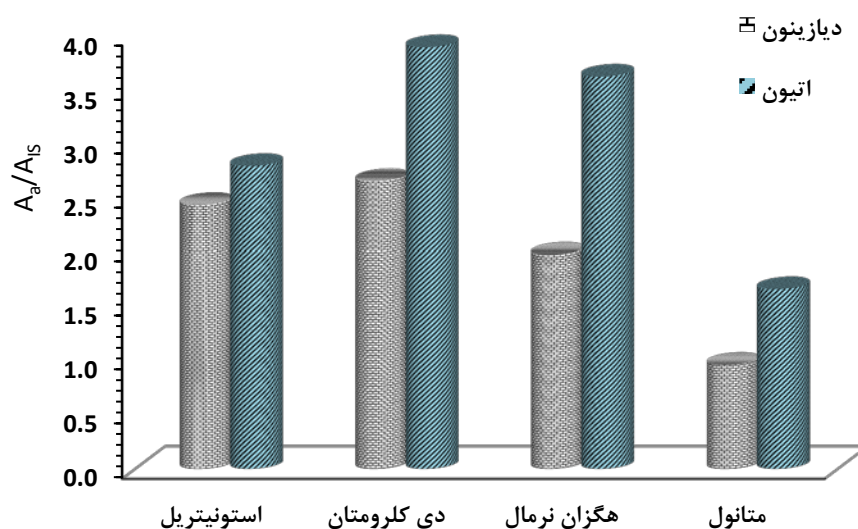
شرایط استخراج: غلظت دیازینون و اتیون در نمونه استاندارد آبی هر یک ۱۰/۰ میکرو گرم بر لیتر؛ حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر، حجم نمونه آبی ۱۰/۰ میلی لیتر، حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرو متان، بافر فسفاتی pH=۶/۰ با غلظت ۰/۰۲ مولار، جاذب نانودیاتومیت (۶/۰ میلی گرم)، استاندارد داخلی (تری فلورالین) به غلظت ۱۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر، تعداد مرتبه نمونه گیری ۲۵ مرتبه.

۳-۴-۲- اثر نوع حلال آلی واجذب کننده

برای رسیدن به کارآئی بالای استخراج، انتخاب حلال آلی مناسب، یکی از فاکتورهای مهم می باشد. بنابراین واجذب سموم استخراج شده از روی سطح جاذب نانو دیاتومیت با استفاده از حلال های آلی شامل n-هگزان، متانول، استونیتریل، متیل ایزوبوتیل کتون و دی کلرومتان بررسی شد. برای دست-یابی به فاکتور تغلیظ بیشتر، کمترین حجم حلال آلی باید استفاده شود. نتایج حاصل از بررسی حلال های مختلف در مقدار واجذب از روی بستر جاذب، در جدول (۳-۵۳) و شکل (۳-۴۱) نشان داده شده است. از روی شکل مشخص می شود که حلال دی کلرومتان، برای واجذب و شویش ترکیبات مورد مطالعه، بهتر از سایر حلال ها بوده و بنابراین به عنوان مناسب ترین حلال واجذب کننده انتخاب شد. پارامتر بسیار مهم دیگر که بر روی کارآئی استخراج تاثیر می گذارد، حجم حلال آلی است. براساس نتایج حاصل در بخش (۳-۱)، حجم ۱۰۰/۰ میکرولیتر به عنوان حجم حلال واجذب کننده، انتخاب شد.

جدول (۳-۵۳) نتایج بررسی تاثیر نوع حلال واجذب کننده در واجذب ترکیبات

نام ترکیب	پارامتر	نوع حلال		
		استونیتریل	دی کلرومتان	هگزان نرمال
دیازینون	A_a/A_{IS}	۲/۴۴	۲/۶۶	۱/۹۸
	% RSD	۲/۳	۵/۶	۷/۲
	بازده استخراج %	۳۸/۵	۴۲/۲	۳۰/۹
اتیون	A_a/A_{IS}	۲/۸۰	۳/۹۰	۳/۶۲
	% RSD	۲/۳	۱/۶	۲/۶
	بازده استخراج %	۳۷/۳	۵۳/۴	۴۹/۴



شکل (۳-۴۱) تاثیر نوع حلال واجذب کننده بر کارایی استخراج

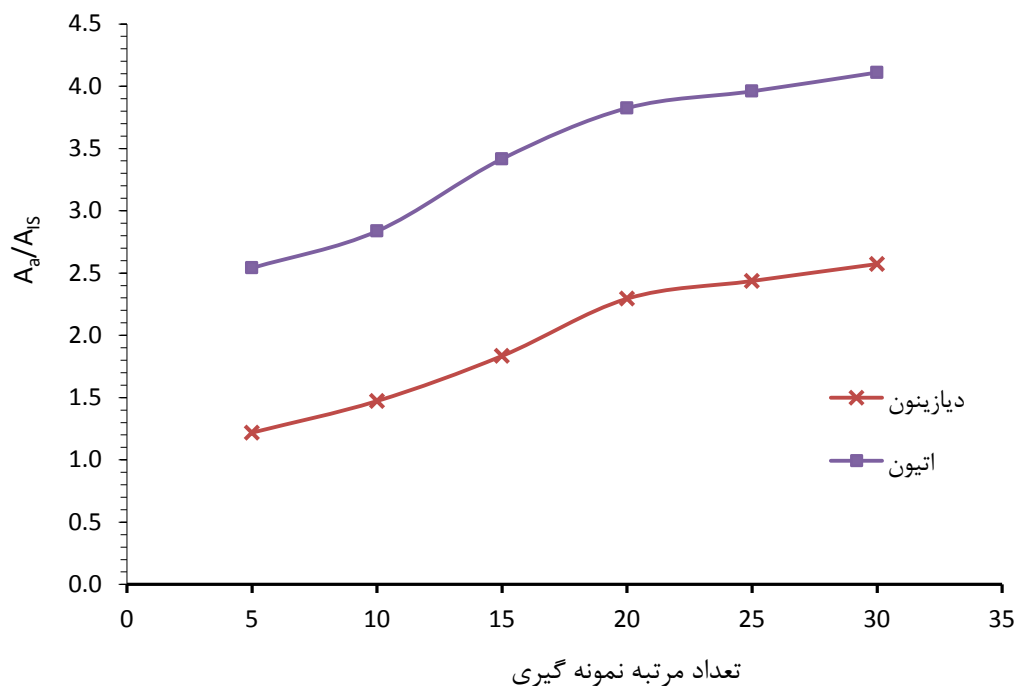
شرایط استخراج: غلظت دیازینون و اتیون در نمونه استاندارد آبی هر یک ۱۰/۰ میکرو گرم بر لیتر؛ حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر، حجم نمونه آبی ۱۰/۰ میلی لیتر، حجم حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر، بافر فسفاتی pH=۶/۰ با غلظت ۰/۰۲ مولار، جاذب نانودیاتومیت (۶/۰ میلی گرم)، استاندارد داخلی (تری فلورالین) به غلظت ۱۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر، تعداد مرتبه نمونه گیری ۲۵ مرتبه.

۳-۴-۳- اثر تعداد مرتبه نمونه گیری

در این مطالعه، نمونه توسط نیروی مکانیکی به داخل سرنگ و به درون جاذب، هدایت و سپس مجدداً به همان نمونه بازگردانده می‌شود، بدون اینکه نمونه در این مدت، تغییر داده شود. اثر تعداد مرتبه نمونه‌گیری (تعداد رفت و برگشت پیستون سرنگ) بر روی کارایی استخراج برای ۵ الی ۳۰ مرتبه تکرار در یک نمونه ثابت به حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر بررسی شد. نتایج بررسی اثر تعداد مرتبه نمونه‌گیری در جدول (۳-۵۴) و شکل (۳-۴۲) نشان داده شده است. بر طبق نتایج حاصل، تعداد مرتبه بهینه نمونه‌گیری برای آنالیت‌های مورد مطالعه در یک محلول استاندارد، ۲۵ مرتبه بدست آمد.

جدول (۳-۵۴) نتایج حاصل از بررسی تعداد مرتبه نمونه گیری در پیش تغلیظ ترکیبات

نام ترکیب	پارامتر	مرتبه نمونه گیری					
		۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰
دیازینون	A_a/A_{IS}	۱/۲۲	۱/۴۷	۱/۸۳	۲/۲۹	۲/۴۴	۲/۵۷
	% RSD	۱/۳	۳/۲	۰/۹	۳/۲	۲/۸	۳/۱
	بازده استخراج %	۱۸/۲	۲۲/۴	۲۸/۵	۳۶/۱	۳۸/۵	۴۰/۸
اتیون	A_a/A_{IS}	۲/۵۴	۲/۸۴	۳/۴۲	۳/۸۲	۳/۹۶	۴/۱۱
	% RSD	۲/۶	۶/۷	۷/۸	۸/۸	۵/۱	۲/۳
	بازده استخراج %	۳۳/۵	۳۷/۸	۴۶/۸	۵۲/۴	۵۴/۶	۵۶/۶



شکل (۳-۴۲) اثر تعداد مرتبه نمونه گیری بر کارایی استخراج

شرایط استخراج: غلظت دیازینون و اتیون در نمونه استاندارد آبی هر یک ۱۰/۰ میکرو گرم بر لیتر؛ حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر، حجم نمونه آبی ۱۰/۰ میلی لیتر، حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرو متان، بافر فسفاتی pH=۶/۰ با غلظت ۰/۰۲ مولار، جاذب نانودیاتومیت (۶/۰ میلی گرم)، استاندارد داخلی (تری فلورالین) به غلظت ۱۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر.

۳-۴-۴- انتخاب شرایط بهینه

بر اساس نتایج و نمودارهای حاصل شرایط بهینه برای پیش تغلیظ به این صورت انتخاب شد. حلال واجذب کننده دی‌کلرومتان، حجم حلال آلی ۱۰۰/۰ میکرولیتر، بافر فسفاتی ۰/۰۲ مولار با pH=۶/۰، مقدار جاذب ۶/۰ میلی گرم، تعداد مرتبه نمونه‌گیری ۲۵ مرتبه،

۳-۴-۵- رسم منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ در محلول آبی

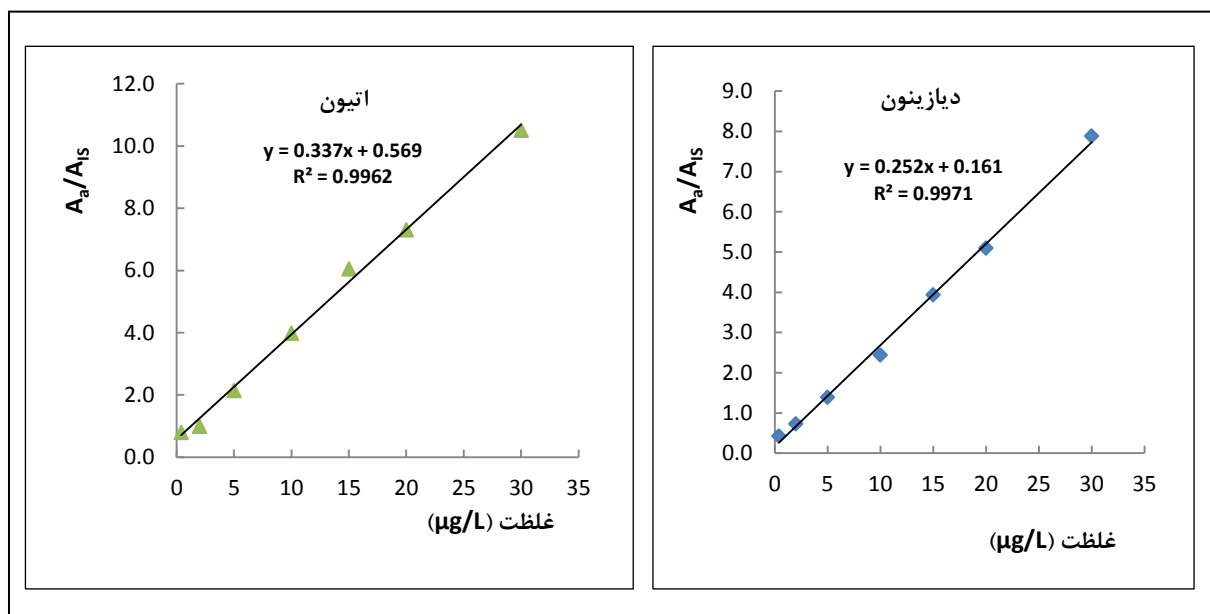
برای رسم منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ، محلول‌های با غلظت‌های متفاوت از ترکیبات دیازینون و اتیون تهیه و در شرایط بهینه مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور محلول‌هایی در گستره غلظتی ۰/۲-۳۵/۰ میکرو گرم بر لیتر تهیه و در شرایط بهینه شده، پیش تغلیظ و با دستگاه GC-MS جداسازی و اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از آن در جداول (۳-۵۵) و (۳-۵۶) آورده شده است. شکل (۳-۴۳) منحنی‌های کالیبراسیون پیش تغلیظ ترکیبات دیازینون و اتیون را نشان می‌دهد.

جدول (۵۵-۳) نتایج کالیبراسیون پیش تغلیظ ترکیبات دیازینون و اتیون

غلظت آنالیت ($\mu\text{g/L}$)	A_a/A_{IS}	
	دیازینون	اتیون
۰/۲	۰/۳۳	۰/۴۵
۰/۴	۰/۴۳	۰/۸۰
۲/۰	۰/۷۰	۱/۱۵
۵/۰	۱/۳۹	۲/۱۵
۱۰/۰	۲/۴۴	۳/۹۸
۱۵/۰	۳/۹۴	۶/۰۵
۲۰/۰	۵/۱۰	۷/۳۰
۳۰/۰	۷/۸۹	۱۰/۵۰
۳۵/۰	۹/۲۱	۱۱/۶۳

جدول (۵۶-۳) معادله خط، ضریب تعیین، گستره خطی منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ

ترکیبات	معادله خط	R^2	گستره خطی دینامیکی ($\mu\text{g/L}$)
دیازینون	$y = 0.253x + 0.160$	۰/۹۹۷۱	۰/۶ - ۳۰/۰
اتیون	$y = 0.337x + 0.569$	۰/۹۹۶۲	۱/۰ - ۳۰/۰



شکل (۳-۴) منحنی های کالیبراسیون پیش تغلیظ ترکیبات دیازینون و اتیون
شرایط استخراج: غلظت دیازینون و اتیون در نمونه استاندارد آبی هر یک ۱۰/۰ میکرو گرم بر لیتر؛ حجم تزریق ۱/۰ میکرو لیتر، حجم نمونه آبی ۱۰/۰ میلی لیتر، حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرو متان، بافر فسفاتی pH=۶/۰ با غلظت ۰/۰۲ مولار، جاذب نانودیاتومیت (۶/۰ میلی گرم)، استاندارد داخلی (تری فلورالین) به غلظت ۱۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر، تعداد مرتبه نمونه گیری ۲۵ مرتبه، شرایط جداسازی مطابق جدول (۲-۲).

۳-۴-۶- بررسی های آماری و ارقام شایستگی

۳-۴-۶-۱- فاکتور پیش تغلیظ

یکی از اهداف استخراج، تغلیظ و انتقال بخشی از یک گونه مورد نظر از یک فاز نامناسب به یک فاز مناسب دیگر می باشد. در استخراج، فاکتور پیش تغلیظ به صورت نسبت غلظت آنالیت در فاز ته نشین شده به غلظت آنالیت در محلول اولیه بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر است (رابطه ۳-۱). مقدار فاکتور پیش تغلیظ را می توان از نسبت شیب منحنی کالیبراسیون بعد از پیش تغلیظ به شیب منحنی کالیبراسیون مستقیم مطابق رابطه (۳-۴) نیز بدست آورد. نتایج بدست آمده برای فاکتور پیش تغلیظ در جدول (۳-۵۷) آورده شده است.

جدول (۵۷-۳) فاکتور تغلیظ روش برای ترکیبات دیازینون و اتیون

ترکیبات	PF
دیازینون	۴۲/۲
اتیون	۴۹/۶

۳-۴-۶-۲- حد تشخیص روش

در شرایط تجربی بهینه، منحنی‌های کالیبراسیون نشان داد که گستره خطی غلظت برای دیازینون و اتیون ۰/۲-۳۰ میکرو گرم بر لیتر با ضرایب تعیین ۰/۹۸۱۹ تا ۰/۹۹۸۹ می‌باشد. حدود تشخیص برای دیازینون ۰/۰۷ میکروگرم بر لیتر و برای اتیون ۰/۱۳ میکرو گرم بر لیتر محاسبه شد که در جدول (۵۸-۳) همراه با حدود کمی روش، آورده شده است.

جدول (۵۸-۳) حدود تشخیص روش برای ترکیبات

ترکیبات	حد تشخیص روش LOD (µg/L)	حد اندازه گیری LOQ (µg/L)
دیازینون	۰/۰۷	۰/۲۱
اتیون	۰/۱۳	۰/۴

۳-۴-۶-۳- دقت و صحت روش

در شرایط بهینه، دقت روش در غلظت‌های ۵/۰ و ۱۰/۰ میکروگرم بر لیتر بررسی شد. برای یافتن محاسبه دقت روش بر حسب درصد انحراف استاندارد (RSD)، هر یک از استانداردهای تهیه شده، ۳ بار اندازه گیری تکراری انجام شد و با استفاده از رابطه (۳-۸) دقت روش محاسبه گردید. صحت روش بر اساس میزان بازایی روش بر روی نمونه‌های استاندارد با غلظت‌های ۵/۰ و ۱۰/۰ میکرو گرم بر لیتر هر یک از ترکیبات فسفردار بررسی شد. نتایج حاصل در جدول (۵۹-۳) آورده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که روش پیشنهادی، تکرارپذیری خوبی دارد، و انحراف استاندارد

نسبی در گستره ۱/۶-۳/۴٪ برای ۳ بار تکرار بدست آمد. همچنین نتایج بازیابی نشان می‌دهد که روش آزمون از صحت خوبی برخوردار بوده و میزان آن در گستره ۱۰۲٪ - ۹۷٪ است.

جدول (۳-۵۹) دقت و صحت در شرایط بهینه به روش MEPS

ترکیب	غلظت اضافه شده (µg/L)	میانگین غلظت اندازه‌گیری شده (µg/L)	SD*	%RSD	t محاسبه شده	درصد بازیابی
دiazینون	۵/۰	۴/۹	۰/۳۰	۶/۱	۰/۷۴	۹۸/۰
	۱۰/۰	۱۰/۲	۰/۴۳۹	۴/۳	۱/۰۱	۱۰۲/۰
دiazینون	۵/۰	۴/۸	۰/۲۴۲	۵/۰	۱/۸۶	۹۶/۰
	۱۰/۰	۹/۷	۰/۴۱۲	۴/۲	۱/۶۲	۹۷/۰

*Standard deviation (n=۳), $t_{tab(۹۵\%)}=۴,۳۵$, $df=۲$

۳-۴-۷- اندازه‌گیری سموم فسفردار Diazینون و اتیون در نمونه حقیقی

برای مطالعه اثر بافت نمونه و قابلیت بکارگیری روش پیشنهادی، یک نمونه آب چاه روستایی حومه گرگان و یک نمونه رودخانه جمع‌آوری و برای اندازه‌گیری سموم Diazینون و اتیون استفاده شد. نمونه‌ها در شرایط تجربی بهینه، اندازه‌گیری شد. مشاهده گردید که هیچ گونه مقدار قابل شناسایی از سموم در آب وجود ندارد. سپس مقدار معین از استاندارد ثانویه به نمونه‌های حقیقی اضافه شد تا غلظت هر یک از ترکیبات فسفردار به ۵/۰ و ۱۰/۰ میکروگرم بر لیتر برسد. در این غلظت‌ها نمونه‌ها طبق روش، استخراج و پیش‌تغلیظ گردید. از اندازه‌گیری این نمونه‌های پیش‌تغلیظ شده برای محاسبه بازیابی استفاده شد.

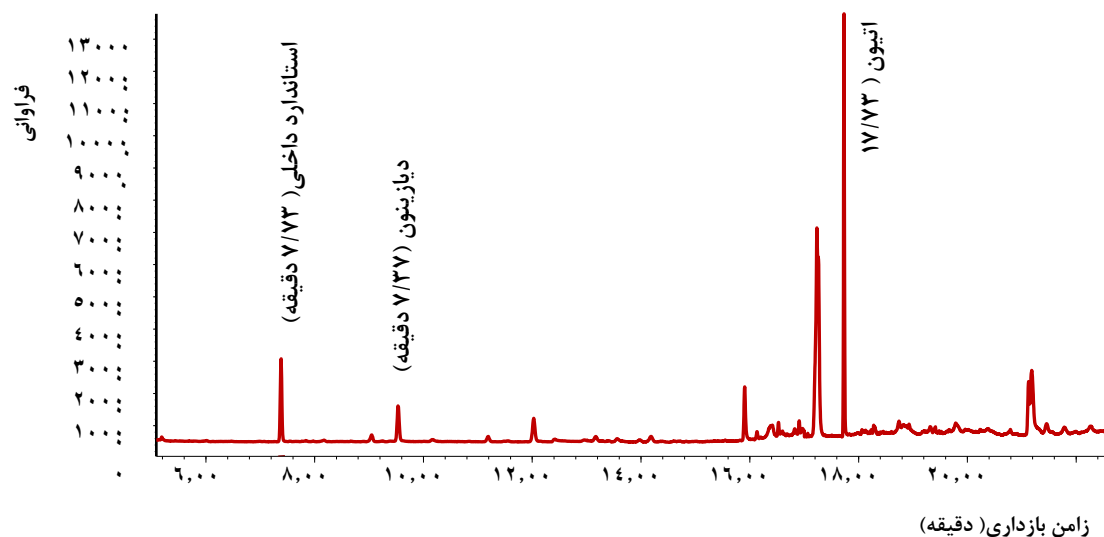
صحت روش بر اساس میزان بازیابی روش بر روی نمونه‌های استاندارد با غلظت‌های ۵/۰ و ۱۰/۰ میکروگرم بر لیتر هر یک از ترکیبات بررسی شد. نتایج و درصد بازیابی محاسبه شده برای نمونه‌های اندازه‌گیری شده در جداول (۳-۶۰) و (۳-۶۱) نشان داده شده است. نتایج حاصل نشان می‌دهد که

روش MEPS با جاذب نانو دیاتومیت برای ترکیبات فسفردار بازیابی نسبی خوبی داشته و مقدار درصد بازیابی در گستره ۰.۸۸-۱.۰۶٪ می باشد.

جدول (۳-۶) مقدار اندازه گیری شده و درصد بازیابی در نمونه ۱ (چاه روستایی حومه گرگان)			
ترکیبات	مقدار اضافه شده (µg/L)	مقدار اندازه گیری شده (µg/L)	درصد بازیابی
دیازینون	۰/۰	<LOD	-
	۵/۰	۴/۵	۹۰/۰
	۱۰/۰	۹/۴	۹۴/۰
اتیون	۰/۰	<LOD	-
	۵/۰	۴/۸	۹۶/۰
	۱۰/۰	۱۰/۴	۱۰۴/۰

جدول (۳-۶) مقدار اندازه گیری شده و درصد بازیابی در نمونه ۲ (رودخانه گرگان)			
ترکیبات	مقدار اضافه شده (µg/L)	مقدار اندازه گیری شده (µg/L)	درصد بازیابی
دیازینون	۰/۰	<LOD	-
	۵/۰	۴/۴	۸۸/۰
	۱۰/۰	۹/۴	۹۴/۰
اتیون	۰/۰	<LOD	-
	۵/۰	۵/۲	۱۰۴/۰
	۱۰/۰	۱۰/۶	۱۰۶/۰

شکل (۳-۴۴) نمونه ای از کروماتوگرام حاصل از استخراج و پیش تغلیظ نمونه حقیقی با استاندارد اضافه شده به غلظت ۱۰/۰ میکروگرم بر لیتر در یک نمونه رودخانه را نشان می دهد. برای تاکید بیشتر بر به کارگیری روش پیشنهادی، مقایسه ی بین پارامترهای تجزیه ای با گزارش های ارائه شده در مقالات برای اندازه گیری ترکیبات آلی فسفردار در نمونه های آبی و زیست محیطی انجام شده است. پارامترهای تجزیه ای نشان می دهد که این روش دارای ویژگی های قابل مقایسه و یا بهتر از سایر روش های دیگر بوده و از حساسیت و تکرارپذیری خوبی در دامنه کالیبراسیون برخوردار است.



شکل (۳-۴) کروماتوگرام پیش تغلیظ نمونه حقیقی با مقدار اضافه شده دیازینون و اتیون
 شرایط استخراج: غلظت دیازینون و اتیون در نمونه استاندارد آبی هر یک ۱۰/۰ میکرو گرم بر لیتر؛ حجم تزریق ۱/۰
 میکرو لیتر، حجم نمونه آبی ۱۰/۰ میلی لیتر، حلال واجذب کننده ۱۰۰/۰ میکرو لیتر دی کلرو متان، بافر فسفاتی
 pH=۶/۰ با غلظت ۰/۰۲ مولار، جاذب نانودیاتومیت (۶/۰ میلی گرم)، استاندارد داخلی (تری فلورالین) به غلظت ۱۰۰/۰
 میکرو گرم بر لیتر، تعداد مرتبه نمونه گیری ۲۵ مرتبه، شرایط جداسازی مطابق جدول (۲-۲).

فصل ۴:

نتیجہ گیری

۴-۱- نتیجه گیری

در این پروژه، روش نسبتاً جدید و مینیاتوری شده استخراج با فاز جامد بنام روش استخراج با جاذب پر شده در میکرو سرنگ (MEPS) برای پیش تغلیظ و اندازه گیری ترکیبات آلی کلردار و آلی فسفردار در نمونه های آبی و زیست محیطی به کار گرفته شد.

در قسمت اول این پروژه، روش معرفی شده برای پیش تغلیظ و اندازه گیری همزمان ۵ نوع ترکیبات آلی کلردار شامل هگزاکلرو بنزن، آلاکلر، هپتاکلر، آلدین و متولاکلر در نمونه های آبی و زیست محیطی بکار گرفته شد. در این روش، مقدار ۶/۰ میلی گرم جاذب نانو لوله کربن عامل دار کربوکسیلیکی (CNTs-COOH) به عنوان فاز جامد برای پیش تغلیظ و استخراج ترکیبات استفاده شد. انجام این روش بسیار سریع، ساده، ارزان و با میزان مصرف کم حلال آلی می باشد. یکی از مزایای این روش نسبت به روش های استخراج با فاز جامد کلاسیک (SPE)، کاهش میزان حلال آلی است که این حلال ها، سبب تخریب محیط زیست می شود. مقدار مصرفی حلال آلی می تواند تا حدود ۵۰-۱۰۰ میکرو لیتر کاهش یابد حال آنکه در سایر روش های استخراج بیش از ۱۰ میلی لیتر و تا ۵۰ میلی لیتر نیز از حلال های آلی استفاده می شود. در مقایسه با روش SPE، زمان آماده سازی نمونه بسیار کوتاه و حدود ۸ الی ۱۰ دقیقه می باشد.

با توجه پایین بودن حد تشخیص روش و دارا بودن گستره خطی وسیع اندازه‌گیری و فاکتور پیش تغلیظ قابل قبول، این روش می‌تواند به‌عنوان یک تکنیک قدرتمند برای پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری همزمان ترکیبات آلی کلردار در نمونه‌های حقیقی از جمله آب و زیست محیطی به‌کار برده شود. بنابراین این تکنیک برای اندازه‌گیری ترکیبات مورد نظر در نمونه‌های خروجی چاه و آب دریای خزر به کار گرفته شد. مقادیر بازیابی و نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که جاذب استفاده شده دارای کارآئی خوبی برای استخراج ترکیبات آلی کلردار بوده و پارامترهای تجزیه‌ای شامل حدود تشخیص، دقت، صحت و بازیابی روش برای روش بکار گرفته شده، از اعتبار بسیار خوبی برخوردار می‌باشد.

در قسمت دوم کار تجربی، نانودیاتومیت به عنوان جاذب در پیش‌تغلیظ و استخراج ترکیبات آلی کلردار شامل هگزاکلروبنزن، هپتاکلر و آلدین به روش MEPS همراه با GC-MS بکارگرفته شد. نتایج حاصل نشان داد که روش MEPS-GC-MS به عنوان تکنیک تجزیه‌ای و آماده‌سازی نمونه، یک روش سریع، ساده و با تکرارپذیری رضایت‌بخش برای پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری ترکیبات در نمونه‌های مختلف آبی می‌باشد. همچنین جاذب استفاده شده دارای کارآئی خوبی برای استخراج ترکیبات آلی کلردار می‌باشد. پارامترهای تجزیه‌ای شامل حدود تشخیص، دقت، صحت و بازیابی روش برای روش بکار گرفته شده، از اعتبار بسیار خوبی برخوردار می‌باشند. این تکنیک برای اندازه‌گیری ترکیبات آلی کلردار در آب‌های آشامیدنی و آب خروجی چاه بکار گرفته شد. نتایج نشان داد که در اندازه‌گیری نمونه‌های حقیقی، بافت نمونه اثر قابل ملاحظه‌ای در نتایج ندارد.

در قسمت سوم این پروژه، نانو پرلیت به عنوان جاذب در پیش‌تغلیظ و استخراج ترکیبات آلی فسفردار شامل دیازینون، مالاتیون و اتیون به روش MEPS همراه با GC-MS بکارگرفته شد. روش MEPS-GC-MS به عنوان تکنیک تجزیه‌ای، یک روش سریع، ساده و با تکرارپذیری رضایت‌بخش برای پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری ترکیبات آلی فسفردار در نمونه‌های آبی مختلف می‌باشد. نتایج حاصل نشان می‌دهد که جاذب استفاده شده دارای کارآئی خوبی برای استخراج ترکیبات آلی فسفردار می‌-

باشد. پارامترهای تجزیه‌ای شامل حدود تشخیص، دقت، صحت و بازیابی روش برای روش بکار گرفته شده، از اعتبار بسیار خوبی برخوردار می‌باشد.

در قسمت چهارم این پروژه، نانو دیاتومیت به عنوان جاذب در پیش‌تغلیظ و استخراج ترکیبات آلی فسفردار شامل دیازینون و اتیون به روش MEPS همراه با GC-MS بکار گرفته شد. روش MEPS-GC-MS به عنوان تکنیک تجزیه‌ای، یک روش سریع، ساده و با تکرارپذیری رضایت‌بخش برای پیش-تغلیظ و اندازه‌گیری ترکیبات آلی فسفردار در نمونه‌های مختلف آبی می‌باشد. نتایج حاصل نشان می‌دهد که جاذب استفاده شده دارای کارآئی خوبی برای استخراج ترکیبات آلی فسفردار می‌باشد. پارامترهای تجزیه‌ای شامل حدود تشخیص، دقت، صحت و بازیابی روش برای روش بکار گرفته شده، از اعتبار بسیار خوبی برخوردار می‌باشد. همچنین در آنالیز نمونه‌های حقیقی، بافت نمونه هیچ اثر قابل ملاحظه‌ای در نتایج نداشته است.

۲-۴- پیشنهاد و آینده نگری

به‌عنوان پیشنهاد برای مطالعات آینده، می‌توان به موارد زیر توجه نمود:

- ۱- استفاده و کاربرد روش MEPS برای پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری سایر ترکیبات آلی کلردار و آلی فسفردار در نمونه های زیست محیطی
- ۲- افزودن نانو لوله کربنی به مقدار جزئی به فاز جامد دیاتومیت و پرلیت برای کاهش قطبیت سطح جاذب و استفاده فاز جامد ترکیبی نانو لوله کربن- دیاتومیت و نانو لوله کربن- پرلیت
- ۳- بررسی و کاربرد روش MEPS برای پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری ترکیبات سموم آلی و فلزات سنگین در نمونه‌های بیولوژیکی به دلیل نیاز به حجم کم نمونه
- ۴- استفاده از روش استخراج فاز جامد کوپل شده با دیگر روش‌های میکرواستخراج فاز مایع

منابع:

- ۱- Robert Krieger, **Handbook of pesticides toxicology** volume ۱, Academic press. ۲۰۱۰.
- ۲- امیر فتوحی فیروزآباد، بهمن ۱۳۸۳ **پایان نامه کارشناسی ارشد، شیمی تجزیه**، اندازه گیری آفت کش های آلی کلردار در آب آشامیدنی، آبهای سطحی و زیرزمینی با روش میکرواستخراج با فاز جامد و کروماتوگرافی گازی با دتکتور ربایش الکترون - دانشکده شیمی دانشگاه تبریز
- ۳- D. Nicholas Bateman, Robert D. Jefferson, Simon Thomas, John Paul Thompson, **Oxford Desk Reference Toxicology** – Oxford University press. ۲۰۱۴ first edition, Page ۳۰۳.
- ۴- یاسر عبدالله زاده **پایان نامه** (آبان ماه ۱۳۸۹) - کارشناسی ارشد- میکرو استخراج سموم فسفره از نمونه های آب و خاک - دانشکده شیمی - دانشگاه خواجه نصیر الدین طوسی.
- ۵- V. David, Alford, British crop protection council. **Pest and disease management handbook**. John Wiley & Sons. ۲۰۰۰. Chapter ۱۲.
- ۶- T. D Lekakas, M.Kostopoulou, G. Kolokythas, N, Thomaidis, S. Golfinopoulous, A. Kotrika, G. pavlogeorgatos,.. Otimization of analytical methods for the fetermination of treace

concentrations of toxic pollutants in Drinking and surface waters, **Environ. Sci. and Technology Conference**, ۲۰۰۳, ۸-۱۰ september.

۷- کالین برد، ترجمه منصور عابدینی، کتاب شیمی محیط زیست، چاپ اول ۱۳۷۸، انتشارات نشر

دانشگاهی تهران- فصل ۵ و ۶.

۸- L. Sibali, J. O. Okwonkwo, R. I Mccrindle, Determination of selected organochlorine pesticide (OCP) compounds from the Jukskei River catchment area in Gauteng, South Africa, **Water S.A.**, ۲۰۰۸, ۳۴, ۶۱۱-۶۲۱.

۹- G. G, Afsharinejad Z, Guizzetti M, Vitalone A, Kavanagh TJ, Costa LG. Organophosphorus insecticides chlorpyrifos and diazinon and oxidative stress in neuronal cells in a genetic model of glutathione deficiency. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** ۲۰۰۷, ۲۱۹, ۱۸۱-۱۸۹.

۱۰- M. A. Farajzadeh, M. Bahram, M. R. Vardast & M. Bamorowat, Dispersive liquid-liquid microextraction for the analysis of three organophosphorus pesticides in real samples by high performance liquid chromatography-ultraviolet detection and its optimization by experimental design, **Microchim Acta** (۲۰۱۱) ۱۷۲, ۴۶۵.

۱۱- H. Sabik, R. Jeannot, B. Rondeau (۲۰۰۰) Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products in ground and surface waters. **J. Chromatogr A** ۸۸۵: ۲۱۷-۲۳۶

۱۲- M. Balali-Mood, M. Abdollahi, **Basic and Clinical Toxicology of Organophosphorus Compounds**, Springer, New York ۲۰۱۴. Chapter ۳, Page. ۴۵.

۱۳- M. I. Riberio Alves, N. R. A. Filho, Development and validation of method for the determination of organochlorine pesticides and trihalomethanes in the water by HRGC-ECD, **Acta Scient. Technology**, ۲۰۱۰, ۳۲ (۴), ۳۹۱-۳۹۷.

۱۴- G. Pagliuca, T. Gazzoti, E. Zironi, P. Sticca, Residue analysis of organophosphorus pesticides in animal matrices by dual column capillary gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. **J. Chromatogr. A.** ۲۰۰۵ (۱۰۷۱), ۶۷-۷۰.

۱۵- L. Zhao, H. K. Lee, Application of static liquid-phase microextraction to the analysis of organochlorine pesticides in water. **J. Chromatogr. A.** ۲۰۰۱, ۹۱۹, ۳۸۱-۳۸۸.

۱۶- N. Krieger, M.S. Wolff, Breast Cancer and Serum Organochlorines: a Prospective Study among White, Black, and Asian Women. **J. National Cancer Institute**, ۱۹۹۴, ۸۶, ۵۸۹-۵۹۹.

- 17-F. Falck, A. Riccli, M. S. Wolff, Pesticides and polychlorinated biphenyl residues in human breast lipids and their relation to breast cancer. **Archives of environmental health** 1992, v. 47, n. 2, p. 143-146.
- 18-V, D. Berg. Global status of DDT and its alternatives for use in vector control to prevent disease. **Environ Health Perspect.** 2009 Nov; 117(11):1606-13.
- 19-H. Iwata Tanabes, and R, Tatsukawa, Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, **Sci. Tot. Enviromn.** 1994, 104, 163-177.
- 20-Tor, A., Emin Aydin, M., Oscan, S., Ultrasonic solvent extraction of organochlorine pesticides from soil, **Anal. Chem. Acta.** 2006, 509, 173.
- 21-A. Belmonate, Vega, A. Garrido, J. L. F. Martinez vidal, Monitoring of pesticides in agricultural water and soil samples from Andalusia by liquid chromatography coupled to mass spectrometry **Anal. Chem. Acta.** 2005, 538, 117.
- 22-C. Goncalves, M.F. Alpendurada, Assessment of pesticide contamination in soil samples from an intensive horticulture area, using ultrasonic extraction and gas chromatography-mass spectrometry, **Talanta**, 2005, 60, 1179.
- 23-H. Iwata Tanabes, and Tatsukawa, R, Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, **Sci. Tot. Enviromn.** 1994, 104, 163-177.
- 24-A. Tor, M E. Aydin, S. Oscan, Ultrasonic solvent extraction of organochlorine pesticides from soil. **Anal. Chem. Acta.** 2006, 509, 173.
- 25-A. B., Vega, , A. G. Frenich, J. L. Martinez vidal,.; Monitoring of Pesticides in Agricultural Water and Soil Samples from Andalusia by Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry. **Anal. Chem. Acta.** 2005, 538, 117.
- 26-C. Goncalves, M.F. Alpendurada, Assessment of pesticide contamination in soil samples from an intensive horticulture area, using ultrasonic extraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Talanta**, 2005, 60, 1179.
- 27-K. Conka, B. Drobn'a, A. Ko'can, J. Petr'ik, Simple solid-phase extraction method for determination of polychlorinated biphenyls and selected organochlorine pesticides in human serum. **J. Chromatogr. A**, 1084 (2005) 33-38.
- 28-S. Wang, P. Zhao, G. Min, Guozhen Fang, Multi-residue determination of pesticides in water using multi-walled carbon nanotubes solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry, **J. Chromatogr. A**, 1160 (2007), 166-171.

- ٢٩- C. S´anchez-Brunete, E. Miguel, J. L. Tadeo. Simple solid-phase extraction method for determination of polychlorinated biphenyls and selected organochlorine pesticides in human serum. **Talanta** ٧٤ (٢٠٠٨) ١٢١١-١٢١٧.
- ٣٠- H. Katsumata, T. Matsumoto, S. Kaneco, T. Suzuki, K. Ohta, Preconcentration of diazinon using multi-walled carbon nanotubes as solid-phase extraction adsorbents, **Microchem. J.** ٨٨(٢٠٠٨) ٨٢.
- ٣١- L.M. Ravelo-Pérez, J. Hernández-Borges, M.A. Rodríguez-Delgado, Multiwalled carbon nanotubes as solid-phase extraction materials for the gas chromatographic determination of organophosphorus pesticides in waters **J. Sep. Sci.**, ٣١ (٢٠٠٨) ٣٦١٢.
- ٣٢- L. M. Ravelo-Pérez, J. Hernández-Borges, M. Á. Rodríguez-Delgado, Multi-walled carbon nanotubes as efficient solid-phase extraction materials of organophosphorus pesticides from apple, grape, orange and pineapple fruit juices, **J. Chromatogr. A**, ١٢١١ (٢٠٠٨) ٣٣-٤٢.
- ٣٣- J. Ma, R. Xiao, J. Li, X. Zhao, B. Shi, S. Li, Determination of Organophosphorus Pesticides in Underground Water by SPE-GC-MS, **J. Chromatographic Science**, (٢٠٠٩), Vol. ٤٧, February, ١١٠-١١٥.
- ٣٤- Y. D. Al-Degs, M.A. Al-Ghouti, A.H. El-Sheikh, Simultaneous determination of pesticides at trace levels in water using multiwalled carbon nanotubes as solid-phase extractant and multivariate calibration. **J. Hazard. Mater.** ١٦٩ (٢٠٠٩) ١٢٨-١٣٥.
- ٣٥- Q. Li, X. Wang, D. Yuan, Solid-phase extraction of polar organophosphorous pesticides from aqueous samples with oxidized carbon nanotubes. **J. Environ. Monit.** ١١ (٢٠٠٩) ٤٣٩-٤٤٤.
- ٣٦- Y. Ke, F. Zhu, F. Zeng, T. Luan, C. Su, G. Ouyang, Preparation of graphene-coated solid-phase microextraction fiber and its application on organochlorine pesticides determination, **J. Chromatography A**, ١٣٠٠ (٢٠١٣) ١٨٧-١٩٢.
- ٣٧- S. Samadia, H. Sereshti, Y. Assadi, Ultra-preconcentration and determination of thirteen organophosphorus pesticides in water samples using solid-phase extraction followed by dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatography with flame photometric detection, **J. Chromatography A**, ١٢١٩ (٢٠١٢) ٦١-٦٥.
- ٣٨- H. Bagheri, Z. Ayazi, Ali Es'haghi, Ali Aghakhani. Reinforced polydiphenylamine nanocomposite for microextraction in packed syringe of various pesticides, **J. Chromatography A**, ١٢٢٢ (٢٠١٢), ١٣-٢١.

- ۳۹- H. Bagheri, N. Alipour, Z. Ayazi, Multiresidue determination of pesticides from aquatic media using polyaniline nanowires network as highly efficient sorbent for microextraction in packed Syringe, **Anal. Chim. Acta**, ۷۴۰ (۲۰۱۲) ۵۷-۶۲.
- ۴۰- A. Mehdinia, Preconcentration and determination of organochlorine pesticides in seawater samples using polyaniline/polypyrrole- cellulose nanocomposite- based solid phase extraction and gas chromatography- electron capture detection. **J. Braz. Chem. Soc.** ۲۵ (۲۰۱۴), ۱۱, ۲۰۴۸-۲۰۵۳.
- ۴۱- G. G. Noche, M. E. Fernández Laespada, J. L. Pérez Pavón, B. M. Cordero, S. M. Lorenzo, Determination of chlorobenzene in water samples based on fully automated microextraction by packed sorbent coupled with programmed temperature vaporization-gas chromatography-mass spectrometry, **Anal. Bioanal. Chem.** (۲۰۱۳), ۴۰۵, ۶۷۳۹-۶۷۴۸.
- ۴۲- M. A. Gonzalez- Carbelo, A. V. Herrera-Herrera, J. Herna'ndez-Borges, M. A. R. Delgado, Analysis of pesticides residues in environmental water samples using multiwalled carbon nanotubes dispersive solid-phase extraction, **J. Sep. Sci.** ۲۰۱۳, ۳۶, ۵۵۶-۵۶۳.
- ۴۳- A. Mehdinia, F. Bashour, F. Rouhi, A. Jabbari, Determination of organochlorine pesticides by nano-structure sulfonated polypyrrole based solid phase microextraction coating. **International Conference on Nanostructures**, March ۲۰۱۲, Kish Islan, Iran.
- ۴۴- S. Li, C. Lu, F. Zhu, R. Jiang, G. Ouyang, Preparation of C^{۱۸} composite solid-phase microextraction fiber and its application to the determination of organochlorine pesticides in water samples. **Anal. Chim. Acta**, ۸۷۳ (۲۰۱۵) ۵۷-۶۲.
- ۴۵- X. J. Li, P. Gan, R. Peng, C. Huang, H. Yu, Determination of ۲۳ Organophosphorus Pesticides in surface water using SPME followed by GC-MS. **J. Chromatographic Sci**, ۲۰۱۰, ۴۸, ۱۸۳-۱۸۷.
- ۴۶- فهیمه زارع، پایان نامه کارشناسی ارشد، استخراج جیوه (II) در نمونه های آبی با استفاده از روش میکرو استخراج قطره آویزان و اندازه گیری با کروماتوگرافی گازی- دانشکده شیمی دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۴۷- محسن پویان، پایان نامه کارشناسی ارشد (۱۳۹۱)، کاربرد میکرو استخراج مایع- مایع پخشی به همراه اسپکتروسکوپی جذب اتمی شعله ای برای تعیین مقادیر کم پالادیم (II) در نمونه های محیطی- دانشکده شیمی دانشگاه صنعتی شاهرود.
- ۴۸- ادریسی م. معصومی ع، " مبانی و روش های شیمی تجزیه " چاپ اول، دانشگاه آزاد اسلامی تهران.

- ۴۹- John A. Dean "Chemical separation methods" Van. Nostrand. Reinhold Company. New York. ۲۰۰۲.
- ۵۰- آقاجانیپور خ. پایان نامه کارشناسی ارشد، ۱۳۸۸ "اندازه گیری مقادیر کم مس با استفاده از اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای بعد از ریز استخراج با حلال آلی" دانشکده شیمی - دانشگاه صنعتی شاهرود.
- ۵۱- E. Psillakis, N. Kalogerakis, Developments in liquid-phase microextraction, **Tre. Anal. Chem.**, Vol. ۲۲, No. ۱۰, ۲۰۰۳.
- ۵۲- یار احمدی س. ع. پایان نامه ۱۳۸۶، شناسایی ترکیبات گیاهان دارویی به روش میکرو استخراج با حلال و میکرو استخراج با فاز جامد از فضای فوقانی. دانشکده شیمی - دانشگاه لرستان.
- ۵۳- I. Lis'ka, Fifty years of solid-phase extraction in water analysis – historical development and overview, **J. Chromatogr. A**, ۸۸۵ (۲۰۰۰) ۳-۱۶.
- ۵۴- M. Ma and F. F. Cantwell, Solvent Microextraction with Simultaneous Back-Extraction for Sample Cleanup and Preconcentration: Preconcentration into a Single Microdrop. **Anal. Chem.** ۱۹۹۹, ۷۱, ۳۸۸-۳۹۳.
- ۵۵- M. A. Jeannot, F. F. Cantwell, Solvent Microextraction into a Single Drop, **Anal. Chem.** ۱۹۹۶, ۶۸, ۲۲۳۶-۲۲۴۰.
- ۵۶- L. Zhao and H. K. Lee. Liquid-Phase Microextraction Combined with Hollow Fiber as a Sample Preparation Technique Prior to Gas Chromatography/Mass Spectrometry, **Anal. Chem.** ۲۰۰۲, ۷۴, ۲۴۸۶-۲۴۹۲.
- ۵۷- S. Pedersen- Bjergaard, K. E. Rasmussen, Liquid-Liquid-Liquid Microextraction for Sample Preparation of Biological Fluids Prior to Capillary Electrophoresis, **Anal. Chem.**, ۱۹۹۹, ۷۱ (۱۴), ۲۶۵۰-۲۶۵۶.
- ۵۸- M. Rezaee, Y. Assadi. M. R. Milani Hosseini, E. Aghaee, Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. **J.. Chromatogr. A**. ۲۰۰۶, Vol. ۱۱۱۶, ۱-۹.
- ۵۹- James S. Frits. "Analytical solid phase extraction". ۱۹۹۹, John Wiley. New York.
- ۶۰- Z. Zhang, M. J. Yang, J. Pawliszyn, Solid-Phase Microextraction. A Solvent-Free Alternative for Sample Preparation, **Anal. Chem.** ۶۶, p ۸۴۴.

- ٦١-M. Tankiewicz, J. Fenik, M. Biziuk, Solventless and solvent-minimized sample preparation techniques for determining currently used pesticides in water samples: A review, **Talanta** ٨٦ (٢٠١١) ٨-٢٢.
- ٦٢-M. Barriada-Pereira, M.J. Gonz'alez-Castro, S. Muniategui-Lorenzo, P. L'opez-Mah'ia, D. Prada-Rodr'iguez, E. Fern'andez-Fern'andez, Determination of ٢١ organochlorine pesticides in tree leaves using solid-phase extraction clean-up cartridges, **J. Chromatogr. A**, ١٠٦١ (٢٠٠٤) ١٣٣-١٣٩.
- ٦٣-V. Ferreira, L. Ortega, A. Escudero, and J.F. Cacho. A comparative study of the ability of different solvents and adsorbents to extract aroma compounds from alcoholic beverages. **J. Chromatogr. Sci.** ٣٨(١١): ٤٦٩-٧٦ (٢٠٠٠).
- ٦٤-M.G. Rubio, A.R. Medina, M.I.P. Reguera, M.L. Fernandez de Cordova, Multiresidue analysis of three groups of pesticides in washing waters from olive processing by solid-phase extraction-gas chromatography with electron capture and thermionic specific detection. **Microchem. J.** ٨٥ (٢٠٠٧) ٢٥٧-٢٦٤.
- ٦٥-S. El-Kabbany, M.M. Rashed, M.A. Zayed, Monitoring of the pesticide levels in some water supplies and agricultural land, in El-Haram, Giza (A.R.E.) **J. Hazard. Mater.** ٧٢ (٢٠٠٠) ١١-٢١.
- ٦٦-J.Y. Hu, T. Aizawa, Y. Magara, Analysis of pesticides in water with liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. **Water Research.** ٣٣ (١٩٩٩) ٤١٧-٤٢٥.
- ٦٧-E. Ballesteros, M.J. Parrado, Continuous solid-phase extraction and gas chromatographic determination of organophosphorus pesticides in natural and drinking waters. **J. Chromatogr. A** ١٠٢٩ (٢٠٠٤) ٢٦٧-٢٧٣.
- ٦٨-United States Environmental Protection Agency, **Standardized Analytical Methods for Environmental Restoration Following Homeland Security Events**- Revision ٥,٠, US EPA, Cincinnati, USA, ٢٠٠٩.
- ٦٩-Z. Polkowska, M. Tobiszewski, T. Gorecki, J. Namie'snik, Pesticides in rain and roof runoff waters from an urban region. **Urban Water J.** ٦ (٢٠٠٩) ٤٤١-٤٤٨.
- ٧٠-Z. Polkowska, T. Gorecki, J. Namie'snik, Quality of roof runoff waters from an urban region (Gdańsk, Poland). **Chemosphere.** ٤٩ (٢٠٠٢) ١٢٧٥-١٢٨٣.
- ٧١-T.L. Potter, M.A. Mohamed, H. Ali, Solid-Phase Extraction Combined with High-Performance Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Chemical Ionization-Mass

- Spectrometry Analysis of Pesticides in Water: Method Performance and Application in a Reconnaissance Survey of Residues in Drinking Water in Greater Cairo, Egypt. **J. Agric. Food Chem.** 55 (2007) 204-210.
- ٧٢-J.B. Baugros, B. Giroud, G. Dessalces, M.F. Grenier-Loustalot, C. Cren-Olive, Multiresidue analytical methods for the ultra-trace quantification of ٣٣ priority substances present in the list of REACH in real water samples. **Anal. Chim. Acta.** 60٧ (2008) 191-203.
- ٧٣-W. Liu, H.K. Lee, Quantitative analysis of pesticides by capillary column high performance liquid chromatography combined with solid-phase extraction. **Talanta** 40 (1998) 631-639.
- ٧٤-F.J. Lopez, J. Beltran, M. Forcada, F. Hernandez, Comparison of simplified methods for pesticide residue analysis: Use of large-volume injection in capillary gas chromatography. **J. Chromatogr. A**, 823 (1998) 20-33.
- ٧٥-M.G. Rubio, A.R. Medina, M.I.P. Reguera, M.L. Fernandez de Cordova, Multiresidue analysis of three groups of pesticides in washing waters from olive processing by solid-phase extraction-gas chromatography with electron capture and thermionic specific detection. **Microchem. J.** 80 (2007) 207-214.
- ٧٦-J.M.F. Nogueira, T. Sandra, P. Sandra, Multiresidue screening of neutral pesticides in water samples by high performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. **Anal. Chim. Acta** 500 (2004) 209-210.
- ٧٧-R.C. Martinez, C.G. Hermida, E.R. Gonzalo, L.R. Miguel, Behaviour of carbamate pesticides in gas chromatography and their determination with solid-phase extraction and solid-phase microextraction as preconcentration steps. **J. Sep. Sci.** 28 (2005) 2130-2138.
- ٧٨-M. Guardia Rubio, A. Ruiz Medina, M.I. Pascual Reguera, M.L. Fernandez de Cordova. Multi residue analysis of three groups of pesticides in washing waters from olive processing by solid phase. **Micro chem. J.** 80(2): 207-14 (2007).
- Stephanie A. Volz,
- ٧٩- S. A. Volz,, J. J. Johnston, Solid phase extraction/gas chromatography/electron capture detector method for the determination of organochlorine pesticides in wildlife and wildlife food sources, **J. Sep. Sci.** 2002, 25, 119-124.
- ٨٠-M. Abdel-Rehim, New trend in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe for liquid and gas chromatography applications I. Determination of local anaesthetics in human plasma samples using gas chromatography-mass spectrometry, **J. Chromatogr. B**, 801 (2004) 317-321.

- ۸۱- M. Abdel-Rehim, Z. Altun, L. Blomberg, Microextraction in packed syringe (MEPS) for ۳۲۵ liquid and gas chromatographic applications. Part II—Determination of ropivacaine and its ۳۲۶ metabolites in human plasma samples using MEPS with liquid chromatography/tandem ۳۲۷ mass spectrometry. **J. Mass Spectrom.** ۲۰۰۴, ۳۹, ۱۴۸۸–۱۴۹۳.
- ۸۲- Z. Altun, M. Abdel-Rehim, L. G Blomberg, New trends in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe (MEPS) for LC and GC applications Part III: Determination and validation of local anaesthetics in human plasma samples using a cation-exchange sorbent, and MEPS–LC–MS–MS, **J. Chromatogr. B**, ۸۱۳ (۲۰۰۴) ۱۲۹.
- ۸۳- M. Abdel-Rehim, Microextraction by packed sorbent (MEPS): A tutorial, **Anal. Chim. Acta** ۷۰۱ (۲۰۱۱) ۱۱۹–۱۲۸.
- ۸۴- M. Abdel-Rehim, Recent advances in microextraction by packed sorbent for bioanalysis, **J. Chromatogr. A**, ۱۲۱۷ (۲۰۱۰) ۲۵۶۹–۲۵۸۰.
- ۸۵- M. M. Moein, A. M. Abdel-Rehim, Abdel-Rehim, Microextraction by packed sorbent (MEPS), **Tre. Anal. Chem.** ۲۰۱۴, DOI: ۱۰,۱۰۱۶/j.trac.۲۰۱۴,۱۲,۰۰۳
- ۸۶- رضوان عبدالله زاده، پایان نامه کارشناسی ارشد ۱۳۸۹، پیش تغلیظ یون های فلزی بر روس سیلیکاژل- پلی اتیلن گلیکول و اندازه گیری با اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای- دانشکده علوم دانشگاه شهید چمران اهواز
- ۸۷- H. Bagheri, Z. Ayazi, M. Naderi, Conductive polymer-based microextraction methods: A review, **Anal. Chim. Acta** ۷۶۷ (۲۰۱۳) ۱–۱۳.
- ۸۸- Z. Li, Xijun Changa, X. Zoua, X. Zhua, Rong Niea, Zheng Hua, Ruijun Li, Chemically-modified activated carbon with ethylenediamine for selective solid-phase extraction and preconcentration of metal ions. **Anal. Chim. Acta** ۶۳۲ (۲۰۰۹) ۲۷۲–۲۷۷.
- ۸۹- A. A. Ensafi, A. Zendegi Shiraz, On-line separation and preconcentration of lead(II) by solid-phase extraction using activated carbon loaded with xylenol orange and its determination by flame atomic absorption spectrometry, **J. Hazard. Materials** ۱۵۰ (۲۰۰۸), ۵۵۴–۵۵۹.
- ۹۰- S. Iijoma, Helical microtube of graphite carbon, **Nature**, ۳۵۴ (۱۹۹۱), ۵۶–۵۸.
- ۹۱- S. Iijoma, Helical microtube of graphite carbon, **Nature**, ۳۵۴ (۱۹۹۱), ۵۶–۵۸.
- ۹۲- S. Iijoma, T. Ichihashi, Single- shell carbon nanotubes of ۱-nm diameter, **Nature**, ۳۶۳ (۱۹۹۳), ۶۰۳–۶۰۵.

- 93- D.S. Bethune, C.H. Klang, M.S. de Vries, G. Gorman, R. Savoy, J. Vasquez, R. Beyers, Cobalt- catalyzed growth of carbon nanotubes with single atomic layer shell, **Nature** 363 (1993) 605.
- 94- E. Flahaut, Ch. Laurent, A. Peigney, Catalytic CVD synthesis of double and triple-walled carbon nanotubes by the control of the catalyst preparation, **Carbon** 43 (2005) 375-383.
- 95- C. Journet, W.K. Matser, P. Bernier, L. Laiseau, S. Lefrant, P. Deniard, R. Lee, J.E. Fischer, Large-scale production of single-walled carbon nanotubes by the electric-arc technique. **Nature** 388 (1997) 756.
- 96- A. Thess, R. Lee, P. Nikolaev, H. Dai, P. Petit, J. Robert, C. Xu, Y.H. Lee, R.E. Smalley, Crystalline Ropes of Metallic Carbon Nanotubes. **Science** 276 (1996) 483.
- 97- D. B. Malhotra, S. Srivastava, S. Augustine, Biosensor for food toxin detection: Carbon nanotubes and Graphen, **Mater. Res. Soc.** 2010, 1720.
- 98- S. Goyanes, G.R. Rubiolo, A. Salazar, A. Jimeno, M.A. Corcuera, I. Mondragon, Carboxylation treatment of multiwalled carbon nanotubes monitored by infrared and ultraviolet spectroscopies and scanning probe microscopy. **Diamond & Related Materials** 16 (2007) 412-417.
- 99- L. M. Ravelo-Pérez, A. V. Herrera-Herrera, J. Hernández-Borges, M. Á. Rodríguez-Delgado, Carbon nanotubes applications in separation science: A review, **Anal. Chim. Acta** 734 (2012) 1-30.
- 100- L. Meng, C. Fu, Q. Lu, Advanced technology for functionalization of carbon nanotubes, **Prog. Nat. Sci.** 19 (2009) 801-810.
- 101- A. Kevin Wepasnick, B. A. Smith, J. L. Bitter, D. H. Fairbrother, Chemical and structural characterization of carbon nanotube surfaces, **Anal. Bio anal. Chem.** (2010) 396:1003-1014.
- 102- F. A. Abuilaiwi, T. Laoui, M. Al-Harthi, and M. A. Atieh, "Modification and functionalization of multiwalled carbon nanotube (MWCNT) via fischer esterification," **Arab. J. Sci. & Eng.**, vol. 30, 2010, pp. 37-48,
- 103- H. Amjad. El-Sheikh, A. Jamal Sweileh, Yahya S. Al-Degs, Effect of dimensions of multi-walled carbon nanotubes on its enrichment efficiency of metal ions from environmental waters, **Anal. Chim. Acta.** 604 (2007) 119-126.

- ۱۰۴- M. R., Hadjmohammadi, M. Peyrovi, P. Biparva, Comparison of C^{۱۸} silica and multi-walled carbon nanotubes as the adsorbents for the solid-phase extraction of Chlorpyrifos and Phosalone in water samples using HPLC, **J. Sep. Sci.** ۲۰۱۰, ۳۳, ۱۰۴۴-۱۰۵۱.
- ۱۰۵- H. Katsumata, H. Kojima, S. Kaneco, T. Suzuki, K. Ohta, Preconcentration of atrazine and simazine with multiwalled carbon nanotubes as solid-phase extraction disk, **Microchemical J.** ۹۶ (۲۰۱۰) ۳۴۸-۳۵۱.
- ۱۰۶- Q. Zhou, J. Xiao, W. Wang, G. Liu, Q. Shi, J. Wang, Determination of atrazine and simazine in environmental water samples using multiwalled carbon nanotubes as the adsorbents for preconcentration prior to high performance liquid chromatography with diode array detector. **Talanta** ۶۸ (۲۰۰۶) ۱۳۰۹.
- ۱۰۷- Y.S. Al-Degs, M.A. Al-Ghouti, Preconcentration and determination of high leachable pesticides residues in water using solid-phase extraction coupled with high-performance liquid chromatography. **Int. J. Environ. Anal. Chem.** ۸۸ (۲۰۰۸) ۴۸۷.
- ۱۰۸- R.S. Zhao, C.P. Diao, Q.F. Chen, X. Wang, Sensitive determination of amide herbicides in environmental water samples by a combination of solid-phase extraction and dispersive liquid-liquid microextraction prior to GC-MS. **J. Sep. Sci.** ۳۲ (۲۰۰۹) ۱۰۶۹.
- ۱۰۹- A.H. Skeikh, J.A. Sweileh, Y.S. Al-Degs, A.A. Insisi, N. Al-Rabady, ۲۰۰۸. Critical evaluation and comparison of enrichment efficiency of multi-walled carbon nanotubes, C^{۱۸} silica and activated carbon towards some pesticides from environmental waters. **Talanta** ۷۴, ۱۶۷۵-۱۶۸۰.
- ۱۱۰- K. Seifpanahi Shabani, F. Doulati Ardejani, Kh. Badii, M. Ebrahim Olya, Preparation and characterization of novel nano-mineral for the removal of several heavy metals from aqueous solution: Batch and continuous systems. **Arab. J. Chem.** (۲۰۱۳).
- ۱۱۱- Z. Sun, S. Zheng, A. Godwin Ayoko, R. L. Frost, Y. Xi, Degradation of simazine from aqueous solutions by diatomite-supported nanosized zero-valent iron composite materials, **J. Hazard. Mater.** ۲۶۳ (۲۰۱۳) ۷۶۸-۷۷۷.
- ۱۱۲- N. Caliskan, A. R. Kul, S. Alkan, E. G. Sogut, I. Alacabey, Adsorption of Zinc(II) on diatomite and manganese-oxide-modified diatomite: A kinetic and equilibrium study, **J. Hazard. Mater.** ۱۹۳ (۲۰۱۱) ۲۷-۳۶.
- ۱۱۳- M. Aivalioti, I. Vamvasakis, E. Gidarakos, BTEX and MTBE adsorption onto raw and thermally modified diatomite, **J. Hazard. Mater.** ۱۷۸ (۲۰۱۰) ۱۳۶-۱۴۳.

- ۱۱۴- C. D. Wu, J. Y. Zhang, L. Wang and M. H. He, Removal of aniline and phenol from water using raw and aluminum hydroxide-modified diatomite, **Water Sci. & Technol.** (۲۰۱۳), ۶۷-۷, ۱۶۲۰-۱۶۲۶.
- ۱۱۵- L. Daniel Maxim^۱, Ron Niebo^۱, Ernest E. McConnel Perlite toxicology and epidemiology– a review, **Inhal. Toxicol.** ۲۰۱۴; ۲۶(۵): ۲۵۹-۲۷۰.
- ۱۱۶- A. V. Dordio, J. Teimão, I. Ramalho, A. J. Palace Carvalho, A. J. Estêvão Candeias, Selection of a support matrix for the removal of some phenoxyacetic compounds in constructed wetlands systems. **Sci. Tot. Envir.** ۳۸۰ (۲۰۰۷) ۲۳۷-۲۴۶.
- ۱۱۷- M. Alkan, M. Karada, M. Doğan, Ö. Demirba, Adsorption of CTAB onto perlite samples from aqueous solutions, **J. Colloid & Inter. Sci.** ۲۹۱ (۲۰۰۵) ۳۰۹-۳۱۸.
- ۱۱۸- H. Ghassabzadeha, A. Mohadespourb, M. Torab-Mostaedc, P. Zaherib, M. Ghannadi Maraghehc, H. Taheri, Adsorption of Ag, Cu and Hg from aqueous solutions using expanded perlite, **J. Hazard. Mater.** ۱۷۷ (۲۰۱۰) ۹۵۰-۹۵۵.
- ۱۱۹- S. Aminifard, H. Jamalzadeh, E. Biazar, M. Fouladi. Effect of temperature and pH in adsorption of Pb^{2+} ions by porous perlite clay. **Oriental J. Chem.** (۲۰۱۱). ۲۷:۱۳۹۷-۴۰۱.
- ۱۲۰- S. Anizan, E. Bichon, F. Monteau, N. Cesbron, J.-P. Antignac, B. Le Bizec, A new reliable sample preparation for high throughput focused steroid profiling by gas chromatography–mass spectrometry. **J. Chromatogr. A**, ۱۲۱۷ (۲۰۱۰) ۶۶۵۲-۶۶۶۰.
- ۱۲۱- **Chengdu Organic Chemicals Co. Ltd.**, Chinese Academy of Sciences, [Http://www.timesnano.com](http://www.timesnano.com)
- ۱۲۲- سحر فارسی مدان، پایان نامه دکتری، شهریور ۱۳۹۶، کاربرد روش‌های میکرو استخراج مایع- مایع پخشی اصلاح شده و تکنیک‌های بهینه سازی برای اندازه‌گیری برخی ترکیبات دارویی به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، دانشکده شیمی دانشگاه شاهرود.

Abstract:

In the first section, a fast, sensitive, and convenient technique named microextraction in packed syringe (MEPS) coupled with GC-MS was developed for the preconcentration and determination of five organochlorine pesticides in natural water samples. Carboxyl purified multi-walled carbon nanotubes were used as a sorbent. Based on this technique, 6.0 mg of sorbent was used. The analytes were eluted using organic solvents. The influence of important parameters such as pH, type and volume of the organic desorption solvent, and amount of the sorbent on the extraction efficiency were investigated. The proposed method showed linearity and detection limits in the range of 0.3-30.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ and 0.08-0.2 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectively. Reproducibility of the method was in the range of 1.9- 8.5% for the studied pesticides. In order to evaluate the matrix effect, the developed method was applied to the preconcentration and determination of the selected pesticides in different water samples. Recovery was in the range of 92%- 110%. In the second part, MEPS method was applied for preconcentration and of three organochlorine pesticides. For the first time, the natural nano diatomite was used as sorbent. 6.0 mg of the sorbent was used. The analytes would be adsorbed on the solid phase, and would subsequently be eluted using organic solvents. The MEPS method showed good linearity and limits of detection in the range of 0.6- 40.0 $\mu\text{g L}^{-1}$, 0.08- 0.20 $\mu\text{g L}^{-1}$. The reproducibility of this method was in the range of 3.0-12.1%. In the third part, the MEPS method was applied for the preconcentration some organophosphorous pesticides. The natural nanoperlite was used as sorbent. The proposed method showed a good linearity in the range of 0.6-30.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ for ethion and

0.6-30,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ for both diazinon and malathion. The limits of detection in the range of 0.07-0.38 $\mu\text{g L}^{-1}$ were obtained. The reproducibility of the method was found to be in the range of 1.9-3.0%. Finally in the last section nano diatomite was applied for the preconcentration of organophosphorous pesticides including diazinon and ethion in aqueous samples.. The proposed method showed a good linearity and limits of detection in the range of 0.6-30,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ and 0.07-0.38 $\mu\text{g L}^{-1}$. The reproducibility of the method was found to be in the range of 1.9% -3.0%.

Keywords: gas chromatography-mass spectrometry, microextraction in packed syringe MEPS, organochlorine, organophosphorous, pesticides



Shahrood University of Technology
Faculty of chemistry

Ph.D thesis in analytical chemistry

**Application of microextraction in packed syringe for
preconcentration, separation and determination of organo-
pesticides in environmentall samples by GC/MS**

By: Abdollah Taghani

Supervisors:

Dr. Nasser Goudarzi

Advisore:

Dr. Ghadamali Bagherian

Date: ۲۰۱۸- Agust