

جداسازی هیدروکربن‌های نفتی از برگ درخت آلوده به مواد نفتی به روش کروماتوگرافی ستونی (Clean - up) و اندازه گیری به روش اسپکتروفلوروفوتومتری

روانبخش شیردم*⁺، ابوالفضل فراهانی

تهران، سازمان حفاظت محیط زیست، آزمایشگاه هیدروکربن‌های نفتی و سموم، صندوق پستی ۱۴۱۵۵-۷۳۸۳

چکیده: هیدروکربن‌های نفتی به‌ویژه PAHs از مهم‌ترین و وسیع‌ترین آلاینده‌های نفتی در محیط زیست محسوب می‌شوند. به علت سرطان‌زایی و جهش‌زایی بودن این ترکیب‌ها، پایش آنها در هوا، آب، خاک و گیاهان از اهمیت بسزایی برخوردار است. بیشترین منابع آلاینده گیاهان به وسیله‌ی پوشش لایه‌های چربی سطح گیاهان با مواد نفتی صورت می‌پذیرد و به وسیله‌ی آلاینده‌های موجود در هوا جذب آنها می‌شوند. به همین منظور برگ درختان حراء در منطقه عسلویه به وسیله‌ی حلال هگزان: استون (۲:۳) و دستگاه مایکروویو در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد استخراج شد. هدف از این تحقیق، بررسی حذف مزاحمت‌های رنگی، کلروفیلی و کاروتنوئیدی در برگ درختان، با استفاده از کروماتوگرافی ستونی، جاذب‌های سیلیکاژل و آلومینا، حلال کلروفرم و بهینه کردن این روش بود. در پایان با استفاده از ۱۵ میلی لیتر حلال کلروفرم در فراکسیون اول، این مزاحمت‌ها جدا و با استفاده از ۲۰ میلی لیتر دوم ترکیب‌های نفتی جدا شدند. همچنین از دستگاه اسپکتروفلوروفوتومتر برای اندازه‌گیری استفاده شد.

واژه‌های کلیدی: برگ درخت، کل هیدروکربن‌های نفتی، کروماتوگرافی ستونی، استخراج با مایکروویو، اسپکتروفلوروفوتومتری.

KEY WORDS: Plant, Total petroleum hydrocarbons, Column chromatography, Microwave extraction, Spectrofluorophotometry.

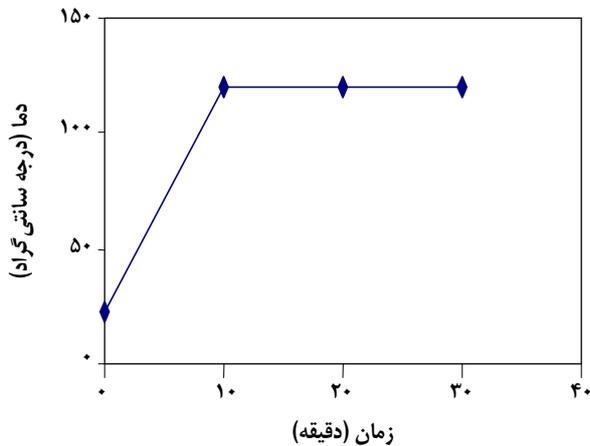
مقدمه

گیاه را با مشکل مواجه کرده است [۱]. این مواد بیشتر به وسیله‌ی جذب آلودگی‌های هوا روی سطح برگ گیاهان منجر می‌شود [۲ و ۳]. روش‌های متفاوت استخراج با حلال‌های هگزان، متانول، استون، کلروفرم و سیکلوهگزان برای تعیین کل هیدروکربن‌های نفتی در گیاه مورد مطالعه قرار گرفته است [۴]. از آنجا که روش استخراج با سوکسله قدیمی و همراه با مصرف بالای حلال و زمان است، در این تحقیق به بررسی روش استخراج به کمک

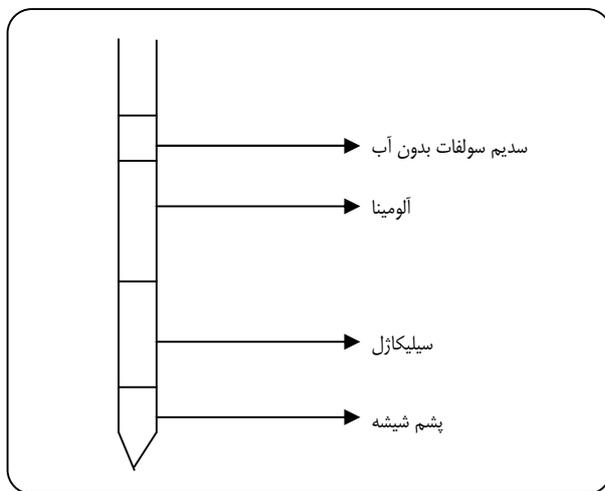
هیدروکربن‌های نفتی از مهم‌ترین گروه‌های آلاینده محیط زیست می‌باشند که به لحاظ سرطان‌زایی و جهش‌زایی برخی از آنها، سعی شده تا مقادیر این ترکیبات در محیط‌های مختلف آب، هوا، خاک، رسوب و گیاهان مورد پایش قرار گیرند. یکی از مهم‌ترین این نمونه‌ها، برگ درختان است که به علت وجود عامل‌های مزاحم موجود در گیاه همچون چربی‌ها، کلروفیل و رنگدانه‌های دیگر، امکان جداسازی و تجزیه این ترکیب‌ها در

*E-mail: Shirdamr@yahoo.fr

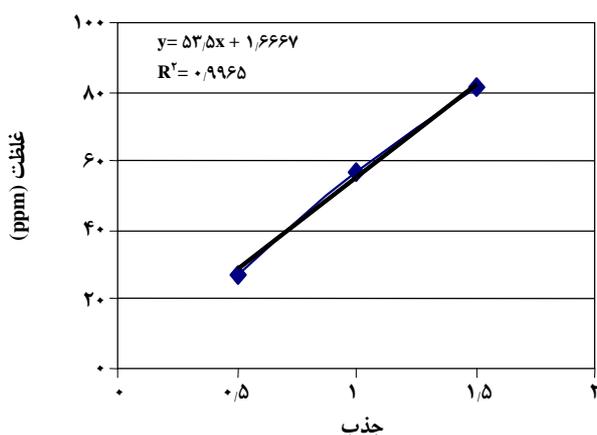
*عهده دار مکاتبات



شکل ۱- برنامه دمایی دستگاه میکروویو برای استخراج نمونه های نفتی از برگ درخت.



شکل ۲- نحوه قرار گرفتن مواد متشکله جداسازی در ستون کروماتوگرافی.



شکل ۳- منحنی استاندارد نمونه نفت راپمی.

میکروویو و بررسی نوع و میزان حلال مصرفی برای جداسازی این ترکیبها در مجاورت ترکیبهای مزاحم پرداخته شده است.

بخش تجربی

نمونه

نمونه برداری برگ درختان حرا در منطقه عسلویه توسط دفتر محیط زیست دریایی انجام شد و در اختیار دفتر امور آزمایشگاههای سازمان حفاظت محیط زیست قرار گرفت. سپس نمونه به وسیله دستگاه فریز درایر به مدت ۱۲ ساعت خشک شد.

مواد شیمیایی

- کلروفرم، استون، هگزان و دی کلرو متان.
 - سیلیکاژل (با مش ۶۰-۲۳۰)، آلومینا (با مش ۹۰-۲۳۰) که در دمای ۲۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶ ساعت فعال و سپس با آب دیونیزه ۵ درصد کمی غیر فعال شدند.
 - سدیم سولفات بدون آب (در دمای ۲۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴ ساعت خشک و سپس در دسیکاتور نگهداری شد).
 همه مواد مصرفی از شرکت مرک آلمان تهیه شد. ظرفهای شیشه‌ای مانند سوکسله، بورت، بالون و ... ابتدا به وسیله مایع شوینده و سپس با آب مقطر و استون شستشو شدند. قبل از استفاده در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد حرارت داده و با استفاده از حلال هگزان مجدداً شسته شدند.

استاندارد

نفت راپمی با غلظت ۵۰۰ ppm توسط ROPME^(۱) در اختیار دفتر امور آزمایشگاههای سازمان حفاظت محیط زیست قرار گرفت.

استخراج

مقدار ۱ گرم برگ درخت خشک شده به وسیله فریز درایر به دقت توزین شده و سپس به وسیله ۳۰ میلی لیتر حلال هگزان : استون (۲:۳) با استفاده از دستگاه میکروویو به مدت ۳۰ دقیقه عمل استخراج انجام گرفت که نمودار برنامه دمایی آن در شکل ۱ آورده شده است. نمونه استخراجی، با استفاده از دستگاه تقطیر در خلاء گردشی تا حجم ۱۰ میلی لیتر و به وسیله دمش گاز نیتروژن تا حجم ۵ میلی لیتر تغلیظ شد [۴].

(۱) Regional Organization for the Protection of the Marine Environment

جدول ۲- بررسی حلال کلروفرم برای جداسازی ترکیب‌های نفتی از برگ درخت.

جذب	حلال مصرفی
۱/۱	کلروفرم (مینا)
۳-۳/۵	فاز ۱ با ۱۵ میلی لیتر کلروفرم
۶۷	فاز ۲ با ۲۰ میلی لیتر کلروفرم

جدول ۴- بهینه کردن حجم مصرفی حلال کلروفرم در فاز ۲.

جذب	حجم مصرفی حلال
۴۹-۵۲	۱۰ میلی لیتر
۵۴-۵۷	۱۵ میلی لیتر
۶۶-۶۸	۲۰ میلی لیتر
۶۸	۲۵ میلی لیتر

نفت را پمپی را آماده و جذب آن‌ها به ترتیب ۸۱، ۵۷ و ۲۷/۵ به دست آمد. منحنی استاندارد نمونه‌های ذکر شده مطابق شکل ۳ رسم شد.

نتیجه‌ها و بحث

استخراج به دست آمده از مایکروویو را مستقیم نمی توان تجزیه کرد. پیگمان‌های گیاه و ترکیب‌های واکسی و سایر ترکیب‌های محلول در حلال‌های آلی به‌طور هم‌زمان از نمونه استخراج می‌شوند. این ترکیب‌ها شامل ترکیب‌هایی مانند استرهای بی‌زنجیره‌های بلند، پلی استر و پارافین‌ها هستند [۵]. این ترکیب‌های استخراجی با ترکیب‌هایی همچون استرول‌ها و پلی اسید گلیسرول‌ها همراهند که خاصیت قطبی در نزدیکی ترکیب‌های آروماتیک چند حلقه‌ای دارند، لذا به راحتی با این ترکیب‌ها شسته می‌شوند. بنابراین، مرحله تمیز کردن یا کروماتوگرافی ستونی این ترکیب‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است. در این تحقیق، بهینه کردن شویش انجام شده و نتیجه‌ها در جدول‌های ۳ و ۴ مشاهده می‌شود. جداسازی و تمیزسازی ترکیب‌ها به وسیله‌ی حلال هگزان و هگزان: دی کلرومتان (۱:۹) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفلوروفوتومتر هیچ گونه جذبی مشاهده نشد و این نشان از این دارد که حلال‌های هگزان و هگزان: دی کلرومتان (۱:۹) توانایی جداسازی ترکیب‌های نفتی از لابه لای ترکیب‌های رنگی و کلروفیل را ندارد که این امر با توجه به قطبی‌تر بودن این ترکیب‌ها در مقایسه با ترکیب‌های نفتی کم‌تر قطبی طبیعی به نظر می‌رسد. لذا با استفاده از حلال کلروفرم

جدول ۱- بررسی حلال‌های هگزان و هگزان : دی کلرومتان (۱:۹) برای جداسازی ترکیب‌های نفتی از برگ درخت.

جذب	حلال مصرفی
۰/۳-۰/۷	هگزان (مینا)
۱-۱/۲۵	فاز ۱ با ۲۰ میلی لیتر هگزان
۱-۱/۵۰	فاز ۲ با ۳۰ میلی لیتر هگزان : دی کلرومتان (۱:۹)

جدول ۳- بهینه کردن حجم مصرفی حلال کلروفرم در فاز ۱.

جذب	حجم مصرفی حلال
۱-۲	۱۰ میلی لیتر
۲-۲/۵	۱۵ میلی لیتر
۱۲-۱۴	۲۰ میلی لیتر
۱/۱	کلروفرم (مینا)

کروماتوگرافی ستونی

در این مرحله از آزمایش، با استفاده از بورت ۵۰ میلی لیتری با قطر داخلی ۱/۱ سانتی‌متر، مقدار ۵ گرم سیلیکاژل، ۱۰ گرم آلومینا و ۱ گرم سولفات، ستون کروماتوگرافی آماده شد که نحوه‌ی قرارگیری مواد متشکله جداسازی آن در شکل ۲ معرفی شده است. در بورت شماره ۱، برای تجزیه ترکیب‌ها در نمونه‌های رسوب، مقدار ۱ میلی‌لیتر از نمونه استخراجی به وسیله‌ی ۲۰ میلی‌لیتر هگزان و در ادامه ۳۰ میلی‌لیتر حلال هگزان: دی کلرومتان (۱:۹) (جدول ۱) و همچنین، در بورت شماره ۲، مقدار ۱ میلی‌لیتر دیگر از نمونه استخراجی به وسیله‌ی حلال کلروفرم با نسبت‌های متفاوت (جدول ۲)، عمل جداسازی صورت گرفت. در نهایت با استفاده از ۱۵ میلی‌لیتر حلال کلروفرم در مرحله اول، ترکیب‌های قطبی‌تر مانند کاروتنوئیدها، کلروفیل و ترکیب‌های رنگی (ترکیب‌های مزاحم) جدا و در مرحله دوم با ۲۰ میلی‌لیتر کلروفرم ترکیب‌های نفتی به راحتی جداسازی شدند.

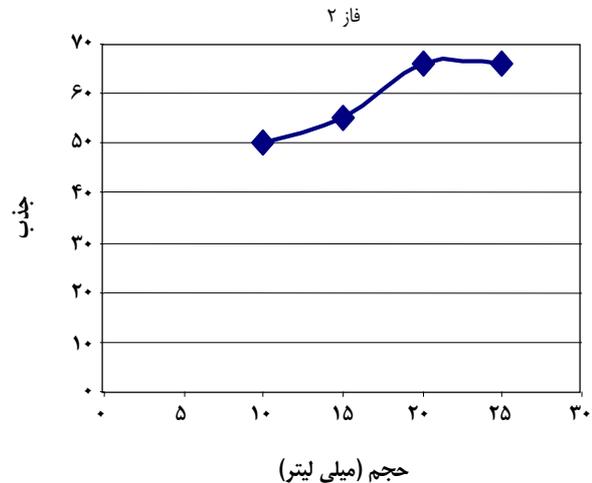
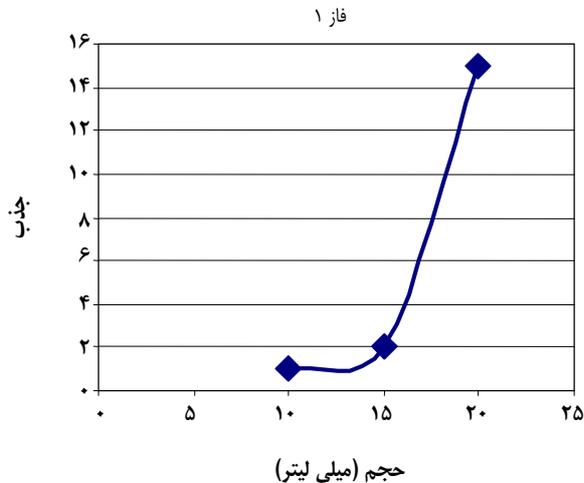
اندازه‌گیری به روش اسپکتروفلوروفوتومتری

شرایط اندازه‌گیری

در ادامه نمونه‌ها به وسیله‌ی دستگاه اسپکتروفلوروفوتومتر مدل Shimadzu RF-۵۴۰ تحت شرایط Excitation=۳۱۰ nm و Emission=۳۶۰nm اندازه‌گیری شدند.

رسم منحنی استاندارد

برای این منظور غلظت‌های ۱/۵ ppm، ۱ ppm، ۰/۵ ppm از



شکل ۴- نمودارهای مقایسه ای فازهای ۱ و ۲ برای تعیین حجم مصرفی کلروفرم.

از مصرف حلال کم تر و هم از اتلاف زمان کمی برخوردار است. در نهایت نمونه ارسالی از منطقه جنگل های حراء عسلویه مورد تجزیه قرار گرفت که کل هیدروکربن های نفتی موجود در آن ppm ۲/۵ اندازه گیری شد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بدین وسیله از زحمات آقای دکتر حجت معاونت محیط زیست انسانی به خاطر فراهم کردن زمینه و امکانات تحقیقاتی در بخش آزمایشگاهی سازمان حفاظت محیط زیست کمال قدردانی و سپاسگزاری را می نمایند.

تاریخ دریافت: ۱۳/۸/۲۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۵/۸/۱

که خاصیت قطبی خوبی دارد ترکیب های مزاحم کاروتنوئیدی کلروفیل و دیگر ترکیب های رنگی به راحتی از بستر ترکیب های نفتی جدا می شوند.

همان طور که مشاهده می شود، بهترین حجم مصرفی کلروفرم در فاز اول ۱۵ میلی لیتر و در فاز دوم ۲۰ میلی لیتر است. با استفاده از این آزمایش ها مشخص شد بهترین نتیجه ها از این روش به دست می آید که در شکل ۴ به وضوح دیده می شود. بعد از حجم ۱۵ میلی لیتر در فاز اول که به شدت جذب بعد از آن افزایش یافته است و همچنین در فاز دوم بعد از حجم ۲۰ میلی لیتر شدت جذب تقریباً ثابت بوده، لذا این روش به عنوان روشی پهنه شده برای استخراج ترکیب های نفتی مورد استفاده قرار گرفت. از مهم ترین نقاط قوت این پروژه می توان به جایگزین کردن روش استخراج مایکروویو به جای روش قدیمی سوکسله اشاره کرد که

مراجع

- [1] Simonich, S. L., Hites, R.A., Vegetation-Atmosphere Partitioning of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 939(1994).
- [2] Kylin, H., Grimwall, E., Environmental Monitoring of Polychlorinated Biphenyls Using Pine Needles as Passive Samplers, *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 1320 (1994).
- [3] Jacob, J., Grimmer, G. and Hildebrandt, A., The Use of Passive Samplers for Monitoring Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Ambient Air, *Sci. Total Environ.*, **139/140**, p. 307 (1993).
- [4] Tomaniova, M., Hajslova, J., J. Pavelkajr. Jr., Kocourek, V., Holadová, K. and Klímová, I.,

- Microwave-Assisted Solvent Extraction - A New Method for Isolation of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons from Plants, *J. Chromatography A*, **827**, 21 (1998).
- [5] Percy, K.E., McQuattie, C.J. and Rebbeck, J.A., Effects of Air Pollutants on Epicuticular Wax Chemical Composition, Percy, J.N. Cape, Jagels, R. and Simpson, C.J., Editors, Air Pollutants and the Leaf Cuticle, NATO ASI Series, **G36**, Springer-Verlag, Berlin, pp. 67-79 (1994).