ارزیابی روش میکرواستخراج مایع- مایع پخشی در ستون باریک برای استخراج و پیش تغلیظ ترکیب سموم ارگانوکلره در نمونه‌های آب رودخانه و اندازه‌گیری به روش کروماتوگرافی گازی

شهاب یوسف زاده[۱]، ابراهیم اصغری کلجاهی[۲,*]، نصیر عامل[۲]، تیرزاد گلبابازاده[۳]، حسین صابری[۴]

[۱] تبریز- دانشگاه تبریز- دانشکده علوم طبیعی- دانشجوی کارشناسی ارشد ژئوشیمی

[۲] تبریز- دانشگاه تبریز- - دانشکده علوم طبیعی- گروه علوم زمین- عضو هیات علمی

[۳] گیلان- دانشگاه پیام نور- واحد تالش- عضو هیات علمی

[۴] بندرانزلی- پژوهشکده آبزی‌پروری- بخش اکولوژی- عضو هیات علمی

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۳/۲۶ تاریخ تصحیح: ۹۴/۱۰/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۲۸

چکیده

در این مقاله به ارزیابی یک روش ساده و کارآمد برای استخراج و پیش تغلیظ همزمان مقادیر بسیار کم سموم ارگانوکلره (OCPS) در نمونه آب رودخانه، بر پایه حالت ویژه‌ای از روش میکرواستخراج مایع- مایع پخشی در یک لوله باریک و بلند حاوی نمونه پرداخته شده است. اثر عامل‌های مؤثر بر میکرواستخراج مانند نوع و حجم حلال‌های پخشی و استخراجی و حجم نمونه آب مورد بررسی قرار گرفته و بهینه شده است. در شرایط بهینه شده مخلوطی از ۲/۵ میلی‌لیتر استون و ۰/۵ میلی‌لیتر هگزان نرمال و تولوئن (۱:۱) در مدت زمان ۳۰ ثانیه به ۱۹ میلی‌لیتر محلول آب داخل لوله تزریق و با تشکیل محلول ابری سموم به فاز آلی انتقال یافته و به بالای ستون رسیدند. در نهایت پس از استخراج و پاک‌سازی ۱ میکرولیتر از نمونه حاصل به دستگاه کروماتوگرافی گازی با آشکارساز یونیزاسیون شعله تزریق شده و با استفاده از منحنی کالیبراسیون محلول‌های استاندارد، تعیین مقدار شدند. تحت شرایط بهینه، گستره خطی منحنی درجه‌بندی ۰/۶ تا ۱/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بازیابی نسبی در گستره ۹۳/۱ تا ۹۸/۶، مقدار انحراف استاندارد نسبی کمتر از ۵/۹ درصد و با ضریب همبستگی ۰/۹۵ محاسبه گردید. حد تشخیص و حد تعیین مقدار روش به ترتیب در گستره ۰/۸ تا ۱/۳ و ۳/۱ تا ۳/۷ میکروگرم بر لیتر به دست آمد. مزیت این روش سادگی عملکرد، سرعت، هزینه کم و درصد بازیابی بالا است.

واژگان کلیدی: میکرواستخراج مایع- مایع پخشی، سموم ارگانوکلره (OCPS)، کروماتوگرافی گازی یونیزاسیون شعله

۱- مقدمه

آفت‌کش‌ها با توجه به ساختار شیمیایی آن‌ها به انواع ارگانوکلره، ارگانوفسفره، کارباماتها، علف‌کش‌ها، تریازین و غیره طبقه‌بندی می‌شوند. سموم ارگانوکلره (OCPS) به طور گسترده در دو دهه گذشته برای مبارزه با آفات در کشاورزی، صنعت و حتی برای مقابله با بیماری‌هایی مانند مالاریا استفاده شده‌اند. خواص فیزیکی و شیمیایی مخصوص این ترکیبات آن‌ها را در برابر تخریب بیولوژیکی بسیار مقاوم کرده و به همین دلیل آن‌ها بسیار پایدار می‌باشند. با توجه به این طیف گسترده از توزیع و تجزیه بیولوژیکی دشوار، این ترکیبات یک تهدید جدی برای بهداشت عمومی و بسیاری از اشکال مطرح زندگی می‌باشند [۱].

* **.نویسنده مسئوول:** استادیار و عضو هیات علمی گروه علوم زمین دانشگاه تبریز، تبریز، ایران e-asghari@tabrizu.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

OCPS ممکن است به عنوان شبه هورمون رفتار کنند و سبب بر هم خوردن سیستم غدد درون‌ریز در حیات وحش، انسان و موجودات آبزی شوند. بسیاری از مشکلات به این اختلال غدد درون‌ریز مرتبط شده‌اند، مانند آسیب عصبی، بیماری پارکینسون، نقایص هنگام تولد، بیماری تنفسی، سرطان سینه، رشد جنسی زودرس، تغییرات رفتاری، اختلال در سیستم ایمنی بدن و کاهش تعداد اسپرم. این ترکیبات در درجه اول از طریق کشاورزی، بارش، انتقال جوی، فاضلاب، نفوذ و فرسایش خاک، همچنین در اثر پراکندگی پس از اسپری نمودن آفت‌کش‌ها، نشت تصادفی و کاربرد مستقیم آن‌ها در زمین‌هایی که نزدیک سیستم‌های آبی واقع شده و یا زمانی که در رودخانه‌ها و حوضچه‌ها برای کشتن ماهی‌ها به مصرف می‌رسند، وارد محیط زیست آبی می‌شوند؛ بنابراین، نظارت و ردیابی بر سطح اثر OCPS در مواد غذایی و آب هنوز هم برای حفاظت از سلامت و کنترل محیط زیست ضروری است [۲].

از آنجایی که مقادیر این سموم در بافت نمونه‌ها ممکن است در حد تشخیص دستگاه نباشد، آماده‌سازی، شامل استخراج و تغلیظ پیش از تزریق آن به دستگاه، نقش مهمی در تعیین و اندازه‌گیری این ترکیبات دارد [۳]. به دلیل پایداری، تجمع آسان و سمیت بالا این ترکیبات محققان برای تشخیص و ردیابی غلظت OCPS در محیط روش‌هایی توسعه داده‌اند. بسیاری از آن‌ها نیاز به آماده‌سازی نمونه دارند مانند استخراج مایع- مایع (LLE) ، [۴] استخراج فاز جامد (SPE) [۵] و میکرواستخراج فاز جامد (SPME) که هرکدام معایبی دارند [۶]. LLE وقت‌گیر و خسته کننده است و نیاز به مقادیر زیادی از حلال‌های آلی گران قیمت و به طور عمده سمّی دارد [۷]. در روش SPE نسبت به LLE مقدار بسیار کمتری حلال استفاده می‌شود، اما نیاز به آماده‌سازی ستون داشته و یک روش به نسبت گران قیمت قلمداد می‌گردد. راه‌کار دیگر استفاده از روش میکرواستخراج فاز جامد SPME است که برای تعیین ترکیب‌های آلی به کار گرفته شده است. با این وجود SPME مشکلاتی از جمله هزینه بالا، شکنندگی و کاهش کارایی فاز جامد آن با گذشت زمان دارد [۸ و ۹].

در سال‌های اخیر میکرواستخراج فاز مایع (LPME) به عنوان جانشینی کارآمد برای روش‌های سنتی آماده سازی نمونه و استخراج ترکیب‌های آلی معرفی شده است [۱۰]. LPME یک روش استخراج تک مرحله‌ای است که بالا بودن نسبت حجم نمونه به حلال استخراجی منجر به افزایش تغلیظ آنالیت مورد نظر می‌شود. LPME روشی سریع، آسان و ارزان بوده و از آنجایی که نیاز به مقدار بسیار اندکی حلال آلی دارد، حداقل استفاده از حلال‌های آلی در این روش وجود دارد. انواع متفاوتی از این فن از جمله LPME بر اساس فاز جامد تو خالی ,LPME بر اساس فاز جامد در ستون، میکرواستخراج فضای فوقانی، میکرواستخراج با قطره شناور مستقیم و LPME با جامد سازی قطره شناور برای استخراج و پیش تغلیظ ترکیب‌های آلی به کار گرفته شده‌اند. با این وجود، این روش‌ها، دارای مشکلاتی مانند زمان استخراج طولانی، ناپایداری میکرو قطره و در بعضی موارد دقت پایین می‌باشند [۱۱].

افزون بر این روش‌ها، روش میکرواستخراج مایع- مایع پخشی (DLLME) بر پایه گسترش سطح تماس بین دو فاز مایع

Archive of SID

www.SID.ir

پیشنهاد شده که یک روش استخراج سریع و آسان است. با اعمال این راه کار ساده مرحله سانتریفوژ که یک مرحله وقت‌گیر در استخراج است، حذف می‌شود و همچنین امکان استفاده از حلال‌های با چگالی کمتر از آب به‌عنوان حلال استخراج کننده را بر روی DLLME فراهم می‌شود و به این ترتیب قابلیت اجرای دامنه بزرگ‌تری از حلال‌های استخراج کننده را گسترش می‌دهد [۸].

برای اندازه‌گیری ترکیبات کلره در محیط‌های آبی به طور معمول از روش‌های کارتریج‌های فاز جامد، سوکسیله و روش میکرواستخراج مایع مایع پراکنده استفاده شده که در این روش‌ها حلال‌های کلره و سنگین‌تر از آب به کار گرفته شده‌اند [۱۲ و ۱۳ و ۱۴]. در تحقیقات انجام شده تا کنون، از حلال‌های سبک‌تر از آب استفاده نشده است. در یک پژوهش از کارتریج فاز جامد برای بررسی مقادیر سموم ارگانوکلره در آب رودخانه‌ها استفاده شده است [۱۲]. در پژوهشی دیگر روش سوکسیله برای استخراج این سموم از آب رودخانه مورد بررسی قرار گرفته [۱۳] و در پژوهش‌هایی دیگر از روش میکرواستخراج مایع مایع پراکنده برای استخراج ترکیبات کلره از نمونه‌های آب [۲] و عسل [۱۴] استفاده گردیده است.

بکارگیری روش DLLME همراه با GC در تعیین هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای(PAHs) ، آفت‌کش ارگانوفسفره (OPPs)، کلروبنزن، کلروفنل‌ها، تری هالومتان (هالومتان‌ها)، فنول فرار، علف‌کش تریازین، فتالات استر، ارگانوفسفره، داروهای ضد افسردگی، بی فنیل‌ها (PCBs) آفت‌کش ارگانو سولفوره، علف‌کش آمید، کاپتان و کاپتافول موفق بوده است [۲].

در این مقاله به ارزیابی یک روش ساده و کارآمد برای استخراج و پیش تغلیظ همزمان مقادیر بسیار کم سموم ارگانوکلره (OCPS) در نمونه آب رودخانه، بر پایه حالت ویژه‌ای از روش میکرواستخراج مایع- مایع پخشی در ستون باریک و بلند حاوی نمونه پرداخته شده است.

۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد شیمیایی و معرف‌های مورد استفاده

همه مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق شامل تولوئن، هگزان نرمال، استون از درجه خلوص تجزیه‌ای برخوردار بوده و از شرکت مرک آلمان تهیه شدند و بدون آماده‌سازی قبلی مورد استفاده قرار گرفتند. محلول استاندارد مادر شامل مخلوط ۹ سم ارگانوکلره حاوی ترکیبات α-BHC، β-BHC، γ-BHC، δ-BHC، DDT,DDE,DDD، α-Chlordane، γ-Chlordane، با غلظت ۲۰۰ ug/ml بوده از شرکت سیگما آلدریچ خریداری شدند. محلول‌های استاندارد در غلظت‌های ۰/۶ -۰/۸- ۱ -۱/۲ -۱/۴ ug/ml به صورت تازه تهیه و در دمای ۴ سانتی‌گراد نگه‌داری می‌شد. پشم شیشه و سولفات سدیم بدون آب و پودر سیلیکاژل مش ۱۰۰ از شرکت مِرک آلمان تهیه شد.

برای بررسی کارایی روش مورد نظر، نمونه‌های آب از رودخانه سوسرروگا بندرانزلی (گیلان) برداشته شده و در ظروف شیشه‌ای

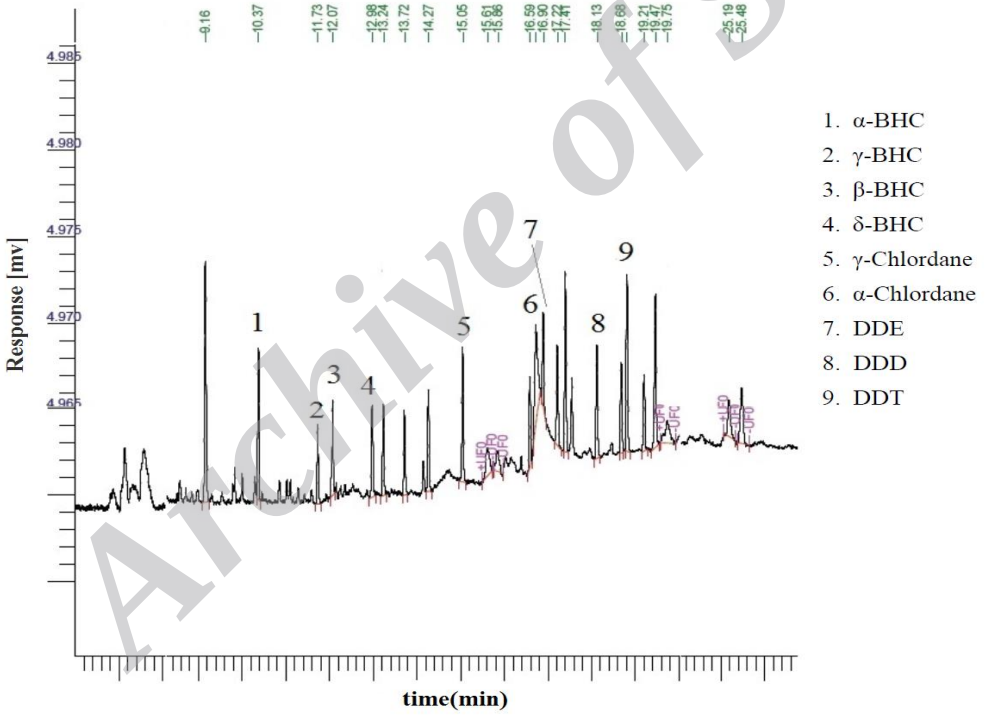
Archive of SID

www.SID.ir

در دمای ۴ درجه نگه‌داری شده و آزمایش گردیدند.

۲-۲- دستگاه‌های مورد استفاده

شناسایی و اندازه‌گیری بقایای سموم ارگانوکلره در نمونه‌ها به وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی Algiment آمریکا مجهز به ستون کاپیلاری DB-35 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی 0.25mm و ضخامت 0.25µm و مجهز به آشکار ساز یونیزاسیون شعله (GC-FID) انجام شد. دماهای محل تزریق و آشکارساز به ترتیب ۲۰۰ و ۳۰۰ درجه تنظیم شد و با برنامه دمایی به صورت دمای ابتدایی ۱۲۰ درجه (به مدت ۱ دقیقه نگه داشته شد) و با شیب افزایش دمایی به میزان ۸,۵ درجه در دقیقه به دمای ۳۰۰ درجه رسیده که به مدت ۳ دقیقه نگه داشته شد [۱۵]. شناسایی سموم از طریق زمان بازداری و غلظت ترکیبات آلی موجود در نمونه‌ها از طریق رسم منحنی کالیبراسیون بر اساس سطح زیر پیک (شکل ۱) به عنوان پاسخ تجزیه‌ای برای محاسبه غلظت استفاده شده است. هلیوم خالص ۹۹,۹۹۹۹ درصد، به عنوان گاز حامل در سرعت خطی ثابت ۳۵ سانتی‌متر در ثانیه استفاده شده و زمان کل برای یک اجرا ۳۵GC دقیقه بوده است.



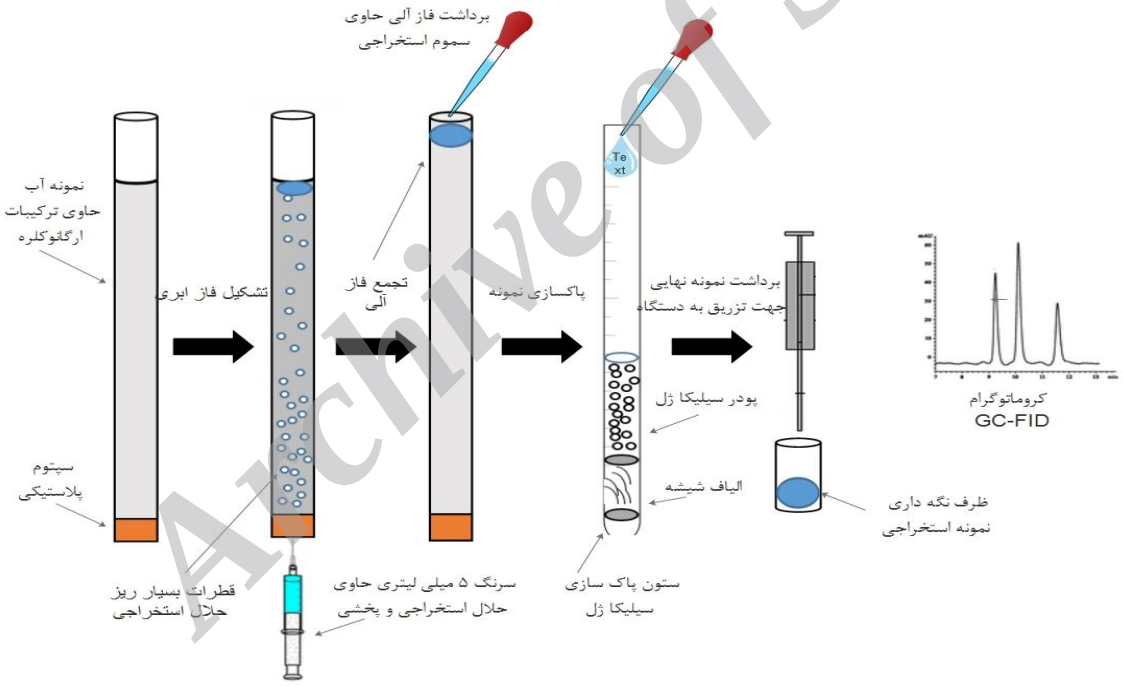
شکل ۱- نمودار کروماتوگرام استاندارد سموم OCPS در غلظت 1ug/ml

۲-۳- چگونگی انجام فرایند میکرواستخراج

سامانه میکرواستخراج بسیار ساده بوده و تنها نیازمند به یک ستون شیشه‌ای بلند و باریک از جنس پیرکس با ابعاد ۵ میلی‌متر در ۱۳۰ سانتی‌متر به عنوان واحد استخراج کننده و یک سرنگ شیشه‌ای ۵ میلی‌لیتری برای تزریق مخلوط استخراج کننده / پخشی بوده است که انتهای این لوله با یک سپتوم پلاستیکی مسدود شد (شکل ۲) در ابتدا حجم مشخصی از آب دیونیزه (۱۹

Archive of SID
www.SID.ir

میلی‌لیتر) در درون لوله ریخته شده، سپس مخلوط حلال استخراجی و پخشی که حاوی ۲٫۵ میلی‌لیتر استون (حلال پخشی) و ۰/۵ میلی‌لیتر هگزان نرمال/تولوئن ۱:۱ (حلال استخراجی) است، با سرنگ شیشه‌ای از طریق سپتوم لاستیکی تعبیه شده در قسمت پایینی لوله، در مدت زمان ۳۰ ثانیه به داخل محلول آبی تزریق شد. بلافاصله پس از تزریق محلولی ابری شامل قطرات بسیار ریز حلال استخراجی در قسمت پایینی لوله باریک شکل گرفته و استون به سرعت در آب حل شده و قطرات بسیار ریز حلال استخراج کننده به دلیل چگالی کمتر از آب، به سمت بالای لوله حرکت نموده و در طول حرکت قطرات ریز حلال ترکیب‌های ارگانوکلره به درون آن استخراج شدند. در عرض کمتر از دو دقیقه به تقریب تمامی قطرات به بالای لوله رسیدند و به صورت یک فاز آلی در سطح محلول آبی ظاهر شدند. سرانجام فاز آلی تجمع یافته که حاوی ترکیب‌های کلره بوده با سرنگ شیشه‌ای جدا شده و برای جذب آب از سولفات سدیم بدون آب و برای پاک‌سازی، از ستون حاوی ۱ گرم سیلیکا ژل آماده شده عبور داده شده و در نهایت مقدار ۱ میکرولیتر با سرنگ برداشته و به دستگاه GC-FID تزریق شد. خلاصه مراحل میکرو استخراج در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲- مراحل فرآیند میکرواستخراج مایع مایع پراکنده در لوله بلند

۳- نتایج و بحث

به منظور دستیابی به بیشترین بازده استخراج، عوامل تجربی مهمی که می‌توانند قابلیت استخراج اثرگذار باشد، مانند نوع و حجم حلال استخراجی و پخشی، حجم نمونه اثر pH و نمک، به طور دقیق مورد بررسی قرار گرفتند. برای ساده سازی مراحل بهینه‌سازی، از روش تک متغیری که در آن تمام متغیرها به جز متغیر مورد بررسی ثابت بوده است، استفاده شد. برای این منظور، یک سری آزمایش‌ها طراحی شدند و غلظت ترکیب‌های ارگانوکلره برای بررسی کارایی استخراج و تعیین بهترین شرایط

Archive of SID
www.SID.ir

مورد استفاده قرار گرفت. تمام بهینه‌سازی‌ها بر روی نمونه آبی حاوی ۰/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر سموم ارگانوکلره انجام گرفت و هر آزمایش حداقل ۳ بار تکرار شد.

۳-۱- بهینه‌سازی شرایط استخراج

به منظور بهینه‌سازی متغیرهای مختلف، نمونه‌های آب دی‌یونیزه با مخلوط ترکیبات آفت‌کش در غلظت‌های متفاوت آلایش (Spike) شد. اولین گام در روش بهینه‌سازی انتخاب حلال استخراج مناسب است. حلال‌ها بر اساس چگالی کمتر نسبت به آب، قابلیت استخراج ترکیبات هدف و رفتار کروماتوگرافی مناسب انتخاب شدند. دی اتیل اتر، هگزان نرمال و تولوئن به عنوان فاز پذیرنده با پتانسیل مناسب مورد آزمایش قرار گرفتند.

۳-۲- انتخاب حلال استخراجی

انتخاب حلال استخراجی مناسب اهمیت زیادی در فرایند DLLME دارد. حلال استخراجی مناسب برای این روش باید دارای حلالیت پایین در آب، چگالی کمتر از آب و توانایی استخراج بالای آنالیت‌های مورد نظر باشد [۱۶]. افزون بر این ویژگی‌ها، میزان سمیت پایین و رفتار کروماتوگرافی مناسب (پیک حلال با پیک آنالیت همپوشانی نکند، حلال به راحتی از ستون کروماتوگرافی خارج شده و بهترین جداسازی اجزا فراهم شود) از دیگر ویژگی‌های مطلوب برای حلال استخراجی هستند [۶].

در این تحقیق، برای انتخاب حلال استخراجی مناسب، در شرایط یکسان، حلال‌های متفاوتی مورد بررسی قرار گرفتند که از بین آن‌ها ۲ حلال هگزان نرمال و تولوئن به دلیل تکرارپذیری، کارایی استخراجی بهتر، انتخاب و با هم مقایسه شدند. بدین منظور ۰/۵ میلی لیتر از هر حلال به صورت جداگانه به همراه ۲/۵ میلی‌لیتر استون (حلال پخشی) برای استخراج ۱۹ میلی‌لیتر از نمونه آب آلوده شده به کار گرفته شد. بر اساس نتیجه‌های آزمایش، بازده استخراج ترکیب‌های ارگانوکلره با ترکیب حلال هگزان نرمال و تولوئن به نسبت ۱،۱ بالاتر از بقیه بود. علت این موضوع را می‌توان ضریب توزیع بالاتر ترکیب‌های مورد نظر در این حلال دانست، افزون بر این، حلالیت هگزان نرمال در آب نسبت به سایر حلال‌ها کمتر است بنابراین، در ادامه تحقیق، این ترکیب به‌عنوان حلال استخراجی استفاده شد.

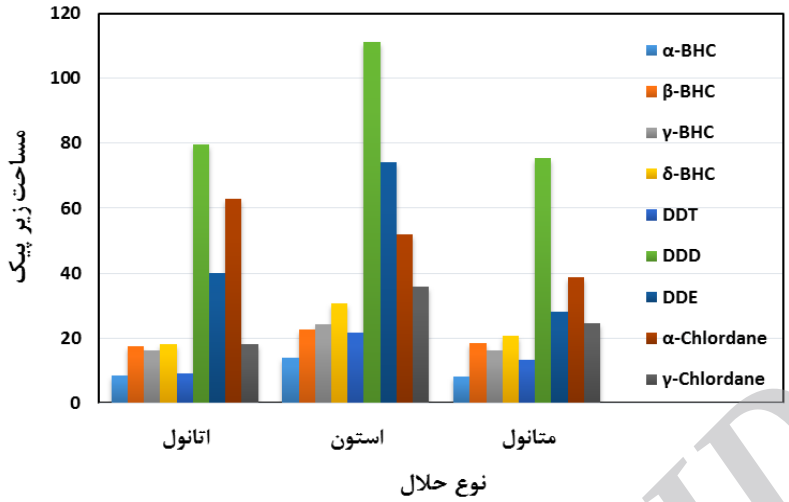
۳-۳- انتخاب حلال پخشی

در فرایند DLLME حلال پخشی باید هم در حلال استخراجی فاز آلی و هم در محلول نمونه فاز آبی قابل امتزاج باشد. لازم است که حلال استخراجی به‌صورت قطرات بسیار ریز در حلال آبی پراکنده شود تا سطح تماس زیادی بین دو فاز به وجود آید و به این ترتیب امکان مهاجرت سریع آنالیت‌ها از محیط آبی به فاز آلی فراهم شود که این شرایط با استفاده از حلال پخشی مناسب تحقق می‌یابد [۸]. بنابراین حلال‌های متداول استون، متانول و اتانول مورد آزمون قرار گرفتند. اثر این حلال‌ها بر روی بازده استخراج DLLME با استفاده از ۲/۵ میلی‌لیتر از هر حلال به همراه ۰/۵ میلی لیتر تولوئن/هگزان نرمال ۱:۱ مورد بررسی قرار گرفت، با توجه به نتایج (شکل ۳) بیشترین بازده استخراج با استفاده از استون به‌عنوان حلال پخشی به دست آمد؛

Archive of SID

www.SID.ir

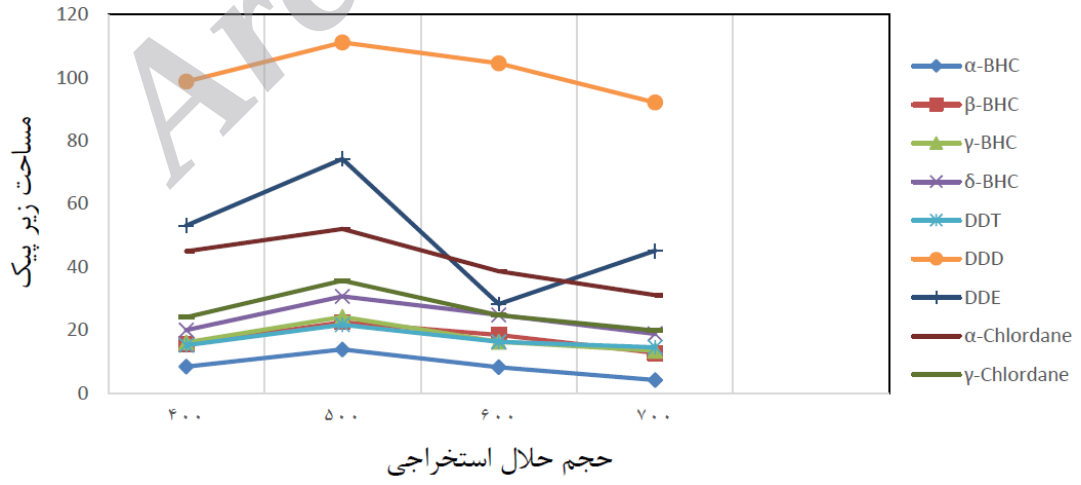
بنابراین، استون برای آزمایش‌های بعدی انتخاب شد.



شکل ۳- اثر نوع حلال پخشی بر بازده استخراج ترکیبات OCPS به دست آمده از کروماتوگرافی

۳-۴- اثر حجم حلال استخراجی

حجم حلال استخراجی استفاده شده می‌تواند بر حجم فاز آلی جمع‌آوری شده در بالای محلول آبی، تکرارپذیری نتیجه‌ها و بازده استخراج مؤثر باشد، لذا حجم حلال استخراجی در گستره ۴۰۰ تا ۷۰۰ میکرولیتر از هگزان نرمال و تولوئن مورد مطالعه قرار گرفت. همان طوری که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، با افزایش حجم حلال استخراجی از ۴۰۰ تا ۵۰۰ میکرولیتر، علامت تجزیه‌ای افزایش یافته و در حجم‌های بالاتر از ۵۰۰ میکرو لیتر سطح زیر پیک‌ها در کروماتوگرام با کاهش مواجه شد. از این رو تصمیم گرفته شد تا در تمامی آزمایش‌های بعدی حجم ۵۰۰ میکرولیتر هگزان نرمال و تولوئن به عنوان حجم بهینه حلال استخراجی مورد استفاده قرار گیرد.

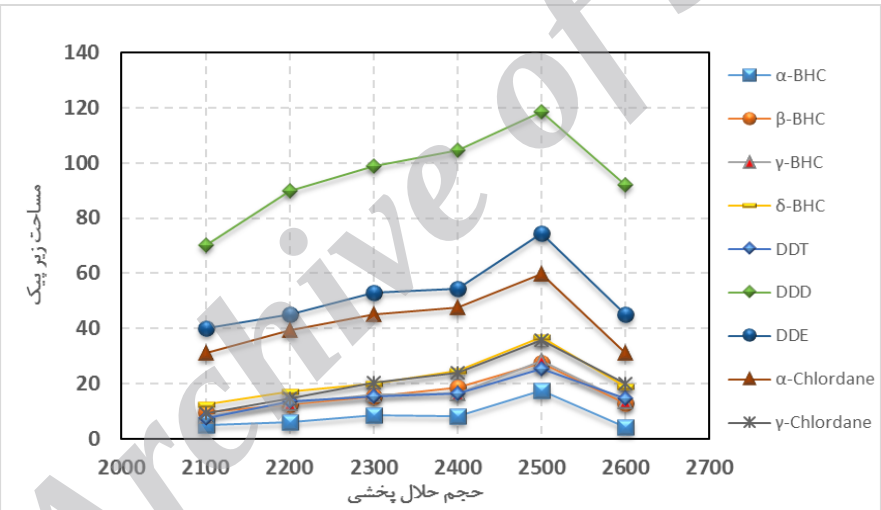


شکل۴- اثر حجم حلال استخراجی بر بازده استخراج ترکیبات OCPS به دست آمده از کروماتوگرافی

Archive of SID
www.SID.ir

۳-۵- اثر حجم حلال پخشی

حجم حلال پخشی یکی از عامل‌های مهم است که باید در DLLME در نظر گرفته شود. تغییر حجم حلال پخشی می‌تواند منجر به تغییراتی از جمله تغییر در حجم فاز آلی جمع‌آوری شده، اندازه قطرات و قطبیت فاز آبی شود. تمامی این عامل‌ها بر بازده میکرواستخراج مؤثرند، از این رو بررسی و بهینه‌سازی اثر حجم حلال پخشی ضروری است [۶]. برای این منظور، حجم‌های متفاوتی از استون ۱۸۰۰ تا ۲۸۰۰ میکرولیتر، حاوی ۵۰۰ میکرولیتر هگزان نرمال و تولوئن (حلال استخراجی) مورد آزمایش قرار گرفتند. در حجم‌های کمتر از ۲۰۰۰ میکرو لیتر، فرآیند DLLME به خوبی اجرا نمی‌شد. همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود با افزایش حجم حلال پخشی از ۲۰۰۰ تا ۲۵۰۰ میکرولیتر علامت تجزیه‌ای افزایش یافت و پس از آن کاهش علائم مشاهده شد. دلیل این موضوع این است که با افزایش حجم حلال پخشی، عمل پخش حلال استخراجی در محیط آبی نمونه بهتر انجام می‌شود که منجر به افزایش بازده استخراج و در نتیجه افزایش علامت تجزیه‌ای می‌شود. از طرفی وقتی حجم حلال پخشی از یک حد بالاتر می‌رود، مقداری از حلال استخراجی در آب محلول می‌شود و در نتیجه بازده استخراج کاهش می‌یابد. بنابراین، در ادامه تحقیق، ۲۵۰۰ میکرولیتر استون به عنوان حجم بهینه حلال پخشی مورد استفاده قرار گرفت.



شکل ۵- اثر حجم حلال پخشی بر بازده استخراج ترکیبات OCPS به دست آمده از کروماتوگرافی

۳-۶- بهینه‌سازی حجم نمونه

اثر افزایش حجم نمونه بر کارایی استخراج، با افزایش طول ستون در گستره ۷۰ تا ۱۳۰ سانتیمتر، ضمن ثابت نگه داشتن قطر داخلی لوله ۵ میلی‌متر مورد ارزیابی قرار گرفت. نتیجه‌ها نشان دادند که با افزایش طول ستون حاوی نمونه، حساسیت اندازه‌گیری به‌طور پیوسته افزایش یافته و در نتیجه کارایی استخراج زیادتر می‌شد. لازم به ذکر است که ستون‌هایی با طول بزرگ‌تر از ۱۳۰ سانتیمتر، به دلیل مشکلات جابه‌جایی بررسی نشد؛ بنابراین در ادامه تحقیق، ستون با طول ۱۳۰ سانتیمتر و قطر داخلی ۵ میلی‌متر، که گنجایش ۱۹ میلی‌لیتر از حجم نمونه آب را داشت، مورد استفاده قرار گرفت.

Archive of SID
www.SID.ir

۳-۷- اثر pH

با توجه به تحقیقات مشابه انجام شده بر روی تأثیر pH بر کارایی روش استخراج میکرواستخراج مایع مایع پراکنده [۸ و ۱۷ و ۱۸] که نشان داده‌اند pH برابر ۷ بهترین کارایی را در فرآیند استخراج داشته و با توجه به ژئوشیمی ترکیبات کلره [۱۹] که بیانگر این واقعیت است که کاهش و افزایش pH محیط تأثیر به سزایی در تخریب و تجزیه سموم کلره داشته و در نهایت با در نظر گرفتن این نکته که آب‌های منطقه نمونه‌برداری و آنالیز شده از نظر pH خنثی می‌باشند. بنابراین، در ادامه این کار پژوهشی تنظیم pH محلول ضروری نبود.

۳-۸- عامل‌های تجزیه‌ای روش میکرواستخراج پیشنهادی

برای بررسی میزان اعتبار روش میکرواستخراج پیشنهادی، عامل‌های تجزیه‌ای مانند حد تشخیص و حد تعیین مقدار، مقدار بازیابی نسبی، تکرارپذیری و گستره دینامیکی مورد مطالعه قرار گرفتند (جدول ۱). برای رسم منحنی درجه‌بندی برای روش فوق، محلول‌های استاندارد در گستره غلظتی ۰/۶ تا ۱/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر ساخته شد، سپس در شرایط بهینه‌شده میکرواستخراج، عمل استخراج بر روی این محلول‌ها صورت گرفته و در نهایت توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به شناساگر یونیزاسیون شعله اندازه‌گیری شد. در جدول ۲ به مقایسه کارایی روش استخراج پیشنهادی پرداخته شده است. گستره خطی منحنی درجه‌بندی برای ترکیب‌های ارگانوکلره در گستره ۰/۶ تا ۱/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر با ضریب همبستگی R ۰/۹۵۳ تا ۰/۹۹۵ قرار گرفت.

جدول ۱- ارقام شایستگی روش DLLME در لوله بلند برای استخراج سموم ارگانوکلره در نمونه‌های آب رودخانه

آنالیت	انحراف استاندارد نسبی (درصد)	گستره خطی منحنی درجه‌بندی (Ug/ml)	ضریب همبستگی در گستره خطی	فاکتور تغلیظ	حد تعیین مقدار (میکروگرم بر لیتر)[b]	حد تشخیص (میکروگرم در لیتر) [a]
DDT	۳/۱	۱/۴ – ۰/۶	۰/۹۸۲	۱۸۵	۳/۷	۱/۳
DDD	۳/۴	۱/۴ – ۰/۶	۰/۹۷۵	۱۸۵	۳/۴۳	۱/۱
DDE	۳/۰	۱/۴ – ۰/۶	۰/۹۹۵	۱۸۵	۳/۲	۰/۹
α-BHC	۴/۴	۱/۴ – ۰/۶	۰/۹۵۳	۱۸۵	۳/۳۳	۱/۰
β-BHC	۴/۶	۱/۴ – ۰/۶	۰/۹۷۴	۱۸۵	۳/۴۳	۱/۱
γ-BHC	۴/۵	۱/۴ – ۰/۶	۰/۹۶۳	۱۸۵	۳/۲	۰/۹
δ-BHC	۴/۸	۱/۴ – ۰/۶	۰/۹۷۶	۱۸۵	۳/۵	۱/۲
α-Chlordane	۵/۳	۱/۴ – ۰/۶	۰/۹۸۳	۱۸۵	۳/۶	۱/۲
γ-Chlordane	۵/۹	۱/۴ – ۰/۶	۰/۹۶۰	۱۸۵	۳/۱	۰/۸

[a] limit of detection for a S/N = 3 [b] limit of quantification for a S/N = 10

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- مقایسه کارایی روش پیشنهادی برای استخراج ترکیبات ارگانوکلره در مقایسه با روش‌های دیگر

روش استخراج	زمان استخراج	میزان حلال استخراجی	درصد بازیابی	مرجع
DLLME در لوله باریک	۳ دقیقه	۳ *میلی* لیتر	۹۳-۹۸ درصد	روش حاضر
DLLME	۱۰ دقیقه	۱۲ میلی لیتر	۸۸-۱۱۳	[۲ و ۸ و ۱۱]
MAE	۱۰-۳۰ دقیقه	۳۰ میلی لیتر	۸۰-۱۰۰	[۱۴]
SPME	۲ ساعت	۱۱ میلی لیتر	۶۰-۱۱۲	[۱۷]
سوکسیله	۲۴-۴۸ ساعت	۵۰۰ میلی لیتر	۷۰-۱۱۰	[۱۸]

۳-۹- اندازه‌گیری نمونه‌های حقیقی

برای بررسی کارایی روش DLLME ارائه‌شده، از این روش بهینه‌سازی شده برای استخراج ترکیب‌های OCPS از نمونه‌های آب رودخانه سوسرروگا بندرانزلی (گیلان) و آنالیز توسط GC-FID استفاده شده است. شناسایی سموم و ترکیبات آلی موجود در نمونه‌های واقعی از طریق ترسیم منحنی کالیبراسیون سطح زیر پیک نمونه به سطح زیر پیک استاندارد به عنوان پاسخ تجزیه‌ای برای محاسبه غلظت استفاده شد. بازیابی نسبی به‌صورت نسبت پاسخ تجزیه‌ای در نمونه‌های حقیقی و نمونه محلول استاندارد محاسبه شد. نتایج برای نمونه‌های آب رودخانه نشان داد که فاقد ترکیبات ارگانوکلره می‌باشد (ND)، به همین دلیل برای بررسی تأثیر ماتریکس، نمونه‌های آب رودخانه با استاندارد سموم ارگانوکلره به غلظت ۰/۶ ug/ml آلایش یافته و سپس فرآیند استخراج بر روی آن‌ها صورت پذیرفت. نتایج در جدول ۳ ارائه شده است. بازیابی خوبی در دامنه ۹۳/۱ تا ۹۸/۶ درصد به دست آمد که نشان از اثر اندک بافت نمونه بر کارایی روش DLLME پیشنهادی دارد.

جدول ۳- نتایج به دست آمده روش DLLME در لوله بلند برای سموم ارگانوکلره در نمونه‌های آب رودخانه

سموم ارگانوکلره	غلظت مشاهده شده در نمونه آب رودخانه	غلظت افزوده شده Ug/ml	غلظت به دست آمده پس از آلایش	درصد بازیابی
DDT	ND [a]	۰/۶	۰/۵۵۹	۹۱/۳
DDD	ND	۰/۶	۰/۵۸۶	۹۷/۶
DDE	ND	۰/۶	۰/۵۸۳	۹۷/۱
α-BHC	ND	۰/۶	۰/۵۸۱	۹۶/۸
β-BHC	ND	۰/۶	۰/۵۸۴	۹۷/۳
γ-BHC	ND	۰/۶	۰/۵۹۱	۹۸/۵
δ-BHC	ND	۰/۶	۰/۵۶۱	۹۳/۵
α-Chlordane	ND	۰/۶	۰/۵۹۲	۹۸/۶
γ-Chlordane	ND	۰/۶	۰/۵۶۹	۹۴/۸

[a] Not Detected

Archive of SID

www.SID.ir

۴- نتیجه‌گیری

در این مقاله روش جدید DLLME در یک ستون باریک برای پیش تغلیظ و استخراج مقادیر بسیار کم ترکیب‌های ارگانوکلره در نمونه‌های آب به‌صورت موفقیت‌آمیز استفاده و معرفی شد. زمان صرف شده برای آماده‌سازی نمونه بدون تأثیر مخرب بر حساسیت روش، حداقل مقدار بود. افزون بر این، از مصرف بیش از اندازه حلال‌های آلی سمی مانند حلال‌های آلی کلره اجتناب شده است (که از حلال‌های رایج در روش DLLME است). همچنین، برخلاف روش‌های مرسوم DLLME در روش ارائه شده، با استفاده از لوله باریک به عنوان واحد استخراج کننده، به عنوان یک راه کار ساده، می‌توان افزون بر حذف مرحله وقت‌گیر سانتریفوژ، از حلال‌های سبک‌تر از آب نیز به عنوان حلال استخراجی استفاده کرد و به این ترتیب قابلیت DLLME را در استفاده از انواع متفاوت حلال‌ها افزایش داد. حد تشخیص خوب و گستره خطی بودن به آسانی در این روش به دست می‌آید. این روش دارای چندین مزیت مهم است؛ از جمله آنها سریع بودن، ارزان بودن، استفاده از حجم کم حلال‌های مخرب محیط زیست و نیاز به تجهیزات ساده که به راحتی در هر آزمایشگاهی در دسترس است. با توجه به این حقیقت که در این روش از دستگاه‌های پیچیده استفاده نمی‌شود، امکان تجزیه نمونه‌ها را در بیشتر آزمایشگاه‌های تجزیه‌ای فراهم می‌کند. این روش می‌تواند برای اندازه‌گیری برخی دیگر از ترکیب‌ها در نمونه‌های متفاوت مورد استفاده قرار گیرد.

۵- مراجع

[1] C. Qu, S. Qi, D. Yang, H. Huang, J. Zhang, W. Chen, H. K. Yohannes, E. Hinga Sandy, J. Yang, X. Xing, *Journal of Geochemical Exploration*, 43–51 , (2014), Volume 149.

[2] C. Cortada, L.Vidal, R. Pastor, N. Santiago, A. Canals, *Analytica Chimica Acta* , 218–221, (2009), 649.

[3] O. Arias, C. Rombaldi, S. Souza Caldas, E. Gilberto Prime, *Journal of Chromatography A*, 66–75, (2014), 1360.

[4] M. Zaater, Y. Tahboub, S. Qasrawy, *Analytical letters*, 2231-2245 (2005), No 38.

[5] A. Asghari, S. A. Beydokhti , M Rajabi, *Journal of Applied Chemistry*, 111-124, (2016), Vol. 10, No. 37.

[6] J. Hu, L. Fu, X. Zhao, X. Liu, H. Wang, X. Wang, L. Dai, *Analytica Chimica Acta*, 100–105, (2009), 640.

[7] M. Rajabi and M. Ghazaghi, *Journal of Applied Chemistry*, 21-26, (2013), Vol. 8, No. 27.

[۸] م. رحمانی و م. یکخوائی، *نشریه پژوهش‌های کاربردی در شیمی JARC* ، شماره ۴ ، سال هفتم، (۱۳۹۲)، صفحه ۲۵-۳۲.

[9] B. Barfi, A. Asghari, M. Rajabi, *Journal of Applied Chemistry*, 51-57, (2014), Vol. 8, No. 29.

[10] C. Basheer, K. H. Lee, P. J. Obbard, *J Chromatogr A*, 161-179, (2004), 1022.

[11] M. Rezaee, Y. Assadi, M. Milani Hosseini, E. Aghaee, F. Ahmadi, S. Berijani, *Journal of Chromatography A*, 1–9 ,(2006), 1116.

Archive of SID

www.SID.ir

[۱۲] الف. جاودان خرد، ع. اسماعیلی ساری، ن. بهرامی فر، *فصلنامه علمی محیط زیست*، شماره ۵۰، (۱۳۹۰)، ص۳۹-۵۳.

[13] Y. Yu, Y. Li, Z. Shen, Z. Yang, L. Mo, Y. Kong, I. Lou, *Chemosphere*, 136–143, (2014), 114.

[14] K. C. Zacharis, I. Rotsias, G.P. Zachariadis, A. Zotos, *Food Chemistry*, 1665–1672, (2012), 134.

[15] S. Gaber, *World Applied Sciences Journal*, 1911-1916, (2014), 31.

[16] E. Zeini Jahromi, A. Bidari, Y.Assadi, M. Milani Hosseini, M. Jamali, *Analytica Chimica Acta*, 305–311, (2007), Volume 585.

[17] M. L. Nollet and H. Singh Rathore, *CRC Press, Taylor & Francis Group*, (2009), FL 2742-3487.

[۱۸] پ. خرم، دانشگاه تبریز، ، *پایان نامه کارشناسی ارشد*، دانشکده شیمی، (۱۳۸۹) ، ۱۰۰ صفحه

[19] J. E. Barbash and W. A. Tacoma, *United States Geological Survey USA*, 2007.

[20] J. Merib, A. N. Dias, V.Simão , E. Carasek, *Journal of the Brazilian Chemical Society*,1674-1683, (2015), Vol. 26, No. 8

[21] Environmental Protection Agency (EPA), (1996), Method 8081A.

Archive of SID

www.SID.ir