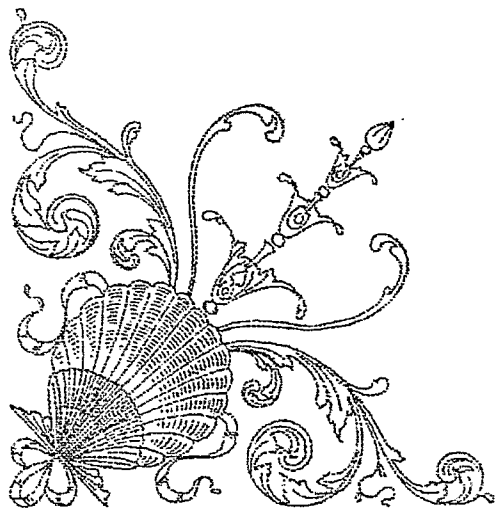
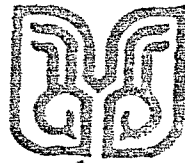




بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



۱۳۸۰ / ۱۲ / ۲۲



دانشگاه شهید بهشتی

دانشکده علوم - بخش شیمی

رئیس هیئت مدیره  
موسسه تخصصی  
پژوهش و فناوری

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

تحت عنوان:

تعیین بنزو (a) پیرن در دود سیگار، تنباکو، آگزوز موتورسیکلت و یک نمونه آب

توسط میکرو استخراج فاز جامد با استفاده از پوشش  $C_{18}$

و کروماتوگرافی گازی (SPME-GC)

۴.۲۵۲

استاد راهنما:

دکتر ابراهیم نوروزیان

نگارش:

علی اکبر پورولی عرب

016979

شهریورماه ۱۳۸۰

تایپ و تکثیر هنگامه ۱۷۴۷۷

بسمه تعالی

این پایان نامه

به عنوان یکی از شرایط احراز درجه کارشناسی ارشد

به

بخش شیمی

دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان

تسلیم شده است و هیچ گونه مدرکی بعنوان فراغت از تحصیل دوره مزبور شناخته نمی شود.

دانشجو: علی اکبر پورولی

استاد راهنما: آقای دکتر ابراهیم نوروزیان

توزیع

دور ۱: آقای دکتر علی مصطفوی

دور ۲: آقای دکتر سعید راضی

دور ۳: آقای دکتر سعید راضی



حق چاپ محفوظ و متعلق به مولف است.



به ساحت مقدس آقا امام زمان (عج) و پیروان حق و حقیقت  
به روان پاک پدر فقیه دانشگاه، مهندس علیرضا افضلی پور که با همت والای  
خود زیباترین جلوه ایثار و خدمت به جامعه را متبلور ساخت.  
به مادر گواهمیم که نخستین و بهترین آموزگار من در گفتار، پندار و کردارم بود.  
به پدر بزرگوارم که در راه تحصیل من از هیچ کوششی دریغ نکرد.  
به همسر عزیز و مهربانم که با صبر و متانت کانون خانواده را با گرمی مهر و  
صمیمیت خود در آمیخت تا در سایه همدلی و همراهیش این دوره از تحصیلات  
دانشگاهی را به اتمام برسانم.  
به فرزند دردانه دلبندم محمد امین که تمام ایام این دوره پرنج و زحمت را  
به کام ما شیرین ساخت.

## تشکر و قدردانی:

سپاس و ستایش بی‌کران و حمد و ثنای بی‌پایان پروردگاری همتا را که به من توفیق عطا فرمود دوره دیگری از تحصیلات دانشگاهی را با موفقیت به پایان برسانم از او می‌خواهم که مرا در خدمت صادقانه به جامعه‌ام یاری فرماید.

برای من بسی مایه افتخار است که برخی از دروس کارشناسی و کارشناسی ارشد و همچنین پایان نامه دوره کارشناسی ارشد را تحت راهنمایی‌های مدبرانه و ارزشمند جناب آقای دکتر ابراهیم نوروزیان به اتمام رسانده‌ام و لازم است که از زحمات بی‌شائبه ایشان در طول دوران تحصیل در دانشگاه شهید باهنر کرمان و همچنین از رهنمودهای علمی و کمکهای بی‌دریغ این استاد بزرگوار در پیشرفت کار پایان نامه از صمیم قلب تشکر و قدردانی نمایم و امیدوارم که خداوند بزرگ وجود پر برکت ایشان را برای جامعه شیمی کشور حفظ نماید. از اساتید گرانقدر جناب آقای دکتر مصطفوی و جناب آقای دکتر راضی که داوری این پایان نامه را پذیرفتند و در جلسه دفاع از رهنمودهای ارزشمند آنها بهره‌افز برده‌ام، صمیمانه سپاسگزارم.

از تمام اساتید محترم بخش شیمی که افتخار بهره‌گیری از دانش آنها را داشته‌ام، تشکر می‌نمایم. بدون شک موفقیت من در این دوره مرهون فداکاریهای بی‌دریغ و تحمل سختیها توسط همسر عزیزم می‌باشد. صبر و بردباری، محبت و گذشت ایشان بزرگترین تکیه‌گاه امن من در دوران تحصیل بودند که با وجود آن این توفیق حاصل شد. از محبت‌های بی‌دریغ ایشان بینهایت سپاسگزارم و با تمام وجود تشکر و قدردانی می‌نمایم و برایشان آرزوی سعادت، سلامت و موفقیت دارم.

از سرکار خانمها پورشیخعلی و رضایی بخاطر نظم و دقت در تایپ این پایان نامه و همچنین زحمات ایشان سپاسگزارم و سعادت و سلامت ایشان را از خداوند بزرگ خواهانم همچنین از زحمات جناب آقای خالوئی سپاسگزارم.

علی اکبر پورولی عرب

شهریورماه ۱۳۸۰

## خلاصه

ترکیبات آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs) از مهمترین آلاینده‌های محیط زیست هستند که در فرآیند سوختن مواد آلی کربن دار در دماهای مختلف تشکیل می‌شوند. منابع سوخت شامل آگروز اتومبیل‌ها، فرایندهای صنعتی، سیستم‌های گرم‌کننده خانگی، سوزاندن زباله‌ها، دود سیگار و تنباکو و برخی منابع طبیعی مانند آتش سوزی جنگل‌ها و پدیده آتشفشان می‌باشند. PAHها در بسیاری از بافتها مانند هوا، آب، دود، رسوبات و غیره اندازه‌گیری شده‌اند، زیرا برخی از آنها به عنوان مواد جهش‌زا و سرطانزا شناخته شده‌اند. بخاطر اهمیت سلامتی انسان، تعیین کیفی و کمی مواد سمی و سرطانزا در دود سیگار و تنباکو، اغلب موضوع تحقیقات گسترده می‌باشد.

بنزو (a) پیرن یکی از کاراترین مواد سرطانزای شناخته شده می‌باشد که در اثر سوخت ناقص مواد آلی مانند زغال سنگ، نفت و تنباکو تولید می‌شود.

بخاطر اینکه دود یک محیط پیچیده است و غلظت آنالیت‌های موجود در آن در حد مقادیر کمی می‌باشند، لذا مرحله تهیه و آماده سازی نمونه قبل از عمل آنالیز بسیار مهم و ضروری می‌باشد. در اغلب مطالعات، تکنیک‌هایی مانند استخراج مایع - مایع (LLE)، استخراج فاز جامد (SPE) برای استخراج آنالیت‌ها قبل از آنالیز بکار رفته‌اند. این روش‌ها باید شامل فرایندهای پاکسازی قوی باشند که مستلزم وقت فراوان می‌باشد. همچنین در این فرایندها، بخصوص در استخراج مایع - مایع، مقدار زیادی از حلال‌های آلی مصرف می‌شود. این حلال‌ها خطرناک بوده و محیط اطراف و سلامتی انسان را با خطر روبرو می‌کنند و خیلی گران می‌باشند. بنابراین، توسعه یک روش جدید، ساده، سریع و بدون حلال مد نظر می‌باشد.

میکرواستخراج فاز جامد (SPME) یک روش استخراجی جدید، ارزان، سریع و بدون حلال می‌باشد. در این تکنیک، زپوشش نازک که بر روی یک فیبر نوری قرار داده شده جهت استخراج

استفاده می‌شود. این پوشش در معرض فاز آبی یا فضای فوقانی فاز آبی یا جامد و یا فاز گازی قرار گرفته و آنالیتها توسط پوشش استخراج می‌شوند. آنالیتها بین بافت نمونه و پوشش تا زمانی که تعادل حاصل شود، توزیع می‌شوند. سپس فیبر وارد محفظه تزریق یک دستگاه کروماتوگراف گازی شده و آنالیتها در محفظه تزریق داغ GC به صورت گرمایی واجذب شده و بلافاصله عمل آنالیز شروع می‌شود.

در کار حاضر تکنیک میکرواستخراج فاز جامد (SPME) با استفاده از دو پوشش  $C_{18}$  و گرافیت برای تعیین بنزو (a) پیرن در دود سیگار، دود تنباکو، دود آگزوز موتورسیکلت و همچنین یک نمونه آب استفاده شد. همه آنالیزها توسط دستگاه کروماتوگراف گازی مجهز به ستون موئینه و آشکار ساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID) انجام شدند. تاثیر چندین پارامتر بر کارایی استخراج مانند زمان استخراج، دمای واجذبی، زمان واجذبی، تعداد استخراج از یک محلول و اثر افزایش نمک بر فاز آبی مطالعه شد. تحت شرایط بهینه، گستره خطی روش، در غلظتهای  $0/0005$  تا  $0/1$  میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد. انحراف استاندارد نسبی روش کمتر از ۱۲ درصد بود. حد تشخیص بنزو (a) پیرن در نمونه‌های آبی در حد  $0/07 \text{ ng/ml}$  و درصد بازیابی آن در حدود  $87/5$  درصد اندازه‌گیری شد.

با مقایسه پوشش‌های  $C_{18}$  و گرافیت جهت استخراج بنزو (a) پیرن، مشخص شد که بخاطر فرایند واجذبی نامطلوب این ترکیب از پوشش گرافیت، این پوشش جهت استخراج ترکیب فوق نامناسب بوده و در شرایط یکسان با پوشش  $C_{18}$ ، حساسیت‌های کمتری حاصل می‌شود. غلظت بنزو (a) پیرن در محلولهای آبی دود سیگار، دود تنباکو، دود آگزوز و یک نمونه آب به ترتیب،  $2/74 \text{ ng/ml}$  یا  $27/4 \text{ ng/cigarette}$ ،  $4/4 \text{ ng/ml}$ ،  $3/5 \text{ ng/ml}$ ،  $1/76 \text{ ng/ml}$  تعیین شد.

عنوان	صفحه
-------	------

### فصل اول: مقدمه (Introduction)

- ۱-۱ مضرات سیگار، ضرورت تعیین کیفی و کمی مواد سمی و سرطانزا در آن ..... ۲
- ۲-۱ بنزو (a) پیرن و خصوصیات آن ..... ۶
- ۳-۱ مکانیسم سرطانزایی بنزو (a) پیرن در انسان ..... ۷
- ۴-۱ مروری بر روشهای استخراج، جداسازی و اندازه‌گیری بنزو (a) پیرن ..... ۱۱

### فصل دوم: کروماتوگرافی گازی (Gas Chromatography)

- ۱-۲ اصول روشهای کروماتوگرافی ..... ۲۲
- ۲-۲ کروماتوگرافی گازی ..... ۲۳
- ۳-۲ مفاهیم اساسی در کروماتوگرافی ..... ۲۵
- ۱-۳-۲ پهنای پیک ..... ۲۶
- ۲-۳-۲ تفکیک ..... ۲۷
- ۴-۲ اجزاء اصلی یک دستگاه کروماتوگراف گازی ..... ۲۸
- ۱-۴-۲ گاز حامل ..... ۲۸
- ۲-۴-۲ کنترل کننده جریان گاز حامل ..... ۲۹
- ۳-۴-۲ سیستمهای ورود نمونه یا تزریق ..... ۳۰
- ۱-۳-۴-۲ سیستمهای تزریق نمونه برای ستونهای پرشده ..... ۳۲
- ۲-۳-۴-۲ سیستمهای ورود نمونه برای ستونهای موئینه ..... ۳۳
- ۱-۲-۳-۴-۲ تزریق انشعابی ..... ۳۳
- ۲-۲-۳-۴-۲ تزریق غیرانشعابی ..... ۳۴
- ۳-۲-۳-۴-۲ تزریق سرستونی ..... ۳۵



۳۷	۲-۴-۴ ستونهای کروماتوگرافی.....
۳۷	۲-۴-۴-۱ دسته بندی ستونها.....
۳۸	۲-۴-۴-۲ معادله ارتفاع تشتکهای فرضی برای ستونهای موئینه.....
۳۹	۲-۴-۴-۳ سرعت جریان گاز حامل در ستونهای موئینه.....
۴۰	۲-۴-۴-۴ حداقل ارتفاع تشتکهای فرضی و سرعت بهینه گاز حامل.....
۴۱	۲-۴-۴-۵ خصوصیات فاز ساکن.....
۴۳	۲-۴-۵ دما در کروماتوگرافی گازی.....
۴۳	۲-۴-۵-۱ دمای بخش تزریق.....
۴۳	۲-۴-۵-۲ دمای آشکارساز.....
۴۴	۲-۴-۵-۳ دمای ستون.....
۴۶	۲-۴-۵-۴ دمای ثابت در مقابل برنامه ریزی دمایی در ستون.....
۴۷	۲-۴-۶ آشکار سازها.....
۴۸	۲-۴-۶-۱ آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID).....

### فصل سوم: میکرواستخراج فاز جامد (Solid-Phase Microextraction)

۵۳	۳-۱ میکرواستخراج فاز جامد.....
۵۳	۳-۱-۱ مقدمه.....
۵۴	۳-۱-۲ دسته بندی روشهای آماده سازی نمونه بدون حلال.....
۵۵	۳-۱-۳ میکرواستخراج فاز جامد.....
۵۶	۳-۱-۴ ساختار ابزار SPME اولیه.....
۵۸	۳-۱-۵ انواع روشهای میکرواستخراج فاز جامد.....
۶۲	۳-۱-۶ اصول استخراج SPME.....

۶۲	۱-۶-۱-۳ ترمودینامیک SPME
۶۲	۱-۱-۶-۱-۳ تعادل چند فازی در SPME
۶۸	۲-۱-۶-۱-۳ تأثیر پارامترهای استخراج بر کارایی استخراج SPME
۶۸	۱-۲-۱-۶-۱-۳ دما
۷۰	۲-۲-۱-۶-۱-۳ افزایش نمک
۷۱	۳-۲-۱-۶-۱-۳ اثر pH
۷۱	۴-۲-۱-۶-۱-۳ اثر پلاریته بافت نمونه و مواد تشکیل دهنده پوشش
۷۳	۳-۱-۶-۱-۳ استفاده از نتایج تجربی
۷۳	۱-۳-۱-۶-۱-۳ غلظت
۷۳	۲-۳-۱-۶-۱-۳ همزدن
۷۵	۳-۳-۱-۶-۱-۳ ضخامت پوشش فیبر
۷۶	۴-۳-۱-۶-۱-۳ ثابت توزیع
۷۷	۵-۳-۱-۶-۱-۳ دما

### فصل چهارم: بخش تجربی (Experimental)

۸۰	۱-۴ وسایل مورد استفاده
۸۰	۲-۴ مواد مورد استفاده
۸۱	۳-۴ تهیه محلولهای ذخیره و استاندارد
۸۱	۴-۴ آماده سازی دستگاه کروماتوگراف گازی
۸۴	۵-۴ تعیین زمان بازداری بتزو (a) پیرن
۹۰	۶-۴ طراحی و ساخت ابزار SPME
۹۲	۷-۴ استخراج با استفاده از ابزار SPME

۹۲	۴-۷-۱ مدت استخراج و تاثیر آن بر روی میزان استخراج آنالیت
۹۵	۴-۷-۲ دمای واجذبی آنالیتها از سطح پوشش
۹۷	۴-۷-۳ زمان واجذبی آنالیتها از پوشش فیبر
۹۹	۴-۷-۴ انتخاب پوشش مناسب
۱۰۰	۴-۷-۵ اصلاح بافت نمونه
	۴-۷-۶ بررسی تعداد استخراج ممکن از یک محلول مشخص و تاثیر پوشش بر روی میزان
۱۰۳	استخراج
۱۰۵	۴-۷-۷ مقایسه پوشش گرافیتی با پوشش C18
۱۰۸	۴-۸-۱ ارزیابی روش
۱۰۸	۴-۸-۱ تعیین گستره خطی روش
۱۱۱	۴-۸-۲ تکرارپذیری روش
۱۱۲	۴-۸-۳ تعیین حد تشخیص روش
۱۱۶	۴-۹-۱ کاربرد روش SPME در آنالیز نمونه‌های حقیقی
۱۱۶	۴-۹-۱ رسم منحنی کالیبراسیون
۱۱۷	۴-۹-۲ اندازه‌گیری بنزو (a) پیرن در دود سیگار
۱۲۲	۴-۹-۳ اندازه‌گیری بنزو (a) پیرن در آب قلیان
۱۲۴	۴-۹-۴ اندازه‌گیری بنزو (a) پیرن در دود خروجی از اگزوز موتور سیکلت
۱۲۶	۴-۹-۵ اندازه‌گیری بنزو (a) پیرن در آب چاه
۱۲۸	۴-۹-۶ تعیین درصد بازیابی
۱۲۹	۴-۱۰ بحث و نتیجه‌گیری
۱۴۳	۴-۱۱ پیشنهادات برای تحقیقات آینده
۱۴۴	مراجع

# فصل اول

مقدمه

*(Introduction)*

## ۱-۱ مضرات سیگار، ضرورت تعیین کیفی و کمی مواد سمی و سرطانزا در آن [۱]

مسئله سیگار، مسئله‌ای جهانی است که بدلیل پیامدها و عوارض ناگوار آن توجه زیادی به آن معطوف شده است. این معضل تنها به چند کشور و منطقه محدود نشده، بلکه مشکلی است که گریبانگیر کل جامعه بشری است و برای حل آن عزمی راسخ و جهانی مورد نیاز است.

هر فرد به تنهایی در برابر این قضیه مسئول است و باید در حد توان خویش جهت رفع آن بکوشد. بنابراین، جهت آشنایی بیشتر با عوارض و خطرات مصرف سیگار، اهم یافته‌های پژوهشی در این رابطه در ذیل ارائه می‌شود.

سیگار از عوامل اصلی مرگ زودرس می‌باشد. مرگ زودرس به معنی از دست دادن بیش از ده سال از زندگی فعال انسان است. همچنین، سیگار می‌تواند باعث ایجاد بیماریهای مزمن از قبیل سرفه و تنگی نفس دائمی شود. امید به زندگی سیگاریهایی که در اثر کشیدن سیگار، قبل از ۷۰ سالگی می‌میرند، ۲۲ سال کمتر از میزان طبیعی است. از بین تمام بیماریهای منسوب به استعمال سیگار و تنباکو، سرطان ریه شایعترین آنها شناخته شده است. این سرطان خطرناک‌ترین نوع سرطان از نظر درمان و آسانترین سرطان از نظر پیشگیری است.

احتمال ابتلاء به سرطان ریه در یک فرد سیگاری ۴۰ برابر بیشتر از یک فرد غیرسیگاری است. این امر به تعداد سیگار مصرفی روزانه و طول مدت استعمال آن بستگی دارد.

کشیدن سیگار خطر ابتلاء به بسیاری از انواع دیگر سرطان مانند سرطانهای دهان، حلق، مری، مثانه و لوزالمعده را افزایش می‌دهد. استعمال سیگار با ایجاد یا تشدید بیماریهای قلبی و برونشیت، موجب مرگ و میرهای بسیار می‌شود. افراد سیگاری ۳۰ تا ۵۰ ساله، پنج برابر، بیشتر از غیر سیگاریها در معرض حمله قلبی قرار دارند. عادت به سیگار همچنین با یائسگی زودرس، پوکی استخوان در زنان سالمند، و پیری زودرس ارتباط نزدیک دارد. علاوه بر این، استعمال

دخانیات بویژه در زنان موجب بروز آمفیزم و برونشیت می شود. پژوهشها نشان می دهند که این بیماریها در زنان سیگاری، نسبت به زنان همسن و سال غیرسیگاری و حتی مردان همسال سیگاری، به مراتب بیشتر است. افراد سیگاری چهار مرتبه بیشتر از افراد غیر سیگاری، به عفونت های تهدیدکننده نظیر عفونت های خونی یا مننژیت مبتلا می شوند. نتایج مطالعات نشان می دهد که خطر ابتلاء به عفونت های زودرس در افراد سیگاری به مراتب بیشتر از افراد غیرسیگاری است. هر چه میزان کشیدن سیگار افزایش یابد، درصد ابتلاء به بیماریهای فوق نیز افزایش خواهد یافت.

کشیدن سیگار بر جنین انسان نیز اثر می گذارد و در نتیجه بچه های افراد سیگاری، نارس به دنیا می آیند.

در فضاهای بسته دود سیگار موجب آلودگی هوا شده و به افراد غیرسیگاری بخصوص کودکان زیانهای غیرقابل جبرانی وارد می کند. دود سیگار محتمل است در زنان باردار باعث سقط جنین شود. کودکان خانواده های سیگاری اغلب دچار برونشیت، سرفه های مزمن، ذات الریه و گاهی نوعی بیماری گوش که منجر به کری آنها می شود، می گردند. استفاده از دخانیات یکی از علل مهم بیماریهای قلبی، سکته مغزی، بیماریهای عروقی، بیماریهای انسدادی مزمن ریه و سایر بیماریهای تنفسی و همچنین تولد نوزادان با وزن کم می شود.

دود سیگار دارای چندین ماده شیمیایی عمده است که بر بخشهای مختلف بدن اثرات سوئی بر جای می گذارند. بعضی از این ترکیبات عبارتند از نیکوتین، آرسینیک، د.د.ت، فرم آلدئید، منواکسیدکربن، رادیکالهای آزاد، بنزو (a) پیرن و غیره [۲].

این مواد جزء کوچکی از ۴۰۰۰ نوع ماده شیمیایی هستند که در دود سیگار شناخته شده اند. تاکنون تعداد زیادی از مواد سمی و سرطانزای موجود در دود سیگار تعیین و

اندازه گیری شده است.

بعنوان مثال، نیکوتین موجود در سیگار ماده‌ای است که به کمک حرارت تبخیر شده و از نظر ساختمانی از گروه آکالوئیدهای سمی و خطرناک مانند مرفین و هروئین می باشد. این ماده با تأثیر بر مغز و سیستم اعصاب به بروز اعتیاد در فرد سیگاری منجر می شود. مقدار نیکوتین موجود در انواع مختلف برگ توتون حدود یک تا دو درصد می باشد. مقدار این ترکیب خطرناک در دود یک عدد سیگار، بسته به نوع آن از دو تا چهار میلی گرم متغیر است.

این ماده سمی و خطرناک به هیچ وجه با ساختمان محیط زنده سلولی تجانس نداشته و مورد استفاده سلول قرار نمی گیرد، لذا بدن برای تحمل این سم مهلک نیروی زیادی مصرف می کند تا با آن سازگار شده و آثار سوء آنرا خنثی نماید و تعادل خود را از دست ندهد.

اعتیاد به سیگار یکی از شایعترین انواع اعتیاد در سراسر دنیا است. دود سیگار مسبب ۸۲ درصد از بیماریهای مزمن دستگاه تنفسی، سرطانهای ریه و ناراحتی های قلبی است. چون تشخیص سرطان ریه در مراحل اولیه مشکل است و درمان موثری نیز نداشته و اغلب کشنده است، چنانچه در جامعه‌ای کشیدن سیگار منع شود، سرطانهای ریه، بیماریهای قلبی و غیره بطور چشمگیری کاهش می یابد. استعمال سیگار نه تنها فرد سیگاری را در معرض مواد مضر و سمی قرار می دهد، بلکه استنشاق مواد حاصل از سوختن سیگار و یا بازدم فرد سیگاری اطرافیان را نیز به مخاطره می اندازد. بررسی های انجام شده نشان می دهد که خطر ابتلاء به سرطان ریه در زنانی که با مردان سیگاری ازدواج کرده‌اند که روزانه ۲۰ عدد یا بیشتر سیگار می کشند، دو تا سه برابر بیشتر از زنانی است که با مردان غیر سیگاری ازدواج کرده‌اند. در سال ۱۹۸۶ تعداد ۳۸۰۰ مورد سرطان ریه در افراد غیر سیگاری آمریکا که در معرض غیرمستقیم دود سیگار قرار داشته‌اند