



پایان نامه کارشناسی ارشد  
گرایش شیمی تجزیه

اندازه گیری مقادیر بسیار کم جیوه پس از مشتق سازی با  
فنیل بورانیک اسید و استفاده از تکنیک میکرو استخراج مایع  
با به کارگیری روش گاز مایع کروماتوگرافی

استاد راهنما:

جناب آقای دکتر علی سرافراز یزدی

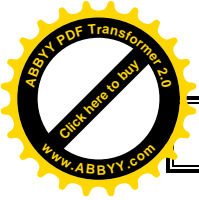
استاد مشاور:

سرکار خانم دکتر زرین اسحاقی

تحقیق و نگارش:

سلماز بنی ها شمی

تابستان 1387



---

فصل اول : مقدمه

نکاتی پیرامون جیوه و اهمیت اندازه گیری آن در منابع زیست محیطی

---

2	1-1- مقدمه
3	2-1- کاربردهای جیوه
3	1-2-1- کاربردهای جیوه در صنعت و پزشکی
4	2-2-1- تهیه ملغمه
5	3-1- بیماریهای ناشی از قرارگیری در معرض جیوه
5	4-1- سمیت ترکیبات مختلف جیوه
6	5-1- برخی از روشهای اندازه گیری جیوه
6	1-5-1- روش تولید بخار سرد اتمی
7	2-5-1- روش کروماتوگرافی
8	3-5-1- روش الکتروشیمیایی

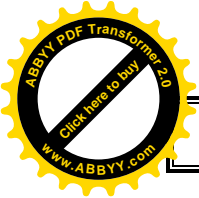
---

فصل دوم : بخش تئوری

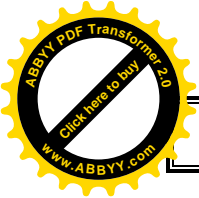
مروری بر روشهای استخراج و آماده سازی نمونه

---

10	1-2- مقدمه ای بر روشهای آماده سازی نمونه
10	2-2- استخراج
11	3-2- استخراج و اندازه گیری آنالیت ها در فاز گازی
11	2-3-1- به تله انداختن آنالیت های فرار



12	2-3-2- تجزیه به روش فضای فوقانی
12	4-2- استخراج آنالیت ها از نمونه های جامد
12	1-4-2- سوکسوله
12	2-4-2- استخراج با حلال
13	1-2-4-2- استخراج با حلال تسریع شده
13	2-2-4-2- استخراج به کمک امواج ما فوق صوت وریز موج
13	3-2-4-2- استخراج با سیال فوق بحرانی
14	5-2- استخراج آنالیت ها از فاز محلول
14	1-5-2- روشهای به تله انداختن آنالیت ها
14	1-1-5-2- استخراج با فاز جامد
15	2-1-5-2- استخراج با بهم زن مغناطیسی
16	2-5-2- استخراج آنالیت ها به درون فاز مایع
16	1-2-5-2- استخراج توسط غشاء
16	2-2-5-2- استخراج به روش گاز زدایی و به تله انداختن
17	6-2- روشهای میکرو استخراج
17	1-6-2- میکرو استخراج با فاز جامد
17	1-1-6-2- اصول روش
19	2-1-6-2- روش های نمونه برداری در SPME
20	3-1-6-2- انتخاب پوشش فیبر در SPME
20	4-1-6-2- مزایا و معایب میکرو استخراج با فاز جامد
21	2-6-2- روشهای میکرو استخراج با فاز مایع



- 21 1-2-6-2- میکرو استخراج با قطره
- 25 2-2-6-2- LPME با استفاده از سیستم سه فازی
- 27 3-2-6-2- میکرو استخراج با جریان پیوسته
- 28 4-2-6-2- میکرو استخراج با فاز مایع بوسیله فیبر تو خالی
- 29 5-2-6-2- میکرو استخراج مایع - مایع پراکنده شده

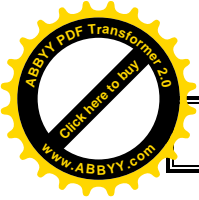
---

فصل سوم : بخش تجربی

میکرو استخراج با فاز مایع – مدل قطره

---

- 34 1-3- مواد شیمیایی و حلال های آلی مورد استفاده
- 34 2-3- تهیه محلول های استاندارد
- 34 1-2-3- تهیه دی فنیل مرکوری
- 35 2-2-3- آماده سازی محلول های استاندارد و روزانه
- 35 3-3- دستگاهوری
- 36 4-3- بهینه نمودن شرایط دستگاه و رسم منحنی وان دیمیتر
- 38 5-3- میکرو استخراج با قطره در داخل محلول
- 38 1-5-3- تئوری میکرو استخراج با حلال
- 2-5-3- فرایند مشتق سازی و میکرو استخراج فاز مایع با تک قطره آویزان در داخل محلول
- 42 6-3- بحث و بررسی نتایج
- 44 1-6-3- بررسی شرایط تولید مشتق دی فنیل مرکوری



- 44 3-6-1-1- بررسی اثر زمان انجام واکنش تشکیل دی فنیل مرکوری
- 45 3-6-2- بهینه نمودن شرایط میکرو استخراج با فاز مایع به روش قطره
- 46 3-6-2-1- انتخاب حلال آلی استخراج کننده
- 49 3-6-2-2- اثر pH
- 50 3-6-2-3- بررسی اثر حجم قطره آلی
- 52 3-6-2-4- بررسی اثر زمان استخراج
- 54 3-6-2-5- بررسی اثر سرعت همزدن بر فرایند استخراج
- 55 3-6-2-6- بررسی اثر افزایش نمک بر فرایند استخراج
- 57 3-6-3- بررسی های آماری و اندازه گیری های کمی
- 59 3-6-4- محاسبه فاکتور تغلیظ
- 60 3-6-5- بررسی اثر مزاحمت های کاتیونی و آنیونی
- 60 3-7- تجزیه نمونه های حقیقی
- 62 3-8- محاسبه فاکتور بازیابی
- 63 3-9- نتیجه گیری
- 65 مراجع
- 69 پیشنهادات



## 1-1- مقدمه

در چند دهه اخیر آلودگی آبهای سطحی و زیر زمینی به وسیله فاضلاب های صنعتی که اکثر حاوی فلزات سنگین نیز می باشند، به شدت مورد توجه سازمان های محیط زیست قرار گرفته است. کاملاً واضح است که فلزات سنگین دارای اثرات زیان بار بوده و موجب آسیب های جدی به محیط زیست می گردند .

جیوه یکی از اولین فلزات شناخته شده است . این عنصر در درجه حرارت معمولی به صورت مایع نقره ای ، روان، فرار، ناپایدار و متغیر است که قابلیت شکنندگی ندارد و به صورت گاز، مایع و یا جامد دیده می شود. جیوه از طرق مختلف وارد محیط زیست می شود، یک منبع غیر مستقیم ورود جیوه به آبهای سطحی، جیوه موجود در هواست که از طریق باران به آبهای سطحی و خاک وارد می گردد و سبب آلودگی آب دریاچه ها، رودخانه ها و آبهای زیرزمینی می شود. همچنین آتشفشانها سهم قابل توجهی در انتشار جیوه در محیط زیست دارند به طوریکه جیوه در بیشتر سنگهای آذرین، سنگهای آتشفشانی و چشمه های معدنی به وفور یافت می شود. اما قسمت اعظم جیوه وارده به محیط زیست از طریق فرایندهای انسانی است.

حد مجاز EPA<sup>1</sup> برای جیوه (مقدار کل در همه فرم ها) در آب های زائد 10 میکروگرم بر لیتر و در آب آشامیدنی 2 میکروگرم بر لیتر است. [1] در حالی که حدود مجاز تعیین شده توسط سازمان محیط زیست ژاپن در موارد مذکور 5 و 0/5 میلی گرم بر لیتر است و سازمان بهداشت جهانی (WHO)<sup>2</sup> 0/3 میلی گرم بر لیتر را حداکثر جذب قابل قبول جیوه در هفته و 1 میلی گرم بر لیتر را به عنوان ماکزیمم غلظت قابل قبول در آب آشامیدنی پیشنهاد می کند.

1- Environmental Protection Agency  
2 - World Health Organization



## 2-1- کاربرد های جیوه

### 1-2-1- کاربرد جیوه در صنعت و پزشکی

کاربرد جیوه در صنایع شیمیایی (30%)، الکتریکی، الکترونیکی، دارویی، پزشکی و کشاورزی باعث افزایش غلظت جیوه در آبهای سطحی و زیر زمینی می گردد. و از آنجا که حلالیت جیوه در خون بیش از حلالیت در آب است ورود جیوه به بدن به آسانی صورت می گیرد. ترکیبات جیوه در طبیعت و تحت تاثیر نور آفتاب تجزیه می شوند. خوردن ماهی آلوده، نوشیدن آب آلوده به جیوه و استنشاق گازهای آلوده از راههای انتقال جیوه و مسمومیت حاصل از آن در بدن انسان است. جیوه در صنایع شیمیایی و کشاورزی از جمله در صنایع کاغذ سازی، دباغی چرم، تصفیه روغن، فاضلاب های حاصل از آلکیل های کلره، کودهای شیمیایی، مواد ضد عفونی کننده بذرو قارچ کشها استفاده می شود.

یک کاربرد مهم جیوه در صنعت روشنایی و انواع گوناگون لامپ ها می باشد. از جمله ابزارهای الکتریکی به سوییچ های جیوه، اصلاح گر ها، نوسانگر ها و باتری های یکبار مصرف می توان اشاره کرد که تا 30% جیوه دارند. جیوه بعنوان کاتد مایع در تولید هیدروکسیدهای قلیایی به روش الکترولیز بکار می رود.

جیوه در صنایع دیگر نیز کاربرد دارد به طور مثال جیوه به طور گسترده در دماسنج ها استفاده می شود بخصوص آنهایی که برای اندازه گیری دماهای بالا به کار می روند. بعلاوه جیوه در تشکیل فشارسنج ها، پمپهای پخشی و تجهیزات آزمایشگاهی دیگر نیز مورد استفاده است. این فلز اغلب در ساخت دستگاه های فشارسنج نیز مورد استفاده است. جیوه گازی شکل در لامپ های بخار جیوه و لامپ های فلورسنت مورد استفاده است. مصرف جیوه در کشور های صنعتی از جمله آلمان بالاست. اما با توجه به خطرات زیست محیطی آن از سال 1980 مصرف جیوه در بخش های مختلف به شدت کاهش یافته است. عمده ترین مصرف کننده جیوه صنایع مهندسی برق است و پس از آن صنایع



تولید مواد قلیایی قرار دارند. مصرف جیوه در رنگدانه ها، رنگ ها و آفت کشها نیز شدیداً کاهش یافته است .

علاوه بر استفاده از جیوه در صنایع گوناگون از آن در پزشکی و داروسازی نیز استفاده می شود. اما به علت خطرات ناشی از مصرف جیوه و استنشاق بخارات آن، استفاده دارویی از این ماده به شدت محدود شده است. لیکن از نمک های جیوه و برخی ترکیبات آلی آن برای گندزدایی و ضد عفونی استفاده می شود و برخی از ترکیبات جیوه اثر میکروب کشی و ضد باکتریایی بسیار قوی دارند مانند استات فنیل مرکوریک، برات جیوه ، نیترات جیوه که برای گندزدایی و ضد عفونی کردن به کار می رود و کلرید های مرکورو و مرکوریک و اکسید مرکوریک اثر ضد باکتریایی دارند. در ترکیب دارویی مرکور کروم که در گذشته برای التیام زخم ها استفاده می شد، جیوه یکی از اجزاء اصلی بود که امروزه به علت اثرات سمی، مصرف آن منسوخ گشته است. هنوز برخی از ترکیبات جیوه در شاخه های خاصی از پزشکی مانند هومئوپاتی<sup>1</sup> که نوعی دارو درمانی بر اساس استفاده از داروهای همسان مرض است، کاربرد دارد.

### 1-2-2- تهیه ملغمه

جیوه با طلا و نقره تشکیل ملغمه و یا آلیاژ جیوه<sup>2</sup> را می دهد که از آن در بازیافت ذخایر طلا استفاده می شود. چون جیوه با تعداد زیادی از فلزات تشکیل آلیاژ می دهد، آلیاژهای جیوه کاربرد گسترده و وسیعی دارند. از مخلوط نقره و جیوه یک آلیاژ تهیه شده است که از آن در دندانپزشکی به منظور پر کردن حفره ایجاد شده در دندان استفاده می شود . آلیاژهای جیوه جایگاه ویژه ای در میان آلیاژ های فلزی دارند چون در دمای اتاق می توانند جامد پلاستیک یا مایع باشند . آلیاژ های مایع، محلول های واقعی عناصر آلیاژی در جیوه اند، حال آنکه آلیاژهای پلاستیک مانند جیوه، سوسپانسیون ذرات جامد در جیوه اند و یا اینکه محلول اشباع شده ای از جیوه می باشند. ملغمه های جامد،

1- Homeopathy

2- Amalgam





ترکیبات حدواسطی هستند که اغلب با آلیاژ کننده ها یا مخلوط های بلوری اولیه در آمیخته اند. گاهی تشخیص آزمایشگاهی یک آلیاژ دشوار است.

### 3-1- بیماری های ناشی از قرار گیری در معرض جیوه

تماس زیاد با جیوه عنصری ممکن است موجب درد سینه، تنفس دشوار، تهوع، اسهال، تب، مزه فلز در دهان و جوش های پوستی شود.

تماس مداوم ممکن است منجر به لرزش، ضعف عضلانی، کم اشتها، گوشه گیری، تندخویی، سردرد و از دست دادن حافظه شود. جیوه ممکن است اثرات سوء بر سیستم عصبی مرکزی، عملکرد کبد و کروموزوم ها نیز بگذارد. گزارش شده است که تماس با جیوه در رشد جنین و کودکان زیر 4 سال به دلیل ایجاد اختلال در رشد طبیعی مغز بسیار مضر می باشد.

### 4-1- سمیت ترکیبات مختلف جیوه

ویژگی مشترک جیوه و فلزات سنگین دیگر، آن است که معمولاً در بدن موجودات زنده انباشته می شوند. بنابراین به تدریج غلظت آنها افزایش می یابد. غلظت فلزات سنگین در برخی جلبک های دریایی، صد برابر آن در داخل آبی است که در آن زندگی می کنند. ماهیان کوچک جلبک خوار، غلظت بالایی از فلزات سنگین دارند، غلظت فلزات مزبور در ماهیان بزرگ که از ماهیان کوچک تغذیه می کنند، بیشتر است و به همین ترتیب، در پستانداران یا پرندگان ماهی خوار، این میزان افزایش می یابد. در اکثر محیط های طبیعی، انباشتگی فلزات سنگین در جانداران چندان وخیم نیست، زیرا تمرکز طبیعی اولیه این فلزات در آب و خاک اندک است. مسائل فوق هنگامی توسعه می یابند که فعالیت های انسانی، چرخه طبیعی یک محل را مختل می سازد. مسمومیت با جیوه به میزان تجمع و انباشت و میزان پخش شدن آن بستگی دارد.

ترکیبات جیوه دو ظرفیتی ، از ترکیبات یک ظرفیتی آن سمی ترند. سمیت ترکیبات جیوه غیر آلی با افزایش حلالیت، افزایش می یابد. بیشتر ترکیبات آلی جیوه از جمله متیل مرکوری محلول در



چربی اند. برخی از آنها براحتی تبخیر می شوند و همچنین در فاز گازی عمل می کنند. ترکیبات آلی جیوه می توانند موجب مسمومیت و التهاب پوست شوند. سمیت جیوه بر پایه عملکرد آن بعنوان سم عمومی سلولی و پروتوپلاسمی استوار است یعنی تشکیل پیوند شیمیایی با گروه های سولفوهدرید پروتئین ها، غشا های آسیب دیده و کاهش میزان RNA سلول. این امر به از کار افتادن بسیاری از سیستم های آنزیم می انجامد. کلیه ها و سیستم های عصبی بسیار در برابر این ترکیبات آسیب پذیرند. بنابراین جیوه آسیب حاد به شش ها و سیستم مرکزی عصبی وارد می سازد.

### 1-5-5- برخی از روشهای اندازه گیری جیوه

به دلیل سمیت بالای جیوه که در بالا به آن اشاره شد اهمیت اندازه گیری میزان جیوه در آب مشخص می شود. امروزه روشهای دستگاهی بسیاری برای جداسازی و اندازه گیری اشکال مختلف جیوه توسعه یافته اند برخی از مهمترین این روشها عبارتند از:

#### 1-5-1- روش تولید بخار سرد اتمی

یکی از روشهای متداول برای اندازه گیری جیوه استفاده از روش تولید بخار سرد اتمی \_ اسپکتروسکوپی جذب اتمی یا اسپکتروسکوپی فلورسانس اتمی است. اندازه گیری جیوه بر اساس بخار سرد اتمی شامل چهار مرحله تولید جیوه، جمع آوری، انتقال و اندازه گیری توسط اسپکتروسکوپی جذب اتمی یا اسپکتروسکوپی فلورسانس اتمی می باشد. کاهش ترکیبات جیوه در محلول حاوی جیوه به بخارات جیوه می تواند توسط روشهای شیمیایی با معرفات کاهنده مانند کلرید قلع و یا سدیم بورو هدرید [2] و یا توسط روشهای الکتروشیمیایی [3] انجام می شود. پور رضا و همکارش در سال 2008 برای اندازه گیری کاتیون جیوه از ماده جاذب 2- مرکاپتوبنزیمیدازول که بر روی بستری از پودر آگار- آگار قرار داده شده بود برای تغلیظ نمونه استفاده کردند. یونهای جیوه جذب شده روی ستون توسط محلول HCl شسته شده و با افزودن کلرید قلع به آن جیوه اتمی تولید شده توسط اسپکتروسکوپی جذب اتمی اندازه گیری شد [4].



## 1-5-2- روش کروماتوگرافی

برای جداسازی و اندازه گیری کاتیونهای جیوه و متیل مرکوری در نمونه های محیط زیستی می توان از روشهای کروماتوگرافی مایع ویا کروماتوگرافی گازی استفاده نمود. در زیر به تعدادی از این روشها اشاره شده است.

کروماتوگرافی مایع - دتکتور پیزو الکتریک [5]، در این روش یک سیستم شناسایی پیزو الکتریک کوپل شده با سیستم کروماتوگرافی مایع برای جداسازی و اندازه گیری کاتیونهای جیوه و متیل مرکوری توسعه یافته است. بدین ترتیب که ابتدا آنها را توسط روش مشتق سازی در سر ستون با سیستمین به ترکیبات قابل جداسازی با ستون HPLC تبدیل می کنند. سپس گونه های جیوه توسط عامل کاهنده کلرید قلع آزاد شده و در روی کریستال کوارتزی پیزو الکتریکی پوشیده شده با طلا به عنوان آمالگام شناسایی می شوند.

کروماتوگرافی مایع - اسپکتروسکوپی فلئورسانس اتمی [6]، در این روش جداسازی و شناسایی ترکیبات متیل مرکوری، اتیل مرکوری، جیوه (II) و فنیل مرکوری توسط مشتق سازی در سر ستون با استفاده از معرف 2- مرکاپتو فنل انجام شد .

در روشی دیگر از تولید بخار شیمیایی فتو القایی توسط فرمیک اسید در فاز مایع به عنوان عامل واکنش دهنده برای ارتباط کروماتوگرافی مایع و اسپکتروسکوپی فلورسانس اتمی به منظور جداسازی و شناسایی ترکیبات آلی و معدنی جیوه استفاده شد [7].

کروماتوگرافی گازی - اسپکتروسکوپی جرمی [8]، در این سیستم برای اندازه گیری جیوه معدنی و ترکیبات جیوه آلی در آب از تکنیک استخراج فاز جامد استفاده شده است. آنالیت ها در یک محیط بافر با pH 4/5 به صورت کمپلکس دی اتیل دی تیو کاربامات روی یک ستون C<sub>60</sub> جذب شده و سپس توسط اتیل استات که حاوی عامل مشتق ساز تترا پروپیل بورات است شسته می شوند سپس 1 میکرو لیتر از محلول استخراج شده به دستگاه تزریق می شود.



همچنین اندازه گیری کاتیونهای جیوه ، متیل مرکوری و اتیل مرکوری با استفاده از تکنیک مشتق سازی با سدیم تترا اتیل بورات و میکرو استخراج فضای فوقانی فاز جامد با این روش گزارش شده است [9].

کروماتوگرافی گازی - اسپکتروسکوپی فلورسانس اتمی [10] ، در این روش ابتدا استخراج به کمک امواج ریز موج انجام شده و سپس با افزودن عامل مشتق ساز تترا اتیل بورات کاتیونهای جیوه و متیل مرکوری به ترکیبات دی اتیل مرکوری و اتیل متیل مرکوری تبدیل شده و سپس اندازه گیری انجام می شود.

کروماتوگرافی گازی - پلاسمای جفت شده القایی - اسپکتروسکوپی جرمی [11] ، ابتدا در نتیجه واکنش کاتیونهای جیوه و متیل مرکوری با تترا اتیل بورات و تترا پروپیل بورات واکنش مشتق سازی انجام شده در ادامه ترکیبات حاصل توسط استخراج فاز جامد تغلیظ شده و سپس اندازه گیری انجام شده است.

### 1-5-3- روش الکترو شیمیایی

پلاسمای القایی ماکروویو\_ اسپکتروسکوپی نشر اتمی [12] در این سیستم از یک پلاسمای القایی ماکروویو به عنوان منبع نشر استفاده شده است . جیوه احیا شده توسط سدیم بورو هیدرات روی سطح لوله های گرافیتی پوشیده شده با طلا تولید آمالگام می کند. جریان گاز حامل هلیوم به درون پلاسما باعث وارد شدن جیوه آزاد شده به درون پلاسما می شود و بدین ترتیب سیگنال نشر گزارش می شود. در پروژه فوق برای اندازه گیری میزان یون جیوه در محیطهای آبی ابتدا به کمک معرف فنیل بورانیک اسید واکنش مشتق سازی انجام شده و در ادامه برای شناسایی از کروماتوگرافی گازی و دتکتور یونش شعله ای، FID استفاده شده است.



## ۲-۱- مقدمه ای بر روش های آماده سازی نمونه<sup>۱</sup>

با این که طی چند دهه اخیر رشد بی نظیری در تکنیک های اندازه گیری صورت گرفته است و علی رغم ساخت ابزارهای دقیق تجزیه ای، اندازه گیری های کاملاً غیر تخریبی هنوز در بیشتر موارد وجود ندارد و با توجه به اینکه تجزیه گرها قادر به ارائه مستقیم نمونه به همراه ماتریکس آن به دستگاههای موجود نمی باشند، بطور کلی وجود یک مرحله اولیه آماده سازی نمونه ضروری است. لذا طی دو دهه اخیر به دلیل نیاز مبرم صنایع دارویی و زیست محیطی به اندازه گیری دقیق نمونه های دارای بافت پیچیده، روش های آماده سازی نمونه به سرعت رشد یافته اند [۱۸، ۱۹]

آماده سازی نمونه معمولاً اهداف زیر را دنبال می کند:

- تغلیظ نمونه به منظور اندازه گیری مقادیر کم و افزایش انتخابگری روش.
  - حذف مزاحمت های ناشی از ماتریکس نمونه در مراحل جداسازی و شناسایی نمونه و در نتیجه افزایش انتخابگری.
  - در صورت لزوم، تبدیل آنالیت ها به فرم مناسب تر برای تشخیص و جداسازی بهتر.
  - فراهم کردن یک روش تکرارپذیر و کارآمد، که مستقل از تغییرات ماتریکس نمونه باشد.
- از آنجایی که تکرارپذیری در روشهای آماده سازی نمونه اهمیت بسیار زیادی دارد، روشهای تجزیه ای خودکار که در آن ها اندازه گیری نمونه بدون دخالت فرد صورت می گیرد روز بروز در حال افزایش است [۲۰].

## ۲-۲- استخراج<sup>۲</sup>

مرحله آماده سازی نمونه در هر فرایند تجزیه ای عمدتاً شامل یک مرحله استخراج است که منجر به تغلیظ گونه های مورد نظر و جداسازی آنها از بافت نمونه می گردد.



در دهه اخیر توجه زیاد محققین به بهبود روش های آماده سازی نمونه سبب ایجاد و معرفی تکنیک های استخراج غیر کلاسیک گشته است. در این روشها مواردی چون کاهش مصرف حلال، خودکار نمودن روش و مینیاتوری نمودن آن، انجام واکنش ها در محیط زنده و در محل و پیدا کردن روش هایی سازگار با محیط زیست را در نظر دارند. گرچه این روش های استخراج به لحاظ اجرایی تا حدی ساده سازی شده اند اما همچنان رقابت در زمینه بهینه نمودن این روش ها ادامه دارد [۲۱].

روش های متفاوتی برای استخراج نمونه های مختلف وجود دارد که ما در قسمت های بعدی فصل به بررسی مهمترین تکنیک های استخراج، بخصوص روش های مرتبط با استخراج بوسیله فاز مایع که موضوع این تحقیق است، می پردازیم.

## ۲-۳- استخراج و اندازه گیری آنالیت ها در فاز گازی

نمونه های گازی را می توان به طور مستقیم بوسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی مورد تجزیه قرار داد. اما به دلیل قابلیت نفوذ و تحرک نمونه های گازی حفظ و نگهداری و در نهایت آماده سازی این نمونه ها مشکل است. چندین روش برای به تله انداختن نمونه های گازی وجود دارد، که در ذیل به اختصار بیان می شوند:

### ۲-۳-۱- به تله انداختن آنالیت های فرار

روش های متفاوتی برای اجرای این روش وجود دارند. که در برخی روش ها با کارایی بیشتر، گاز به طور مؤثر از روی یک جاذب سرد که درون لوله ای مانند فاز ساکن GC پر شده عبور می کند. جاذب ها شامل کربن متخلخل، پلیمرهای جاذب از قبیل پلی دی ونیل بنزن و پلی دی متیل سیلوکسان می باشند [۲۲، ۲۳]. اجزاء به تله افتاده و جذب حرارتی می شوند و برای جداسازی و اندازه گیری کمی، مستقیماً به دستگاه کروماتوگرافی گازی ارائه می شوند و لوله جاذب به طور متناوب بایک حلال فرار شسته می شود.



### ۲-۳-۲- تجزیه به روش فضای فوقانی<sup>۱</sup>

اگر آنالیت های مورد نظر خود فرار باشند ولی در یک جامد و یا یک بافت غیر فرار قرار داشته باشند، یکی از بهترین روش های استخراج، تغلیظ آنها به فرم گاز در فضای فوقانی ماتریکس است. پس از تغلیظ، نمونه گازی اکثراً توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی تجزیه می شود [۲۴،۲۵،۲۶].

### ۲-۴-۲- استخراج آنالیت ها از نمونه های جامد

اگر نمونه جامد به سهولت قابل حل باشد، معمولاً آسان ترین روش انحلال آن در حلال مناسب یا آب و به دنبال آن جداسازی مایع است. اما بیشتر نمونه های جامد مانند خاک و نمونه های زیست محیطی و پلیمرها نامحلول اند و به صورت مستقیم آنالیز نمی شوند. روش های ذیل برای استخراج آنالیت ها از نمونه جامد استفاده می شوند:

#### ۲-۴-۱- سوکسوله<sup>۲</sup>

این روش برای استخراج گونه های با فراریت کم و یا غیرفرار بکار می رود که در آن حلال به طور پیوسته از میان نمونه جامد عبور می کند، گونه های مورد اندازه گیری را در خود حل کرده، سپس حلال حاوی آنالیت ها تبخیر شده و در نهایت سرد می شود (تقطیر). آنالیت ها باید در حلال تقطیر در حال جوش پایدار باشند. این عمل چندین بار تکرار می شود.

#### ۲-۴-۲- استخراج با حلال

در این شیوه، حلال به نمونه جامد افزوده می شود، عمل استخراج با گرم کردن یا تکان دادن نمونه یا حل کردن در حلال های با سرعت نفوذ بالا (مثلاً با سیال فوق بحرانی<sup>۳</sup>) صورت می گیرد.

---

1- Headspace Analysis  
2- Soxhlet  
3- Supercritical Solvent



## ۲-۴-۱- استخراج با حلال تسریع شده (ASE)<sup>۱</sup>

این روش بیشتر برای تجزیه خاک ها و نمونه های زیست محیطی مورد استفاده واقع می شود [۲۷،۲۸]. این روش، استخراج با مایع تحت فشار (PLE)<sup>۲</sup> نیز نامیده می شود و به دو صورت ساکن و جریانی قابل اجرا است. در این روش نمونه جامد داخل یک محلول استخراج قرار می گیرد و سپس حلال استخراج کننده با فشار بداخل سلول پمپ می شود و با افزایش دمای سلول، فشار داخلی آن نیز افزایش یافته و بدین صورت عمل استخراج تسریع می شود. این مراحل در یک سیستم بسته جریانی بکار گرفته می شود. پس از تکمیل مرحله استخراج، حلال استخراج کننده توسط یک گاز بی اثر از داخل سلول خارج گردیده و جمع آوری می شود.

## ۲-۴-۲- استخراج به کمک امواج مافوق صوت<sup>۳</sup> و ریزموج<sup>۴</sup>

در هر دو روش، نمونه جامد و حلال در داخل یک محفظه قرار داده شده و سپس تحت تاثیر امواج، قدرت نفوذپذیری حلال بداخل ذرات نمونه افزایش یافته و باعث تسریع عمل استخراج می گردد. از مزایای این روش ها می توان به مصرف کم حلال آلی، سرعت و راندمان بالای استخراج اشاره نمود [۳۰،۲۹].

## ۲-۴-۳- استخراج با سیال فوق بحرانی

حلال معمول برای این استخراج دی اکسید کربن است. این حلال ویسکوزیته کم و سرعت نفوذ بالا دارد. قدرت حلاله کردن آن با افزایش فشار، افزایش می یابد. کاربرد روش بسیار گسترده است [۳۱،۳۲،۳۳].

---

1- Accelerated Solvent Extraction  
2- Pressurized Liquid Extraction  
3- Sonification Extraction  
4- Microwave-assisted Extraction





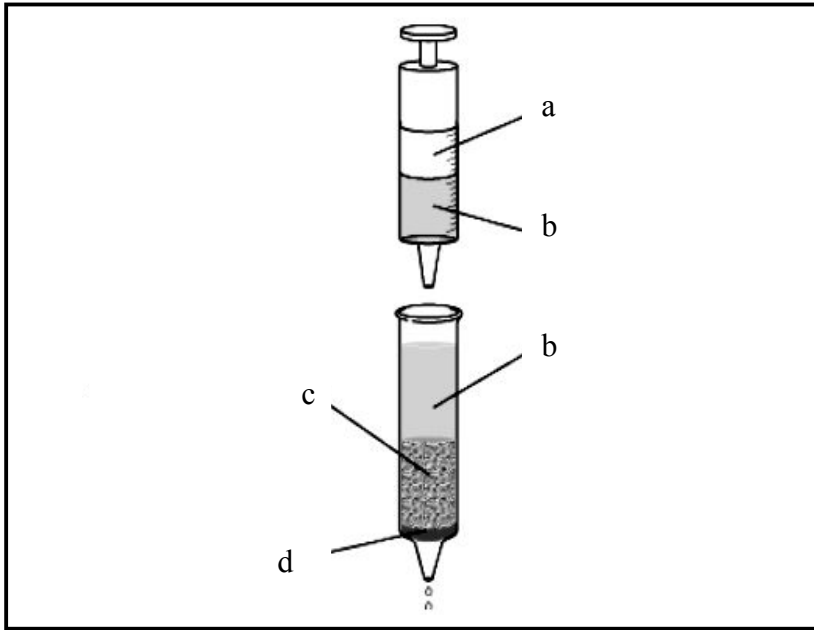
## ۲-۵- استخراج آنالیت ها از فاز محلول

روش مرسوم برای بدست آوردن آنالیت ها از محلول، توزیع و پخش آن ها داخل حلال غیرقابل امتزاج یا به تله انداختن آنالیت ها روی ستون یا ماتریکس فاز جامد و یا تبخیر نمونه تا حد خشک شدن و شستشوی انتخابی آنالیت ها با حلال می باشد. معمول ترین این روش ها برای ماتریکس های آبی استفاده از قیف جدا کننده و استخراج گونه ها به داخل حلال آلی است. مصرف حجم زیاد حلال آلی و چند مرحله ای بودن این روش از معایب عمده آن است. در سالهای اخیر دو گروه از این روش ها گسترش یافتند، گروهی که نمونه را در حجم کوچکی از فاز ساکن به تله می اندازد مانند استخراج فاز جامد و گروهی که در آن ها، آنالیت ها را به حجم کوچکتری از حلال ثانویه انتقال می دهند مانند استخراج با غشاء.

### ۲-۵-۱- روش های به تله انداختن آنالیت ها

#### ۲-۵-۱-۱- استخراج با فاز جامد (SPE)<sup>۱</sup>

در این روش ابتدا نمونه مایع از درون یک ستون پر شده با ذرات جامد جاذب عبور داده می شود و یا بر روی دیسک های مسطح حاوی جاذب جامد تثبیت می شود. آنالیت ها توسط فاز جامد جذب می شوند، استخراج و تغلیظ بر روی جاذب صورت می گیرد. پس از اتمام مدت زمان استخراج، ابتدا جاذب ، با حلال مناسب جهت حذف ناخالصی ها شسته و خشک می شود. سپس عمل واجذبی آنالیت ها با شستشوی جاذب با حلال مناسب انجام می گیرد [۳۴،۳۵].



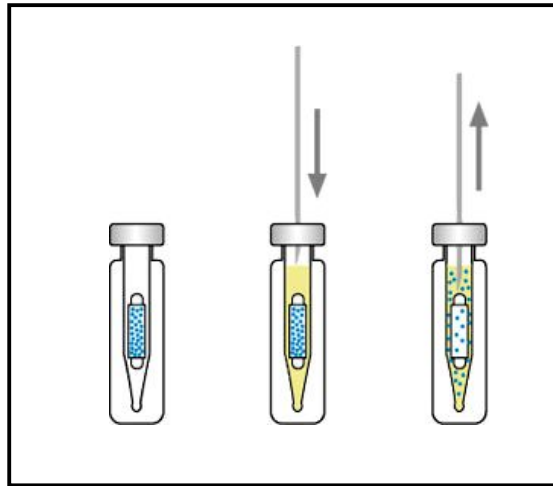
شکل ۲-۱- استخراج با فاز جامد

a سرنگ تزریق، b نمونه، c ماده جامد جاذب، e صافی.

از مزایای این روش می توان به سادگی، ارزان قیمت بودن، قابلیت خودکارشدن و مصرف نسبتاً کم حلال آلی اشاره نمود [۳۶،۳۷].

#### ۲-۱-۵-۲- استخراج با بهم زن مغناطیسی<sup>۱</sup>

از یک بهم زن مغناطیسی که با لایه ای از ماده جاذب پیوندی، مانند پلی متیل یا دی متیل سیلوکسان پوشش داده شده استفاده می شود [۳۸]. این بهم زن در محلول نمونه قرار می گیرد و در داخل محلول می چرخد. آنالیت ها بر روی ماده جاذب استخراج می شوند و پس از اتمام زمان استخراج هم زن خارج می شود و عمل واجذبی بوسیله حلال و یا حرارت بر روی بهم زن صورت می گیرد. آنالیت ها جهت آنالیزهای بعدی به دستگاه کروماتوگراف گازی ارائه می گردند (شکل ۲-۲) [۳۹،۴۰].



شکل ۲-۲- استخراج با بهم زن مغناطیسی

## ۲-۵-۲- استخراج آنالیت ها به درون فاز مایع

### ۲-۵-۲-۱- استخراج توسط غشاء

در این روش از یک غشاء برای استخراج استفاده می کنند. غشاء یک فیلتر انتخاب گراست که باعث نفوذ محدود دو مایع در یکدیگر می شود و یا می تواند به صورت یک غشاء فعال عمل نماید. که به ساختار شیمیایی غشاء بستگی دارد [۴۱،۴۲]. در بیشتر موارد، نیروی محرک برای حرکت آنالیت ها در عرض غشاء، شیب غلظتی است. این حرکت، به طور مؤثر با حذف آنالیت ها از فاز دریافت کننده افزایش می یابد [۴۳].

### ۲-۵-۲-۲- استخراج به روش گاززدایی و به تله انداختن<sup>۱</sup>

با عبور گاز گونه های مورد نظر فرار، از محلول خارج شده و سپس آنالیت ها بوسیله یک تله سرد بدام می افتند. این روش برای استخراج گونه های زیست محیطی مفید است [۴۴].



## ۲-۶- روشهای میکرواستخراج

روشهای استخراج کلاسیک نظیر سوکسوله، استخراج مایع-مایع (LLE)، استخراج با جاذبهایی نظیر کربن فعال، مستلزم صرف حجم زیادی حلال با درجه‌ی خلوص بالا می باشد که علاوه بر هزینه و سمیت زیاد، از انتخابگری کمی نیز برخوردارند. به علاوه طی مرحله کاهش حجم و تغلیظ فاز استخراجی، مقادیر متنابهی از حلال آلی وارد اتمسفر می گردد که علاوه بر اثرات ناخوشایند بر روی سلامت انسان وجانداران، باعث تشکیل مه دود فتو شیمیایی و ایجاد حفره در لایه ازن می گردد. با توجه به این مشکلات، تلاش های زیادی در جهت مینیاتوری نمودن روش های قدیمی صورت گرفته است [۴۵،۴۶] که به بررسی اجمالی هریک می پردازیم.

### ۲-۶-۱- میکرواستخراج با فاز جامد (SPME)

#### ۲-۶-۱-۱- اصول روش

SPME یک فن آوری بسیار ساده در مقیاس کوچک می باشد که در سال ۱۹۸۹ بوسیله بلاردی<sup>۱</sup> و پالیشین<sup>۲</sup> معرفی شد [۴۷]. اصولاً وسیله استفاده شده برای SPME یک سرنگ اصلاح شده است (شکل ۲-۳)، ولی به جای سوزن از یک غلاف حفاظتی حاوی فیبر استفاده شده است. یک فیبر ترکیبی از سیلیس به طول تقریبی ۱ سانتیمتر است که با فاز ساکن پلی سیلوکسان یا مقداری از یک پلیمر دیگر پوشش داده می شود. این فیبر با استفاده از اپوکسی بسیار گرم به درون یک لوله کوچک (غلاف حفاظتی) از جنس فولاد ضد زنگ چسبانده می شود. فیبر به پیستون سرنگ چسبیده و با حرکت پیستون به بیرون، فیبر در معرض نمونه قرار می گیرد. SPME شامل مراحل زیر است:

- غلاف حفاظتی فیبر، درپوش لاستیکی ظرف نمونه را سوراخ می کند.
- با فشار دادن پیستون سرنگ فیبر از غلاف حفاظتی خارج و در نمونه مایع یا فضای فوقانی بالای نمونه مایع، جامد یا نیمه جامد قرار می گیرد.

1- Blardi

2- Pawliszyn