



دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده شیمی

**اندازه‌گیری فنول‌ها در نمونه‌های آبی توسط ریز استخراج مایع - مایع پخشی  
به همراه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا و آشکارساز آرایه دیودی**

پایان نامه کارشناسی ارشد شیمی تجزیه

مهدی مرزبان

استاد راهنما

دکتر محمد سراجی

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و نوآوریهای ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است.

# تقدیر و شکر

خدا!

نه شناخت ترا توان.

نه شفاء ترا زبان.

نه دیای جلال و کبریا ترا کران.

پس ترایح و ثناء چون توان؟

ترا که دانند که ترا تو دانی تو.

ترا ندانند کس، ترا تو دانی بس.

اکنون که با لطف و عنایت پروردگار این دوره را با موفقیت به پایان رسانده ام بر خود لازم می دانم تا از کسانی که مراد می نمودم این مسیر یاری نموده اند شکر و قدر دانی بنمایم:

از خانواده عزیزم به خصوص پدر و مادرم که همواره مراد می نمودم راه تحصیل یاری نموده اند شکر و قدر دانی می نمایم.

از استاد عزیزم جناب آقای دکتر سراجی که در تمامی مراحل انجام این پروژه با صبر و سکینایی مراراً بهمانی نمودند شکر می کنم و امیدوارم که در تمام مراحل زندگی همواره موفق و سر بلند باشند.

از کیه استاد و کاکلنای دانشکده شیمی به خاطر زحمات ارزشمندشان در پیشبرد اهداف آموزشی صیانه شکر می کنم. از دوستان خوبم در آزمایشگاه تحقیقاتی آقایان، علی اکبر حاج علی اکبری، بهمن فرزند، مصطفی سعادت فر، حسین شرافتمند و خانم باقر، تن سازان، خراسانی، موسوی، حنذی زاده و خلیلی سپاسگذارم.

بچنین لازم می دانم از دوستان عزیزم در دانشگاه صنعتی از جمله آقایان، عباس عربزاده، حسن رضوانی پور، ابراهیم صداقت، احمد رحمانیان، محمد ارشدی و حمید احمدیان که مراد این دوره یاری نمودند سپاسگزار می باشم و شکر نمایم.

همدی مرزبان

بهار ۱۳۸۸

تقدیم ہے:

پدر و مادر مہربانم

و

خانوادہ عزیزم

## فهرست مطالب

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
هفت.....	فهرست مطالب
یازده.....	فهرست شکل‌ها
سیزده.....	فهرست جدول‌ها
۱.....	چکیده.....
۲.....	<b>فصل اول : استخراج و آماده‌سازی نمونه</b>
۲.....	۱-۱- مقدمه
۳.....	۱-۱-۱- انتخاب و ارزیابی روش‌های جداسازی
۴.....	۲-۱- استخراج مایع - مایع (LLE)
۵.....	۱-۲-۱- تئوری استخراج مایع - مایع
۷.....	۲-۲-۱- گزینش پذیری استخراج
۷.....	۳-۲-۱- انتخاب حلال
۷.....	۳-۱- استخراج مایع - مایع همگن (HLLE)
۸.....	۱-۳-۱- استخراج مایع - مایع همگن با استفاده از پرفلوروسورفکتانت
۹.....	۱-۳-۱- الف - استخراج مایع - مایع همگن براساس پدیده جدایی فاز وابسته به pH
۱۰.....	۱-۳-۱- ب - استخراج مایع - مایع همگن براساس تشکیل زوج یون
۱۱.....	۲-۳-۱- استخراج مایع - مایع همگن با استفاده از سیستم سه تایی حلال
۱۳.....	۴-۱- استخراج نقطه ابری (CPE)
۱۶.....	۵-۱- استخراج با فاز جامد (SPE)
۱۸.....	۶-۱- ریزاستخراج با فاز جامد (SPME)
۱۹.....	۱-۶-۱- اصول ریزاستخراج با فاز جامد
۲۰.....	۷-۱- استخراج میله جاذب همزن (SBSE)
۲۱.....	۱-۷-۱- اصول استخراج با میله جاذب همزن
۲۲.....	۲-۷-۱- روش انجام استخراج میله جاذب همزن
۲۳.....	۸-۱- ریزاستخراج فاز مایع (LPME)

..... ۲۵	۹-۱- ریز استخراج مایع - مایع پاشنده (DLLME)
..... ۲۷	۱-۹-۱- تئوری ریز استخراج مایع - مایع پاشنده
..... ۲۸	۲-۹-۱- روش محاسبه فاکتور تغلیظ، بازیابی استخراج و بازیابی نسبی
..... ۲۹	۳-۹-۱- ویژگی حلال های ریز استخراج مایع - مایع پاشنده
..... ۳۰	۴-۹-۱- مقایسه ریز استخراج مایع - مایع پاشنده با روش های مشابه
..... ۳۰	۴-۹-۱- الف - مقایسه روش ریز استخراج مایع - مایع پاشنده با استخراج مایع - مایع معمولی
..... ۳۰	۴-۹-۱- ب - مقایسه روش ریز استخراج مایع - مایع پاشنده با استخراج مایع - مایع همگن
..... ۳۱	۴-۹-۱- ج - مقایسه روش ریز استخراج مایع - مایع پاشنده با استخراج نقطه ابری
..... ۳۱	۱۰-۱- مروری بر پیشرفت های اخیر در زمینه ریز استخراج مایع - مایع پخشی
..... ۳۵	<b>فصل دوم: فنول ها و اندازه گیری آنها در نمونه های زیست محیطی</b>
..... ۳۵	۱-۲- مقدمه
..... ۳۷	۲-۲- حلالیت فنول ها در آب
..... ۳۸	۳-۲- سمیت فنول ها
..... ۳۸	۴-۲- روش های آماده سازی و پیش تغلیظ برای اندازه گیری فنول ها
..... ۳۹	۱-۴-۲- استخراج مایع - مایع (LLE)
..... ۳۹	۲-۴-۲- استخراج با فاز جامد (SPE)
..... ۴۱	۳-۴-۲- ریز استخراج با فاز جامد (SPME)
..... ۴۲	۴-۴-۲- ریز استخراج با فاز مایع
..... ۴۴	<b>فصل سوم: بخش تجربی</b>
..... ۴۴	۱-۳- تجهیزات و مواد شیمیایی مورد نیاز
..... ۴۴	۱-۱-۳- دستگاه ها و وسایل مورد نیاز
..... ۴۷	۲-۱-۳- مواد شیمیایی و محلول های مورد نیاز
..... ۴۸	۲-۳- تهیه محلول های استاندارد فنول ها
..... ۴۸	۳-۳- روش انجام ریز استخراج مایع - مایع پاشنده
..... ۴۹	۴-۳- بهینه سازی شرایط استخراج

عنوان

صفحه

..... ۴۹	۱-۴-۳- روش بررسی اثر نوع حلال استخراج کننده
..... ۴۹	۲-۴-۳- روش بررسی اثر نوع حلال پاشنده
..... ۵۰	۳-۴-۳- روش بررسی اثر حجم حلال استخراج کننده
..... ۵۰	۴-۴-۳- روش بررسی اثر حجم فاز پخش کننده
..... ۵۱	۵-۴-۳- روش بررسی اثر افزایش نمک
..... ۵۱	۶-۴-۳- روش بررسی اثر pH
..... ۵۲	۷-۴-۳- بررسی اثر افزایش تری اتیل آمین بر روی اتلاف نمونه از طریق فرآیند تبخیر
..... ۵۲	۵-۳- ارقام شایستگی روش
..... ۵۲	۱-۵-۳- دقت روش
..... ۵۲	۲-۵-۳- فاکتور غنی سازی
..... ۵۳	۳-۵-۳- بررسی خطی بودن
..... ۵۳	۴-۵-۳- آنالیز نمونه حقیقی و حد تشخیص روش
..... ۵۵	<b>فصل چهارم : بحث و نتیجه گیری</b>
..... ۵۵	۱-۴- مقدمه
..... ۵۹	۲-۴- بررسی شرایط موثر بر استخراج
..... ۶۰	۱-۲-۴- بررسی اثر حلال استخراج کننده
..... ۶۳	۲-۲-۴- بررسی اثر حلال پاشنده
..... ۶۵	۳-۲-۴- اثر حجم حلال استخراج کننده بر کارایی استخراج
..... ۶۸	۴-۲-۴- اثر حجم حلال پخش کننده بر کارایی استخراج
..... ۷۰	۵-۲-۴- اثر افزایش نمک
..... ۷۲	۶-۲-۴- بررسی اثر pH
..... ۷۵	۷-۲-۴- بررسی اثر افزایش تری اتیل آمین بر میزان اتلاف نمونه در فرایند تبخیر
..... ۷۸	۳-۴- ارزیابی روش
..... ۷۹	۱-۳-۴- فاکتور غنی سازی
..... ۷۹	۲-۳-۴- دقت روش



صفحه

عنوان

.....۸۰.....

.....۸۷.....

.....۸۷.....

.....۹۵.....

۳-۳-۴- محدوده و میزان خطی بودن روش

۴-۳-۴- حد تشخیص روش

۵-۳-۴- آنالیز نمونه حقیقی

۴-۴- نتیجه گیری نهایی

## فهرست شکل‌ها

عنوان ..... صفحه

شکل (۱-۱) - ارائه شماتیک استخراج با حلال (توزیع مایع - مایع) ..... ۵

شکل (۲-۱) - ارتباط بین حجم فاز ته نشین شده و مقدار  $PFOA^-$  ..... ۱۰

شکل (۳-۱) - دیاگرام جدایی فاز سیستم سه تایی آب/پیریدین/اتیل کلرواستات با استفاده از غلظت های متفاوتی از HCl ۱۲ ..... ۱۳

شکل (۴-۱) - ارائه شماتیک استخراج مایع - مایع همگن با استفاده سیستم سه تایی آب/متانول/کلروفرم ..... ۱۳

شکل (۵-۱) - تشکیل مایسل در محیط آبی ..... ۱۴

شکل (۶-۱) - مراحل انجام استخراج نقطه ابری تا قبل از آنالیز با GC، HPLC و CE ..... ۱۶

شکل (۷-۱) - مراحل اساسی استخراج با فاز جامد ..... ۱۷

شکل (۸-۱) - آرایش بندی های مختلف ریز استخراج فاز جامد ..... ۱۹

شکل (۹-۱) - ریز استخراج با SPME ..... ۲۰

شکل (۱۰-۱) - منحنی درصد بازیابی نسبی بر حسب  $\log K_{ow}$  برای SPME (فیبر ۱۰۰ میکرومتری و ۰/۵ میکرولیتر ..... ۲۲

PDMS و SBSE ( $d_f = 1 \text{ cm} \times 0/5 \text{ mm}$  و  $d_p = 25$  میکرولیتر PDMS) ..... ۲۲

شکل (۱۱-۱) - ارائه شماتیک تکنیک SBSE ..... ۲۳

شکل (۱۲-۱) - دیاگرام شماتیک سیستم طراحی شده توسط لیو و داسگوپتا ..... ۲۴

شکل (۱۳-۱) - دیاگرام شماتیک سیستم ریز استخراج با قطره حلال استفاده شده بوسیله جانت و کنت ول ..... ۲۴

شکل (۱۴-۱) - مدل ارائه شده در استخراج سه فازی آمین از نمونه آبی با تشکیل زوج یون ..... ۲۵

شکل (۱۵-۱) - تصویر از مراحل مختلف انجام شده در روش ریزاستخراج فاز مایع پخش شده ..... ۲۶

شکل (۱-۲) - ساختار مولکولی فنولها ..... ۲۵

شکل (۱-۴) - مقایسه کروماتوگرام های بدست آمده از تزریق ۲۰ میکرولیتر استاندارد فنولها در متانول با استفاده از شویش های ..... ۵۸

متفاوت در طول موج های جذبی متفاوت ..... ۵۸

شکل (۲-۴) - بررسی اثر حلال استخراج کننده بر راندمان استخراج (بر اساس مساحت نسبی پیک گونه ها) ..... ۶۲

شکل (۳-۴) - بررسی اثر حلال پخشی بر راندمان استخراج (بر اساس مساحت نسبی پیک گونه ها) ..... ۶۴

شکل (۴-۴) - تغییرات حجم فاز ته نشین شده با تغییر حجم کربن دی سولفید ..... ۶۶

شکل (۵-۴) - منحنی مساحت سطح نسبی پیک ترکیبات فنولی در مقابل حجم کربن دی سولفید استفاده شده در استخراج ..... ۶۷

(- - محور سمت راست، = محور سمت چپ) ..... ۶۷

شکل (۶-۴) - منحنی مساحت سطح نسبی پیک ترکیبات فنولی در مقابل حجم فاز ته نشین شده در استخراج (- - محور سمت

راست، — محور سمت چپ).

.....۶۷

شکل (۷-۴) - بررسی اثر حجم حلال پخشی بر راندمان استخراج (- - محور سمت راست، — محور سمت چپ)

.....۶۹

شکل (۸-۴) - بررسی اثر درصد نمک بر راندمان استخراج (- - محور سمت راست، — محور سمت چپ).

.....۷۱

شکل (۹-۴) - بررسی اثر pH بر راندمان استخراج (- - محور سمت راست، — محور سمت چپ).

.....۷۴

شکل (۱۰-۴) - بررسی اثر تری اتیل آمین بر اتلاف فنول ها در فرایند تبخیر

.....۷۶

شکل (۱۱-۴) - مقایسه میزان جذب کربن دی سولفید در دو طول موج مختلف

.....۷۸

شکل (۱۲-۴) - منحنی درجه بندی برای فنول

.....۸۱

شکل (۱۳-۴) - منحنی درجه بندی برای ۴- نیترو فنول

.....۸۱

شکل (۱۴-۴) - منحنی درجه بندی برای ۲- کلرو فنول

.....۸۲

شکل (۱۵-۴) - منحنی درجه بندی برای ۴,۲- دی نیترو فنول

.....۸۲

شکل (۱۶-۴) - منحنی درجه بندی برای ۲- نیترو فنول

.....۸۳

شکل (۱۷-۴) - منحنی درجه بندی برای ۴,۲- دی متیل فنول

.....۸۳

شکل (۱۸-۴) - منحنی درجه بندی برای ۴- کلرو-۳- متیل فنول

.....۸۴

شکل (۱۹-۴) - منحنی درجه بندی برای ۴,۲- دی کلرو فنول

.....۸۴

شکل (۲۰-۴) - منحنی درجه بندی برای ۲- متیل-۶,۴- دی نیترو فنول

.....۸۵

شکل (۲۱-۴) - منحنی درجه بندی برای ۶,۴,۲- تری کلرو فنول

.....۸۵

شکل (۲۲-۴) - منحنی درجه بندی برای پنتا کلرو فنول

.....۸۶

شکل (۲۳-۴) - کروماتوگرام های HPLC-DAD بدست آمده از نمونه پساب فولاد سبا در طول موج ۲۰۰ نانومتر.....۹۱

شکل (۲۴-۴) - کروماتوگرام های HPLC-DAD بدست آمده از نمونه پساب فولاد سبا در طول موج ۲۷۰ نانومتر.....۹۲

شکل (۲۵-۴) - کروماتوگرام های HPLC-DAD بدست آمده از نمونه پساب صنعتی ۲ در طول موج ۲۰۰ نانومتر.....۹۳

شکل (۲۶-۴) - کروماتوگرام های HPLC-DAD بدست آمده از نمونه پساب صنعتی ۲ در طول موج ۲۷۰ نانومتر.....۹۴

## فهرست جدول‌ها

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
.....۱.۱.....	جدول (۱-۱) - جدایی فاز با یونهای فلزی و (PFOS).
.....۳.۷.....	جدول (۱-۲) - ضرایب تقسیم اکتانول - آب و مقادیر $pK_a$ برای ۱۱ فنول موجود در لیست EPA-۶۰۴.
.....۴.۵.....	جدول (۱-۳) - برنامه ریزی شویش گرادایانی حلال (I) برای جداسازی فنول‌ها در طی مراحل بهینه سازی شرایط استخراج
.....۴.۵.....	جدول (۲-۳) - پارامترهای دستگاه در طی مراحل بهینه سازی شرایط استخراج
.....۴.۶.....	جدول (۳-۳) - طول موج‌های استفاده شده در طی مراحل بهینه سازی شرایط استخراج
.....۴.۶.....	جدول (۴-۳) - برنامه ریزی شویش گرادایانی حلال (II) برای جداسازی فنول‌ها در طی مراحل بعد از بهینه سازی شرایط استخراج
.....۴.۶.....	جدول (۵-۳) - پارامترهای دستگاه در طی مراحل بعد از بهینه سازی شرایط استخراج
.....۴.۷.....	جدول (۶-۳) - طول موج‌های استفاده شده در طی مراحل بعد از بهینه سازی شرایط استخراج
.....۵.۹.....	جدول (۱-۴) - زمان‌های بازداری مربوط به ۱۱ ترکیب فنولی در کروماتوگرام‌های الف و ب
.....۶.۰.....	جدول (۲-۴) - طول موج‌های انتخاب شده برای اندازه‌گیری فنول‌ها در مراحل بهینه سازی و بعد از آن
.....۶.۲.....	جدول (۳-۴) - متوسط حجم فاز ته نشین شده مربوط به بررسی حلال استخراج کننده
.....۶.۳.....	جدول (۴-۴) - داده‌های مربوط به بررسی تاثیر حلال استخراج کننده بر راندمان استخراج .
.....۶.۴.....	جدول (۵-۴) - متوسط حجم فاز ته نشین شده مربوط به بررسی حلال پاشنده .
.....۶.۵.....	جدول (۶-۴) - داده‌های مربوط به بررسی تاثیر حلال پاشنده بر راندمان استخراج
.....۶.۶.....	جدول (۷-۴) - تکرارپذیری حجم فاز ته نشین شده مربوط به بررسی حجم حلال استخراج کننده
.....۶.۸.....	جدول (۸-۴) - داده‌های مربوط به اثر حجم حلال استخراج کننده بر راندمان استخراج .
.....۶.۹.....	جدول (۹-۴) - متوسط حجم فاز ته نشین شده مربوط به بررسی حجم حلال پخشی
.....۷.۰.....	جدول (۱۰-۴) - داده‌های مربوط به بررسی تاثیر حجم حلال پخشی بر راندمان استخراج .
.....۷.۱.....	جدول (۱۱-۴) - متوسط حجم فاز ته نشین شده در بررسی اثر نمک
.....۷.۲.....	جدول (۱۲-۴) - داده‌های مربوط به اثر غلظت نمک بر راندمان استخراج .
.....۷.۳.....	جدول (۱۳-۴) - متوسط حجم فاز ته نشین شده در بررسی اثر pH
.....۷.۴.....	جدول (۱۴-۴) - داده‌های مربوط به اثر pH بر راندمان استخراج .
.....۷.۷.....	جدول (۱۵-۴) - داده‌های مربوط به اثر تری اتیل آمین بر روی میزان اتلاف نمونه در طی فرایند تبخیر حلال

عنوان

صفحه

.....۸۰.....	جدول (۴-۱۶) - فاکتور غنی سازی، انحراف استاندارد نسبی، حد تشخیص.
.....۸۴.....	جدول (۴-۱۷) - مربع ضریب همبستگی، معادله خطوط نمودار درجه بندی و دامنه خطی بودن .
.....۸۸.....	جدول (۴-۱۸) - معادله خط، درصد بازیابی، مربع ضریب همبستگی و انحراف استاندارد نسبی برای افزایش استاندارد به نمونه پساب دریاچه بزرگ
.....۸۹.....	جدول (۴-۱۹) - معادله خط، درصد بازیابی، مربع ضریب همبستگی و انحراف استاندارد نسبی برای افزایش استاندارد به پساب صنعتی ۱
.....۸۹.....	جدول (۴-۲۰) - معادله خط، بازیابی، مربع ضریب همبستگی، انحراف استاندارد نسبی برای افزایش استاندارد به پساب صنعتی ۲
.....۹۰.....	جدول (۴-۲۱) - معادله خط، بازیابی، مربع ضریب همبستگی، انحراف استاندارد نسبی برای افزایش استاندارد پساب سبا

## چکیده:

در این تحقیق از تکنیک ریز استخراج مایع - مایع پاشنده به همراه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) با آشکارساز آرایه دیودی به منظور استخراج و اندازه‌گیری فنول‌ها از نمونه‌های زیست محیطی استفاده شده است. بدین منظور مخلوط مناسبی از استون (حلال پاشنده) و کربن دی‌سولفید (حلال استخراجی) توسط یک سرنگ سریعاً به درون یک لوله شیشه‌ای در پیچ دار با انتهای مخروطی شکل حاوی محلول آبی استاندارد فنول‌ها تزریق گردید. پس از سانتریفیوژ نمودن، فاز ته نشین شده به طور کامل توسط یک سرنگ ۲۵۰ میکرولیتری HPLC به درون یک لوله شیشه‌ای کوچک دیگر با انتهای مخروطی منتقل گردید. سپس تبخیر حلال با جریان آرام گاز نیتروژن انجام شد و ۱۲/۵ میکرولیتر از مخلوط متانول - آب با نسبت حجمی ۳۰:۷۰ به گونه‌های باقی‌مانده موجود در لوله افزوده و در نهایت ۸/۵ میکرولیتر از آن به دستگاه HPLC تزریق گردید. به منظور بدست آوردن بهترین شرایط جهت انجام استخراج، برخی از پارامترهای موثر بر استخراج از قبیل: نوع حلال استخراجی، نوع حلال پاشنده، اثر افزایش نمک بر روی استخراج و pH مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت و شرایط بهینه استخراج تعیین گردید. تحت شرایط بهینه (۱۶۵ میکرولیتر حلال استخراجی، ۲۵۰۰ میکرولیتر حلال پاشنده،  $\text{pH} = 2$  و بدون افزایش نمک به محلول) فاکتورهای غنی‌سازی و حدود تشخیص برای ترکیبات به ترتیب در محدوده  $373/3 - 30/2$  و  $1/3 - 0/01$  قرار دارند. انحراف استاندارد نسبی برای آنالیز محلول آبی فنول‌ها با غلظت  $40 \mu\text{g/L}$  به ازای ۵ اندازه‌گیری در محدوده  $16/6 - 2/6$  واقع است. همچنین انحراف استاندارد نسبی برای محلول‌های پساب با غلظت افزوده شده فنول‌ها در سطح  $10 \mu\text{g/L}$  در محدوده  $19/26 - 4/3$  قرار دارد. محدوده خطی روش خوب بوده و برای اکثر ترکیبات بین  $200 - 0/5$  می‌باشد. مربع ضریب همبستگی نیز برای ترکیبات در محدوده  $0/9997 - 0/9958$  قرار دارد. همچنین درصد بازیابی محاسبه شده برای نمونه‌های پساب که به آنها در سطح  $10 \mu\text{g/L}$  از هر فنول افزوده شده بود بین  $108/3 - 65/5$  قرار دارد.

**کلمات کلیدی:** ریز استخراج مایع - مایع پاشنده، کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC)، فنول‌ها، پساب

## فصل اول

### استخراج و آماده سازی نمونه

#### ۱-۱- مقدمه

تا قبل از دهه ۱۹۶۰ در کشورهای صنعتی توجه زیادی به آلودگی‌های محیط زیست نمی‌شد. در چند دهه اخیر رشد تکنولوژی در مقیاس وسیع، اثرات مخرب بسیار زیادی بر محیط زیست گذاشته است. بشر در تلاش است که برای تامین منابع غذایی خود و افزایش آن، از ترکیبات گوناگون از قبیل داروهای دفع آفات، حشره کش‌ها، سموم و کودهای شیمیایی مختلف استفاده کند. از طرف دیگر رشد صنایع و تولید هر چه بیشتر انرژی باعث افزایش آلودگی محیط زیست، به خصوص هوا و آب آشامیدنی شده است. وجود این آلاینده‌ها در طبیعت، موجب تلاش بیشتر برای مطالعه و بررسی اثرات، کنترل و کاهش آلودگی گردیده است. البته افزایش روز افزون این ترکیبات، مشکلات زیادی را در اندازه‌گیری و کنترل آنها بوجود آورده است. هر چند مقدار این آلاینده‌ها در محیط زیست کم است ولی این مقادیر ناچیز نیز برای سلامتی انسان و محیط زیست، زیان آور هستند [۱].

مواد شیمیایی به محض آزاد شدن از منابع آلودگی در محیطی که بیشترین حلالیت را در آن دارند، منتشر می‌گردند. تری کلرو اتیلن و بنزن دو ترکیب فرار با فشار بخار بالا می‌باشند. بنابراین به محض انتشار در هوا پراکنده می‌گردند. استشمام، راه اصلی تماس با این ترکیبات به حساب می‌آید [۲]. DDT و PCBها حلالیت زیادی در مواد

آلی دارند بنابراین تمایل زیادی به تغلیظ و تجمع در بافت‌های زنده و انتقال به انسانها از طریق زنجیره غذایی دارند. فنول‌ها نیز به خاطر حلالیت خوبی که در آب دارند معمولاً در نمونه‌های آبی یافت می‌شوند [۲].

بزرگترین مشکل اندازه‌گیری این گونه ترکیبات آلوده کننده محیط زیست، عموماً به خاطر غلظت بسیار پایین آنهاست که با تکنیک‌ها و دستگاههای معمولی قابل اندازه‌گیری و شناسایی نیستند. برای رفع این مشکل نیازمند روش‌هایی هستیم که بتواند غلظت این ترکیبات را در نمونه‌های زیست محیطی افزایش داده و آنها را تغلیظ کند. از طرف دیگر نمونه‌های زیست محیطی معمولاً حاوی تعداد زیادی گونه‌های متفاوت بوده و دارای بافتی<sup>۱</sup> پیچیده می‌باشند. این بافت همواره برای اندازه‌گیری‌های دقیق و عاری از خطا مزاحمت ایجاد می‌کند بنابراین برای رفع این مشکل به یک مرحله پاکسازی<sup>۲</sup> نمونه از گونه‌های مزاحم نیاز می‌باشد. بدین منظور روش‌های متعددی برای جداسازی و تغلیظ گونه‌های مورد نظر توسعه یافته‌اند. این تکنیک‌ها بر اساس تفاوت بین خواص فیزیکی - شیمیایی اجزای گوناگون موجود در نمونه استوار می‌باشند. فراریت، بار الکتریکی، اندازه مولکولی، شکل و قطبیت از جمله خواصی هستند که در این ارتباط بیشتر مد نظر می‌باشند.

در اکثر موارد مشخص شده است که آماده‌سازی نمونه مرحله محدودکننده در آنالیزهای زیست محیطی می‌باشد. همچنین مشخص شده است که خطای اصلی در کل روش تجزیه‌ای می‌تواند در مرحله آماده‌سازی نمونه رخ دهد به طوری که بدون توجه به کارایی تکنیک تجزیه‌ای مورد استفاده، بروز هر گونه خطایی در مرحله آماده‌سازی نمونه منجر به خطای قابل ملاحظه‌ای در نتایج نهایی می‌گردد. همچنین بیشتر زمان آنالیز صرف جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه‌ها می‌گردد [۳].

### ۱-۱-۱- انتخاب و ارزیابی روش‌های جداسازی

برای جداسازی کامل یک جزء از یک مخلوط، همواره باید یک روش کارآمد و گزینش‌پذیر را انتخاب نمود. این موضوع در جلوگیری از خطا و اشتباه، هدر رفتن هزینه، امکانات و زمان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در واقع برای انتخاب یک روش جداسازی مناسب، انجام سعی و خطا اجتناب‌ناپذیر است مگر اینکه روش بر اساس موارد مشابه در نوشته‌های علمی انتخاب شود. البته در این زمینه دانش علمی و تئوری‌های استخراج در انتخاب گزینه‌های اولیه بسیار موثر است. برای اندازه‌گیری گونه اصلی یک مخلوط روشی از نظر عملی مطلوب است که بتواند آن گونه را به طور کامل در محدوده خطای اندازه‌گیری روش جداسازی کند. زمانی که جداسازی به منظور

---

1 Matrix

2 Clean up



خالص سازی یک گونه باشد، فاکتور جداسازی اجزای نامطلوب نسبت به جزء مطلوب اهمیت بیشتری در مقایسه با بازیافت جزء مطلوب پیدا می کند.

آماده سازی نمونه را می توان با تکنیک های مختلفی انجام داد که هر یک از این روش ها با توجه به عملکردشان در یکی از چهار گروه متداول زیر قرار می گیرند:

- روش هایی که هدف از انجام آنها آزادسازی گونه از بافت نمونه بیولوژیکی است و شامل هیدرولیز با اسید، باز یا آنزیم می باشند.

- روش هایی که شامل استخراج ترکیبات درونی محلول می باشند مانند کریستالیزاسیون، استخراج مایع - مایع و استخراج با فاز جامد

- روش هایی برای ایجاد تغییر در مایع شامل رقیق سازی، تبخیر، انحلال، صاف کردن و غیره.

- روش هایی برای افزایش گزینش پذیری و حساسیت آنالیز مثل انجام مشتق سازی قبل و بعد از ستون [۴].

تاکنون روش های استخراج و پیش تغلیظ متعددی به منظور آماده سازی نمونه توسعه یافته اند که در ادامه به بررسی برخی از این روش ها پرداخته می شود.

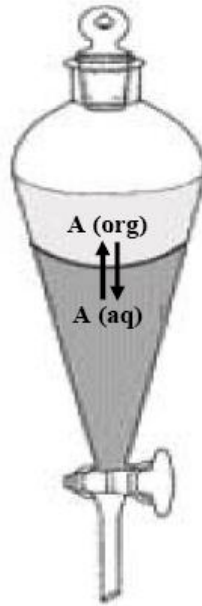
#### ۱-۲- استخراج مایع - مایع (LLE)

در استخراج مایع - مایع محلولی که شامل گونه مورد نظر (استخراج شونده) می باشد باید با فاز مایعی که گونه مورد نظر به درون آن استخراج می گردد غیر قابل امتزاج باشد. هنگامیکه فرایند استخراج انجام می گیرد آنالیت به درون فاز استخراج کننده انتقال می یابد. بنابراین فازی که دارای گونه آنالیت استخراج شده می باشد فاز استخراج<sup>۱</sup> و نمونه ای که آنالیت از آن جدا شده است فاز پالایش شده<sup>۲</sup> نامیده می شود. اصلی که توسط آن استخراج با حلال موفقیت آمیز می باشد این است که "مشابه، مشابه را حل می کند"<sup>۳</sup>

معمولاً از یک قیف جداکننده برای انجام این نوع استخراج استفاده می گردد (شکل ۱-۱). دو فاز غیر قابل امتزاج با تکان دادن با هم مخلوط شده و سپس با رها کردن مخلوط به حال خود از هم جا می گردند. در برخی موارد برای جلوگیری از تشکیل امولسیون ممکن است نمک به محیط اضافه گردد و در صورت لزوم از سانتریفیوژ به این منظور استفاده می گردد [۵ و ۶].

---

1 Extract Phase  
2 Refined Phase  
3 Like Dissolves Like



شکل (۱-۱) - ارائه شماتیک استخراج با حلال (توزیع مایع - مایع). گونه A بین دو فاز آبی و آلی تقسیم می‌گردد [۷].

#### ۱-۲-۱- تنوری استخراج مایع - مایع

استخراج آنالیت از یک فاز به فاز دوم به دو فاکتور حلالیت و تعادل وابسته می‌باشد. هنگامیکه دو فاز در تماس با یکدیگر قرار می‌گیرند تعادل زیر برای گونه A بین فازها برقرار می‌گردد:



در اینجا توزیع گونه حل شونده A بین دو فاز آبی و آلی توسط معادله نرنست به صورت زیر بیان می‌گردد:

$$K_{D,A} = \frac{[A]_{org}}{[A]_{aq}} \quad \text{معادله (۱-۱)}$$

در این معادله کروه‌ها نشان دهنده غلظت و  $K_{D,A}$  ثابت توزیع گونه A بین دو فاز آبی و آلی می‌باشد. معادله (۱-۱) فقط در حالتی که حلال‌ها خالص باشند معتبر است. در عمل حلال‌ها همواره با مولکول‌هایی از فاز دوم اشباع می‌شوند با وجود این اعتبار این معادله می‌تواند برای حالتی که حلالیت حلال‌های مورد استفاده در یکدیگر بسیار کم (< ۱٪) و یا ضرایب فعالیت سیستم ثابت باشند، حفظ گردد. حال اگر حل شونده به شدت حلال‌پوشی شود یا اینکه غلظت آن زیاد باشد ( $> 0.1M$ ) معادله (۱-۱) باید به ازای انحرافات از حالت ایده‌آل به شکل زیر تصحیح گردد:

$$K_{D,A}^0 = \frac{y_{A,org} [A]_{org}}{y_{A,aq} [A]_{aq}} = \frac{y_{A,org}}{y_{A,aq}} K_{D,A} \quad \text{معادله (۲-۱)}$$

در اینجا لا ضرایب فعالیت می‌باشند.

هنگامیکه یک گونه مانند  $M$  به فرم‌های مختلفی در فاز آلی و آبی وجود دارد فاکتور دیگری به نام نسبت توزیع اهمیت بیشتری می‌یابد این فاکتور برای گونه  $M$  به شکل زیر تعریف می‌گردد:

$$D_M = \frac{[M]_{t,org}}{[M]_{t,aq}} \quad \text{معادله (۳-۱)}$$

$[M]_t$  نشان دهنده مجموع غلظت‌های تمام گونه‌های  $M$  در فاز مورد نظر می‌باشد.

در حالیکه نسبت توزیع ( $D$ ) مستقل از نسبت حجم‌های دو فاز مورد استفاده می‌باشد غلظت حل شونده استخراج شده به نسبت حجم‌های دو فاز وابسته می‌باشد بنابراین درصد استخراج می‌تواند با استفاده از معادله زیر محاسبه گردد:

$$\% E = \frac{100 D}{\left( D + \frac{V_{aq}}{V_{org}} \right)} \quad \text{معادله (۴-۱)}$$

در این معادله اگر حجم فاز آلی و آبی یکسان باشد ( $V_{org} = V_{aq}$ ) معادله به شکل زیر در می‌آید:

$$\% E = \frac{100 D}{(D+1)} \quad \text{معادله (۵-۱)}$$

اگر مقدار  $D$  بزرگ باشد ( $> 10^2$ ) فقط یک مرتبه استخراج امکان انتقال کمی ماده مورد نظر را فراهم می‌کند، در مقابل با مقادیر کوچک  $D$  چندین استخراج مورد نیاز است. با این حال معادله زیر نشان می‌دهد که سود کمی در انجام دادن بیش از ۵ مرتبه متوالی استخراج از یک نمونه وجود دارد.

$$[A_{aq}]_n = \left( \left( \frac{V_{aq}}{V_{org} K + V_{aq}} \right) \right)_n [A_{aq}]_0 \quad \text{معادله (۶-۱)}$$

که  $[A_{aq}]_n$  غلظت گونه  $A$  باقی مانده در محلول آبی بعد از استخراج نمودن از حجم  $V_{aq}$  میلی لیتر از محلول آبی که دارای غلظت اولیه  $[A_{aq}]_0$  با  $n$  قسمت از حلال آلی که هر کدام حجم  $V_{org}$  را دارد، می‌باشد. از این معادله اثبات می‌شود که همواره بهتر است که از چندین قسمت یکسان از حلال (برای مثال  $20 \times 5 \text{ cm}^3$ ) به جای یک قسمت بزرگ ( $100 \times 1 \text{ cm}^3$ ) برای استخراج استفاده کنیم بنابراین برای اطمینان از استخراج کامل آنالیت به درون فاز استخراج‌کننده استخراج‌های متوالی ممکن است مورد نیاز باشد [۵-۷].

### ۱-۲-۲- گزینش پذیری استخراج

اغلب استخراج کمی یک ماده بدون استخراج بخشی از یک ماده دیگر غیرممکن است. قابلیت جداسازی دو ماده وابسته به مقدار نسبی توزیع آنها است. برای گونه‌های A و B که دارای نسبت‌های توزیع  $D_A$  و  $D_B$  هستند، فاکتور جداسازی  $\beta$  نسبت  $\frac{D_A}{D_B}$  که در آن  $D_A > D_B$  است، تعریف می‌شود. برای یک استخراج کاملاً کمی باید مقدار  $\beta$  حداقل  $10^5$  باشد. کارایی جداسازی را می‌توان با تنظیم نسبت فازهای آلی و آبی افزایش داد. نسبت بهینه برای بهترین جداسازی به وسیله معادله بوش - دنسن<sup>۱</sup> ارائه می‌شود:

$$\frac{V_{org}}{V_{aq}} = \left( \frac{1}{D_A D_B} \right)^{0.5} \quad \text{معادله (۷-۱)}$$

استخراج‌های متوالی در حالی که کارایی استخراج را برای هر دو ماده افزایش می‌دهد امکان ضعیف‌تر کردن جداسازی را نیز به وجود می‌آورد [۸].

### ۱-۲-۳- انتخاب حلال

چون استخراج بر اساس توزیع ترکیبات آلی یا گونه‌های معدنی بین نمونه آبی و یک حلال آلی غیر قابل امتزاج است و انتخاب حلال به ماهیت گونه‌ها وابسته است، عموماً حلال‌های غیرقطبی یا کم قطبی مورد استفاده قرار می‌گیرند. هگزان و سیکلوهگزان برای استخراج هیدروکربن‌های آلیفاتیک و سایر ترکیبات غیرقطبی نظیر آفت‌کش‌های آلی کلردار و فسفردار استفاده می‌شود. کلروفرم و کربن تتراکلرید انتخاب خوبی برای استخراج ترکیبات غیرقطبی یا نیمه قطبی می‌باشند. به این ترتیب انتخاب متنوع حلال، محدوده وسیعی از حلالیت و گزینش‌پذیری را فراهم می‌نماید. این یکی از مزایای LLE است. البته هر حلال به ندرت به صورت کاملاً ویژه برای استخراج یک دسته از ترکیبات به کار می‌رود. به طور کلی LLE برای استخراج گستره وسیعی از ترکیبات کاربرد دارد [۶].

### ۱-۳- استخراج مایع - مایع همگن<sup>۲</sup> (HLLE)

در این نوع استخراج از پدیده جدایی فاز جهت انجام استخراج استفاده می‌گردد. در نتیجه این جدایی فاز (دو فاز شدن محلول همگن)، گونه حل شونده مورد نظر به درون یک فاز آلی با حجم بسیار کم (در حد میکرو لیتر) استخراج می‌گردد.

1 Bush-Densen

2 Homogeneous Liquid Liquid Extraction