بسم الله الرحمن الرحيم

پایان نامه دکتری شیمی تجزیه

عامل‌دار کردن نانولوله های کربنی و به کارگیری آنها در تکنیک سُل- ژل برای تهیه فاز استخراجی در میکرواستخراج با فاز جامد و استفاده از آن برای استخراج و جداسازی آلاینده های زیست محیطی و ترکیبات دارویی

استاد راهنما:

دکتر علی سرافراز یزدی

استاد مشاور:

دکتر غلامحسین رونقی

دکتر حسین اشتیاق حسینی

تحقیق و نگارش:

امیرحسن امیری

تابستان ۱۳۹۱

فصل اول: مروری بر روشهای میکرواستخراج

۱-۱- مقدمه..... ۲

۱-۲- روش های میکرواستخراج با فاز مایع..... ۴

۱-۲-۱- میکرو استخراج فاز مایع با استفاده از قطره آلی..... ۶

۱-۲-۲- میکرو استخراج مستقیم با قطره معلق در محلول..... ۱۰

۱-۲-۳- میکرواستخراج با فاز مایع بوسیله فیبر توخالی..... ۱۱

۱-۲-۴- روش میکرو استخراج مایع ـ مایع پخشی..... ۱۴

۱-۳- میکرواستخراج با فاز جامد..... ۱۵

۱-۴-شیوه‌های استخراج با SPME..... ۱۸

۱-۴-۱- استخراج مستقیم..... ۱۹

۱-۴-۲- استخراج از فضای فوقانی..... ۱۹

۱-۴-۳-میکرو استخراج فاز جامد با غشاء محافظت شده..... ۲۱

۱-۵- تئوری میکرو استخراج فاز جامد..... ۲۱

۱-۵-۱- اصول ترمودینامیکSPME..... ۲۱

۱-۶- اصول سینتیکSPME..... ۲۳

۱-۷- پوشش فیبر..... ۲۶

۱-۸- پیشرفت‌های نوین در زمینه پوشش فیبرهای SPME..... ۳۰

۱-۹- تکنولوژی سُل- ژل..... ۳۰

۱-۱۰- تقسیم‌بندی عمومی سُل- ژل..... ۳۲

۱-۱۰-۱- تهیه ژل از سُل..... ۳۲

۱-۱۰-۲- رشد ژل..... ۳۲

۱-۱۰-۳- خشک‌شدن ژل..... ۳۲

۱-۱۱- مراحل تشکیل ژل..... ۳۳

۱-۱۲- استفاده از روش سُل- ژل برای ساخت فیبرهای میکرواستخراج با فاز جامد..... ۳۵

۱-۱۳- مراحل کلی تهیه فاز استخراج کننده میکرواستخراج با فاز جامد به روش سُل- ژل.....۳۷
۱-۱۳-۱- فعال کردن سطح سیلیکای مذاب.....۳۸
۱-۱۳-۲- واکنشهای شیمیایی.....۳۹
۱-۱۴- تهیه فازهای استخراج کننده مقاوم در برابر pH.....۴۲
۱-۱۵- نانولوله‌های کربنی.....۴۴
۱-۱۵-۱- مقدمه.....۴۴
۱-۱۵-۲- آلوتروپهای کربن.....۴۴
۱-۱۵-۳- تاریخچه.....۴۶
۱-۱۵-۴- ساختمان نانولوله های کربنی.....۴۷
۱-۱۶- خواص نانولوله های کربنی.....۵۰
۱-۱۶-۱- فعالیت شیمیایی.....۵۰
۱-۱۶-۲- هدایت الکتریکی.....۵۰
۱-۱۶-۳- فعالیت نوری.....۵۰
۱-۱۶-۴- استحکاممکانیکی.....۵۱
۱-۱۶-۵- هدایت و استحکام حرارتی.....۵۱
۱-۱۶-۶- مساحت سطح.....۵۱
۱-۱۷-کاربرد نانولوله های کربنی.....۵۲
۱-۱۸- عامل دار کردن نانولوله های کربنی.....۵۳
۱-۱۹- وجه عملی میکرواستخراج با فاز جامد.....۵۴
۱-۱۹-۱- انتخاب روش استخراج.....۵۴
۱-۱۹-۲- انتخاب تکنیک جداسازی یا آشکارسازی.....۵۴
۱-۱۹-۳- بهینه کردن شرایط واجذب.....۵۵
۱-۲۰- پارامترهای موثر در استخراج و بهینه‌سازی شرایط استخراج با SPME.....۵۵
۱-۲۰-۱- حجم نمونه.....۵۵
۱-۲۰-۲-انتخاب حالت همزدن.....۵۶

۱-۲۰-۳-زمان استخراج.....۵۶
۱-۲۰-۴-دما.....۵۶
۱-۲۰-۵-pH.....۵۷
۱-۲۰-۶-غلظت نمک.....۵۷

فصل دوم: بخش تجربی

بخش اول
تهیه فاز استخراج کننده میکرواستخراج با فاز جامد با استفاده از تکنیک سُل- ژل و نانولوله های کربنی

۲-۱- مقدمه.....۶۰
۲-۲- مواد شیمیایی مورد استفاده.....۶۱
۲-۳- تجهیزات دستگاهی.....۶۲
۲-۳-۱-دستگاه اولتراسونیک.....۶۲
۲-۳-۲-میکروسکوپ الکترونی پویشی.....۶۲
۲-۳-۳- دستگاه مادون قرمز تبدیل فوریه.....۶۲
۲-۳-۴- دستگاه تجزیه وزن سنجی حرارتی.....۶۲
۲-۳-۵- دستگاه سانتریفیوژ.....۶۳
۲-۴- مراحل عامل دار کردن نانولوله های با پلی اتیلن گلیکول.....۶۳
۲-۴-۱- اکسیداسیون نانولوله های کربنی.....۶۳
۲-۴-۲- تهیه آلکانوئیل (آسیل) هالید نانولوله های کربنی.....۶۴
۲-۴-۳- عامل دار کردن نانولوله های کربنی با پلیمر پلی اتیلن گلیکول.....۶۵
۲-۵- بررسی سطح نانولوله های کربنی عامل دار شده با پلی اتیلن گلیکول.....۶۶
۲-۶- ساخت فیبرهای میکرواستخراج فاز جامد با استفاده از روش سُل- ژل بر پایه سیلیسیم.....۶۹
۲-۶-۱- فعال سازی بستر شیشه ای فیبر.....۶۹

۲-۶-۲- ساخت سُل و تشکیل ژل بروی بستر شیشه ای فیبر..... ۷۰
۲-۶-۳- پیرسازی، خشک سازی و آماده‌سازی فیبرهای تهیه شده..... ۷۲
۲-۷- بررسی ساختارسطح فیبر با استفاده از میکروسکوپ الکترونی پویشی..... ۷۳
۲-۸- ساخت فیبرهای میکرواستخراج فاز جامد با استفاده از روش سُل- ژلبر پایه تیتانیوم..... ۷۶
۲-۸-۱- فعال سازی بستر شیشه ای فیبر..... ۷۶
۲-۸-۲- ساخت سُل و تشکیل ژل بروی بستر شیشه ای فیبر..... ۷۶
۲-۸-۳- پیرسازی ، خشک سازی و آماده‌سازی فیبرهای تهیه شده..... ۷۷

بخش دوم

استخراج ترکیبات BTEX در نمونه های آبی زیست محیطی

با استفاده روش میکرواستخراج فاز جامد بر پایه روش سُل- ژل

۳-۱- مقدمه..... ۷۹
۳-۲- مواد شیمیایی مورد استفاده..... ۸۱
۳-۳- دستگاه‌های مورد استفاده..... ۸۱
۳-۴- تهیه محلول‌های استاندارد..... ۸۲
۳-۵- میکرو استخراج فاز جامد از فضای فوقانی..... ۸۲
۳-۶- شرایط دستگاهی کروماتوگرافی گازی..... ۸۳
۳-۷- پارامترهای موثر در استخراج و بهینه‌سازی شرایط استخراج..... ۸۴
۳-۷-۱- بهینه‌سازی شرایط واجذبی..... ۸۴
۳-۷-۲- اثر دمای استخراج..... ۸۵
۳-۷-۳- اثر زمان استخراج..... ۸۶
۳-۷-۴- اثر سرعت هم زن..... ۸۷
۳-۷-۵- اثر افزایش نمک..... ۸۸
۳-۷-۶- بررسی پایداری گرمایی فیبر..... ۸۹
۳-۷-۷- بررسی عمر فیبر..... ۹۰

۳-۸- بررسی های آماری و ارقام شایستگی روش..... ۹۱
۳-۹- تجزیه نمونه های حقیقی..... ۹۵
۳-۱۰- مقایسه فیبر تهیه شده با سایر فیبرها برای اندازه گیری ترکیبات BTEX..... ۹۷
۳-۱۱- بحث و نتیجه‌گیری..... ۹۷

بخش سوم

استخراج متیل‌ترسیوبوتیل‌اتر در نمونه های آبی زیست محیطی با استفاده ازروش میکرواستخراج فاز جامد بر پایه روش سُل- ژل

۴-۱- مقدمه..... ۱۰۰
۴-۲- مواد شیمیایی مورد استفاده..... ۱۰۲
۴-۳- دستگاه‌های مورد استفاده..... ۱۰۲
۴-۴- میکرو استخراج فاز جامد از فضای فوقانی..... ۱۰۲
۴-۵- شرایط دستگاهی کروماتوگرافی گازی..... ۱۰۳
۴-۶- بهینه سازی پارامترهای موثر در استخراج..... ۱۰۳
۴-۶-۱- بهینه‌سازی شرایط واجذبی MTBE از روی فیبر..... ۱۰۴
۴-۶-۲- اثر دمای استخراج..... ۱۰۴
۴-۶-۳- اثر زمان استخراج..... ۱۰۵
۴-۶-۴- اثر سرعت هم زن..... ۱۰۶
۴-۶-۵- اثر افزایش نمک..... ۱۰۶
۴-۷- بررسی های آماری و ارقام شایستگی روش..... ۱۰۷
۴-۸- تجزیه نمونه های حقیقی..... ۱۰۹
۴-۹-مقایسه روش پیشنهاد شده با سایر روشهای SPME برای اندازه گیری MTBE ۱۱۰
۴-۱۰- بحث و نتیجه‌گیری..... ۱۱۱

بخش چهارم
استخراج ترکیبات ضد التهابی غیر استروئیدی در نمونه های آبی با استفاده از روش میکرواستخراج فاز جامد بر پایه روش‌سُل- ژل

۵-۱- مقدمه..... ۱۱۳

۵-۲- مواد شیمیایی مورد استفاده..... ۱۱۶

۵-۳- دستگاه‌های مورد استفاده..... ۱۱۷

۵-۴- میکرو استخراج با فاز جامد به صورت مستقیم..... ۱۱۷

۵-۵- شرایط دستگاهی کروماتوگرافی گازی..... ۱۱۸

۵-۶- بهینه سازی پارامترهای موثر در استخراج..... ۱۱۸

۵-۶-۱- بهینه‌سازی شرایط واجذبی ترکیبات دارویی از روی فیبر..... ۱۱۹

۵-۶-۲- اثر دمای استخراج..... ۱۱۹

۵-۶-۳- اثر زمان استخراج..... ۱۲۰

۵-۶-۴- اثر pH..... ۱۲۱

۵-۶-۵- اثر افزایش نمک..... ۱۲۲

۵-۶-۶- اثر سرعت هم زن..... ۱۲۳

۵-۶-۷- بررسی پایداری گرمایی فیبر..... ۱۲۳

۵-۶-۸- بررسی عمر فیبر..... ۱۲۴

۵-۷- بررسی های آماری و ارقام شایستگی روش..... ۱۲۵

۵-۸- تجزیه نمونه های حقیقی..... ۱۲۸

۵-۹- مقایسه روش پیشنهاد شده با سایر روشهایSPME برای اندازه گیری ترکیبات NSAIDs..... ۱۳۰

۵-۱۰- بحث و نتیجه‌گیری..... ۱۳۱

بخش پنجم

استخراج ترکیبات ضد التهابی غیر استروئیدی در نمونه های ادرار با استفاده ازروش میکرواستخراج فاز جامد بر پایه روش‌سُل- ژل محافظت شده با غشا

۶-۱- مقدمه..... ۱۳۳

۶-۲- مواد شیمیایی مورد استفاده..... ۱۳۵

۶-۳- دستگاه‌های مورد استفاده..... ۱۳۵

۶-۴- تهیه محلول‌های استاندارد..... ۱۳۵

۶-۵- میکرو استخراج با فاز جامد محافظت شده با غشا..... ۱۳۶

۶-۶- میکرو استخراج با فاز جامد به صورت مستقیم..... ۱۳۸

۶-۷- میکرو استخراج با فیبر توخالی..... ۱۳۸

۶-۸- شرایط دستگاهی کروماتوگرافی گازی..... ۱۳۹

۶-۹- بهینه سازی پارامترهای موثر در استخراج..... ۱۳۹

۶-۹-۱- انتخاب حلال آلی استخراج‌کننده..... ۱۳۹

۶-۹-۲- بهینه‌سازی شرایط واجذبی ترکیبات دارویی از روی فیبر..... ۱۴۰

۶-۹-۳- اثر دمای استخراج..... ۱۴۰

۶-۹-۴- اثر زمان استخراج..... ۱۴۱

۶-۹-۵- اثر pH..... ۱۴۲

۶-۹-۶- اثر افزایش نمک..... ۱۴۳

۶-۹-۷- اثر سرعت هم زن..... ۱۴۴

۶-۱۰- بررسی های آماری و ارقام شایستگی روش..... ۱۴۵

۶-۱۰-۱- صحت و دقت روش..... ۱۴۷

۶-۱۱- مقایسه روش HFM-SPME با روش HF-LPME و DI-SPME..... ۱۴۹

۶-۱۲- تجزیه نمونه های حقیقی..... ۱۵۲

۶-۱۳- بحث و نتیجه‌گیری..... ۱۵۲

☺ پیشنهادات..... ۱۵۴

مراجع..... ۱۵۵

چکیده

هدف تحقیق حاضر، توسعه ی روشهای آماده سازی و پیش تغلیظ ترکیبات مختلف، براساس میکرواستخراج با فاز جامد بر پایه سُل- ژل می باشد و برای اندازه گیری آنها از روش کروماتوگرافی گازی با آشکارساز یونیزاسیون شعله ای استفاده گردید. این پایان نامه در دو فصل تنظیم شده است؛ درفصل اول، مروری اجمالی بر انواع روشهای آماده سازی و پیش تغلیظ نمونه های مختلف انجام گرفته است. درفصل دوم، که فصل تجربی است وشامل پنج بخش می باشد؛ از فازهای استخراجی تهیه شده، برای استخراج و پیش تغلیظ ترکیبات مختلف استفاده شد.

در بخش اول فصل دوم، نانولوله های کربنی پوشش داده شده با پلی اتیلن گلیکول (PEG-g-MWCNTs) تهیه شد و از آن به عنوان فاز استخراج کننده استفاده گردید. نانولوله های کربنی پوشش داده شده با پلی اتیلن گلیکول از لحاظ سُل- ژلی فعال می باشند و می توانند با دیگر ترکیبات موجود در محلول سل پیوند شیمیایی برقرار کنند. در این بخش، دو نوع پوشش بر پایه سیلیسیم و تیتانیوم به روش سُل- ژل با نانولوله های کربنی پوشش داده شده با پلی اتیلن گلیکول، تهیه گردید. خصوصیات ترکیب PEG-g-MWCNTs به وسیله روش طیف سنجی مادون قرمز و روش تجزیه وزن سنجی حرارتی مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از میکروسکوپ الکترونی پویشی همگن بودن، تخلل و ضخامت فیبر مورد بررسی قرار گرفت. ضخامت پوشش فیبرهای ساخته شده با استفاده از این تکنیک حدود ۲۰ میکرومتر تخمین زده می شود. این پوشش های تهیه شده دارای ساختاری بسیار متخلخل بوده که به طور بارزی می تواند باعث افزایش مساحت سطح فیبر گردد. همچنین در تصاویر با بزرگنمایی بالا، نانولوله های کربنی را می توان مشاهده کرد که باعث افزایش بیشتر مساحت سطح پوشش می گردند.

در بخش دوم، میکرواستخراج با فاز جامد از فضای فوقانی، با فاز استخراجی تهیه شده از PEG-g-MWCNTs و روش سُل- ژل، برای استخراج ترکیبات BTEX از نمونه های آبی زیست محیطی استفاده گردید. و برای اندازه گیری آن از دستگاه کروماتوگرافی گازی و آشکارساز یونیزاسیون شعله ای استفاده گردید. پوشش تهیه شده دارای مزیت های ممتازی است که به پایداری حرارتی و طول عمر بالای آن می توان اشاره کرد که علت آن پیوند شیمیایی بین پوشش و سطح بستر فیبر می باشد. پارامترهای موثر در استخراج مانند دمای استخراج، مدت زمان استخراج، غلظت نمک، سرعت هم زدن، دمای واجذبی آنالیت و زمان واجذبی آنالیت نمونه مورد

بررسی قرار گرفتند و بهینه شدند. تحت شرایط بهینه منحنی کالیبراسیون برای ترکیبات BTEX با رسم سطح زیر پیک محلولهای استاندارد در مقابل غلظت بدست آمد؛ که مقادیرضرایب همبستگی (R) بدست آمده برای آنالیت ها بیشتر از ۰/۹۹۶۱ می باشد. حد تشخیص روش، به طور عملی در نسبت سیگنال به نویز برابر ۳ و با پنج بار تکرار آزمایش بدست آمد، که مقادیر آن، ۰/۶ تا ۳ پیکوگرم در میلی لیتر حاصل گردید. و حد کمی آن در نسبت سیگنال به نویز برابر۱۰، بین ۲ تا ۱۰ پیکوگرم در میلی لیتر به دست آمد. تکرارپذیری روش به صورت انحراف استاندارد نسبی گزارش شده است. تکرارپذیری در جواب فیبر به آنالیت به صورت انحراف استاندارد نسبی حاصل از ۵ بار اندازه‌گیری در غلظت ۲۰ پیکوگرم در میلی لیتر نسبت به هریک از آنالیت ها، توسط یک فیبر محاسبه گردید که مقادیر آن در محدوده ۴/۴ تا ۵/۷ درصد به دست آمد. همچنین تکرارپذیری در ساخت فیبر به صورت انحراف استاندارد نسبی برای اندازه‌گیری غلظت۲۰ پیکوگرم در میلی لیتر نسبت به هریک از آنالیت ها، توسط ۳ فیبر تهیه شده تحت شرایط یکسان، به دست آمد که مقادیر آن ۴/۳ تا ۶/۵ درصد حاصل گردید. در نهایت روش پیشنهادی با موفقیت برای اندازه گیری ترکیبات BTEXدر نمونه های حقیقی مورد استفاده گرفت.

در بخش سوم، فاز استخراجی تهیه شده از PEG-g-MWCNTs به روش سُل- ژل، برای میکرواستخراج با فاز جامد ترکیب MTBE از نمونه های آبی زیست محیطی استفاده گردید. محدوده خطی روش، درگستره ی ۵۰۰-۰/۰۷ نانوگرم در لیتر با ضریب همبستگی ۰/۹۹۸۵ می باشد. حدتشخیص روش، به طور عملی درنسبت سیگنال به نویز برابر ۳ و با پنج بار تکرار آزمایش بدست آمد، که مقدار آن، ۰/۰۱ نانوگرم در میلی لیترحاصل گردید. تکرارپذیری در جواب فیبر به آنالیت به صورت انحراف استاندارد نسبی حاصل از ۶ بار اندازه‌گیری در در دو غلظت ۰/۱ و ۱۰۰ نانوگرم در میلی لیتر توسط یک فیبر محاسبه گردید که این مقادیر به ترتیب، برابر ۵/۳ و ۴/۱ درصد می باشد. همچنین تکرارپذیری در ساخت فیبر به صورت انحراف استاندارد نسبی برای اندازه‌گیری غلظت ۰/۱ نانوگرم در میلی لیتر از MTBE، توسط ۳ فیبر تهیه شده تحت شرایط یکسان، به دست آمد که مقدار آن ۶/۵ درصد حاصل گردید. در نهایت جهت بررسی اثر ماتریکس نمونه حقیقی، نمونه های آبی از قبیل فاضلاب شهری، آب آشامیدنی و آب چاه و آب یکی از رودخانه های محلی شهر مشهد مورد بررسی قرار گرفت. درصد بازیابی نسبی به دست آمده برای نمونه های حقیقی نشان می دهد که صحت روش برای اندازه گیری ترکیب MTBE، مطلوب است و همچنین اثر ماتریکس قابل توجهی مشاهده نمی گردد.

در بخش چهارم، از روش میکرواستخراج با فاز جامد به روش مستقیم، با پوشش PEG-g-MWCNTs بر پایه تیتانیوم ساخته شده به روش سُل- ژل، برای استخراج ترکیبات دارویی ایبوپروفن، ناپروکسن و دیکلوفناک درنمونه های آبی زیست محیطی استفاده گردید. دمای استخراج، مدت زمان استخراج، اثر pH، غلظت نمک، سرعت هم زدن، دمای واجذبی آنالیت و زمان واجذبی آنالیت، نمونه از جمله پارامترهای مهمی هستند که در کارایی روش میکرواستخراج با فاز جامد به صورت مستقیم موثر می باشند. در شرایط بهینه، منحنی های کالیبراسیون مربوط به هر آنالیت در غلظت های مختلف مورد بررسی قرار گرفتندکه نشان می دهند که ضرایب همبستگی (R) بیشتر از ۰/۹۹۸۵ می باشد. حد تشخیص روش، به طور عملی در نسبت سیگنال به نویز برابر ۳و با پنج بار تکرار آزمایش بدست آمد، که مقادیر آن، ۰/۰۰۷ تا ۰/۰۳ نانوگرم در میلی لیتر حاصل گردید. تکرارپذیری روش به صورت انحراف استاندارد نسبی گزارش شده است. تکرارپذیری در جواب فیبر به آنالیت به صورت انحراف استاندارد نسبی حاصل از ۵ بار اندازه‌گیری در غلظت ۰/۱ نانوگرم در میلی لیتر نسبت به هریک از آنالیت ها، توسط یک فیبر محاسبه گردید که مقادیر آن در محدوده ۵/۹ تا ۸/۱ درصد به دست آمد. همچنین تکرارپذیری در ساخت فیبر به صورت انحراف استاندارد نسبی برای اندازه‌گیری غلظت ۰/۱ نانوگرم در میلی لیتر نسبت به هریک از آنالیت ها، توسط ۳ فیبر تهیه شده تحت شرایط یکسان، به دست آمد که مقادیر آن ۷/۲ تا ۹/۱ درصد حاصل گردید. برای بررسی کارآیی روش مذکور، دراندازه گیری مقادیرکم ترکیبات دارویی موردنظر درنمونه های حقیقی، چهار نمونه آب زیست محیطی شامل فاضلاب شهری، آب آشامیدنی و آب چاه و آب یکی از رودخانه های محلی شهر مشهد مورد آزمایش و بررسی قرار گرفتند.

در بخش پنجم، روشی ارائه شد که در آن پوشش فیبر SPME توسط یک غشای توخالی در برابر ماتریکس پیچیده نمونه محافظت می گردد و از این روش برای اندازه گیری ایبوپروفن، ناپروکسن و دیکلوفناک در نمونه های ادرار استفاده گردید. در واقع این روش از ترکیب مزیت های روش SPME بر اساس سُل- ژل، نانولوله های کربنی و روش میکرواستخراج فاز مایع با فیبر توخالی برخوردار است. پوشش فیبر SPME استفاده شده، پوشش PEG-g-MWCNTs بر پایه تیتانیوم با استفاده از روش سُل- ژل می باشد. حلال آلی، دمای واجذبی آنالیت، زمان واجذبی آنالیت، دمای استخراج، مدت زمان استخراج، اثر pH، غلظت نمک و سرعت هم زدن نمونه از جمله پارامترهای مهمی هستند که در کارایی روش میکرواستخراج با فاز جامد محافظت شده به وسیله غشای توخالی موثر می باشند. در شرایط بهینه، منحنی های کالیبراسیون مربوط به هر آنالیت را در غلظت های مختلف مورد بررسی قرار گرفت که نشان می دهد ضرایب همبستگی (R) بیشتر از ۰/۹۹۹۶

می باشد. حد تشخیص روش، به طور عملی در نسبت سیگنال به نویز برابر ۳ و با پنج بار تکرار آزمایش بدست آمد،که مقادیر آن، ۰/۰۳ تا ۰/۱۵ نانوگرم در میلی لیتر حاصل گردید. تکراپذیری روش به صورت تکرارپذیری در یک روز و تکرارپذیری بین روزها در ۳ سطح غلظتی مورد بررسی قرار گرفت تکرارپذیری در یک روز، بین ۴/۸ تا ۹ درصد و تکرارپذیری بین روزها بین ۴/۹ تا ۸/۱ حاصل گردید. برای بررسی صحت روش نمونه های ادرار در سه سطح غلظتی از ایبوپروفن، ناپروکسن و دیکلوفناک مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان می دهد که درصد بازیابی نسبی آنالیت ها بین ۸۰/۲ تا ۹۸/۵ درصد می باشد. در نهایت روش پیشنهاد شده برای تعیین و اندازه گیری ایبوپروفن، ناپروکسن و دیکلوفناک در نمونه های ادرار افرادی که این ترکیبات دارویی برای آنها تجویز شده بود، مورد استفاده قرار گرفت.

Abstract

The aim of this research is to develop the preconcentration and sample preparation methods, based on solid-phase microextraction (SPME) procedure prior to gas chromatography-flame ionization detector (GC–FID). In this research, the sol–gel method was applied for the preparation of solid-phase microextraction fibers to extract various compounds from environmental water and biological samples. This thesis consists of two chapters. In the first one, some of the sample preparation methods were reviewed. In the second one, consisting of five sections, two types of the prepared solid-phase microextraction coating fibers based sol-gel technology were used to determine the trace levels of various compounds.

In the first section of Chapter Two, poly(ethylene glycol) (PEG) grafted onto multi-walled carbon nanotubes (PEG-g-MWCNTs) were synthesized by the covalent functionalization of MWCNTs with hydroxyl-terminated PEG chains. For the first time, the functionalized product of PEG-g-MWCNTs was used as selective stationary phase to prepare the silica and titania based sol–gel solid-phase microextraction (SPME) coating fibers. The PEG-g-MWCNTs were characterized by fourier transform infrared spectra and also thermo-gravimetric analysis, which verified that PEG chains were grafted onto the surface of the MWCNTs. The scanning electron micrographs of the fiber surface revealed a highly porous structure which greatly increases the surface area for PEG-g-MWCNTs sol–gel coating.

In the second section, the developed PEG-g-MWCNTs sol–gel coating was used to determine BTEX in real water samples with GC-FID. This fiber demonstrated many inherent advantages, the main one being the strong anchoring of the coating to the fused silica resulting from chemical bonding with the silanol groups on the fused-silica fiber surface. The new PEG-g-MWCNTs sol–gel fiber is simple to prepare, robust, with high thermal stability and long lifetime, up to 200 extractions. Important parameters influencing the extraction efficiency such as desorption temperature and time, extraction temperature, extraction time, stirring speed and salt effect were investigated and optimized. Under the optimal conditions, the method detection limits (S/N=3) were in the range of 0.6–3 pg mL^{-1} and the limits of quantification (S/N=10) between 2–10 pg mL^{-1}. The relative standard deviations (RSDs) for one fiber (repeatability) (n=5) were obtained from 4.4 up to 5.7% and between fibers or batch to batch (n=3) (reproducibility) in the range of 4.3–6.5%. The developed method was

successfully applied to real water samples while the relative recovery percentages obtained for the spiked water samples at 20 pg mL^{-1} were from 90.2 to 101.9%.

In section three, the PEG-g-MWCNTs sol–gel coating was used for determination of MTBE in real water samples with GC-FID. The calibration curve of the MTBE was linear in the range from 0.07to 500 $ngmL^{-1}$. The limits of detection (S/N=3) 0.01 $ngmL^{-1}$ and the limits of quantification (S/N=10), 0.07 ng/mL were obtained. The relative standard deviations (RSDs) for one fiber (repeatability) (n=6) and between fibers or batch to batch (n=3) (reproducibility) were obtained. The developed method was applied successfully to determine trace level of the MTBE in real watersamples.

In section four, titania based PEG-g-MWCNTs sol–gel solid-phase microextraction (SPME) coating fiber, was used for the determination of ibuprofen, naproxen and diclofenac in real water samples. Some parameters which influene the extraction efficiency were such as desorption temperature and time, extraction temperature and time, pH, salt effect and the stirring rate that were investigated and optimized. Under the optimal conditions, the method detection limits (S/N=3) were in the range of 0.007–0.03 ng mL^{-1} and the limits of quantification (S/N=10) between 0.05–0.07 ng mL^{-1}. The relative standard deviations (RSDs) for one fiber (repeatability) (*n*=5) were obtained from 5.9 up to 8.1% and between fibers or batch to batch (*n*=3) (reproducibility) in the range of 7.2–9.1%. The developed method was successfully applied to real water samples while the relative recovery percentages obtained for the spiked water samples at 0.2 ng mL^{-1} were from 84 to 107%.

In the fifth section, a new rapid, simple and effective cleanup procedure is demonstrated for the determination of ibuprofen, naproxen and diclofenac in urine samples by using hollow-fiber liquid membrane-protected solid-phase microextraction (HFM-SPME) based on the sol–gel technique and GC–FID.In this technique, a sol–gel coated fiber was protected with a length of porous polypropylene hollow fiber membrane which was filled with water-immiscible organic phase. Subsequently the whole device was immersed into urine sample for extraction.Poly(ethylene glycol) (PEG) grafted onto multi-walled carbon nanotubes (PEG-g-MWCNTs) was used as extraction phase to prepare the sol–gel SPME fiber. Important parameters influencing the extraction efficiency such as desorption temperature and time, organic solvent, extraction temperature and time, pH, stirring rate and salt effect were investigated and optimized. Under the optimal conditions, the method detection limits

(S/N=3) were in the range of 0.03–0.07 ng mL^{-1} and the limits of quantification (S/N=10) between 0.08–0.15 ng mL^{-1}. Relative standard deviations for intra-day and inter-day precisions were 4.8–9.0% % and 4.9–8.1%, respectively. Subsequently, the method was successfully applied to human urine fractions after the administration of ibuprofen, naproxen and diclofenac.

فصل اول

مروری بر روشهای میکرواستخراج

۱-۱- مقدمه

طی سالهای گذشته در بسیاری از کشورهای پیشرفته و صنعتی و همچنین کشورهای در حال توسعه، انواع مختلفی از مواد و ترکیبات شیمیایی در صنایع گوناگون تولید و یا مصرف شده اند؛ لذا، ورود مقادیر بسیار زیادی از این ترکیبات به صورت مواد زاید در چرخه محیط زیست اجتناب ناپذیر بوده است. این مواد زاید به عنوان آلاینده های زیست محیطی در نظرگرفته می شوندکه اثرات نامطلوبی برروی سلامتی بشر و همچنین محیط زیست دارند [۱]. امروزه با توجه به توسعه ی صنایع مختلف و در نتیجه تولید و مصرف انواع جدید این ترکیبات، مشکل آلایندگی بیشتر محیط زیست تبدیل به یکی از معضلات اصلی جوامع صنعتی گشته است. بنابراین، شناسایی و اندازه گیری این ترکیبات آلاینده، جهت کنترل خطرات زیست محیطی ناشی از آنها یک اقدام اساسی و موثر می باشد. امروزه، مشخص شده است که بسیاری از این ترکیبات شیمیایی علاوه بر خواص سمی شناخته شده ای که دارند، دارای خاصیت سرطانزایی نیز می باشند و می توانند حتی در مقادیر بسیار کم نیز باعث ایجاد بیماریهای بسیار خطرناکی در انسان و سایر جانداران گردند. لذا، اندازه گیری مقادیر بسیار کم این ترکیبات در نمونه های زیست محیطی از اهمیت ویژه ای برخوردار است. درطی دهه های گذشته، تلاشهای زیادی در زمینه ی توسعه و ابداع روش های نوین، به منظور اندازه گیری این بقایای اندک ترکیبات شیمیایی سرطانزا و سمی، در انواع مختلف نمونه های زیست محیطی، بیولوژیکی وصنعتی صورت گرفته است. طی چند دهه اخیررشد چشمگیری در استفاده از تکنیک های اندازه گیری نمونه صورت گرفته است. دستگاههای تجزیه ای از قبیل کروماتوگرافی، اسپکتروسکوپی ، میکروسکوپی و همین طور حسگرها و ابزارهای میکرو نیز تحت تاثیر همین پیشرفت ها قرارگرفته اند. اما علی رغم پیشرفت در ساخت ابزارهای تجزیه ای، اندازه گیری های بسیار دقیق و غیر تخریبی هنوز در بیشتر موارد امکان پذیر نمی باشد. لذا جهت کمک به بهبود روش های موجود، در اغلب موارد یک یا چند مرحله آماده سازی نمونه ضروری است که اهداف اساسی روش های تهیه و آماده سازی نمونه عبارت است از: پاک سازی[1] ، تغلیظ و بهبود سیگنال دستگاهی.

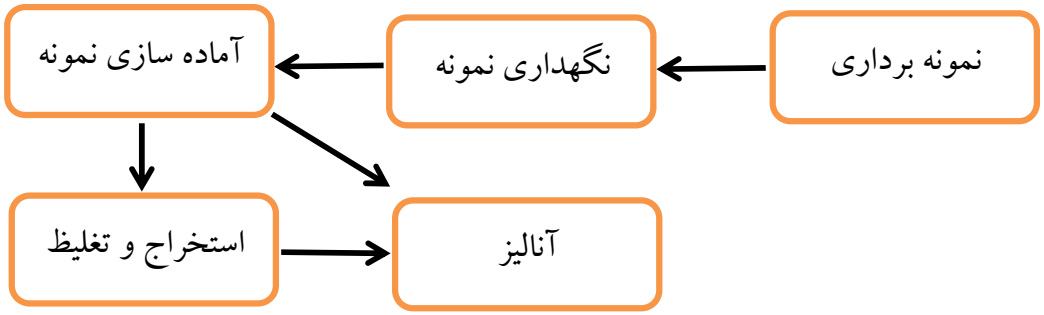
استفاده از این روش ها غالباً به دلیل طولانی بودن اجرای آنالیزهای شیمیائی و پرزحمت بودن آنها از استقبال چندانی برخوردار نیستند. طی دو دهه اخیر به دلیل نیاز مبرم صنایع دارویی و زیست محیطی به اندازه گیری دقیق نمونه های دارای بافت پیچیده[2]، روش های آماده سازی نمونه به سرعت رشد یافته اند [۳، ۲].

روش های آماده سازی نمونه معمولاً اهداف کلی زیر را دنبال می کنند:

[1] Clean-up
[2] Matrix

- افزایش غلظت آنالیت به منظور بالا بردن انتخابگری وسنجش و بهبود سیگنال های تجزیه ای.
- حذف مزاحمت های بالقوه در مراحل جداسازی و تشخیص نمونه و در نتیجه افزایش انتخابگری روش.
- در صورت لزوم، تبدیل آنالیت ها به فرم مناسب تر برای تشخیص یا جداسازی بهتر.
- فراهم کردن یک روش تکرارپذیر وقوی، که مستقل از تغییرات بافت نمونه است.

از آنجایی که تکرارپذیری در روشهای آماده سازی نمونه اهمیت بسیار زیادی دارد، استفاده از تکنیک های خودکار که در آنها آنالیز نمونه بدون دخالت فرد صورت می گیرد روز به روز در حال افزایش است[۴]. برخی از مراحل رایج همراه با فرآیندهای آنالیز که شامل مرحله آماده سازی نمونه نیز می باشند در شکل ۱-۱ نشان داده شده است.



شکل ۱-۱- مراحل یک فرآیند تجزیه ای که شامل آماده سازی نمونه نیز می باشد.

آماده سازی نمونه در یک فرآیند تجزیه ای عمدتاً شامل مرحله استخراج است که منجر به تغلیظ و جداسازی گونه های موردنظر از بافت نمونه می گردد. انتخاب روش استخراج به شرایط کار، ماهیت گونه، بافت نمونه و نوع فاز استخراج کننده وابسته است. توجه اخیر شیمیدانان به روش های آماده سازی نمونه باعث این شده است که این روش ها دستخوش اصلاحات جدید گردند. تعیین راهکارهایی برای کاهش مصرف حلال، خودکار نمودن و امکان اندازه گیری مقادیر بسیار کم، انجام اندازه گیری ها در محیط زنده و در داخل سیستم های طبیعی و پیدا کردن روش های سازگار با محیط زیست از جمله اهداف مهم این روش های اصلاحی می باشد.

با ابداع روش های جدید مراحل استخراج ساده تر و عملی تر گردیده است اما رقابت در زمینه بهینه نمودن روش های کلاسیک همچنان ادامه دارد. بهبود فرآیند استخراج به عنوان بخش مهمی از روش های آماده سازی نمونه نه تنها بطور کامل باعث بهبود روش های تجزیه ای می گردد بلکه با طراحی بهتر ابزارها و روش های بکار گرفته شده، باعث اجرای بهتر آزمایش در داخل سیستم، یکپارچگی و نظم مراحل نمونه برداری و استخراج و امکان خودکار نمودن روش می گردد [۵].

روشهای قدیمی استخراج نظیر استخراج فاز جامد[۱]، سوکسوله[۲] و استخراج مایع– مایع[۳] روش هایی وقت گیر و خسته کننده اند و به دلیل چند مرحله ای بودن مدت زمان استخراج معمولاً طولانی است. مشکل مهم دیگر برخی از این روش ها، میزان مصرف بالای حلال های آلی سمی است، که منجر به ایجاد بقایای مضر و خطرناک و آلودگی محیط زیست می شوند. همچنین برخی از این روش ها، فاقد پتانسیل لازم جهت خودکار شدن و ارائه مستقیم به سیستم های مدرن جداسازی نیز می باشند.

با توجه به این مشکلات، تلاش های زیادی در جهت مینیاتوری نمودن روش های قدیمی صورت گرفته است [۶]. دو روش عمده مینیاتوری شده استخراج عبارتند از:

- میکرواستخراج با فاز جامد (SPME)[۴]
- میکرواستخراج با فاز مایع (LPME)[۵]

۱-۲- روش های میکرواستخراج با فاز مایع

همانطور که در مقدمه به آن اشاره شد نیاز اساسی به تغییر فرآیند های تجزیه ای آماده سازی نمونه منجر به توسعه روش های جدیدتری گردیده است که از مزایای متعددی مانند سرعت بالا و مصرف اندک حلال آلی برخوردارند. از جمله در چند سال اخیر این تلاش ها به سمت مینیاتوری نمودن روش استخراج مایع– مایع نیز مانند روش های دیگر پیش رفته است، به صورتی که نسبت حجم حلال آلی به نمونه آبی مورد مصرف در این فرآیندها کاهش یافته و منجر به ابداع روش های جدید میکرواستخراج توسط حلال گردیده است.

نیاز اساسی این روش های آماده سازی نمونه، استفاده از یک حلال آلی (فاز استخراج کننده) است که غیرقابل امتزاج با فاز آبی (محلول حاوی نمونه) بوده و در ضمن تمایل آنالیت ها به انحلال در فاز استخراج کننده بسیار بیشتر از محلول نمونه باشد. در این روش حجم فاز آلی بسیار کمتر از نمونه است. از آنجایی که ماتریکس نمونه و فاز استخراج کننده در طول فرآیند استخراج ثابت هستند، ثابت توزیع و همچنین درصد آنالیت استخراج شده نیز ثابت خواهد بود و چون توزیع، تابع غلظت آنالیت نیست، لذا تعیین کمی آنالیت از روی مقدار خالص استخراج شده قابل محاسبه می باشد. استخراج میکرو توسط حلال یک روش کامل نیست و فقط جزئی از آنالیت ها جهت تجزیه، استخراج و پیش تغلیظ می گردند.

---

[1] Solid-phase Extraction (SPE)
[2] Soxhlet extraction
[3] Liquid-liquid extraction (LLE)
[4] Solid-phase microextraction (SPME)
[5] Liquid-phase microextraction (LPME)