

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
وَلَمْ يَكُنْ لِلَّهِ كُفْرًا شَيْءٌ
لَقَدْ كَفَرَ الَّذِينَ قَالُوا
إِنَّ اللَّهَ هُوَ الْمَسِيحُ
بَنُ مَرْيَمَ قُلْ إِنَّمَا
يَقُولُ الَّذِينَ كَفَرُوا
كُفْرًا كَبِيرًا
قُلْ إِنَّمَا اللَّهُ
وَإِلَّا هُوَ الْعَزِيزُ
الْحَكِيمُ
قُلْ إِنَّمَا اللَّهُ
وَإِلَّا هُوَ الْعَزِيزُ
الْحَكِيمُ



دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده شیمی

اندازه‌گیری همزمان سه علف‌کش فنوکسی‌اسید در
نمونه‌های آبی با ریزاستخراج فاز جامد در سرنگ پرشده
و دستگاه طیف‌سنج تحرک یونی با منبع یونیزاسیون الکترواسپری

پایان نامه کارشناسی ارشد

شیلا یوسفی

اساتید راهنما

دکتر محمد سراجی

دکتر محمد تقی جعفری



دانشگاه صنعتی اصفهان
دانشکده شیمی

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته شیمی تجزیه خانم شیلا یوسفی

تحت عنوان

اندازه‌گیری همزمان سه علف کش فنوکسی اسید در
نمونه‌های آبی با ریزاستخراج فاز جامد در سرنگ پر شده
و دستگاه طیف‌سنج تحرک یونی با منبع یونیزاسیون الکترواسپری

در تاریخ ۱۳۸۹/۱۰/۶ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

دکتر محمد سراجی	۱- استاد راهنمای پایان نامه
دکتر محمد تقی جعفری	۲- استاد راهنمای پایان نامه
پروفسور علی اصغر انصافی	۳- استاد داور
پروفسور تقی خیامیان	۴- استاد داور
پروفسور بیژن نجفی	سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده

خدايانگوويم درتم بکير عبرت گرفتاي
مبادارنگني

پيش ازهر چه نراز خداوند کيتاين رساکنزارم که مراياري نرود تا بتوانم کامي کيکنندگم را بامو فقيت پشت بر مرکبزارم.
پس از حمد و ثناي پروردگار، از پدر و مادر مهربان و خدا کلام که راه و رسم زندگي را به من آموختند که لصل زندگي هر واره ياور و پشتيبانم بودند قدر و اني مکنم و
صيه مانه بردستان کرم و پر مهرشان بوسه منم.

به پنهان خود را وزم و برادر عزيزم، به خاطر تمام هم کفاري با و کمک ايشانليت رساکنزاري را دارم.
از اسديله ما، جناب آقاي دکتر محمدي کجندب آقاي داکتر تعلق از جلم اين پروره با صبر و سکيد باي هر اهنماي نر و فند اشکر من کزم و اميد وارم که در تمام
مراحل زندگي هر واره موفق و بر بربند باشند.

از کليه اساتيد و کارکنان دانشکده شيهي به خاطر زحمات ارز شنه نشان در پيش برد اهداف آموزش صيه مانه اشکر من کزم.
از دورتان خورم در آرمایشگاه تحقيقاتي قناز حليلين، شيرواني، حرله ده، مهرافرا، رسگار محمدي، کشکاري، کي، بديهي و آقايان خالص اکبري، فرجه ندا
شمرافه تعدادي کوه و اهر کوي اين تحقيقات با اين جانب هر کاري و فلتيت اشکر را دارم.

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

تقدیرم به

پدر و مادر عزیزم

که راه و رسم زندگی من آموختند؛
آنان که منظره صبر، ایمان، عشق و ارتقا را به من آموختند؛

خواهرها و برادر عزیزانم

که شوق و امید و دین این راه را در من زنده کردند؛

و

همه را معلمانم که از آن بقیه آموختم.

فهرست مطالب

عنوان	
صفحه	
فهرست مطالب	هشت
فهرست شکل ها	دوازده
فهرست جدول ها	سیزده
چکیده	۱
فصل اول: مقدمه	۲
۱-۱- روش های متداول استخراج	۳
۱-۱-۱- استخراج مایع-مایع	۳
۲-۱-۱- استخراج با فاز جامد	۳
۳-۱-۱- ریزاستخراج مایع- مایع	۵
۱-۱-۳-الف- ریزاستخراج قطره حلال (SDME)	۵
۱-۱-۳-ب- ریزاستخراج فاز مایع (LPME)	۵
۱-۱-۳-ج- ریزاستخراج غشای الکترودی (EME)	۶
۱-۱-۴- ریزاستخراج با فاز جامد	۶
۲-۱- ریزاستخراج فاز جامد در سرنگ پرشده (MEPS)	۷
۳-۱- مراحل استخراج با MEPS	۸
۱-۳-۱- آماده سازی جاذب	۸
۲-۳-۱- بارگذاری نمونه روی جاذب	۸
۳-۳-۱- شستشوی گونه های مزاحم	۹
۴-۳-۱- شویش آنالیت ها	۹
۵-۳-۱- پاک سازی جاذب	۹
۴-۱- مقایسه بین SPE و MEPS	۱۰
۵-۱- اثر حافظه در MEPS	۱۰
۶-۱- حذف اثر بافت با روش MEPS	۱۱
۷-۱- تکرارپذیری در MEPS	۱۱
۸-۱- قابلیت استفاده مجدد در MEPS	۱۱
۹-۱- کاربردهای MEPS	۱۱
۱۰-۱- انواع جاذب در MEPS	۱۲
۱-۱۰-۱- جاذب های سیلیکا	۱۲
۲-۱۰-۱- تبادل گرهای کاتیونی-آنیونی	۱۳
۳-۱۰-۱- جاذب های MIP	۱۳
۴-۱۰-۱- جاذب های RAM	۱۴
۵-۱۰-۱- جاذب های پلیمری و کوپلیمری	۱۴

- ۱۰-۱-۵-الف - جاذب پلی‌وینیل‌بترن-N-وینیل‌پیرولیدن (Oasis HLB) ۱۴
- ۱۱-۱- چشم‌انداز آینده MEPS ۱۵
- ۱۲-۱- پارامترهای مؤثر بر استخراج به روش MEPS ۱۶
- ۱۲-۱-۱- نوع و مقدار جاذب ۱۶
- ۱۲-۱-۲- سرعت و تعداد سیکل‌های بارگذاری نمونه روی جاذب ۱۶
- ۱۲-۱-۳- حجم و نوع محلول شستشوی مزاحم‌ها ۱۶
- ۱۲-۱-۴- حجم و نوع محلول شویش آنالیت‌ها ۱۶
- ۱۳-۱- طیف‌سنج تحرک یونی ۱۷
- ۱۳-۱-۱- دستگاه‌وری IMS ۱۸
- ۱۳-۱-۲- منابع یونیزاسیون IMS ۱۹
- ۱۳-۱-۲-الف - یونیزاسیون الکترواسپری (ESI) ۱۹
- ۱۴-۱- هدف پروژه ۲۱
- فصل دوم: علف‌کش‌های فنوکسی‌اسید و روش‌های اندازه‌گیری آن‌ها ۲۲
- ۱-۲- علف‌کش‌ها ۲۲
- ۱-۲-۱- معایب مصرف علف‌کش‌ها ۲۳
- ۱-۲-۲- طبقه‌بندی شیمیایی علف‌کش‌ها ۲۳
- ۱-۲-۲-الف - علف‌کش‌های فنوکسی‌اسید ۲۳
- ۲-۲- ترکیبات مورد مطالعه ۲۴
- ۲-۲-۱-۲-D-2,4 ۲۴
- ۲-۲-۱-الف - سمیت 2,4-D ۲۵
- ۲-۲-۲- سیلوکس ۲۶
- ۲-۲-۲-الف - سمیت سیلوکس ۲۶
- ۲-۲-۳- هالوکسی‌فوپ ۲۷
- ۲-۲-۳-الف - سمیت هالوکسی‌فوپ ۲۷
- ۳-۲- مروری بر روش‌های آماده‌سازی و اندازه‌گیری علف‌کش‌های اسیدی ۲۹
- ۳-۲-۱- روش‌های آماده‌سازی ۲۹
- ۳-۲-۱-الف - استخراج مایع-مایع ۲۹
- ۳-۲-۱-ب - استخراج فاز جامد ۲۹
- ۳-۲-۱-ج - ریزاستخراج فاز جامد ۳۲
- ۳-۲-۱-د - ریزاستخراج فاز مایع ۳۲
- ۳-۲-۲- روش‌های جداسازی و آشکارسازی ۳۴

۳۴۲-۳-۲ الف- کروماتوگرافی گازی (GC)
۳۴۲-۳-۲ ب- کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) و کروماتوگرافی مایع (LC)
۳۵۲-۳-۲ ج- الکتروفورز
۳۶ فصل سوم: بخش تجربی
۳۶۱-۳-۱- دستگاه‌ها و وسایل مورد نیاز
۳۸۲-۳-۲ اجزای مختلف سیستم IMS
۳۸۱-۲-۳-۱- مخازن گاز نیتروژن
۳۸۲-۲-۳-۲- منابع تغذیه
۳۸۳-۲-۳-۳- آون حرارتی
۳۹۴-۲-۳-۴- منبع یونیزاسیون الکترواسپری
۴۰۵-۲-۳-۵- ناحیه حلال‌زدایی
۴۰۶-۲-۳-۶- شبکه الکتریکی و دستگاه مولد پالس
۴۰۷-۲-۳-۷- ناحیه رانش
۴۱۸-۲-۳-۸- شبکه محافظ
۴۱۹-۲-۳-۹- آشکارساز
۴۱۱۰-۲-۳-۱۰- تقویت کننده پاسخ
۴۱۱۱-۲-۳-۱۱- مبدل آنالوگ به دیجیتال
۴۱۱۲-۲-۳-۱۲- نحوه محاسبه پاسخ دستگاه IMS
۴۲۳-۳-۳- مواد شیمیایی و محلول‌های مورد نیاز
۴۲۴-۳-۳- تهیه محلول‌های استاندارد
۴۳۵-۳-۳- تهیه سرنگ پر شده با جاذب
۴۳۶-۳-۳- روش کلی استخراج و آنالیز
۴۳۱-۶-۳-۱- آماده‌سازی جاذب
۴۳۲-۶-۳-۲- بارگذاری نمونه آبی روی جاذب
۴۴۳-۶-۳-۳- شستشوی مزاحم‌ها
۴۴۴-۶-۳-۴- حذف و تبخیر آب جاذب
۴۴۵-۶-۳-۵- شویش آنالیت‌ها
۴۴۶-۶-۳-۶- تزریق به دستگاه IMS
۴۴۷-۶-۳-۷- پاک‌سازی جاذب و سرنگ
۴۵۷-۳-۷-۷- بهینه‌سازی شرایط استخراج
۴۵۱-۷-۳-۱- اثر pH محلول نمونه
۴۵۲-۷-۳-۲- اثر سرعت بارگذاری نمونه آبی روی جاذب

۴۶	۳-۷-۳- اثر حجم حلال شویشی
۴۶	۳-۷-۴- اثر تعداد سیکل‌های عبور نمونه از روی جاذب
۴۶	۳-۸-۱- پارامترهای تجزیه‌ای روش
۴۷	۳-۸-۱- فاکتور غنی‌سازی
۴۷	۳-۸-۲- تکرارپذیری روش
۴۷	۳-۸-۳- بررسی خطی بودن
۴۷	۳-۸-۴- حد تشخیص روش
۴۷	۳-۹- آنالیز نمونه‌های حقیقی
۵۳	فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری
۵۳	۴-۱- بررسی طیف تحرک یونی سه علف کش اسیدی در مد منفی
۵۱	۴-۲- پارامترهای تجزیه‌ای بدون استخراج و تغلیظ‌سازی
۵۲	۴-۳- بررسی اثر ترکیبات بر پاسخ یکدیگر
۵۶	۴-۴- آماده‌سازی سرنگ پر شده با جاذب
۵۶	۴-۵- بررسی شرایط موثر بر استخراج
۵۶	۴-۵-۱- انتخاب نوع و مقدار جاذب
۵۶	۴-۵-۲- مرحله آماده‌سازی جاذب
۵۷	۴-۵-۳- اثر pH محلول نمونه
۵۸	۴-۵-۴- اثر سرعت بارگذاری نمونه روی جاذب
۵۹	۴-۵-۵- اثر حجم و نوع حلال شویشی
۶۰	۴-۵-۶- سرعت عبور حلال شویش آنالیت‌ها
۶۱	۴-۵-۷- اثر تعداد سیکل‌های عبور محلول نمونه از روی جاذب
۶۱	۴-۵-۸- انتخاب نوع و مقدار حلال شستشوی مزاحم‌ها
۶۲	۴-۵-۹- حذف و تبخیر آب جاذب
۶۲	۴-۵-۱۰- پاک‌سازی جاذب و سرنگ
۶۲	۴-۶- طیف تحرک یونی سه گونه در شرایط استخراجی بهینه
۶۳	۴-۷- پارامترهای تجزیه‌ای روش MEPS-ESI/IMS
۶۳	۴-۷-۱- فاکتور غنی‌سازی
۶۴	۴-۷-۲- تکرارپذیری روش
۶۴	۴-۷-۳- خطی بودن روش
۶۶	۴-۷-۴- حد تشخیص روش
۶۶	۴-۸- آنالیز نمونه‌های حقیقی
۶۹	۴-۹- نتیجه‌گیری نهایی و پیشنهادات

فهرست شکل‌ها

عنوان.....	صفحه.....
شکل ۱-۱- مراحل استخراج با فاز جامد.....	۵.....
شکل ۲-۱- دو نحوه قرارگیری فاز جامد در در روش MEPS.....	۷.....
شکل ۳-۱- بستر جاذب فشرده شده بین دو فیلتر در روش MEPS.....	۸.....
شکل ۴-۱- شمایی از مراحل استخراج در MEPS.....	۹.....
شکل ۵-۱- مونومرهای سازنده Oasis HLB.....	۱۴.....
شکل ۶-۱- شمای ساده‌ای از دستگاه IMS.....	۱۹.....
شکل ۳-۱- شمایی از دستگاه استخراجی به کار رفته در این کار تحقیقاتی.....	۳۷.....
شکل ۳-۲- شمایی از دستگاه IMS به کار رفته در این کار تحقیقاتی.....	۳۷.....
شکل ۳-۳- شمایی از روند کلی استخراج و آنالیز.....	۴۵.....
شکل ۱-۴- طیف تحرک یونی حلال الکترواسپری، محلول 2,4-D، سیلوکس و هالوکسی فوپ با غلظت ۲/۰۰ mg/L.....	۵۰.....
شکل ۲-۴- منحنی‌های درجه‌بندی 2,4-D، 2,4-D+سیلوکس، 2,4-D+هالوکسی فوپ.....	۵۳.....
شکل ۳-۴- منحنی‌های درجه‌بندی سیلوکس، سیلوکس+2,4-D، سیلوکس+هالوکسی فوپ.....	۵۳.....
شکل ۴-۴- منحنی‌های درجه‌بندی هالوکسی فوپ، هالوکسی فوپ+2,4-D، هالوکسی فوپ+سیلوکس.....	۵۴.....
شکل ۵-۴- بررسی تغییر پاسخ سیلوکس و هالوکسی فوپ (۰/۱۰ mg/L) با افزایش غلظت 2,4-D.....	۵۵.....
شکل ۶-۴- بررسی تغییر پاسخ 2,4-D و هالوکسی فوپ (۰/۱۰ mg/L) با افزایش غلظت سیلوکس.....	۵۵.....
شکل ۷-۴- بررسی تغییر پاسخ سیلوکس و 2,4-D (۰/۱۰ mg/L) با افزایش غلظت هالوکسی فوپ.....	۵۵.....
شکل ۸-۴- بررسی اثر pH نمونه آبی بر میزان استخراج.....	۵۸.....
شکل ۹-۴- بررسی اثر سرعت جریان بارگذاری محلول نمونه بر میزان استخراج.....	۵۹.....
شکل ۱۰-۴- بررسی اثر حجم حلال شویی بر میزان استخراج.....	۶۰.....
شکل ۱۱-۴- بررسی اثر تعداد سیکل‌های عبور محلول نمونه بر میزان استخراج.....	۶۱.....
شکل ۱۲-۴- طیف تحرک یونی مربوط به نمونه شاهد و مخلوط استاندارد سه ترکیب با غلظت ۲/۰ μg/L بعد از استخراج.....	۶۳.....
شکل ۱۳-۴- منحنی درجه‌بندی 2,4-D پس از استخراج در شرایط بهینه.....	۶۵.....
شکل ۱۴-۴- منحنی درجه‌بندی سیلوکس پس از استخراج در شرایط بهینه.....	۶۵.....
شکل ۱۵-۴- منحنی درجه‌بندی هالوکسی فوپ پس از استخراج در شرایط بهینه.....	۶۶.....
شکل ۱۶-۴- طیف تحرک یونی مربوط به نمونه آب چشمه با افزایش ۰/۵ μg/L استاندارد سه ترکیب در مقایسه با نمونه شاهد.....	۶۸.....
شکل ۱۷-۴- طیف تحرک یونی مربوط به نمونه آب سد با افزایش ۰/۵ μg/L استاندارد سه ترکیب در مقایسه با نمونه شاهد.....	۶۸.....
شکل ۱۸-۴- طیف تحرک یونی مربوط به نمونه آب رودخانه با افزایش ۰/۵ μg/L استاندارد سه ترکیب در مقایسه با نمونه شاهد.....	۶۹.....

فهرست جدول ها

عنوان.....	صفحه.....
جدول ۱-۳- شرایط اعمالی دستگاه ESI/IMS.....	۴۲.....
جدول ۱-۴- مقادیر زمان رانش و تحرک کاهش یافته محاسبه شده برای سه علف کش اسیدی.....	۵۱.....
جدول ۲-۴- مربع ضریب همبستگی، معادله خطوط نمودار درجه بندی، دامنه خطی، حد تشخیص و انحراف استاندارد نسبی ESI/IMS.....	۵۱.....
جدول ۳-۴- شیب منحنی های درجه بندی و محدوده اطمینان ترکیبات در حالت خالص.....	۵۴.....
جدول ۴-۴- شیب منحنی های درجه بندی ترکیبات در حضور ترکیب دیگر.....	۵۴.....
جدول ۵-۴- پاسخ های IMS به اثر pH محلول آبی بر میزان استخراج.....	۵۷.....
جدول ۶-۴- پاسخ های IMS مربوط به بررسی اثر سرعت جریان بارگذاری محلول نمونه بر میزان استخراج.....	۵۸.....
جدول ۷-۴- پاسخ های IMS مربوط به اثر حجم متانول به عنوان حلال شویشی بر میزان استخراج.....	۶۰.....
جدول ۸-۴- پاسخ های IMS مربوط به اثر تعداد سیکل های عبور محلول نمونه بر میزان استخراج.....	۶۱.....
جدول ۹-۴- فاکتور غنی سازی، انحراف استاندارد نسبی و حد تشخیص روش.....	۶۴.....
جدول ۱۰-۴- مربع ضریب همبستگی، معادله خطوط نمودار درجه بندی و دامنه خطی روش.....	۶۴.....
جدول ۱۱-۴- معادله خط، مربع ضریب همبستگی، تکرارپذیری و درصد بازیابی نسبی برای افزایش استاندارد در نمونه های آبی.....	۶۷.....
جدول ۱۲-۴- مقایسه ویژگی های تجربه ای روش MEPS-ESI-IMS نسبت به روش های دیگر.....	۷۱.....

چکیده

در این تحقیق برای اولین بار از ریزاستخراج فاز جامد در سرنگ پرشده (MEPS) و دستگاه طیف‌سنج تحرک یونی با منبع یونیزاسیون الکترواسپری (ESI/IMS) برای تغلیظ و تعیین همزمان سه علف کش فنوکسی‌اسیدی در نمونه‌های آبی استفاده شده است. دستگاه ارزان قیمت و سریع ESI/IMS در مد منفی برای اندازه‌گیری ترکیبات مورد مطالعه به کار برده شد. برای آماده کردن سرنگ، ۱/۴ میلی‌گرم از ذرات جامد (جاذب کولیمیری Oasis HLB) بین دو فیلتر در انتهای یک سرنگ گازبندی شده (با حجم ۲۵۰ میکرولیتر) محبوس می‌شود. در این کار تحقیقاتی چندین پارامتر مؤثر بر کارایی ریزاستخراج فاز جامد با سرنگ پرشده، مورد بررسی قرار گرفتند. این پارامترها عبارتند از: pH نمونه آبی، حجم شویی، تعداد و سرعت سیکل‌های عبوری نمونه روی جاذب. در این تکنیک برای آماده‌سازی جاذب، ابتدا ۲×۲۰۰ میکرولیتر متانول و سپس ۲×۲۰۰ میکرولیتر آب از جاذب عبور داده شد. توسط سولفوریک اسید ۰/۰۲ مولار، pH نمونه آبی در ۲ تنظیم شد. در مرحله بارگذاری نمونه، به کمک یک موتور چرخشی با سرعت ۲/۵ میکرولیتر بر ثانیه، ۷×۲۰۰ میکرولیتر نمونه از روی جاذب عبور داده شد. هنگام تخلیه، نمونه برگشتی وارد ظرف نمونه نمی‌شد و هر بار نمونه تازه از جاذب عبور می‌کرد. جهت حذف مزاحمت‌هایی از قبیل سولفوریک اسید، جاذب با ۱۰۰ میکرولیتر آب بسیار خالص شسته شد. جهت تبخیر و حذف آب باقیمانده، جاذب به مدت ۵ دقیقه در معرض جریان آرام گاز نیتروژن قرار گرفت. برای واجذب کردن آنالیت‌ها از جاذب در مرحله شویی، ۲۰ میکرولیتر متانول با سرعت ۱/۰ میکرولیتر بر ثانیه از جاذب عبور داده شد. محلول شویی به مدت ۵ دقیقه در سرنگ باقی می‌ماند تا واجذب شدن بهتر صورت گیرد. سپس محلول شویی با همان سرنگ استخراجی به لوپ تزریق دستگاه طیف‌سنج تحرک یونی با منبع یونیزاسیون الکترواسپری تزریق شد. بعد از هر تزریق به منظور پاک‌سازی جاذب و آماده‌سازی سرنگ برای استخراج بعدی، آن را با ۵×۲۰۰ میکرولیتر متانول و سپس ۵×۲۰۰ میکرولیتر آب شسته شد. حد تشخیص آنالیت‌ها در این روش ۰/۰۴ تا ۰/۰۸ میکروگرم بر لیتر و انحراف استانداردهای نسبی ۴ تا ۱۰ درصد، به دست آمد. کاربرد این تکنیک در آنالیز آنالیت‌ها در نمونه‌های آبی زیست محیطی، با اضافه کردن مقادیر کم این ترکیبات به نمونه‌های حقیقی بررسی شد. بازیابی‌های ۷۶ تا ۱۰۲ درصد، کارایی بالای این تکنیک در آنالیز علف‌کش‌های فنوکسی‌اسید را نشان می‌دهد.

کلمات کلیدی: ریزاستخراج فاز جامد در سرنگ پرشده، طیف‌سنج تحرک یونی، منبع یونیزاسیون الکترواسپری، نمونه‌های آبی، علف‌کش‌های فنوکسی‌اسید.

فصل اول

مقدمه

مقدمه

در طی پنجاه سال گذشته، آفت‌کش‌ها جزء ضروری دنیای کشاورزی بوده‌اند. اگرچه تقاضا برای تولید و توزیع آفت‌کش که باعث افزایش بهبود کیفیت و کارایی کشاورزی می‌شود، محرز است. ولی احتمال به کارگیری نابجا و غیرمعقول، بسیار زیاد می‌باشد [۱].

یکی از مسائل سازمان بهداشت جهانی، مصرف بی‌رویه آفت‌کش‌ها می‌باشد. افزایش جمعیت و به دنبال آن افزایش مصرف مواد غذایی، به ویژه محصولات کشاورزی، کشاورزان را بر آن داشته است که میزان محصولات خود را افزایش دهند. افزایش کشت محصولات متعاقباً افزایش سموم آفت‌کش را به همراه داشته است. به دلیل بی‌توجهی کشاورزان در مصرف سموم، ریزش‌های جوی و چندین عامل دیگر، سموم کشاورزی وارد آب رودخانه‌ها و دریاها می‌شوند [۱].

اولین علف‌کش ثبت شده در ایران مربوط به سال ۱۳۴۷ می‌باشد و تاکنون ۷۰ علف‌کش از گروه‌های مختلف در کشور استفاده می‌شود. سالانه بیش از ۲۵ میلیون کیلوگرم سموم کشاورزی در کشور مصرف می‌گردد که ۴۰/۵ درصد علف‌کش، ۳۸/۷ درصد حشره‌کش، ۱۵/۲ درصد قارچ‌کش و ۵/۶ درصد سایر سموم می‌باشند [۱].

امروزه آلودگی محیط زیست به صورت یک مسئله جهانی درآمده است. برای مثال سموم دفع آفات نباتی یکی از اصلی ترین آلاینده های آب به حساب می آید، بنابراین اهمیت کیفیت، نگهداری و توسعه آن به طور پیوسته در حال افزایش می باشد [۱].

با بهبود روش های تجزیه ای، زمینه برای تعیین این مواد در مقیاس ناچیز فراهم شده است. اکثر آب ها مانند آب های زیرزمینی، سطحی و آشامیدنی حاوی تعداد زیادی گونه های شیمیایی بوده و بسیار پیچیده هستند. بافت پیچیده، همواره باعث ایجاد مزاحمت در اندازه گیری صحیح گونه ها می شود و امکان آنالیز مستقیم آنالیت مورد نظر وجود ندارد. برای رفع این مشکل باید نمونه ها را از ناخالصی های موجود پاک سازی^۱ کرد. بنابراین آماده سازی نمونه قبل از آنالیز جهت حساسیت و انتخاب پذیری بالا لازم است. تقریباً ۸۰ درصد زمان کل آنالیز، صرف مراحل نمونه برداری و آماده سازی نمونه می شود. همچنین روش آماده سازی نمونه، بر صحت و دقت آنالیز مؤثر است [۳].

۱-۱- روش های متداول استخراج

امروزه روش های متداول آماده سازی و استخراج نمونه عبارتند از:

- استخراج مایع-مایع^۲ (LLE)
- استخراج در فاز جامد^۳ (SPE)
- ریزاستخراج مایع-مایع^۴ (LLME)
- ریزاستخراج فاز جامد^۵ (SPME)

در ادامه، روش های استخراجی مذکور معرفی و معایب و مزایای آن ها ذکر می شود.

۱-۱-۱- استخراج مایع-مایع

استخراج مایع-مایع با حلال انجام شده و اغلب شامل انتقال انتخابی یک ماده از یک فاز مایع به فاز مایع دیگر است. استخراج مایع-مایع به دلیل سادگی و عدم نیاز به دستگاه های گران قیمت و پیچیده، کاربرد فراوانی در پیش تغلیظ، استخراج و آنالیزهای زیست محیطی دارد. البته با وجود کاربردهای فراوان دارای معایبی نیز می باشد. استخراج مایع-مایع، شامل مراحل زیاد و خسته کننده است. علاوه بر این مصرف زیاد حلال های خطرناک آلی برای محیط زیست و سلامتی انسان مضر هستند. در این روش بازیابی خوبی از آنالیت های قطبی به دست نمی آید و استفاده از حلال های قطبی در این روش نیز باعث ایجاد امولسیون می شود [۲].

۱-۱-۲- استخراج با فاز جامد

استخراج فاز جامد به عنوان یک روش آماده سازی نمونه به طور گسترده برای جداسازی آنالیت ها از فاز متحرک (مایع، گاز و سیال) به کار می رود. در اکثر مواقع استخراج در فاز جامد، یک نوع استخراج جامد-مایع می باشد. روند کلی استخراج به این صورت است که آنالیت ها به فاز جامد انتقال می یابند، سپس توسط شویش با مایع

1-Clean-up

2-Liquid liquid extraction

3-Solid phase extraction

4-Liquid liquid microextraction

5-Solid phase microextraction

یا سیال و یا واجذبی گرمایی از جاذب جدا می‌شوند. جاذب باید طوری انتخاب شود که ترکیبات مورد نظر را جذب کند و ناخالصی‌ها را عبور دهد [۴].

بستر جاذب می‌تواند به فرم یک دیسک^۱ یا کارتریج^۲ باشد. فرم کارتریج شامل یک ستون کوچک (یک مخزن سرنگ) است که جاذب به صورت فشرده شده بین دو صفحه فلزی یا پلاستیکی متخلخل درون آن قرار می‌گیرد. دیسک SPE جهت فراهم آوردن سرعت استخراج بالاتر برای حجم زیاد نمونه ایجاد شد و احتمال گرفتگی توسط ذرات معلق و ترکیبات بافت در دیسک کمتر است [۵-۷]. جاذب در روش SPE، ترکیبات حاوی گروه عاملی را از نمونه‌های آبی جذب می‌کند و سپس به خوبی واجذب می‌کند. بنابراین بازیابی این ترکیبات در این روش بالا می‌باشد [۸].

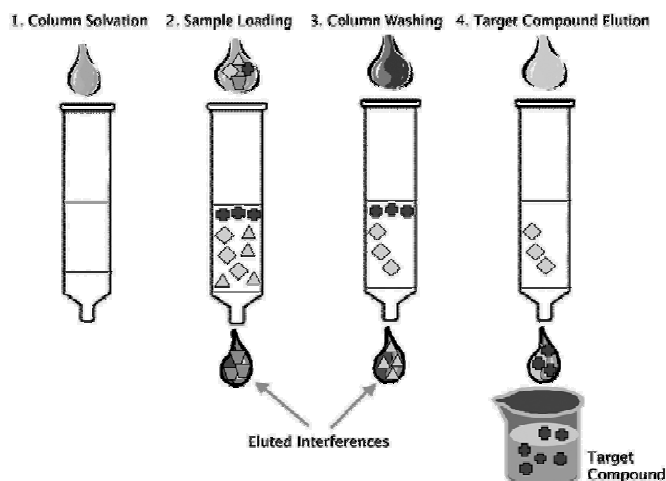
مواد جاذب SPE شبیه مواد به کار رفته در ستون کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا^۳ (HPLC) می‌باشد، اما اندازه ذرات آن بزرگتر است. قطر ذرات در HPLC ۳-۱۰ میکرومتر اما در SPE ۴۰-۸۰ میکرومتر است. فشار بالا در HPLC فشار برگشتی ناشی از قطر کم ذرات را کاهش می‌دهد اما در SPE به دلیل عدم اعمال فشاری، اندازه ذرات بزرگتر انتخاب می‌شود. ستون HPLC با طول ۳۰ سانتی‌متر، ۱۵۰۰ بشقابک تئوری ایجاد می‌کند. در صورتی که یک دیسک فاز جامد ۱۰-۵۰ بشقابک دارد. قابل ذکر است که قدرت تفکیک روش با زیاد شدن تعداد بشقابک‌ها، افزایش می‌یابد. بنابراین یک دیسک SPE توانایی جداسازی گروه‌های ترکیبات مشابه را دارد، اما HPLC می‌تواند ترکیبات موجود در یک گروه را نیز از هم جدا کند. در واقع SPE یک مرحله پاک‌سازی قبل از آنالیز با HPLC محسوب می‌شود. اکثر استخراج‌های SPE شامل مراحل آماده‌سازی ستون جاذب، به تعادل رسیدن، عبور نمونه، شستشوی گونه‌های مزاحم و واجذب شدن آنالیت‌ها هستند. در ادامه به توضیح این مراحل پرداخته شده است.

مرحله آماده‌سازی ستون، جهت فعال کردن مکان‌های فعال جاذب و آماده ساختن آن جهت ورود نمونه صورت می‌گیرد. در مرحله تعادل، حلال آلی از جاذب حذف می‌شود و جاذب برای ورود نمونه آماده می‌گردد. جهت جذب بهتر آنالیت‌ها، جاذب نبایستی خشک شود. با خشک شدن جاذب، قابلیت بازیابی آنالیت‌ها کم می‌شود. بارگذاری نمونه روی جاذب باید به گونه‌ای انجام شود که آنالیت‌ها به خوبی جذب شوند. در مرحله شستشو باید محلول یا حلالی با قطبیت مناسب انتخاب شود که مزاحم‌های ضعیف جذب شده به جاذب، از ترکیبات هدف جدا شوند. آنالیت‌های هدف تا حد ممکن نبایستی در مرحله شستشو از کارتریج خارج شوند. در مرحله شویش، آنالیت‌ها در حجم کم حلال جمع‌آوری می‌شوند. حجم حلال مصرفی با افزایش میزان جذب آنالیت به جاذب، افزایش می‌یابد. در نتیجه ممکن است آنالیت خیلی رقیق شود و نبایستی در مرحله تزریق به دستگاه آن را تغلیظ کرد. در مرحله تغلیظ‌سازی ممکن است مقداری آنالیت هدر رود و حساسیت روش کاهش یابد [۹]. شمایی از مراحل استخراج در فاز جامد (شامل: ۱- آماده‌سازی ستون جاذب، ۲- عبور محلول نمونه، ۳- شستشوی گونه‌های مزاحم و ۴- شویش آنالیت)، در شکل ۱-۱ نشان داده شده است.

1-Disk

2-Cartridge

3-High-performance liquid chromatography



شکل ۱-۱- مراحل استخراج با فاز جامد [۱۰]

استخراج فاز جامد به دلیل استفاده از کارتریج یا دیسک، خیلی از محدودیت‌های استخراج مایع-مایع را ندارد اما روش SPE نیز دارای مراحل زیاد و وقت گیر است. در بعضی موارد حلال شویشی برای تغلیظ آنالیت بایستی تبخیر گردد که یکی از مراحل زمان‌بر این روش محسوب می‌شود. انتخاب‌پذیری، حساسیت و بازیابی در روش SPE نسبت به روش LLE بالاتر است. همچنین SPE با مصرف کم حلال آلی، استخراج‌هایی با پاک‌سازی بهتری فراهم می‌کند و نسبت به روش LLE راحت‌تر اتوماتیک می‌شود [۸].

۱-۱-۳- ریزاستخراج مایع-مایع

روش‌های ریزاستخراج با توجه به مزیت‌هایی از قبیل هزینه پایین و آلوده نبودن برای محیط زیست، مورد توجه قرار گرفتند. روش‌های مختلفی از ریزاستخراج مایع-مایع گسترش یافته است [۸]. این روش‌ها در ادامه توضیح داده می‌شوند.

۱-۱-۳-الف- ریزاستخراج قطره حلال^۱ (SDME)

این روش که در حقیقت همان LLE در مقیاس میکرو است، از یک قطره حلال آلی با حجم میکرولیتری برای استخراج استفاده می‌شود. یکی از مهم‌ترین مزیت‌های روش SDME، کم بودن حجم فاز پذیرنده و در نتیجه فاکتور تغلیظ‌سازی^۲ بالا می‌باشد. اما این روش به علت تکرارپذیری پایین مورد توجه قرار نگرفته است [۱۱].

۱-۱-۳-ب- ریزاستخراج فاز مایع^۳ (LPME)

روش‌های متعددی در زمینه LPME توسعه یافته‌اند، که این روش‌ها را می‌توان از سه دیدگاه تعداد فازهای درگیر در استخراج، تحرک فازهای درگیر در استخراج و استفاده از غشاءهای فیبری توخالی^۴ در فرایند استخراج دسته‌بندی نمود. از نظر تعداد فازهای درگیر در استخراج، روش‌های LPME می‌توانند به صورت دو فازی یا سه فازی انجام شوند. روش سه فازی بیشتر در استخراج ترکیبات با خاصیت اسیدی و بازی کاربرد دارد. در این روش دو فاز

1-Single drop microextraction
2-Enrichment factor
3-Liquid phase microextraction
4-Hollow fiber membrane

پذیرنده و گیرنده وجود دارد که عموماً در فاز آبی بوده و از لحاظ pH کاملاً معکوس یکدیگر هستند و یک فاز آلی بین این دو فاز وظیفه انتقال گونه‌ها را از فاز دهنده به فاز پذیرنده را بر عهده دارد. روش‌های LPME از لحاظ تحرک فازهای درگیر در استخراج نیز می‌توانند به دو صورت ایستا^۱ و پویا^۲ انجام گیرند. در روش‌های ایستا، فاز استخراج کننده ثابت است. به این معنا که سطح ثابتی از فاز استخراج کننده به‌طور دائم در تماس با نمونه قرار دارد. در روش‌های پویا فاز استخراج کننده در داخل یک لوله باریک مثل دیواره داخلی یک سرنگ تزریق یا یک فیبر متخلخل، دارای حرکت دائم است و در واقع فیلم نازکی از حلال وظیفه استخراج گونه‌ها را بر عهده دارد. فاکتورهای غنی‌سازی بالایی از این روش به‌دست می‌آید. زمان استخراج در این روش بین ۱۵ تا ۴۵ دقیقه گزارش شده است [۱۲، ۱۳].

۱-۱-۳-ج- ریزاستخراج غشای الکترودی^۳ (EME)

ریزاستخراج غشای الکترودی مانند ریزاستخراج فاز مایع عمل می‌کند با این تفاوت که در روش EME، برای آماده‌سازی اتوماتیک نمونه، یک الکتروود در داخل محلول نمونه و یک الکتروود در داخل فیبر توخالی قرار می‌گیرد. به الکتروود داخل فیبر توخالی یک ولتاژ پایین اعمال می‌شود. با اعمال ولتاژ، آنالیت‌های باردار تحت مهاجرت الکتروسینتیکی به سمت الکتروود (با بار مخالف) داخل فیبر مهاجرت می‌کنند. زمان استخراج در این روش تا ۵ دقیقه نیز کاهش می‌یابد [۸].

۱-۱-۴- ریزاستخراج با فاز جامد

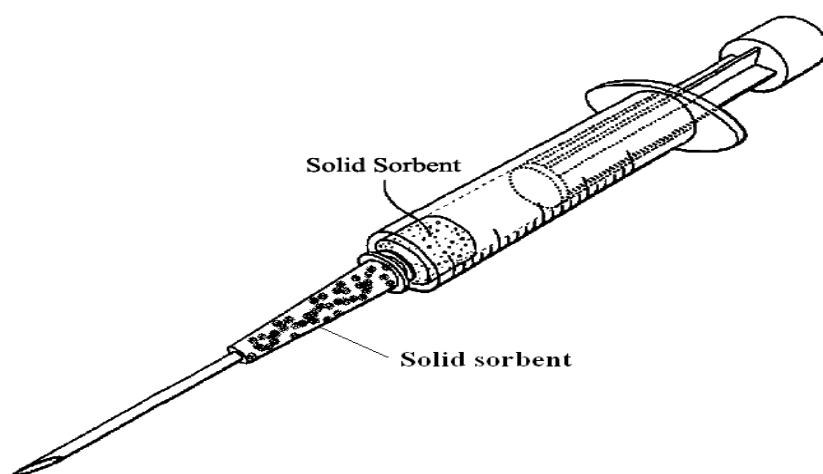
ایجاد ریزاستخراج فاز جامد یک حرکت مهم به سمت ریزاستخراج‌ها محسوب می‌شود [۸]. روش SMPE تقریباً عاری از حلال است. امروزه از این روش برای استخراج انواع مختلفی از آنالیت‌ها در بافت‌های گوناگون استفاده می‌شود. روش SPME، یکی از جدیدترین و مؤثرترین روش‌های آماده‌سازی نمونه محسوب می‌شود. روش SPME را می‌توان به دو دسته ریزاستخراج ایستا^۴ و ریزاستخراج پویا^۵ تقسیم کرد. هر کدام از این دو دسته شامل روش‌های مختلف ریزاستخراج هستند [۱۴]. ریزاستخراج ایستا شامل روش‌های فیبر SPME، ریزاستخراج با میله جاذب همزن^۶، ریزاستخراج با فیلم نازک^۷ می‌باشد. همچنین ریزاستخراج پویا، روش‌های ریزاستخراج فاز جامد در لوله^۸، ریزاستخراج فاز جامد در سوزن^۹، ریزاستخراج فاز جامد در نوک‌پیست^{۱۰} را دربر می‌گیرد. در ادامه به معرفی یکی از روش‌های ریزاستخراج فاز جامد در سوزن پرداخته می‌شود.

-
- 1-Static
 - 2-Dynamic
 - 3-Electromembrane extraction
 - 4-Static in vessel and sample stir microextraction
 - 5-Dynamic in-flow and sample flow microextraction
 - 6-Stir-bar sorptive extraction
 - 7-Thin film microextraction
 - 8-In-tube SPME
 - 9-In-needle SPME
 - 10-In tip SPME

۲-۱- ریزاستخراج فاز جامد در سرنگ پرشده^۱ (MEPS)

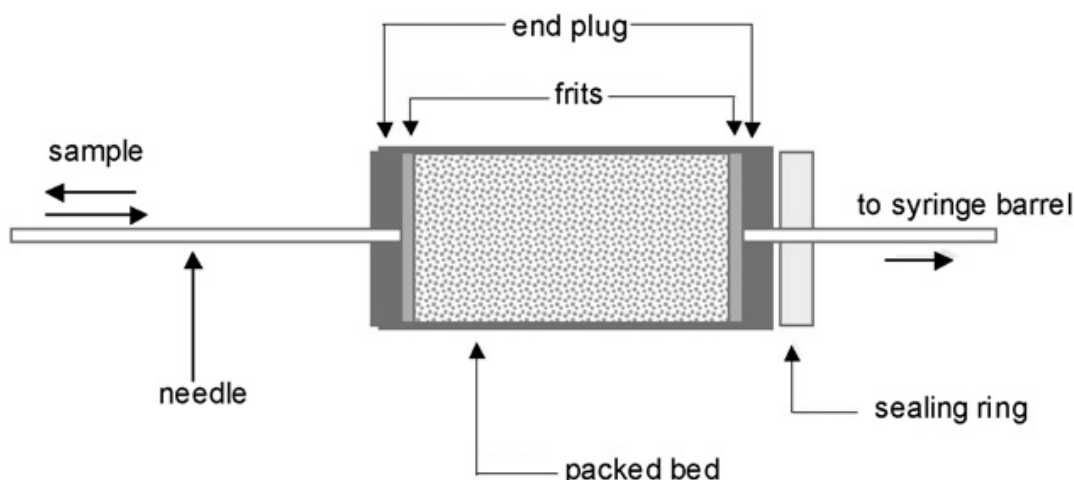
روش ریزاستخراج جامد در سرنگ پرشده جزء روش‌های ریزاستخراج در سوزن، محسوب می‌شود. این روش توسط محمد عبدالرحیم در سال ۲۰۰۳، ابداع شده است [۱۵]. در این کار تحقیقاتی نیز از این روش استخراجی برای آماده‌سازی نمونه‌ها استفاده شد.

روش کار در ریزاستخراج فاز جامد در سرنگ پرشده مشابه با روش استخراج فاز جامد می‌باشد. با این تفاوت که در این روش ۱ تا ۲ میلی‌گرم از فاز جامد، به صورت فشرده شده در انتهای محفظه یک سرنگ قرار می‌گیرد. فاز جامد در محل اتصال مخزن سرنگ به سوزن (معمولاً سرنگ ۱۰۰ تا ۲۵۰ میکرولیتری) جای می‌گیرد. در دو طرف فاز جامد دو صفحه متخلخل پلی‌اتیلنی به عنوان فیلتر قرار می‌گیرد تا فاز جامد بین دو صفحه محبوس شود. علاوه بر شیوه قرارگیری ذکر شده، جاذب می‌تواند بین مخزن سرنگ و سوزن به عنوان کارتریج قرار گیرد. در این کار تحقیقاتی، جاذب مانند شیوه اول در داخل مخزن سرنگ بین دو فیلتر پلی‌اتیلنی قرار می‌گرفت. در شکل ۲-۱ می‌توان دو شیوه قرارگیری فاز جامد را در سرنگ مشاهده کرد [۱۶].



شکل ۲-۱- دو نحوه قرارگیری فاز جامد در روش MEPS [۱۶].

شکل ۳-۱ شمایی از بستر جاذب فشرده شده بین دو فیلتر در این روش را نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، جاذب بین مخزن سرنگ و سوزن به صورت یک کارتریج قرار گرفته است.



شکل ۱-۳- بستر جاذب فشرده شده بین دو فیلتر در روش MEPS [۱۷].

۱-۳-۳- مراحل استخراج با MEPS

مراحل استخراج در سرنگ پر شده مانند مراحل استخراج با فاز جامد است. این مراحل به ترتیب شامل آماده‌سازی جاذب، بارگذاری نمونه روی جاذب، شستشوی گونه‌های مزاحم، شویش آنالیت‌ها و پاک‌سازی جاذب هستند [۱۷-۱۹]. در ادامه به توضیح این مراحل پرداخته می‌شود.

۱-۳-۳-۱- آماده‌سازی جاذب

اگر جاذب به دلیل وقفه بین استخراج‌ها خشک شود، کارایی لازم را نخواهد داشت. در این مرحله با عبور مقداری حلال (معمولاً متانول و آب)، جاذب مرطوب شده و فعال می‌گردد. انجام این مرحله باعث می‌شود که جاذب بتواند، آنالیت‌ها را با تکرارپذیری بالا واجذب کند.

۱-۳-۳-۲- بارگذاری نمونه روی جاذب

در مرحله بارگذاری نمونه روی جاذب، نمونه خیلی آهسته از طریق سوزن سرنگ به سمت بالا کشیده می‌شود و در جاذب نفوذ می‌کند. نمونه می‌تواند چندین بار از جاذب عبور کند تا روی جاذب تغلیظ شود. نمونه برگشتی هنگام تخلیه از سرنگ، می‌تواند وارد ظرف نمونه یا ظرف ضایعات شود. اگر حجم ثابت و کمی از نمونه در دسترس باشد، محلول وارد ظرف نمونه می‌شود. اما اگر مقدار نمونه زیاد باشد، می‌تواند دور ریخته شود و هر بار نمونه تازه‌ای از روی جاذب عبور کند. سرعت، پارامتر مؤثری در این مرحله است. با کاهش سرعت عبور نمونه از جاذب، احتمال جذب آنالیت روی جاذب افزایش می‌یابد. از طرفی در سرعت‌های پایین زمان استخراج طولانی می‌شود، بنابراین بایستی پارامتر سرعت بهینه گردد. پارامتر دیگر، تعداد سیکل‌های عبوری نمونه از جاذب است که معمولاً با افزایش تعداد سیکل‌ها، آنالیت بهتر روی جاذب تغلیظ می‌شود.