

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



رساله دکتری (Ph.D)

شیمی تجزیه

عنوان:

اندازه گیری آلاینده های زیست محیطی با روشهای نوین میکرو

استخراج فاز مایع و با استفاده از دستگاههای کروماتوگرافی

استاد راهنما :

علی سرافرازیزی

استاد مشاور :

زرین اسحاقی

محقق و نگارنده :

حکیمه اسدی

تابستان ۹۱

اظهارنامه

اینجانب حکیمه اسدی دانشجوی دوره دکتری رشته شیمی تجزیه دانشکده علوم پایه دانشگاه فردوسی مشهد نویسنده رساله اندازه گیری و جداسازی آلاینده های زیست محیطی با روشهای نوین میکرواستخراج فاز مایع و با استفاده از دستگاه های کروماتوگرافی تحت راهنمایی دکتر علی سرافراز یزدی متعهد می شوم:

- تحقیقات در این رساله/پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در رساله/پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه فردوسی مشهد » و یا « Ferdowsi University of Mashhad » به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی رساله/پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از رساله/ پایان نامه رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این رساله/پایان نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این رساله/پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است، اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است.

تاریخ ۹۱/۴/۲۴

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در رساله/پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

فصل اول (مقدمه)

مروری بر روشهای پیش تغلیظ و آماده سازی نمونه

۳	۱-۱-۱- مقدمه.....
۳	۱-۱-۱- آلودگی محیط زیست
۸	۲-۱-۱- روشهای تهیه نمونه واهمیت آن
۱۱	۲-۱- انواع روشهای استخراج
۱۱	۱-۲-۱- استخراج از نمونه های جامد.....
۱۱	۱-۱-۲-۱- سوکسله
۱۲	۲-۱-۲-۱- استخراج با مایع تحت فشار (PLE)
۱۳	۳-۱-۲-۱- استخراج به کمک امواج فرا صوت و ریز موج
۱۳	۴-۱-۲-۱- استخراج با آب فراتافته (SHWE)
۱۴	۵-۱-۲-۱- استخراج با سیال فوق بحرانی (SFE)
۱۴	۲-۲-۱- اندازهگیری آنالیتها در فاز گازی
۱۵	۱-۲-۲-۱- به تله انداختن آنالیتها از نمونههای گازی
۱۵	۲-۲-۲-۱- استخراج به روش فضای فوقانی

-
-
- ۱-۲-۳- استخراج از نمونه های محلول..... ۱۶
- ۱-۳-۲-۱- استخراج با فاز جامد (SPE) ۱۷
- ۱-۲-۳-۲- استخراج با استوانه چرخان..... ۱۸
- ۱-۳-۲- روشهای میکرواستخراج ۱۹
- ۱-۳-۱- میکرواستخراج با فاز جامد (SPME) ۱۹
- ۱-۲-۳-۱- میکرواستخراج با فاز مایع (LPME) ۲۲
- ۱-۲-۳-۱- میکرواستخراج توسط تک قطره ۲۴
- ۱-۱-۲-۳-۱- سیستم قطره در قطره ۲۵
- ۱-۲-۳-۱- میکرواستخراج توسط قطره با استفاده از میله تفلونی ۲۶
- ۱-۲-۳-۱- میکرواستخراج توسط قطره، با استفاده از میکروسرنگ ۲۶
- ۱-۲-۳-۱- میکرواستخراج توسط فیلم حلال آلی امتزاج ناپذیر در آب ۲۸
- ۱-۲-۳-۱- روشهای میکرواستخراج سه فازی مایع ۲۹
- ۱-۲-۳-۴- میکرواستخراج با فاز مایع بوسیله فیبرتوخالی (HF-LPME) ۳۲
- ۱-۲-۳-۵- استخراج نقطه ابری (CPE) ۳۶
- ۱-۲-۳-۶- استخراج مایع-مایع همگن (HLLE) ۳۹
- ۱-۲-۳-۷- میکرواستخراج با قطره معلق (DSDME) ۳۹
- ۱-۲-۳-۸- میکرواستخراج مایع - مایع پراکنده شده (DLLME) ۴۰
- ۱-۲-۳-۹- میکرواستخراج با قطره آلی شناور جامد شده (SFODM) ۴۲

بخش تجربی

فصل دوم- اندازه گیری قارچ کشتهای تری آزول با استفاده از روش میکرو استخراج فاز مایع با غشاء پلی پروپیلن همراه با سیستم کروماتوگرافی گازی- آشکارساز اسپکتروسکوپی

جرمی

۱-۲-۱- مقدمه.....	۴۴
۱-۱-۲- تاریخچه بکارگیری آفت کش ها.....	۴۴
۲-۱-۲- طبقه بندی آفت کش ها بر اساس ساختار شیمیایی.....	۴۶
۳-۱-۲- آفت کش های تری آزولی.....	۴۷
۴-۱-۲- میکرو استخراج فاز مایع با استفاده از غشا فیبر توخالی (HF-LPME).....	۵۱
۲-۲- بخش آزمایشگاهی.....	۵۳
۱-۲-۲- مواد شیمیایی و معرف ها.....	۵۳
۲-۲-۲- تجهیزات دستگاهی.....	۵۴
۱-۲-۲-۲- سیستم GC.....	۵۴
۲-۲-۲-۲- آماده سازی فیبرهای توخالی و سیستم میکرو استخراج.....	۵۷
۳-۲-۲- بحث و بررسی داده ها.....	۵۹
۱-۳-۲-۲- تئوری.....	۵۹

۶۲.....	۲-۳-۲-۲- بهینه سازی روش استخراج
۶۲.....	۲-۳-۲-۱- نوع حلال آلی
۶۳.....	۲-۳-۲-۲- سرعت هم زدن
۶۴.....	۲-۳-۲-۳- زمان استخراج
۶۶.....	۲-۳-۲-۴- اثر افزایش نمک
۶۷.....	۲-۳-۲-۵- اثر pH
۶۸.....	۲-۳-۳- اندازه گیری های کمی
۶۹.....	۲-۳-۳-۱- فاکتور تغلیظ
۶۹.....	۲-۳-۳-۲- بازه خطی
۷۰.....	۲-۳-۳-۳- دقت
۷۰.....	۲-۳-۳-۴- حد تشخیص
۷۱.....	۲-۳-۳-۵- بازیافت نسبی
۷۲.....	۲-۳-۴- تجزیه نمونه های حقیقی
۷۴.....	۲-۳-۵- مقایسه نتایج آماری روش با سایر روش ها
۷۵.....	۲-۴- نتیجه گیری

فصل سوم- اندازه گیری و جداسازی داروهای ضد التهاب غیراستروئیدی با استفاده

از روش جدید ترکیبی میکرو استخراج مایع - مایع پخشی و میکرواستخراج با قطره

آویزان همراه با کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا

۱-۳-۱- مقدمه	۷۶
۱-۳-۱-۱- داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی	۷۶
۱-۳-۲- دسته بندی داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی	۷۷
۱-۳-۳- دیکلوفناک	۷۸
۱-۳-۴- ایبوپروفن	۷۸
۱-۳-۵- ناپروکسن	۷۹
۱-۳-۲- روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی	۸۸
۱-۳-۱-۲- اصول DLLME	۸۸
۱-۳-۲-۲- DLLME با حلال های سبک تر از آب	۹۱
۱-۳-۲-۳- DLLME با مایعات یونی	۹۱
۱-۳-۲-۴- ترکیب شدن DLLME با سایر روشهای تهیه نمونه	۹۲
۲-۳- مواد شیمیایی و معرف ها	۹۷
۳-۳- تجهیزات دستگاهی	۹۷
۱-۳-۳- سیستم HPLC	۹۷
۲-۳-۳- آزمایش های مقدماتی	۹۹
۱-۲-۳-۳- تعیین طول موج جذبی ماکزیم آنالیت ها	۹۹
۲-۲-۳-۳- انتخاب حلال فاز متحرک	۱۰۱
۳-۲-۳-۳- سرعت جریان فاز متحرک	۱۰۲

-
-
- ۱۰۳..... ۳-۳-۲-۴- تعیین زمان بازداري آناليت ها
- ۱۰۴..... ۳-۳-۳- سيستم ميكرواستخراج
- ۱۰۶..... ۳-۴-۴- بحث و بررسي داده ها
- ۱۰۶..... ۳-۴-۱- تئوري
- ۱۰۸..... ۳-۴-۲- بهينه سازي روش استخراج
- ۱۰۸..... ۳-۴-۲-۱- نوع حلال آلي
- ۱۰۹..... ۳-۴-۲-۲- زمان استخراج
- ۱۱۰..... ۳-۴-۲-۳- pH محلول هاي آبي دهنده و گيرنده
- ۱۱۲..... ۳-۴-۲-۴- سرعت هم زدن
- ۱۱۳..... ۳-۴-۲-۵- حجم فاز آلي وفاز آبي گيرنده (قطره)
- ۱۱۵..... ۳-۴-۲-۶- اثرافزايش نمك
- ۱۱۶..... ۳-۴-۲-۷- اثر نوع حلال پخش كننده
- ۱۱۶..... ۳-۴-۲-۸- اثر ساير پارامترها
- ۱۱۹..... ۳-۴-۳- اندازه گيري هاي كمی
- ۱۱۹..... ۳-۴-۳-۱- فاكتر تغليظ
- ۱۱۹..... ۳-۴-۳-۲- بازه خطی
- ۱۲۰..... ۳-۴-۳-۳- دقت
- ۱۲۱..... ۳-۴-۳-۴- حد تشخيص
- ۱۲۱..... ۳-۴-۳-۵- بازيافت نسبی

۱۲۲.....	۳-۴-۴- تجزیه نمونه های حقیقی آب
۱۲۴.....	۳-۴-۵- مقایسه نتایج آماری بدست آمده در این روش با سایر روش ها
۱۲۵.....	۳-۵- نتیجه گیری
۱۲۶.....	مروری مختصر بر ساخت فیبرهای فلزی
۱۲۸.....	پیشنهادات
۱۲۹.....	مراجع

فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
فصل اول	
شکل ۱-۱- آلاینده‌های یافت شده جدید در محیط زیست.....	۶
شکل ۲-۱- شمایی از سیستم استخراج سوکسله	۱۲
شکل ۳-۱- شمایی از روش استخراج فاز جامد	۱۸
شکل ۴-۱- وسیله‌ی مورد استفاده در روش میکرواستخراج فاز جامد	۲۱
شکل ۵-۱- روشهای مختلف استخراج با فیبر	۲۲
شکل ۶-۱- شمای سیستم میکرواستخراج به مدل قطره در قطره	۲۵
شکل ۷-۱- میکرواستخراج با قطره به کمک میله تفلونی	۲۶
شکل ۸-۱- میکرواستخراج با سیستم قطره، مدل میکروسرنگ	۲۷
شکل ۹-۱- مراحل مختلف روش میکرواستخراج فاز مایع دینامیکی در داخل میکروسرنگ.	۲۹
شکل ۱۰-۱- شمای سیستم میکرواستخراج قطره‌ی سه فازی	۳۱
شکل ۱۱-۱- طرح سیستم جدید میکرواستخراج سه فازی مایع با استفاده از تک قطره.	۳۲
شکل ۱۲-۱- طرح یک سیستم میکرواستخراج با استفاده از فیبر توخالی.	۳۴
شکل ۱۳-۱- طرح یک سیستم استخراج نقطه ابری.	۳۸
شکل ۱۴-۱- طرح یک سیستم میکرواستخراج با استفاده از قطره معلق.	۴۰
شکل ۱۵-۱- طرح یک سیستم میکرواستخراج مایع مایع پخشی.	۴۱

شکل ۱-۱۶- طرح یک سیستم میکرواستخراج با قطره آلی شناور جامد شده. ۴۲

فصل دوم

- شکل ۲-۱- تصویر SEM از سطح مقطع یک فیبر توخالی پلی پروپیلن ۵۲
- شکل ۲-۲- طیف جرمی مربوط به دینیکنازول ۵۵
- شکل ۲-۳- طیف جرمی مربوط به دیکلوبوترازول ۵۶
- شکل ۲-۴- طیف جرمی مربوط به هگزاکونازول ۵۶
- شکل ۲-۵- طیف جرمی مربوط به پنکنازول ۵۷
- شکل ۲-۶- شماتیک سیستم مورد استفاده در روش میکرواستخراج دو فازی با فیبرپلی پروپیلن ۵۹
- شکل ۲-۷- شماتیک روش میکرواستخراج مایع دو فازی و سه فازی ۶۰
- شکل ۲-۸- اثر نوع حلال بر روی استخراج آنالیتها ۶۳
- شکل ۲-۹- اثر زمان استخراج (دقیقه) بر روی استخراج ۶۴
- شکل ۲-۱۰- اثر سرعت هم زدن بر روی بازده استخراج ۶۵
- شکل ۲-۱۱- اثر افزایش نمک (سدیم کلرید) بر روی بازده استخراج ۶۷
- شکل ۲-۱۲- اثر pH بر روی بازده استخراج ۶۸
- شکل ۲-۱۳- نمودار کالیبراسیون رسم شده برای آنالیت ها ۷۰
- شکل ۲-۱۴- کروماتوگرام های GC-MS بدست آمده از تجزیه آب رودخانه .. ۷۳

فصل سوم

- شکل ۳-۱- تصاویری از مراحل مختلف DLLME ۹۰
- شکل ۳-۲- طیف جذب مولکولی مربوط به دیکلوفناک ۱۰۰
- شکل ۳-۳- طیف جذب مولکولی مربوط به ناپروکسن ۱۰۰
- شکل ۳-۴- طیف جذب مولکولی مربوط به ایبوپروفن ۱۰۱
- شکل ۳-۵- شماتیک سیستم مورد استفاده در روش ترکیبی جدید میکرواستخراج مایع سه فازی ۱۰۵
- شکل ۳-۶- اثر نوع حلال آلی بر روی استخراج ترکیبات ۱۰۹
- شکل ۳-۷- اثر زمان استخراج برگشتی بر روی استخراج ۱۱۰
- شکل ۳-۸- اثر pH قطره بر روی استخراج ۱۱۱
- شکل ۳-۹- اثر pH محلول نمونه بر روی استخراج ۱۱۲
- شکل ۳-۱۰- اثر حجم فاز آلی بر روی بازده استخراج ۱۱۴
- شکل ۳-۱۱- اثر افزایش نمک بر روی بازده استخراج ۱۱۵
- شکل ۳-۱۲- طیف FT-IR مربوط به نانو لوله های کربنی عاملدار شده ۱۱۸
- شکل ۳-۱۳- نمودار کالیبراسیون رسم شده برای آنالیت ها ۱۲۰
- شکل ۳-۱۴- کروماتوگرام های HPLC-UV بدست آمده از تجزیه آب رودخانه .

فهرست جداول

صفحه

عنوان

فصل دوم

- جدول ۱-۲ ساختار و خواص فیزیکی و شیمیایی قارچ کش های استفاده شده ۴۹
- جدول ۲-۲ بازیافت نسبی قارچ کشها از نمونه های آب شیر، مزرعه، رودخانه و آب انگور با استفاده از روش میکرواستخراج مایع دو فازي با فیبر توخالی ۷۲
- جدول ۳-۲ مقایسه روش HF-LPME ارائه شده در این پروژه با سایر روشهای تهیه نمونه برای اندازه گیری قارچ کش ها ۷۴

فصل سوم

- جدول ۱-۳ ساختار و خواص فیزیکی و شیمیایی داروهای انتخاب شده ۸۰
- جدول ۲-۳ بازیافت نسبی داروهای ضدالتهاب از نمونه های آب رودخانه و آب فاضلاب با استفاده از روش ترکیبی جدید میکرواستخراج مایع سه فازي ۱۲۲
- جدول ۳-۳ مقایسه روش ترکیبی ارائه شده در این پروژه با سایر روشهای تهیه نمونه برای اندازه گیری داروهای مورد نظر ۱۲۴

علائم اختصاری

DDT	دی کلرو دی فنیل تری کلرو اتان
PLE	استخراج با مایع تحت فشار
ASE	استخراج با حلال تسریع شده
SHEW	استخراج با آب فرا تافته
SFE	استخراج با سیال فوق بحرانی
FID	آشکار ساز یونش شعله ای
SPE	استخراج با فاز جامد
SPME	میکرو استخراج با فاز جامد
GC	کروماتوگرافی گازی
LPME	میکرو استخراج با فاز مایع
LLE	استخراج مایع مایع
HF-	میکرو استخراج با فاز مایع بوسیله فیبر توخالی
	LPME
CE	الکتروفورز
HPLC	کروماتوگرافی مایع با کارایی مایع
CPE	استخراج نقطه ابری
CME	غلظت بحرانی مایسلی
HLLE	استخراج مایع مایع همگن
DSDME	میکرو استخراج با قطره معلق
DLLME	میکرو استخراج مایع مایع پخشی
SFODM	میکرو استخراج با قطره آلی شناور جامد شده

MAE	استخراج با کمک امواج میکرو
SBSE	استخراج با جاذب میله ای چرخان
PTFE	پلی تترا فلورو اتیلن
EF	فاکتور تغلیظ
LR	بازه خطی
RSD	انحراف استاندارد نسبی
LOD	حد تشخیص
MS	اسپکتروسکپی جرمی
NSAID	داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی
MTBSTFA	N-متیل-N-(تترا بوتیل دی متیل سیلیل)تری فلورو استامید
MSTFA	N-متیل-N-(تری متیل سیلیل) تری فلورو استامید
SIM	مد انتخاب شده یونی
DME	استخراج با ماتریکس پراکننده شده
DEAE	دی اتیل آمینو اتیل
LC-UV	کروماتوگرافی مایع با آشکارساز اسپکتروسکپی ماوراءبنفش
UPLC	کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا
ECD	آشکارساز ربایش الکترون
DSPE	استخراج فاز جامد پخشی
DAD	آشکارساز آرایه ای فوتو دیودی
PAH	هیدروکربنهای آروماتیک چند حلقه ای
PCB	دی فنیل های چند کلردار شده

MIP

پلیمرهای قالب مولکولی

OPP

آفت کش های ارگانو فسفره

UAE

استخراج با کمک فرا صوت

ppt

قسمت در بیلیون

چکیده:

استخراج قارچ کش های تری آزول (پنکنازول، هگزاکنازول، دیکلوبوترازول و دینیکنازول) از نمونه های آب رودخانه، مزرعه و آب انگور توسط روش میکرواستخراج دو فازی با فیبر توخالی انجام گرفته و جداسازی و آنالیز ترکیبات با دستگاه GC/MS صورت پذیرفته است. شرایط استخراج برای این ترکیبات به این صورت بهینه شده است: حلال استخراج کننده: تولوئن، زمان استخراج: ۲۰ دقیقه، سرعت همزدن: ۷۲۰ دور در دقیقه، بدون افزایش نمک و بدون افزایش pH.

نمودار کالیبراسیون برای این ترکیبات تحت شرایط بهینه با رسم نمودار نسبت سطح زیر پیک محلول های استاندارد به استاندارد داخلی بر حسب غلظت بدست آمده است که محدوده ی خطی روش برای پنکنازول و دینیکنازول بین ۱ تا ۵۰۰۰ میکروگرم بر لیتر با ضریب همبستگی به ترتیب ۰/۹۹۷ و ۰/۹۹۸ می باشد و برای هگزاکنازول و دیکلوبوترازول محدوده ی خطی بین ۲ تا ۵۰۰۰ میکروگرم بر لیتر با ضریب همبستگی به ترتیب ۰/۹۹۹ و ۰/۹۹۸ می باشد. حد تشخیص روش (LOD) بطور تجربی ($S/N=3$) بدست آمده که برای آنالیت های پنکنازول، هگزاکنازول، دیکلوبوترازول و دینیکنازول به ترتیب برابر ۰/۳، ۰/۶، ۰/۸ و ۰/۴ میکروگرم بر لیتر می باشد. تکرار پذیری روش یا دقت، به صورت انحراف استاندارد نسبی (RSD)، برای آنالیت های مورد نظر با غلظت های ۵۰ میکروگرم بر لیتر و برای پنج بار تکرار بین ۶/۰ تا ۹/۰ درصد می باشد. همچنین فاکتور تغلیظ های بدست آمده برای ترکیبات در محدوده ۱۳۴ تا ۲۳۹ می باشد.

در ادامه کار استخراج و اندازه گیری داروهای اسیدی ضدالتهاب غیراستروئیدی (ناپروکسن، ایبوپروفن و دیکلوفناک) از نمونه های آبی با استفاده از روش ترکیبی جدید میکرواستخراج سه فازی ذکر گردیده است که این روش شامل روش های میکرواستخراج با قطره و میکرواستخراج مایع-مایع پخشی می باشد. جداسازی و آنالیز این ترکیبات با دستگاه HPLC-UV انجام پذیرفته است. بهینه کردن متغیرهای تجربی (نوع حلال، زمان استخراج، pH محلول های آبی دهنده و گیرنده، سرعت همزدن، حجم فاز آلی و آبی گیرنده، قدرت یونی محلول، نوع حلال پخش کننده و ...) مورد بررسی قرار گرفته است.

نمودار کالیبراسیون برای این ترکیبات تحت شرایط بهینه با رسم نمودار سطح زیر پیک محلول های استاندارد بر حسب غلظت بدست آمده است که محدوده ی خطی روش برای دیکلوفناک و ایبوپروفن بین ۱ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر لیتر با ضریب همبستگی ۰/۹۹۹ می باشد و برای ناپروکسن محدوده خطی بین ۰/۱ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر لیتر با ضریب همبستگی ۰/۹۹۹ می باشد. حد تشخیص روش (LOD) بطور تجربی ($S/N=3$) بدست آمده که برای آنالیت های ناپروکسن، دیکلوفناک و ایبوپروفن به ترتیب برابر ۰/۳، ۰/۲۰ و ۰/۳۰ میکروگرم بر لیتر می باشد. تکرار پذیری روش یا دقت، به صورت درصد انحراف استاندارد نسبی (%RSD)، برای آنالیت های مورد نظر با غلظت های ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر و برای پنج بار تکرار بین ۴/۵ تا ۸/۸ درصد می باشد. همچنین فاکتور تغلیظ های بدست آمده برای ترکیبات مورد بررسی بین ۷۰ تا ۹۰ می باشد.

فصل اول

مقدمه

مروری بر

روشهای پیش تخلیظ

و آماده سازی نمونه

Review Section