به نام خدایی که در این نزدیکی است

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده شیمی

اندازه‌گیری ترامادول در نمونه‌های بیولوژیکی به‌وسیله اتصال ریزاستخراج فاز جامد از فضای فوقانی با دستگاه طیف‌سنج تحرک یونی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد شیمی تجزیه

افشین مرادی

اساتید راهنما

دکتر محمد تقی جعفری

دکتر محمد سراجی

آذر ۱۳۹۱

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده شیمی

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته شیمی تجزیه آقای افشین مرادی

تحت عنوان

اندازه‌گیری ترامادول در نمونه‌های بیولوژیکی به‌وسیله اتصال ریزاستخراج فاز جامد از فضای فوقانی با دستگاه طیف‌سنج تحرک یونی

در تاریخ ۱۳۹۱/۹/۲۹ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

۱- استاد راهنمای پایان نامه	دکتر محمد تقی جعفری
۲- استادراهنمای پایان نامه	دکتر محمد سراجی
۳- استاد داور	دکتر تقی خیامیان
۴- استاد داور	دکتر بهزاد رضایی
سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده	دکتر توکل

تشکر و قدردانی

به نام خداوند جان وخرد　　کزین برتر، اندیشه بر نگذرد

خداوند نام و خداوند جای　　خداوند روزی ده رهنمای

توانا بود هرکه دانا بود　　زدانش، دل پیر برنا بود

ازین پرده برتر، سخن گاه نیست　　به هستی، مر اندیشه را راه نیست

فردوسی

از زحمات بی دریغ خانواده‌ام بخصوص پدر و مادرم که با تمام وجود برای رشد و تعالی من کوشیدند کمال تشکر را دارم.

بر خود لازم می‌دانم که از زحمات و تلاش‌های دلسوزانه اساتید محترم، جناب آقای دکتر محمدتقی جعفری و جناب آقای دکتر محمد سراجی که در طول اجرای این تحقیق، از تجربیات سودمند ایشان بسیار بهره‌مند شدم، نهایت سپاسگزاری را دارم، امیدوارم که در کلیه مراحل زندگی موفق باشند.

از اساتید داور محترم این پروژه، آقایان دکتر تقی خیامیان و دکتر بهزاد رضایی که زحمت مطالعه این پایان‌نامه و کمک در اصلاح آن را متحمل شدند نهایت سپاسگزاری را دارم.

در پایان از کلیه دوستان محترم در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی شیمی، مخصوصاً آقای بهمن فرجمن و دوستان دیگری که در اجرای این تحقیق با اینجانب همکاری داشته‌اند نهایت تشکر را دارم.

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات،

ابتکارات و نوآوریهای ناشی از تحقیق موضوع

این پایان نامه متعلق به دانشگاه صنعتی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فهرست مطالب ..... هفت
فهرست اشکال ..... یازده
فهرست جداول ..... دوازده
چکیده ۱

فصل اول: اصول ریزاستخراج فاز جامد و تئوری دستگاه IMS

مقدمه ۲
۱-۱- استخراج ۳
۱-۲- ریزاستخراج فاز جامد (SPME) ۳
۱-۲-۱-نحوه انجام ریزاستخراج فاز جامد ۳
۱-۲-۱- الف- ریزاستخراج فاز جامد مستقیم ۴
۱-۲-۱- ب- ریزاستخراج فاز جامد از فضای بالای نمونه ۴
۱-۲-۲- اصول تئوری ۴
۱-۲-۳- پارامترهای موثر بر راندمان استخراج ۵
۱-۲-۳- الف - جاذب ۵
۱-۲-۳- ب - افزایش نمک ۶
۱-۲-۳-ج- دما ۶
۱-۲-۳- د- سرعت همزدن ۶
۱-۲-۳- هـ- pH ۶
۱-۲-۳- و- زمان ۶
۱-۲-۴- مزایای روش SPME ۷
۱-۲-۵- جاذب‌های پرکاربرد ۷
۱- ۳- سل- ژل ۸
۱-۳-۱- سل ۹
۱-۳-۲- ژل ۹
۱-۳-۳- مواد و واکنش‌های شیمیایی اساسی در فرآیند سل- ژل ۹
۱-۳-۴- روش‌های ساخت لایه نازک جاذب بر روی بستر ۱۰
۱-۳-۵- مزایای فرایند سل- ژل ۱۱
۱-۳-۶- معایب فرایند سل- ژل ۱۱
۱-۴- طیف‌سنج تحرک یونی (IMS) ۱۱
۱-۴-۱- مزایای روش طیف‌سنجی تحرک یونی (IMS) ۱۱
۱-۴-۲- تئوری و اساس طیف‌سنجی تحرک یونی ۱۲
۱-۴-۳- دستگاه طیف‌سنج تحرک یونی ۱۳

۱-۴-۴- منبع یونیزاسیون کرونا ۱۳
۱-۴-۴-الف- مکانیسم تشکیل یون‌ها در منبع تخلیه کرونا ۱۳
۱-۴-۴-ب-مکانیسم تشکیل یون‌های گازی در پلاریته مثبت ۱۴
۱-۴-۴-ج- مکانیسم تشکیل یون‌های محصول در تخیله کرونا و در پلاریته مثبت ۱۴

فصل دوم : اهمیت و کاربردها

مقدمه ۱۶
۲-۱- داروهای مخدر ۱۶
۲-۲- اثر مواد مخدر بر سیستم عصبی ۱۷
۲-۳- ترمادول ۱۷
۲-۳-۱- مکانیسم اثر ترامادول ۱۷
۲-۳-۲- اشکال مختلف دارویی ۱۸
۲-۳-۳- عوارض دارو ۱۸
۲-۳-۳- الف- اعتیاد ۱۸
۲-۳-۳- ب- تشنج ۱۸
۲-۳-۳-ج- واکنش آنافیلاکسی ۱۹
۲-۳-۳- د- دپرسیون تنفسی ۱۹
۲-۳-۴- مروری بر کارهای انجام شده روی ترامادول ۱۹
۲-۴- روش SPME-IMS ۲۱
۲-۵- مروری بر کارهای انجام شده با روش SPME-IMS ۲۱

فصل سوم : بخش تجربی، نتایج و بحث

مقدمه ۲۲
۳-۱- مواد شیمیائی و محلول‌های استفاده شده ۲۳
۳-۲- دستگاه‌ها و تجهیزات استفاده شده ۲۳
۳-۲-۱- سل دستگاه ۲۴
۳-۲-۲- منبع تغذیه ۱۰ کیلوولت ۲۵
۳-۲-۳- منبع تغذیه ۵ کیلوولت ۲۵
۳-۲-۴- منبع ولتاژ ۱۱۰ ولت ۲۵
۳-۲-۵ - منبع یونیزاسیون تخلیه کرونا ۲۵
۳-۲-۶- ترمومتر ۲۵
۳-۲-۷- مخزن گاز نیتروژن ۲۵
۳-۲-۸- شبکه الکتریکی و دستگاه مولد پالس ۲۶
۳-۲-۹- ناحیه رانش ۲۶
۳-۲-۱۰- شبکه محافظ ۲۶

۳-۲-۱۱- آشکارساز ۲۶
۳-۲-۱۲- تقویت‌کننده سیگنال ۲۷
۳-۲-۱۳- مبدل آنالوگ به دیجیتال ۲۷
۳-۲-۱۴- محاسبه پاسخ دستگاه IMS ۲۷
۳-۳- ساخت محفظه تزریق ۲۷
۳-۳-۱- محل قرارگیری المنت ۲۹
۳-۳-۲- ورودی گاز ۲۹
۳-۳-۳- مجرای تزریق نمونه ۲۹
۳-۴- بهینه‌سازی شرایط دستگاه ۲۹
۳-۵- طیف تحرک یونی ترامادول ۳۰
۳-۶- بررسی خطی بودن پاسخ دستگاه ۳۲
۳-۷- ساختن جاذب برای استخراج با استفاده از تکنیک سل- ژل ۳۴
۳-۷-۱- آمادهسازی فیبر استیل برای نشاندن جاذب ۳۴
۳-۷-۲- تهیه محلول سل ۳۴
۳-۷-۳- خشک کردن ۳۷
۳-۸- روش کلی استخراج ۳۷
۳-۹- بهینه‌سازی شرایط استخراج ۳۷
۳-۹-۱- بررسی اثر نمک ۳۷
۳-۹-۲- اثر غلظت سدیم هیدروکسید ۳۸
۳-۹-۳- اثر دما ۴۰
۳-۹-۴- اثر سرعت همزن مغناطیسی ۴۱
۳-۹-۵- زمان تعادل ۴۱
۳-۹-۶- زمان استخراج ۴۲
۳-۱۰- ارزیابی روش ۴۳
۳-۱۰-۱- سرعت آنالیز ۴۳
۳-۱۰-۲- دقت روش ۴۳
۳-۱۰-۳- خطی بودن روش و حد تشخیص ۴۴
۳-۱۱- آنالیز داروی افزوده شده به نمونه‌های بیولوژیکی ۴۶
۳-۱۱-۱- نمونه ادرار ۴۶
۳-۱۱-۱-الف- بازیابی نسبی در آنالیز نمونه ادرار ۴۶
۳-۱۱-۱- ب - محدوده خطی در آنالیز نمونه ادرار ۴۷
۳-۱۱-۱- ج- دقت و حد تشخیص در آنالیز نمونه ادرار ۴۹
۳-۱۱-۱- د- آنالیز نمونه ادرار پس از مصرف دارو ۴۹

۳-۱۱-۲- نمونه پلاسما ۵۱
۳-۱۱-۲-الف- آماده‌سازی نمونه پلاسما ۵۱
۳-۱۱-۲- ب - بازیابی نسبی دارو از نمونه پلاسما ۵۱
۳-۱۱-۲- ج- محدوده خطی در نمونه پلاسما ۵۲
۳-۱۱-۲-د- دقت و حد تشخیص در پلاسما ۵۳
۳-۱۱-۲-ه- آنالیز نمونه پلاسما پس از مصرف دارو ۵۴
۳-۱۲- مقایسه خصوصیات و ارقام شایستگی روش ارائه شده با روش‌های موجود ۵۶
۳-۱۳- نتیجه‌گیری نهایی ۵۷
منابع ۵۸

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل (۱-۱) : نمائی از ابزار ریزاستخراج فاز جامد [۵]..... ۳
شکل (۲-۱) : ساختار شیمیایی ترامادول [۳۲]..... ۱۷
شکل (۳-۱) : دستگاه طیف‌سنج تحرک یونی با منبع یونیزاسیون تخلیه کرونا..... ۲۴
شکل (۳-۲) : ساختار داخلی محفظه تزریق..... ۲۸
شکل (۳-۳) : طیف IMS حاصل ازتزریق محلول ۱ میلی‌گرم بر لیتر..... ۳۱
شکل (۳-۴) : پاسخ حاصل از تزریق محلول‌های استاندارد ترامادول به دستگاه..... ۳۳
شکل (۳-۵) : منحنی تنظیم برای تزریق استانداردهای ترامادول در حلال متانول..... ۳۴
شکل (۳-۶) : اثر نمک بر راندمان استخراج..... ۳۸
شکل (۳-۷) : اثر غلظت NaOH بر راندمان استخراج..... ۳۹
شکل (۳-۸) : اثر تغییر دما بر راندمان استخراج..... ۴۱
شکل (۳-۹) : اثر زمان تعادل بر راندمان SPME..... ۴۲
شکل (۳-۱۰) : اثر زمان استخراج بر راندمان SPME..... ۴۳
شکل (۳-۱۱) : داده‌های حاصل از غلظت‌های مختلف ترامادول در نمونه آب..... ۴۴
شکل (۳-۱۲) : منحنی تنظیم برای نمونه آب..... ۴۵
شکل (۳-۱۳) : داده‌های حاصل از غلظت‌های مختلف ترامادول در نمونه ادرار..... ۴۷
شکل (۳-۱۴) : منحنی تنظیم ترامادول در نمونه ادرار..... ۴۸
شکل (۳-۱۵) : طیف حاصل از دستگاه، طیف زمینه، نمونه شاهد و نمونه ادرار در ساعت پنجم..... ۵۰
شکل (۳-۱۶) : مقادیر ترامادول در نمونه ادرار در ساعت‌های ۲، ۵ و ۱۰ پس از مصرف قرص..... ۵۱
شکل (۳-۱۷) : نمودار داده‌های حاصل استخراج از غلظت‌های مختلف در نمونه پلاسما..... ۵۳
شکل (۳-۱۸) : منحنی تنظیم در نمونه پلاسما..... ۵۳
شکل (۳-۱۹) : مقادیر ترامادول در نمونه پلاسما در ساعت‌های ۱، ۲ و ۵ پس از مصرف قرص..... ۵۴
شکل (۳-۲۰) : طیف حاصل از دستگاه، طیف زمینه، نمونه شاهد و نمونه پلاسما در ساعت دوم..... ۵۵

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول (۳-۱) : پارامترهای اعمالی به دستگاه ۳۰
جدول (۳-۲) : شرایط طیف‌گیری ۳۰
جدول (۳-۳) : نتایج حاصل ازتزریق استانداردهای ترامادول ۳۳
جدول (۳-۴) : پارامترهای شایستگی روش ۳۳
جدول (۳-۵) : لیست مواد مورد استفاده در ساخت جاذب همراه با ساختار و عملکرد ۳۵
جدول (۳-۶) : نتایج حاصل از افزایش غلظت نمک ۳۸
جدول (۳-۷) : نتایج حاصل از غلظت NaOH روی راندمان SPME ۳۹
جدول (۳-۸) : نتایج حاصل از افزایش دمای استخراج روی راندمان SPME ۴۰
جدول (۳-۹) : نتایج حاصل تغییر زمان تعادل روی راندمان SPME ۴۱
جدول (۳-۱۰) : نتایج حاصل از زمان‌های مختلف استخراج ۴۲
جدول (۳-۱۱) : نتایج حاصل از استخراج غلظت‌های مختلف دارو در آب ۴۵
جدول (۳-۱۲) : پارامترهای شایستگی روش در نمونه آب ۴۶
جدول (۳-۱۳) : نتایج حاصل از استخراج ازغلظت‌های مختلف در نمونه ادرار ۴۸
جدول (۳-۱۴) : پارامترهای شایستگی در نمونه ادرار ۴۹
جدول (۳-۱۵) : غلظت‌های به‌دست آمده در نمونه ادرار بعد از مصرف قرص ترامادول ۴۹
جدول (۳-۱۶) : نتایج حاصل استخراج ازغلظت‌های مختلف دارو در نمونه‌های پلاسما ۵۲
جدول (۳-۱۷) : پارامترهای شایستگی روش در نمونه پلاسما ۵۴
جدول (۳-۱۸) : غلظت به‌دست آمده در پلاسما بعد از مصرف قرص ۵۴
جدول (۳-۱۹) : مقایسه پارامترهای تجربه‌ای روش پیشنهاد شده جهت آنالیز ترامادول نسبت به روش‌های گزارش شده‌دیگر ۵۶

چکیده

در این پایان‌نامه از فرایند سل- ژل برای ساخت جاذب پلی‌دی‌متیل‌سیلوکسان بر روی سیم استیل استفاده شده است. پس از آن داروی ترامادول توسط روش ریزاستخراج فاز جامد، استخراج و با دستگاه طیف‌سنج تحرک یونی آنالیز شد. یک محفظه تزریق برای اتصال ریزاستخراج فاز جامد به دستگاه طیف‌سنج تحرک یونی ساخته شد. در این طراحی، ورودی نمونه، ورودی گاز و محل قرارگیری المنت در یک قطعه قرار دارد. حجم مرده محفظه تزریق بسیار کم است به‌طوری که نمونه به‌سرعت محفظه تزریق را ترک کرده و وارد دستگاه طیف‌سنج تحرک یونی می‌گردد، بنابراین پهن شدن پیک‌ها به‌حداقل می‌رسد. برای استخراج، پارامترهای غلظت نمک، غلظت NaOH، دما، زمان تعادل و زمان استخراج مطالعه شد. بهترین راندمان استخراج در غلظت اشباع نمک، غلظت ۱۵ میلی‌مولار NaOH، دمای ۹۷ درجه، زمان تعادل ۱ دقیقه و زمان استخراج ۱۰ دقیقه مشاهده شد. منحنی تنظیم در نمونه‌های آب، ادرار و پلاسما رسم شد. برای آنالیز نمونه‌های آب و ادرار محدوده خطی از ۲ تا ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر و r^2 به‌ترتیب برابر با ۰/۹۹۸۲ و ۰/۹۹۷۶ محاسبه شد. برای نمونه پلاسما محدوده خطی از ۲۰ تا ۷۰۰ میکروگرم بر لیتر و r^2 برابر ۰/۹۹۸۰ به‌دست آمد. حد تشخیص در نمونه‌های ادرار و پلاسما به‌ترتیب برابر ۱ و ۹ میکروگرم بر لیتر به‌دست آمد. انحراف استاندارد نسبی در آنالیز نمونه ادرار و نمونه پلاسما به‌ترتیب ۸ و ۱۰ درصد به‌دست آمد. برای بررسی توانایی روش در آنالیز نمونه‌های حقیقی، نمونه‌های ادرار و پلاسمای شخص داوطلب پس از مصرف داروی ترامادول به‌روش فوق آنالیز شد.

کلمات کلیدی

ریزاستخراج فاز جامد، سل- ژل، ترامادول، محفظه تزریق، طیف‌سنج تحرک یونی

فصل اول
اصول ریزاستخراج فاز جامد
و تئوری دستگاه IMS

مقدمه

در شیمی تجزیه دانشمندان به‌کمک روش‌های علمی اطلاعات مربوط به سیستم‌های شیمیایی را استخراج کرده و تفسیر می‌کنند. هدف از یک آنالیز شیمیایی تعیین نوع ماده و اندازه‌گیری مقدار آن است. از اطلاعات به‌دست آمده برای گرفتن تصمیمات صنعتی، پزشکی و یا جنایی استفاده می‌شود. این مسئله نشان‌دهنده مسئولیت یک آنالیست است [۱]. روش‌های اندازه‌گیری مواد در شیمی تجزیه معمولاً ویژه[1] نیستند و در اکثر موارد حضور مواد دیگر در بافت نمونه آنالیز را تحت تأثیر قرار می‌دهد به‌همین علت معمولاً یک مرحله جداسازی لازم است. در مرحله جداسازی یا آنالیت جدا می‌شود یا مزاحم‌ها از بافت نمونه حذف می‌شوند. همچنین هدف دیگر جداسازی می‌تواند تعلیظ گونه مورد نظر باشد که در نهایت باعث افزایش حساسیت یک اندازه‌گیری می‌شود. روش‌های مختلفی برای پیش تغلیظ[2] و جداسازی مواد وجود دارد. برخی از مهمترین این روش‌ها رسوب‌گیری، تعویض یون، تقطیر، استخراج[3]، کروماتوگرافی گازی[4]، کروماتوگرافی مایع[5] و الکتروفورز[6] می‌باشند [۲،۳].

1- Specific
2- Preconcentration
3- Extraction
4- Gas chromatography
5- Liquid chromatography
6- Elctrophoresis

۱-۱- استخراج

استخراج یکی از رایج‌ترین روش‌های جداسازی است. روش‌های استخراج گوناگونی تا به امروز توسعه یافته-اند. انتخاب روش استخراجی بستگی به‌نوع بافت نمونه، ماهیت آنالیت، اطلاعات مورد نیاز، حساسیت مورد نیاز و بودجه دارد. یکی از روش‌های استخراجی مفید و پرکاربرد ریزاستخراج فاز جامد[1] است.

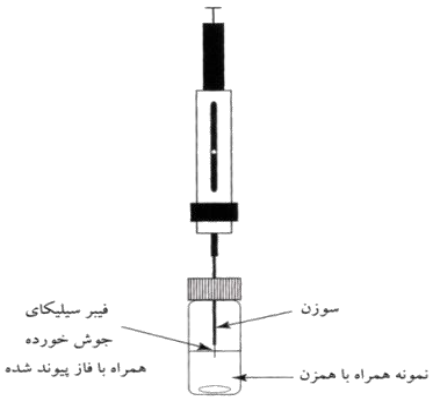
۱-۲- ریزاستخراج فاز جامد (SPME)

این روش اولین بار در سال ۱۹۹۰ توسط پاولشین[2] و همکارانش معرفی شد. در این روش آنالیت از محلول نمونه به‌درون یک فاز جاذب (فیبر SPME) استخراج می‌شود [۴]. آنالیت‌ها در فاز گازی یا محلول آبی به‌علت تمایل و همبستگی که با فاز جامد دارند در حال تعادل با فیبر قرار می‌گیرند. فیبر که به یک سرنگ مخصوص متصل شده به‌صورت دستی به دستگاه تزریق می‌شود. از آن‌جایی که فیبر ریزاستخراج فاز جامد توسط محفظه تزریق گرم می‌شود ترکیبات واجذب شده، به‌طور مستقیم و بدون حضور حلاّل وارد دستگاه می‌شوند [۲،۳].

ریزاستخراج فاز جامد مقادیر بسیار کمی از آنالیت را جدا می‌کند (۲ الی ۲۰ درصد) اما تمام آن را به دستگاه تزریق می‌کند.کارائی استخراج SPME به زمان استخراج، ضخامت فاز جامد و بزرگی ضریب تقسیم گونه بستگی دارد [۲،۵].

۱-۲-۱-نحوه انجام ریزاستخراج فاز جامد

در این تکنیک فاز ساکن جاذب معمولاً روی یک فیبر نازک شیشه‌ای یا فلزی نشانده شده است. این فیبر نازک درون سوزن یک سرنگ مخصوص قرار می‌گیرد. برای انجام این روش سرنگ در داخل ظرف نمونه قرار داده می‌شود. سپس با فشار دادن پیستون فیبر جاذب SPME در تماس با نمونه قرار می‌گیرد. استخراج به روش SPME براساس نحوه تماس فاز جاذب با محلول با دو روش کلی انجام می‌شود [۲].



شکل (۱-۱) : نمائی از ابزار ریزاستخراج فاز جامد [۵].

1- Solid- phase microextraction
2- Pawliszyn

۱-۲-۱- الف- ریزاستخراج فاز جامد مستقیم[1]

در این روش، فیبر در داخل محلول نمونه قرار گرفته و استخراج از داخل محلول انجام می‌شود. وقتی مواد مزاحم به‌مقدار زیاد در نمونه وجود دارد، مثل نمونه‌های کثیف (نمونه فاضلاب و بیولوژیکی) ممکن است آلودگی-های زیادی جذب فیبر شده و در بعضی مواقع این آلودگی‌ها در دمای بالا هم از بین نمی‌رود و در استخراج‌های بعدی هم ظاهر می‌شوند. حتی آلودگی زیاد می‌تواند جاذب را خراب کند. برای جلوگیری از آلودگی سطح فیبر می‌توان جاذب را در یک غشا متخلخل[2] قرار داده و بعد غشا را درون محلول فرو کرد [۲].

۱-۲-۱- ب- ریزاستخراج فاز جامد از فضای بالای نمونه[3]

این روش برای آنالیز نمونه‌های فرار مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این روش فیبر را در فضای فوقانی قرار داده و استخراج گونه‌های فرار از این ناحیه انجام می‌شود. چون غلظت آنالیت در فضای فوقانی نمونه کمتر از داخل آن است راندمان استخراج در این روش کمتر از استخراج مستقیم است [۲].

۱-۲-۲- اصول تئوری

زمانی که فیبر برای استخراج در فضای فوقانی قرار گیرد. روش سه فازی مطرح است که فاز اول پوشش فیبر، سپس فاز گازی (فضای فوقانی) و در پایان ماتریکس آنالیت سومین فاز می باشد، در طول فرایند استخراج، تعادل بین سه فاز بدون در نظر گرفتن خواص فیزیکی و شیمیایی آنالیت و ماتریکس برقرار می‌شود. جرم کل آنالیت در طول استخراج به‌صورت زیر است:

$$C_o V_s = C_c^{\infty} V_c + C_h^{\infty} V_h + C_s^{\infty} V_s \qquad (۱-۱)$$

C_0 غلظت کلی آنالیت در ماتریکس، C_s^{∞} و C_h^{∞} و C_c^{∞} به‌ترتیب غلظت نهایی یا تعادلی در نمونه، فضای فوقانی و پوشش فیبر است و V_c ، V_h و Vs به‌ترتیب حجم پوشش فیبر، فضای فوقانی و نمونه است.

ضریب توزیع فضای فوقانی/ پوشش می‌تواند به‌صورت زیر تعریف شود:

$$K_{ch} = C_c^{\infty} / C_h^{\infty} \qquad (۱-۲)$$

و ضریب توزیع نمونه/ فضای فوقانی:

$$K_{hs} = \frac{C_h^{\infty}}{C_s^{\infty}} \qquad (۱-۳)$$

1- Direct immersion SPME
2- Membran protected SPME
3- Headspace SPME

بنابراین انتقال جرم مشاهده شده در پوشش به‌دست می‌آید با:

$$n = C_c^{\infty} V_c \qquad (۴-۱)$$

با جاگذاری روابط خواهیم داشت:

$$n = \frac{K_{ch} K_{hs} C_0 V_c V_s}{K_{ch} K_{hs} V_c + K_{hs} V_h + V_s} \qquad (۵-۱)$$

همچنین:

$$K_{cs} = K_{ch} K_{hs} \qquad (۶-۱)$$

این رابطه زمانی صحیح است که نمونه در فضای فوقانی و سه فازی می‌باشد. اگر سیستم دو فازی باشد و به عبارتی جاذب به‌طور کامل در داخل نمونه قرار گیرد در این صورت می‌توان نوشت:

$$n = \frac{K_{cs} V_c C_o V_s}{K_{cs} V_c + V_s} \qquad (۷-۱)$$

در بعضی مواقع ثابت توزیع ماتریکس/ فیبر نسبتاً کم است و در نتیجه حجم نمونه از حجم پوشش خیلی بیشتر است. $V_c << V_s$ در این مورد ظرفیت ماتریکس نمونه بیشتر از ظرفیت پوشش فیبر بوده و معادله به‌صورت زیر است [۶،۷].

$$n = K_{cs} V_c C_o \qquad \Rightarrow \; V_s >> K_{cs} V_s \qquad (۸-۱)$$

۱-۲-۳- پارامترهای موثر بر راندمان استخراج

پارامترهای متعددی با هدف بهبود سرعت، حساسیت و انتخاب‌گری SPME مورد مطالعه قرار می‌گیرد که در زیر بحث می‌گردد.

۱-۲-۳- الف - جاذب

می‌توان با انتخاب جاذبی که از نظر شیمیایی مشابه آنالیت باشد انتخاب‌گری روش را افزایش داد. افزایش ضخامت مواد پوشش دهنده باعث می‌شود مقدار بیشتری از آنالیت استخراج شود اما نتیجه این پیشرفت طولانی شدن زمان استخراج است [۲].

۱-۲-۳- ب - افزایش نمک

افزایش نمک به نمونه محلول آبی نمونه باعث تولید یون‌های مثبت و منفی و سپس حلال‌پوشی این یون‌ها توسط مولکول‌های آب می‌شود. یون‌ها تعداد زیادی از مولکول‌های آب را درگیر خود می‌کنند و در نتیجه تعداد مولکول‌های اطراف ترکیبات آلی کاهش می‌یابد. این کاهش حلالیت باعث می‌شود مولکول‌های آلی آسان‌تر از داخل محلول به‌سمت جاذب و یا فضای فوقانی انتقال یابند. این پدیده باعث افزایش راندمان استخراج ترکیبات آلی می‌شود. البته در بعضی مواقع افزایش نمک باعث کاهش راندمان استخراج می‌شود [۱۰-۲۸].

۱-۲-۳-ج- دما

دما بر ترمودینامیک و سینتیک استخراج اثر می‌گذارد. در استخراج از فضای فوقانی، افزایش دما با افزایش فشار بخار گونه‌های فرار باعث افزایش غلظت آنالیت در فضای فوقانی و نتیجه باعث بالا رفتن راندمان استخراج می‌شود. همچنین دمای بالا باعث افزایش سرعت انتقال جرم و نفوذ گونه‌ها شده و سرعت استخراج افزایش می‌یابد. اما دمای بالا اثر دیگری هم دارد، فرایند جذب آنالیت روی فاز جاذب فرایندی گرماده است و افزایش بیشتر دما باعث کاهش راندمان استخراج می‌شود. در نتیجه آنچه در عمل و در حین فرآیند استخراج مشاهده می‌شود برآیند اثرات ذکر شده است [۱۰-۲۸].

۱-۲-۳- د- سرعت همزدن

همزدن محلول با افزایش انتقال جرم و سرعت نفوذ راندمان استخراج را بالا برده و زمان تعادل را کاهش می‌دهد. این اثر تا زمانی که حرکت همزن مغناطیسی منظم بوده و حباب هوا تشکیل نشده باشد ادامه دارد [۱۰-۲۸].

۱-۲-۳- هـ - pH

گونه‌های باردار توسط فاز جاذب استخراج نمی‌شوند. زیرا گونه‌های باردار حلالیت زیادی در آب دارند ولی درحلال‌های آلی حل نمی‌شوند. به‌همین دلیل برای استخراج گونه‌های اسیدی یا بازی از آب باید این گونه‌ها از فرم یونی خود که در محلول آبی حلالیت بالایی دارد خارج شده و به فرم بی‌بار خود درآیند. در نتیجه pH محلول باید طوری تنظیم شود که این ترکیبات به فرم خنثی تبدیل شوند. برای مثال، اگر ترکیبات اسیدی استخراج می‌شوند باید pH محلول آنقدر پایین آورده شود که از یونیزه شدن این ترکیبات در آب جلوگیری شود. برای گونه‌های بازی عکس مورد بالا عمل می‌شود [۲].

۱-۲-۳- و- زمان

فرایند جذب آنالیت روی جاذب در SPME یک فرایند تعادلی است. معمولاً زمان مناسب استخراج زمانی در نظر گرفته می‌شود که تعادل برقرار شده و ثابت توزیع آنالیت بین فیبر و نمونه با ثابت تعادل برابر شده باشد [۱۰-۲۸].

۱-۲-۴- مزایای روش SPME

از مزایای روش SPME می‌توان به‌وجود فازهای جاذب مختلف، حد تشخیص پایین و تکرارپذیری قابل قبول، قابلیت اتصال آسان به دستگاه‌های HPLC، GC، MS و IMS، اندازه‌گیری ترکیبات غیر فرار، نیمه فرار و فرار در فازهای متفاوت، قیمت مناسب و راحتی استفاده، عدم استفاده از حلال و حذف پیک مربوط به آن و زمان آنالیز کم اشاره کرد [۲].

۱-۲-۵- جاذب‌های پرکاربرد

- یکی از پوشش‌های پرکاربرد درSPME فاز پلی‌دی‌متیل‌سیلوکسان[1] بوده که به‌صورت تجاری با ضخامت بین ۷ تا ۱۰۰ میکرومتر موجود می‌باشد. این پوشش غیرقطبی برای استخراج آلکیل بنزن‌ها، ترکیبات هالوژن‌دار و کتون‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. پوشش‌های مخلوط نیز شامل پلی‌دی‌متیل‌سیلوکسان / دی‌وینیل‌بنزن[2]، پلی‌دی-متیل‌سیلوکسان / کربوکسن[3] وجود دارند که از آن‌ها برای استخراج ترکیبات بسیار قطبی مانند الکل‌ها و اترها استفاده می‌شود. اغلب پوشش PDMS در SPME به‌علت پایداری حرارتی و خنثی بودن شیمیایی مورد استفاده قرار می-گیرد. مزیت دیگر PDMS برهم‌کنش غیر اختصاصی با آنالیت‌ها و واجذب آن‌ها در دماهای پایین است. این امر برای ترکیبات ناپایدار حرارتی بسیار مناسب است [۲،۱۱].

-پوشش دیگر، پلیمر پلی‌اکریلات است که برای آنالیت‌های قطبی مثل فنل‌ها و فنل‌های کلردار مناسب می-باشد [۱۲].

- پلی‌پیرول و مشتقات آن به‌عنوان نوع جدیدی از پوشش‌های فیبر برای SPME به‌کار برده می‌شوند. مزیت اصلی آن‌ها توانایی سنتز راحت با روش‌های شیمیایی و الکتروشیمیایی از منومرهای آن‌ها است و همچنین دارای مقاومت مکانیکی بالا به‌علت قدرت چسبندگی بالا به سطح فیبر هستند [۱۳].

-سیلیکای متخلخل[4] فیبر جدید دیگری است که دارای خصوصیاتی از قبیل سطح ویژه بالا، مقاومت گرمایی بالا تا حدود ۹۰۰ درجه سانتی‌گراد و دارا بودن حفرات بزرگ برای به دام انداختن مولکول‌های بزرگ می‌باشند. این مواد در ابتدا به‌عنوان کاتالیست ناهمگن به‌کار گرفته شدند. ولی امروزه در تکنیک‌های مرتبط با جذب و غشاها کاربرد دارند. برای استفاده در SPME این پوشش را بر روی سطح بستر استیل ضد زنگ می‌نشانند، این فیبر برای استخراج هیدروکربن‌های آروماتیک به‌کار برده شده است [۱۴].

امروزه با استفاده از فیبرهای استیل به‌جای فیبرهای شیشه‌ای مشکلات شکننده بودن فیبرهای SPME حل شده است. همچنین فازهای جاذب متفاوت زیادی ساخته شده‌اند که پایداری دمایی بالایی دارند.

اخیراً فیبرهای جدیدی ساخته‌شده که توانایی روش SPME را افزایش داده‌اند. در زیر به برخی از این تحقیقات که از سال ۲۰۰۸ تاکنون انجام شده اشاره شده است.

1- Polydimethylsiloxane
2- Polydimethylsiloxane/divinylbenzene
3- Polydimethylsiloxane/carboxen
4- Mesoporous silica

- زنگ[1] و همکارانش در سال ۲۰۰۸ با استفاده از کامپوزیت کربن و سرامیک، فیبرهایی پایدار در برابر دما و حلال‌های مختلف ساختند. راندمان استخراج بالا در مقایسه با فیبرهای PDMS، PDMS/DVB، پلی‌اکریلات[2] و CAR/PDMS ویژگی منحصر به‌فرد این فیبرها است [۱۵].

- جیانگ[3] و همکارانش در سال ۲۰۰۹ با اضافه کردن نانو تیوپ کربن به محلول سل- ژل جاذبی ساختند که تا ۳۵۰ درجه پایداری دمایی دارد. این جاذب راندمان استخراج بالایی برای موادی مانند بنزن و تولوئن نسبت به جاذب PDMS دارد. تکرارپذیری بین فیبری کمتر از ۲/۵ درصد است [۱۶].

- مالکی و همکارانش در سال ۲۰۰۹ برای اندازه‌گیری الکل‌های الیفاتیک در نمونه آبجو پوشش‌های سل- ژل را روی تیتانیوم نشاندند. محدوده خطی ۵-۵۰۰ میکروگرم بر لیتر را برای متانول و ۱-بوتانول و ۵-۲۵۰ میکروگرم بر لیتر را برای اتانول،۲- پروپانول، ۲- بوتانول و ۱-پنتانول گزارش کردند [۱۷].

امروزه برای ساختن فیبرهای جاذب SPME از نانو ذرات استفاده می‌شود. نانو ذرات به‌دلیل اندازه بسیار کوچکشان سطح موثر وسیعی را برای استخراج فراهم می‌کنند و راندمان استخراج را به‌شدت افزایش می‌دهند. این جاذب‌ها برای آنالیز مقادیر ناچیز مناسبند [۱۸].

- یک تحقیق دیگر که شامل نشاندن نانو ذرات طلا روی فیبرهای استیلی است. توسط فنگ[4] و همکارانش در سال ۲۰۱۰ انجام شد. این فیبرها در مقابل اسید، باز و دمای بالا پایداری زیادی دارند. انحراف استاندارد کمتر از ۱۱/۳ درصد به‌دست آمد [۱۸].

- زو[5] و همکارانش در سال ۲۰۱۰ سه نوع جاذب با استفاده از کربن متخلخل روی سیم‌های استیلی ساخته‌اند. آن‌ها کربن متخلخل را یک بار به‌تنهایی به‌عنوان جاذب استفاده کردند، بار دیگر به محلول سل- ژل اضافه کردند و جاذب را ساختند و مرتبه آخر ابتدا کربن متخلخل را روی استیل نشاندند و سپس لایه نازکی از سل- ژل روی آن پوشش دادند. مواد مختلفی از جمله بنزن و تولوئن توسط این سه فیبرآنالیز شدند [۱۹].

- سرافراز یزدی و همکارانش در سال ۲۰۱۲ فوران را با جاذب پلی‌اتیلن‌گلیکول و پلی‌اتیلن‌گلیکول همراه با کربن نانوتیوب استخراج و با GC-FID آنالیز کردند. حد تشخیص برای جاذب PEG برابر۰/۰۰۱ میکروگرم بر لیتر و برای PEG/CNTs برابر ۰/۰۰۰۲۵ میکروگرم بر لیتر توسط آنان گزارش شد [۲۰].

۱- ۳- سل- ژل

فرایند سل- ژل یک روش شیمی‌تر است. این روش از یک محلول شیمیایی (سل) شروع شده و به یک شبکه به‌هم پیوسته (ژل) از ذرات گسسته یا پلیمرهای شبکه‌ای ختم می‌شود. روشی مفید برای سنتز پلیمرهای معدنی و مواد ترکیبی آلی معدنی است. هدف از این روش انجام فرایندهای شیمیایی در دمای پایین برای تولید اشیاء، فیلم‌ها،

1- Zeng
2- Polyacrylate
3- Jiang
4- Feng
5- Zhu

فیبرها، ذرات یا کامپوزیت‌هایی با شکل و سطح مناسب می‌باشد که می‌توانند بعد از یک مرحله فرایند تکمیلی به‌صورت تجاری مصرف شوند. همچنین برای رسوب‌دهی شیمیایی و ساختن جاذب SPME استفاده می‌شود [۲۱،۲۲].

۱-۳-۱- سل

سل عبارت است از سوسپانسیون پایداری از ذرات جامد کلوئیدی و یا پلیمری که در یک مایع قرار دارند. این ذرات می‌توانند آمورف و یا کریستالی باشند.

کلوئیدها با محلول‌ها متفاوتند. هر سیستم کلوئیدی حداقل دارای دو بخش فاز پراکنده و محیط پراکندگی است. اما محلول‌های حقیقی فقط یک فاز دارند و ماده حل شده و حلال با هم یک فاز را تشکیل می‌دهند. تفاوت بعدی اندازه ذرات در سل یعنی کلوئیدها و اندازه ذره در محلول یعنی اتم‌ها و یون‌ها است. در سل اندازه ذرات کلوئیدی معمولا بین ۵۰ تا ۲۰۰۰ آنگستروم است. اما در محلول اندازه اتم‌ها و یون‌ها در حد آنگستروم است [۲۱].

۱-۳-۲- ژل

عبارت است از یک شبکه پیوسته سه بعدی متخلخل که یک فاز مایع را در خود جای داده است. در اکثر سیستم‌های سل- ژل، تشکیل ژل همراه با ایجاد پیوندهای کووالانسی بوده و برگشت‌پذیر نیست. یعنی قابلیت برگشت به حالت سل را ندارد [۲۱].

۱-۳-۳- مواد و واکنش‌های شیمیایی اساسی در فرآیند سل- ژل

اجزا اصلی در این فرایند عبارتند از مواد اولیه که معمولا آلکوکسیدهای فلزی‌اند، حلال برای پراکنده‌سازی مواد اولیه، کاتالیزورکه می‌تواند اسید یا باز باشد.آلکوکسی‌سیلان‌های مورد استفاده اغلب شامل تراآلکوکسی‌سیلان-هایی مانند تراتوکسی‌سیلان، ترامتوکسی‌سیلان و متیل‌تری‌متوکسی‌سیلان هستند. آلکوکسی‌سیلان‌ها به آسانی با آب واکنش می‌دهند و از آنجا که آب و آلکوکسی‌سیلان‌ها غیر قابل امتزاج‌اند از حلال الکلی به‌عنوان همگن کننده استفاده می‌شود. فرایند سل- ژل در درجه حرارت پایین (معمولا محیط) انجام شده و شامل هیدرولیز یک ترکیب آلی معمولا یک آلکوکسید فلزی و به‌دنبال آن تراکم الکلی و یا آبی ماده حاصله است.

در طی واکنش هیدرولیز گروه هیدروکسیل جایگزین گروه‌های آلکوکسیدی می‌شود و در نهایت ماده حاصله به‌طور جزئی هیدرولیزمی‌شود. هم اسید و هم باز می‌توانند به‌عنوان کاتالیزور عمل کنند.

$$\equiv Si-OR + H_2O \underset{\text{reesterification}}{\overset{\text{hydrolysis}}{\rightleftharpoons}} \equiv Si-OH + ROH \qquad (۹-۱)$$

اگر کاتالیزور اسیدی استفاده شود، به‌عنوان مثال تری‌فلورواستیک اسید، هیدرولیز یا الکولیز ماده اولیه تسریع می‌گردد. در شرایط اسیدی، مرحله هیدرولیز(تبدیل ماده اولیه به تری‌آلکوکسی‌سیلان) به‌سرعت انجام می‌پذیرد.