

## شناسایی سموم آلی کلردار در نمونه‌های آب رودخانه به روش میکرواستخراج مایع- مایع پخشی در ستون باریک همراه با کروماتوگرافی گازی یونش شعله

شهاب یوسف زاده<sup>۱</sup>، ابراهیم اصغری کلجاهی<sup>۲\*</sup>، نصیر عامل<sup>۳</sup>، حسین صابری<sup>۴</sup> و تیرزاد کلبابازاده<sup>۵</sup>

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زمین شناسی- ژئوشیمی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
- ۲- استادیار زمین شناسی- مهندسی، گروه علوم زمین، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
- ۳- استادیار زمین شناسی- پترولوژی، گروه علوم زمین، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
- ۴- دکترای شیمی تجزیه، پژوهشکده آبی پرووری، شیلات بندرانزلی، گیلان، ایران
- ۵- استادیار زمین شناسی- رسوب شناسی، واحد تالش، دانشگاه پیام نور، گیلان، ایران

دریافت: آبان ۱۳۹۴، بازنگری: آذر ۱۳۹۴، پذیرش: آذر ۱۳۹۴

**چکیده:** در این مقاله از روش ساده و کارآمد میکرواستخراج مایع- مایع پخشی برای استخراج و پیش تغلیظ همزمان سموم آلی کلردار (OCPS) در نمونه آب رودخانه با دستگاه کروماتوگرافی یونش شعله استفاده شده است. اثر عامل‌های مؤثر بر میکرواستخراج مانند نوع و حجم حلال‌های پخشی و استخراجی و حجم نمونه آب موردبررسی قرار گرفته و بهینه شده است. مخلوطی از استون به‌عنوان حلال پخشی و هگزان نرمال و تولوئن (۱:۱) به‌عنوان حلال استخراجی، به محلول آب داخل لوله تزریق و با تشکیل محلول ابری، سموم به فاز آلی انتقال یافته و به بالای ستون رسیدند. درنهایت پس از استخراج و پاک‌سازی ۱ میکرو لیتر از نمونه به‌دست آمده به دستگاه کروماتوگرافی گازی با شناساگر یونش شعله تزریق شده و با استفاده از منحنی درجه‌بندی محلول‌های استاندارد، تعیین مقدار شدند. بازیابی نسبی در گستره ۸۹/۸ تا ۹۸/۶ درصد محاسبه شده است. حد تشخیص و حد تعیین مقدار روش به ترتیب در گستره ۰/۸ تا ۱/۵ و ۳ تا ۴/۱ میکروگرم بر لیتر به دست آمد. نتایج نشان داد که روش میکرو استخراج مایع- مایع پخشی همراه با GC-FID روشی با عملکرد ساده، سرعت زیاد، و درصد بازیابی بالاست.

**واژه‌های کلیدی:** میکرواستخراج مایع- مایع پخشی، سموم آلی کلردار (OCPS)، کروماتوگرافی گازی یونش شعله

### مقدمه

و شیمیایی مخصوص این ترکیب‌ها آن‌ها را در برابر تخریب زیستی بسیار مقاوم کرده و به همین دلیل آن‌ها بسیار پایدار هستند. با توجه به این طیف گسترده از توزیع و تجزیه زیستی دشوار، این ترکیب‌ها یک تهدید جدی برای بهداشت عمومی است [۱]. OCPS ممکن است به‌عنوان شبه هورمون رفتار کنند و سبب بر هم خوردن سامانه غدد درون‌ریز در حیات‌وحش، انسان و موجودات آبی شوند. آسیب عصبی،

آفت‌کش‌ها با توجه به ساختار شیمیایی آن‌ها به انواع آلی کلردار، آلی فسفردار، کاربامات‌ها، علف‌کش‌ها، تریازین و غیره گروه‌بندی می‌شوند. سموم آلی کلره (OCPS)<sup>۱</sup> به‌طور گسترده در دو دهه گذشته برای مبارزه با آفات در کشاورزی، صنعت و حتی برای مقابله با بیماری‌هایی مانند مالاریا استفاده شده است. ویژگی‌های فیزیکی

1. Organochlorine pesticides

نسبت حجم نمونه به حلال استخراجی منجر به افزایش تغلیظ آنالیت موردنظر می‌شود. LPME روشی سریع، آسان و ارزان است و نیاز به مقدار بسیار اندکی حلال آلی دارد. از LPME بر اساس فاز جامد در ستون، میکرواستخراج فضای فوقانی، میکرواستخراج با قطره شناور مستقیم و LPME با جامد سازی قطره شناور برای استخراج و پیش تغلیظ ترکیب‌های آلی به کار گرفته شده است. با این وجود، این روش‌ها، دارای مشکلاتی مانند زمان استخراج طولانی، ناپایداری میکروقطره و در بعضی موارد دقت پایین هستند [۹]. افزون بر این روش‌ها، روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی (DLLME) [۵] بر پایه گسترش سطح تماس بین دو فاز مایع پیشنهاد شده که یک روش استخراج سریع و آسان است. با اعمال این راه‌کار ساده مرحله سانتریفیوژ که یک مرحله وقت‌گیر در استخراج است، حذف می‌شود همچنین امکان استفاده از حلال‌های با چگالی کمتر از آب به‌عنوان حلال استخراج‌کننده فراهم می‌شود [۱۰].

برای اندازه‌گیری ترکیب‌های کلردار در محیط‌های آبی به‌طور معمول از روش‌های کارتریج‌های فاز جامد، سوکسیله و روش میکرواستخراج مایع مایع پراکنده استفاده شده که در این روش‌ها حلال‌های کلردار و سنگین‌تر از آب به کار گرفته شده‌اند [۱۱ تا ۱۳]. در پژوهش‌های انجام شده تاکنون، از حلال‌های سبک‌تر از آب استفاده نشده است. در یک پژوهش از کارتریج فاز جامد برای بررسی مقدار سموم آلی کلردار در آب رودخانه‌ها استفاده شده است [۱۱]. در پژوهشی دیگر روش سوکسیله برای استخراج این سموم از آب رودخانه مورد بررسی قرار گرفته [۱۲] و در پژوهش‌هایی دیگر از روش میکرواستخراج مایع پراکنده برای استخراج ترکیب‌های کلردار از نمونه‌های آب [۲] و غسل [۱۳] استفاده شده است.

به‌کارگیری روش DLLME همراه با GC در تعیین هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs)، آفت‌کش آلی فسفردار (OPPs)، کلروبنزن، کلروفلت‌ها، تری‌هالومتان (هالومتان‌ها)، فنول فرار، علف‌کش تریازین، فتالات استر، داروهای ضدافسردگی، بی‌فنیل‌ها (PCBs) آفت‌کش آلی گوگردار، علف‌کش آمید، کاپتان و کاپتافول موفق بوده است [۲، ۱۴ و ۱۵].

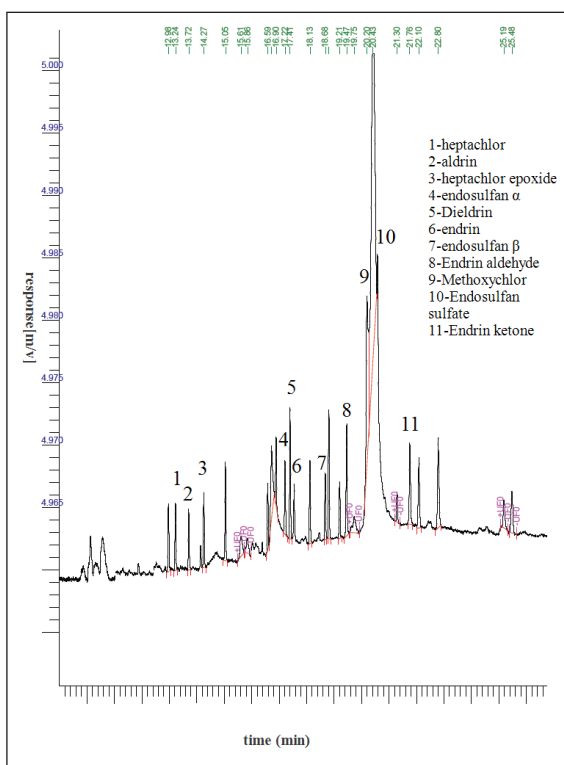
بیماری پارکینسون، نقایص هنگام تولد، بیماری تنفسی، سرطان سینه، رشد جنسی زودرس، تغییرات رفتاری، اختلال در سامانه ایمنی بدن و کاهش تعداد اسپرم به برهم‌خوردگی غدد درون‌ریز مرتبط شده‌اند. این ترکیبات در درجه اول از طریق فراورده‌های کشاورزی، بارش، انتقال جوی، فاضلاب، نفوذ و فرسایش خاک، هم‌چنین در اثر پراکندگی پس از افشاندن آفت‌کش‌ها، نشت تصادفی و کاربرد مستقیم آن‌ها در زمین‌هایی که نزدیک سامانه‌های آبی واقع شده و یا زمانی که در رودخانه‌ها و حوضچه‌ها برای کشتن ماهی‌ها به مصرف می‌رسند، وارد محیط‌زیست آبی می‌شوند؛ بنابراین، نظارت و ردیابی بر سطح اثر OCPS در مواد غذایی و آب هنوز هم برای حفاظت از سلامت و کنترل محیط‌زیست لازم است [۲].

از آن‌جایی که مقدار این سموم در بافت نمونه‌ها ممکن است در حد تشخیص دستگاه نباشد، آماده‌سازی، شامل استخراج و تغلیظ پیش از تزریق آن به دستگاه، نقش مهمی در تعیین و اندازه‌گیری این ترکیبات دارد [۳]. به دلیل پایداری، تجمع آسان و سمیت بالا این ترکیبات، برای تشخیص و ردیابی غلظت OCPS در محیط، توسط پژوهشگران روش‌های متفاوتی توسعه یافته‌اند. در بسیاری از این روش‌ها، نمونه‌ها نیاز به آماده‌سازی دارند. برای مثال، استخراج مایع-مایع (LLE) [۴]، استخراج فاز جامد (SPE) [۲] و میکرواستخراج فاز جامد (SPME) [۲] که هر کدام معیایی دارند از جمله این روش‌ها هستند [۵]. روش LLE وقت‌گیر و خسته‌کننده است و نیاز به مقدارهای زیادی از حلال‌های آلی گران‌قیمت و به‌طور عمده سمی دارد. در روش SPE نسبت به LLE مقدار بسیار کمتری حلال استفاده می‌شود، اما نیاز به آماده‌سازی ستون داشته و یک روش به نسبت گران‌قیمت هستند. راهکار دیگر استفاده از روش میکرواستخراج فاز جامد SPME است که برای تعیین ترکیب‌های آلی به کار گرفته شده است. [۶] با این وجود SPME مشکلاتی از جمله هزینه بالا، شکنندگی و کاهش کارایی فاز جامد آن با گذشت زمان دارد [۷]. در سال‌های اخیر میکرواستخراج فاز مایع (LPME) [۲] به‌عنوان جانشینی کارآمد برای روش‌های سنتی معرفی شده است [۸].

LPME یک روش استخراج تک‌مرحله‌ای است که بالا بودن

- |  |   |  |
|--|---|--|
| 1. Liquid-liquid extraction (LLE)      | 2. Solid phase extraction (SPE)                     | 3. Solid phase micro extraction (SPME) |
| 4. Liquid phase microextraction (LPME) | 5. Dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) |  |

سانتی گراد تنظیم شد و با برنامه دمایی به صورت دمایی ابتدایی ۱۲۰ درجه سانتی گراد (به مدت ۱ دقیقه نگه داشته شد) و با شیب افزایش دمایی به مقدار ۸/۵ درجه در دقیقه به دمای ۳۰۰ درجه سانتی گراد رسید و به مدت ۳ دقیقه ثابت نگه داشته شد [۱۶]. شناسایی سموم از طریق زمان بازداری و غلظت ترکیب‌های آلی موجود در نمونه‌ها از طریق رسم منحنی درجه‌بندی بر اساس سطح زیر پیک (شکل ۱) به عنوان پاسخ تجزیه‌ای برای محاسبه غلظت استفاده شده است. هلیوم خالص ۹۹٫۹۹۹۹ درصد، به عنوان گاز حامل با سرعت خطی ثابت ۳۵ سانتی متر در ثانیه استفاده شده و زمان کل برای یک اجرا ۳۵ دقیقه بوده است.



شکل ۱ کروماتوگرام استاندارد سموم OPCS در غلظت ۱ µg/ml

### چگونگی انجام فرایند میکرواستخراج

سامانه میکرواستخراج بسیار ساده بوده و تنها نیازمند به یک ستون شیشه‌ای بلند و باریک از جنس پیرکس با ابعاد ۵ میلی‌متر در ۱۳۰

در این پژوهش بهینه‌سازی حالت ویژه‌ای از روش DLLME برای استخراج ۱۱ سم آلی کلردار از نمونه‌های آب که به‌سختی استخراج می‌شوند، ارایه شده است. شناسایی سموم با دستگاه کروماتوگرافی گازی یونش شعله (GC-FID) انجام شده است. عامل‌های استخراج DLLME (حجم و نوع حلال استخراجی و پخشی و حجم نمونه آب) بهینه‌سازی و سپس برای شناسایی سموم آلی کلردار در نمونه‌های آب آلاینش یافته، یون‌زدایی شده و نمونه‌های آب رودخانه به کار گرفته شده است.

### بخش تجربی

#### مواد و روش‌ها

همه مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش شامل تولوئن، هگزان نرمال، استون از درجه خلوص تجزیه‌ای برخوردار بوده و از شرکت مرک آلمان تهیه شده و بدون آماده‌سازی قبلی مورد استفاده قرار گرفتند. محلول استاندارد مادر شامل مخلوط ۱۱ سم آلی کلردار heptachlor, aldrin, heptachlor epoxide, endosulfanβ, dieldrin, endrin, endosulfan α, ketone, endrin endosulfan sulfate, methoxychlor, endrin aldehyde با غلظت ۲۰۰ µg/ml از شرکت سیگما آلدریج خریداری شدند. محلول‌های استاندارد در غلظت‌های ۰٫۶، ۰٫۸، ۱، ۱٫۲ و ۱٫۴ به صورت تازه تهیه و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. پشم شیشه و سدیم سولفات بدون آب و پودر سیلیکاژل با مش ۱۰۰ از شرکت مرک آلمان تهیه شده است.

برای بررسی کارایی روش موردنظر، نمونه‌های آب از رودخانه سوسرروگا بندرانزلی (گیلان) جمع‌آوری و در ظروف شیشه‌ای در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

شناسایی و اندازه‌گیری بقایای سموم آلی کلره در نمونه‌ها به‌وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی Alignment آمریکا مجهز به ستون کاپیلاری DB-35 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰٫۲۵ mm و ضخامت ۰٫۲۵ µm و مجهز به آشکارساز یونش شعله (GC-FID) انجام شد. دماهای محل تزریق و شناساگر به ترتیب ۲۰۰ و ۳۰۰ درجه

1. Gas chromatography Flame ionization detection (GC FID)

2. Solid phase extraction (SPE)

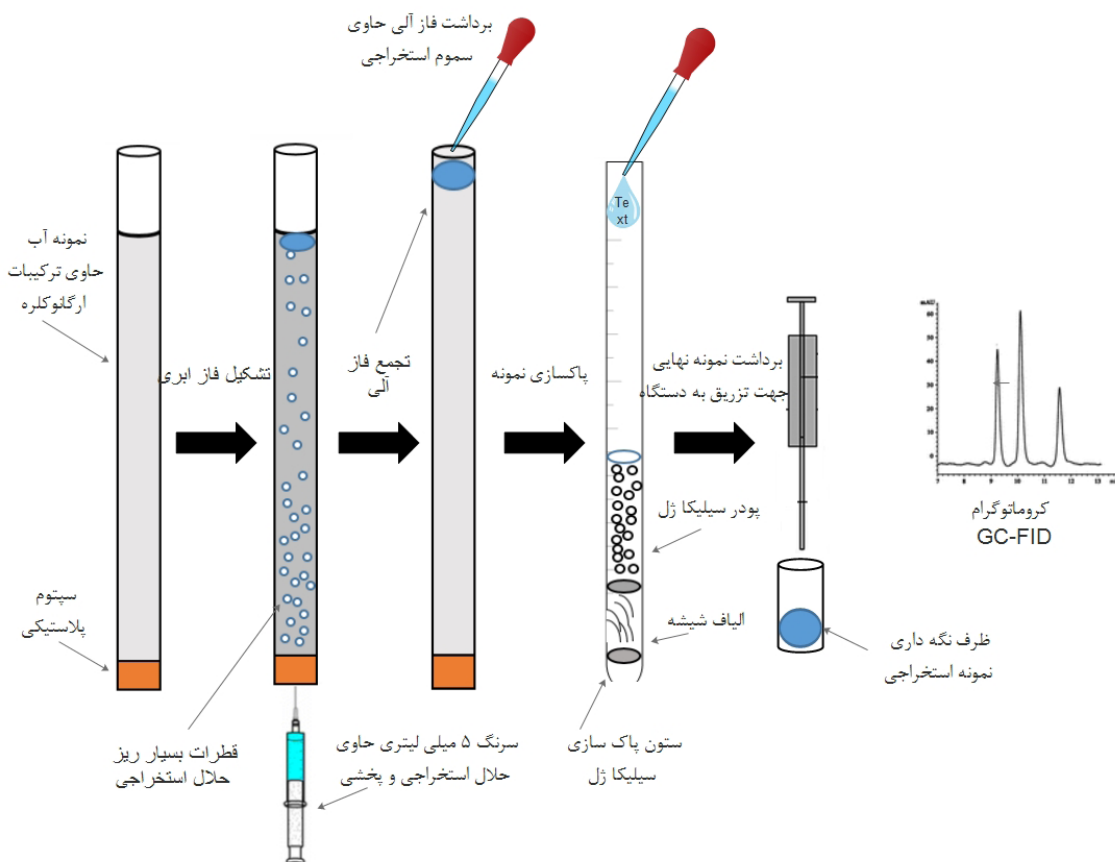
3. Soli extrE)

لوله حرکت نموده و در طول حرکت قطرات ریز حلال ترکیب‌های آلی کلردار به درون آن استخراج شدند. در عرض کمتر از دو دقیقه به تقریب تمامی قطرات به بالای لوله رسیده و به صورت یک فاز آلی در سطح محلول آبی ظاهر شدند. سرانجام فاز آلی تجمع یافته که حاوی ترکیب‌های کلردار بوده با سرنگ شیشه‌ای جدا شده و برای جذب آب از سدیم سولفات بدون آب و برای پاک‌سازی، از ستون حاوی ۱ گرم سیلیکاژل آماده‌شده عبور داده شده و در نهایت مقدار ۱ میکرولیتر با سرنگ برداشته و به دستگاه GC-FID تزریق شد. خلاصه مراحل میکرواستخراج در شکل ۲ نشان داده شده است.

### نتیجه‌ها و بحث

به منظور به دست آوردن بیشترین بازده استخراج، عامل‌های تجربی

سانتی‌متر به‌عنوان واحد استخراج‌کننده و یک سرنگ شیشه‌ای ۵ میلی‌لیتری برای تزریق مخلوط استخراج‌کننده/پخشی بوده است؛ که انتهای این لوله با یک سپتوم پلاستیکی مسدود شده است (شکل ۲). در ابتدا حجم مشخصی از آب یون‌زدایی شده (۱۹ میلی‌لیتر) در درون لوله ریخته شده، سپس مخلوط حلال استخراجی و پخشی که حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر استون (حلال پخشی) و ۰/۵ میلی‌لیتر هگزان نرمال/تولون ۱:۱ (حلال استخراجی) است، با سرنگ شیشه‌ای از طریق سپتوم پلاستیکی تعبیه‌شده در قسمت پایینی لوله، در مدت زمان ۳۰ ثانیه به داخل محلول آبی تزریق شد. بلافاصله پس از تزریق محلولی ابری شامل قطرات بسیار ریز حلال استخراجی در قسمت پایینی لوله باریک شکل گرفته و استون به سرعت در آب حل شده و قطرات بسیار ریز حلال استخراج‌کننده به دلیل چگالی کمتر از آب، به سمت بالای

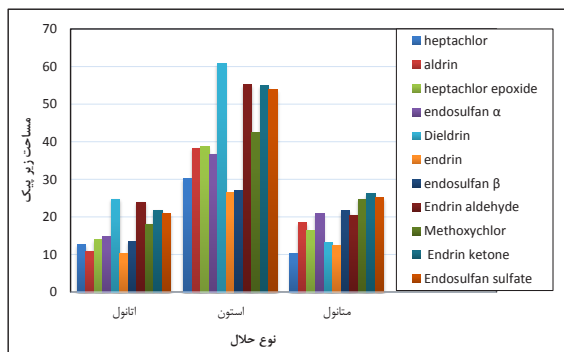


شکل ۲ مراحل فرایند میکرو استخراج مایع مایع پراکنده در لوله بلندقابل شارژ

بهتر، انتخاب و با هم مقایسه شدند. بدین منظور ۰/۵ میلی لیتر از هر حلال به صورت جداگانه به همراه ۲/۵ میلی لیتر استون (حلال پخشی) برای استخراج ۱۹ میلی لیتر از نمونه آب آلوده شده به کار گرفته شد. بر اساس نتیجه‌های آزمایش، بازده استخراج ترکیب‌های آلی کلردار با ترکیب حلال هگزان نرمال و تولوئن به نسبت ۱:۱ بالاتر از بقیه بود. علت این موضوع را می‌توان ضریب توزیع بالاتر ترکیب‌های موردنظر در این حلال دانست، افزون بر این، حلالیت هگزان نرمال در آب نسبت به سایر حلال‌ها کمتر است. بنابراین، در ادامه پژوهش، این ترکیب به عنوان حلال استخراجی استفاده شده است.

#### انتخاب حلال پخشی

در فرایند DLLME حلال پخشی باید هم در حلال استخراجی فاز آلی و هم در محلول نمونه فاز آبی قابل امتزاج باشد. لازم است که حلال استخراجی به صورت قطرات بسیار ریز در حلال آبی پراکنده شود تا سطح تماس زیادی بین دو فاز به وجود آید و به این ترتیب امکان مهاجرت سریع آنالیت‌ها از محیط آبی به فاز آلی فراهم شود که این شرایط با استفاده از حلال پخشی مناسب تحقق می‌یابد [۱۸، ۱۹، ۲۰]. بنابراین حلال‌های متداول استون، متانول و اتانول مورد آزمون قرار گرفتند. اثر این حلال‌ها بر روی بازده استخراج DLLME با استفاده از ۲/۵ میلی لیتر از هر حلال به همراه ۰/۵ میلی لیتر تولوئن/هگزان نرمال ۱:۱ مورد بررسی قرار گرفت، با توجه به نتایج بیشترین بازده استخراج با استفاده از استون به عنوان حلال پخشی به دست آمد (شکل ۳)؛ بنابراین، استون برای آزمایش‌های بعدی انتخاب شد.



شکل ۳ اثر نوع حلال پخشی بر بازده استخراج ترکیب‌های OPCS به دست آمده از کروماتوگرافی

مهمی که می‌تواند قابلیت استخراج مؤثر را داشته باشد مانند نوع و حجم حلال استخراجی و پخشی، حجم نمونه آب و غیره، به طور دقیق مورد بررسی قرار گرفتند. برای ساده سازی مراحل بهینه‌سازی، از روش تک متغیری که در آن تمام متغیرها به جز متغیر مورد بررسی ثابت بوده است، استفاده شده است. برای این منظور، یک سری آزمایش‌ها طراحی شده و غلظت ترکیب‌های آلی کلردار برای بررسی کارایی استخراج و تعیین بهترین شرایط مورد استفاده قرار گرفته است. تمام بهینه‌سازی‌ها بر روی نمونه آبی حاوی ۰/۸ میکروگرم بر میلی لیتر سموم آلی کلردار انجام گرفته و هر آزمایش حداقل ۳ بار تکرار شده است.

#### بهینه‌سازی شرایط استخراج

به منظور بهینه‌سازی متغیرهای متفاوت، نمونه‌های آب یون زدایی شده با مخلوط ترکیب‌ها آفت کش در غلظت‌های متفاوت آرایش شد. نخستین گام در روش بهینه‌سازی انتخاب حلال استخراج مناسب است. حلال‌ها بر اساس چگالی کمتر نسبت به آب، قابلیت استخراج ترکیبات هدف و رفتار کروماتوگرافی مناسب انتخاب شدند. دی اتیل اتر، هگزان نرمال و تولوئن به عنوان فاز پذیرنده با قابلیت مناسب مورد آزمون قرار گرفتند.

#### انتخاب حلال استخراجی

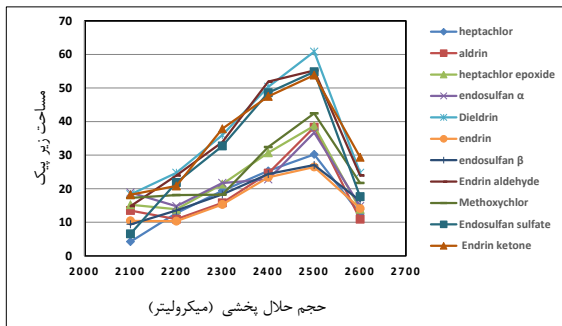
انتخاب حلال استخراجی مناسب اهمیت زیادی در فرایند DLLME دارد. حلال استخراجی مناسب برای این روش باید دارای حلالیت پایین در آب، چگالی کمتر از آب و توانایی استخراج بالای آنالیت‌های موردنظر باشد [۱۷]. افزون بر این ویژگی‌ها، میزان سمیت پایین و رفتار کروماتوگرافی مناسب (پیک حلال با پیک آنالیت هم پوشانی نکند، حلال به راحتی از ستون کروماتوگرافی خارج شده و بهترین جداسازی اجزا فراهم شود) از دیگر ویژگی‌های مطلوب برای حلال استخراجی هستند [۵ و ۱۰].

در این پژوهش، برای انتخاب حلال استخراجی مناسب، در شرایط یکسان، حلال‌های متفاوتی مورد بررسی قرار گرفتند که از بین آن‌ها ۲ حلال هگزان نرمال و تولوئن به دلیل تکرارپذیری، کارایی استخراجی

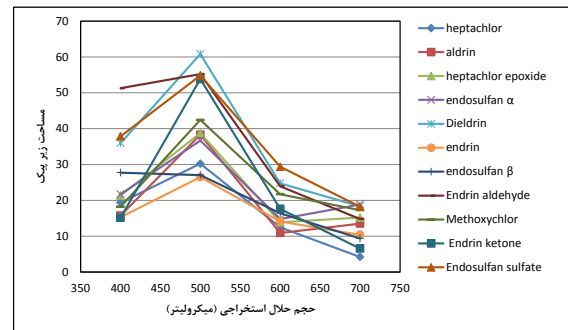
### اثر حجم حلال استخراجی

حجم حلال استخراجی استفاده شده می‌تواند بر حجم فاز آلی جمع‌آوری شده در بالای محلول آبی، تکرارپذیری نتیجه‌ها و بازده استخراج مؤثر باشد، لذا حجم حلال استخراجی در گستره ۴۰۰ تا ۷۰۰ میکرولیتر از هگزان نرمال و تولوئن مورد مطالعه قرار گرفت. همان طوری که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، با افزایش حجم حلال استخراجی از ۴۰۰ تا ۵۰۰ میکرولیتر، سطح زیر پیک که معیاری از غلظت است، افزایش یافته و در حجم‌های بالاتر از ۵۰۰ میکرولیتر سطح زیر پیک‌ها در کروماتوگرام با کاهش مواجه شده است. از این رو تصمیم گرفته شد تا در تمام آزمایش‌های بعدی حجم ۵۰۰ میکرولیتر هگزان نرمال و تولوئن به‌عنوان حجم بهینه حلال استخراجی مورد استفاده قرار گیرد.

به خوبی اجرا نمی‌شد. همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود با افزایش حجم حلال پخشی از ۲۰۰۰ تا ۲۵۰۰ میکرولیتر علامت تجزیه‌ای افزایش یافت و پس از آن کاهش علائم مشاهده می‌شود. دلیل این موضوع آن است که با افزایش حجم حلال پخشی، عمل پخش حلال استخراجی در محیط آبی نمونه بهتر انجام شده و منجر به افزایش بازده استخراج و در نتیجه افزایش علامت تجزیه‌ای می‌شود. از طرف دیگر وقتی حجم حلال پخشی از یک حد بالاتر می‌رود، مقداری از حلال استخراجی در آب محلول می‌شود و در نتیجه بازده استخراج کاهش می‌یابد. بنابراین، در ادامه پژوهش، ۲۵۰۰ میکرولیتر استون به‌عنوان حجم بهینه حلال پخشی مورد استفاده قرار گرفته است.



شکل ۵ اثر حجم حلال پخشی بر بازده استخراج ترکیبات OCPS به‌دست آمده از کروماتوگرافی



شکل ۴ اثر حجم حلال استخراجی بر بازده استخراج ترکیب‌های OCPS به‌دست آمده از کروماتوگرافی

### بهینه‌سازی حجم نمونه

اثر افزایش حجم نمونه بر کارایی استخراج، با افزایش طول ستون در گستره ۷۰ تا ۱۳۰ سانتیمتر، ضمن ثابت نگه داشتن قطر داخلی لوله ۵ میلی‌متر مورد ارزیابی قرار گرفت. نتیجه‌ها نشان دادند که با افزایش طول ستون حاوی نمونه، حساسیت اندازه‌گیری به‌طور پیوسته افزایش یافته و در نتیجه کارایی استخراج زیادت‌ر می‌شد. لازم به ذکر است که ستون‌هایی با طول بزرگ‌تر از ۱۳۰ سانتی‌متر، به دلیل مشکلات جابه‌جایی بررسی نشد. بنابراین، در ادامه پژوهش، ستون با طول ۱۳۰ سانتی‌متر و قطر داخلی ۵ میلی‌متر که گنجایش ۱۹ میلی‌لیتر از حجم نمونه آب را داشت،

### اثر حجم حلال پخشی

حجم حلال پخشی یکی از عامل‌های مهم است که باید در DLLME در نظر گرفته شود. تغییر حجم حلال پخشی می‌تواند منجر به تغییراتی از جمله تغییر در حجم فاز آلی جمع‌آوری شده، اندازه قطرات و قطبیت فاز آبی شود. تمامی این عامل‌ها بر بازده میکرواستخراج مؤثرند، از این رو بررسی و بهینه‌سازی اثر حجم حلال پخشی ضروری است. [۵] برای این منظور، حجم‌های متفاوتی از استون ۱۸۰۰ تا ۲۸۰۰ میکرولیتر، حاوی ۵۰۰ میکرو لیتر هگزان نرمال و تولوئن (حلال استخراجی) مورد آزمایش قرار گرفتند. در حجم‌های کمتر از ۲۰۰۰ میکرو لیتر، فرایند DLLME

مورد استفاده قرار گرفته است.

بازیابی نسبی، تکرارپذیری و گستره دینامیکی مورد مطالعه قرار گرفتند (جدول ۱). در رسم منحنی درجه بندی برای روش فوق، محلول‌های استاندارد در گستره غلظتی ۰.۶ تا ۱.۴ میکروگرم بر میلی لیتر ساخته شد، سپس در شرایط بهینه شده میکرواستخراج، عمل استخراج بر روی این محلول‌ها صورت گرفت و در نهایت توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به شناساگر یونش شعله اندازه گیری شده است. در جدول ۲ کارایی روش استخراج پیشنهادی با سایر روش‌ها مقایسه شده است. گستره خطی منحنی درجه بندی برای ترکیب‌های آلی کلردار در گستره ۰.۶ تا ۱.۴ میکروگرم بر میلی لیتر با ضریب همبستگی ۰.۹۶۱ تا ۰.۹۹۴ دیده شد.

#### اثر pH

با توجه به پژوهش‌های مشابه انجام شده بر روی تأثیر pH بر کارایی روش استخراج میکرواستخراج مایع پراکنده [۱۸، ۲۱ و ۲۲] که نشان داده اند pH معادل ۷ بهترین کارایی را در فرایند استخراج داشته و با توجه به ژئوشیمی ترکیب‌های کلردار [۲۳] که بیانگر این واقعیت است، کاهش و افزایش pH محیط تأثیر به سزایی در تجزیه و تخریب سموم کلردار داشته و در نهایت با در نظر گرفتن این نکته که آب‌های منطقه نمونه برداری و تجزیه شده از نظر pH خنثی بودند. بنابراین، در ادامه این کار پژوهشی تنظیم pH محلول لازم نبود.

#### اندازه گیری نمونه‌های حقیقی

برای بررسی کارایی روش DLLME ارایه شده، از این روش بهینه سازی شده برای استخراج ترکیب‌های OCPS از نمونه‌های آب رودخانه سوسرروگا بندرانزلی (گیلان) و تجزیه با GC-FID استفاده شده است. شناسایی سموم و ترکیبات آلی موجود در

#### عوامل‌های تجزیه‌ای روش میکرواستخراج پیشنهادی

برای بررسی میزان اعتبار روش میکرواستخراج پیشنهادی، عوامل‌های تجزیه‌ای مانند حد تشخیص و حد تعیین مقدار، مقدار

جدول ۱ ارقام شایستگی روش DLLME در لوله بلند برای استخراج سموم آلی کلردار در نمونه‌های آب رودخانه

آنالیت	انحراف استاندارد نسبی (درصد)	گستره خطی منحنی درجه بندی (میکروگرم بر میلی لیتر)	ضریب همبستگی در گستره خطی منحنی درجه بندی	فاکتور تغلیظ	حد تعیین مقدار (میکروگرم بر لیتر) LOQ <sup>۱</sup>	حد تشخیص (میکروگرم در لیتر) LOD <sup>۲</sup>
Heptachlor	۵.۳	۰.۶-۱.۴	۰.۹۹۳	۱۸۵	۳.۳	۰.۹
Aldrin	۴.۶	۰.۶-۱.۴	۰.۹۶۱	۱۸۵	۳.۷	۱.۴
Heptachlor epoxide	۵.۰	۰.۶-۱.۴	۰.۹۷۸	۱۸۵	۳.۲	۱.۱
Endosulfan α	۴.۴	۰.۶-۱.۴	۰.۹۷۵	۱۸۵	۳.۳	۱.۰
Dieldrin	۴.۶	۰.۶-۱.۴	۰.۹۸۱	۱۸۵	۳.۸	۱.۲
Endrin	۴.۵	۰.۶-۱.۴	۰.۹۶۶	۱۸۵	۴.۱	۱.۵
Endosulfan β	۴.۸	۰.۶-۱.۴	۰.۹۸۹	۱۸۵	۳.۵	۱.۲
Endrin aldehyde	۵.۳	۰.۶-۱.۴	۰.۹۷۷	۱۸۵	۳.۶	۱.۲
Methoxychlor	۵.۹	۰.۶-۱.۴	۰.۹۸۲	۱۸۵	۳.۲	۰.۹
Endosulfan sulfate	۷.۱	۰.۶-۱.۴	۰.۹۸۵	۱۸۵	۳.۷	۱.۳
Endrin ketone	۴.۲	۰.۶-۱.۴	۰.۹۹۴	۱۸۵	۳.۰	۰.۸

1. Limit of quantification for a S/N = 10

2. Limit of detection for a S/N = 3

جدول ۲ مقایسه کارایی روش پیشنهادی برای استخراج ترکیبات آلی کلردار در مقایسه با روش‌های دیگر

روش استخراج	زمان استخراج	مقدار حلال استخراجی (میلی لیتر)	درصد بازبایی	مرجع
DLLME در لوله باریک	۳ دقیقه	۳	۹۳ تا ۹۸	روش پیشنهادی
DLLME	۱۰ دقیقه	۱۲	۹۳ تا ۸۸	[۲، ۸ و ۱۳]
MAE	۱۰ تا ۳۰ دقیقه	۳۰	۸۰ تا ۹۵	[۲۱]
SPME	۲ ساعت	۱۱	۸۲ تا ۶۰	[۲۴]
سوکسیله	۲۴ تا ۴۸ ساعت	۵۰۰	۷۰ تا ۹۰	[۲۵]

۹۳٫۱ تا ۹۸٫۶ درصد به‌دست آمده که نشان از اثر اندک بافت نمونه بر کارایی روش DLLME پیشنهادی دارد.

### نتیجه‌گیری

در این مقاله روش جدید میکرواستخراج مایع-مایع پخشی (DLLME) در یک ستون باریک برای پیش تغلیظ و استخراج مقادیر بسیار کم ترکیب‌های آلی کلردار در نمونه‌های آب به‌صورت موفقیت‌آمیز استفاده و معرفی شده است. زمان صرف شده برای آماده‌سازی نمونه بدون تأثیر مخرب بر حساسیت روش، حداقل مقدار ممکن است. افزون بر این، از مصرف بیش از اندازه حلال‌های آلی

نمونه‌های واقعی از راه رسم منحنی درجه‌بندی سطح زیر پیک نمونه به سطح زیر پیک استاندارد خارجی به‌عنوان پاسخ تجزیه‌ای برای محاسبه غلظت استفاده شده است. بازبایی نسبی به‌صورت نسبت پاسخ تجزیه‌ای در نمونه‌های حقیقی و نمونه محلول استاندارد محاسبه شده است. نتیجه‌هایی برای نمونه‌های آب رودخانه نشان داد که فاقد ترکیبات آلی کلردار است. به همین دلیل برای بررسی تأثیر بستر، نمونه‌های آب رودخانه با استاندارد سموم آلی کلردار با غلظت  $0.6 \mu\text{g/ml}$  آلاینش یافته و سپس فرایند استخراج بر روی آن‌ها صورت پذیرفته است. نتیجه‌های به‌دست آمده در جدول ۳ ارایه شده است. بازبایی خوبی در دامنه

جدول ۳ نتیجه‌های به‌دست آمده با روش DLLME در لوله بلند برای سموم آلی کلردار در نمونه‌های آب رودخانه

سموم آلی کلره	غلظت مشاهده شده در نمونه آب رودخانه	غلظت افزوده شده $\mu\text{g/ml}$	غلظت به‌دست آمده پس از آلاینش	درصد بازبایی
Heptachlor	ND*	۰٫۶	۰٫۵۸۶	۹۷٫۶
Aldrin	ND	۰٫۶	۰٫۵۸۱	۹۶٫۸
heptachlor epoxide	ND	۰٫۶	۰٫۵۸۴	۹۷٫۳
Endosulfan $\alpha$	ND	۰٫۶	۰٫۵۹۱	۹۸٫۵
Dieldrin	ND	۰٫۶	۰٫۵۶۱	۹۳٫۵
Endrin	ND	۰٫۶	۰٫۵۶۹	۹۴٫۸
Endosulfan $\beta$	ND	۰٫۶	۰٫۵۶۸	۹۴٫۶
Endrin aldehyde	ND	۰٫۶	۰٫۵۹۲	۹۸٫۶
Methoxychlor	ND	۰٫۶	۰٫۵۶۱	۹۳٫۵
Endosulfan sulfate	ND	۰٫۶	۰٫۵۳۹	۸۹٫۸
Endrin ketone	ND	۰٫۶	۰٫۵۵۹	۹۳٫۱

\*Not detected



از آب نیز به عنوان حلال استخراجی استفاده کرد. حد تشخیص خوب و گستره خطی بودن به آسانی در این روش به دست می‌آید.

سمی مانند حلال‌های آلی کلردار اجتناب شده است. همچنین، بر خلاف روش‌های مرسوم DLLME در روش ارایه شده، می‌توان افزون بر حذف مرحله وقت‌گیر سانتریفیوژ، از حلال‌های سبک‌تر

## مراجع

- [1] Qu, C. Qi, S. Yang, D. Huang, H. Zhang, J. Chen, W. Keleta Yohannes, H. Hinga Sandy, E. Yang, J. Xing, X., Journal of Geochemical Exploration Volume 149, Pages 43–51; 2015.
- [2] Cortada, C. Vidal, L. Pastor, R. Santiago, N. Canals, A, Analytica Chimica Acta, 649, Pages 218–221; 2009.
- [3] Arias, o. Rombaldi, C. Souza Caldas, S. Gilberto Prime, E, Journal of Chromatography A, 1360, Pages 66–75; 2014.
- [4] Zaater, M. Tahboub, Y. Qasrawy, S., Analytical letters, NO 38, Pages 2231-2245; 2005.
- [5] Hu, J. Fu, L. Zhao, X. Liu, X. Wang, H. Wang, X. Dai, L., Analytica Chimica Acta 640, Pages 100–105; 2009.
- [6] Page, d. Lacroix, g., Journal of Chromatography A, Volume 757, Issues 1–2, Pages 173–182; 1997.
- [7] Psillakis, e. Kalogerakis, n., TrAC Trends in Analytical Chemistry, Volume 22, Issue 9, Pages 565–574; 2003.
- [8] Basheer, C. Lee, H. K. Obbard, J, P., J Chromatogr A 1022, Pages 161-179; 2004.
- [9] Rezaee, M. Assadi, Y. Milani Hosseini, M. Aghaee, E. Ahmadi, F. Berijani, S., Journal of Chromatography A, 1116: 1–9; 2006.
- [10] Berijani S, Assadi Y, Anbia M, Milani Hosseini MR, Aghaee E., J Chromatogr A. 1123:1-9; 2006.
- [۱۱] جاودان خرد، اسلام، اسماعیلی ساری، عباس، بهرامی فر، نادر، فصلنامه علمی محیط‌زیست، شماره ۵۰، ص ۳۹–۵۳؛ ۱۳۹۰
- [12] Yu, Y., Li, Y., Shen, Z., Yang, Z., Mo, L., Kong, Y., Lou, I, Chemosphere 114, Pages 136–143; 2014.
- [13] Zacharis, K, C., Rotsias, I., Zachariadis, G, P., Zotos, A., Food Chemistry, 134, Pages 1665–1672; 2012.
- [14] Zhao, e. Zhao, w. Han, l. Jiang, s. Zhou, z., Journal of Chromatography A, Volume 1175, Issue 1, Pages 137–140; 2007.
- [15] Yan, C. H. Wu, H. F., Rapid Communications in Mass Spectrometry, 18, Pages 3015- 3018 (SCI); 2004.
- [16] Gaber, S., World Applied Sciences Journal 31 (11), Pages 1911-1916; 2014.
- [17] Zeini Jahromi, E. Bidari, A. Assadi, Y. Milani Hosseini, M. Jamali, M., Analytica Chimica Acta, Volume 585, Pages 305–311; 2007.
- [۱۸] رحمانی، ماشالله و یکنوائی، مسعود، نشریه پژوهش‌های کاربردی در شیمی JARC، سال هفتم، شماره ۴؛ ۱۳۹۲
- [19] Farina, l. Boido, e. Carrau, f. Dellacassa, e., Journal of Chromatography A, Volume 1157, Issues 1–2, Pages 46–50; 2007.
- [20] Nagaraju, d. Da Huang, s., Journal of Chromatography A, Volume 1161, Issues 1–2, Pages 89–97; 2007.
- [21] Nollet, L., M., Singh Rathore, H., Handbook of Pesticides, Methods of Pesticide Residues Analysis, CRC Press, Taylor & Francis Group 33487-2742; 2009.
- [۲۲] خرم، پ، توسعه‌ی روش جدید میکرواستخراج بر پایه تک قطره‌ی متحرک در لوله‌ی باریک: پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده شیمی، دانشگاه تبریز، ۱۰۰ صفحه؛ ۱۳۸۹

[23] Barbash, J. E., Tacoma, W. A., The Geochemistry of Pesticides, United States Geological Survey USA, 2007

[24] Neves Dias, A., Simão, V., Merib, J., Carasek,

E., Talanta, Volume 134, Pages 409-414; 2015.

[25] Environmental Protection Agency (EPA), Method 8081A, Organochlorine pesticides by Gas chromatography; 1996.

## Detection of organochlorine pesticides in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction in narrow column using gas chromatography flame ionization

Sh. Yosef-Zadeh<sup>1</sup>, E. Asghari-Kalajahi<sup>2,\*</sup>, N. Amel<sup>3</sup>, H. Saberi<sup>4</sup> and T. Golbabazadh<sup>5</sup>

1. MSc student in Geology - Geochemistry, Tabriz University, Tabriz, Iran

2. Assistant Prof. of Geology - Engineering, Department of Earth Sciences, Tabriz University, Tabriz, Iran

3. Assistant Prof. of Geology - Petrology, Department of Earth Sciences, Tabriz University, Tabriz, Iran

4. PhD of Analytical Chemistry, Institute of Aquaculture, Fisheries Bandar Anzali, Gilan Iran

5. Assistant Prof. of Geology - Sedimentology, Talesh Branch, Payam Noor University, Gilan Iran

Received: November 2015, Revised: December 2015, Accepted: December 2015

**Abstract:** The simple and efficient dispersive liquid-liquid microextraction was applied for extraction and simultaneous preconcentration of organochlorine pesticides (OCPS) in river water samples using chromatography-flame ionization.

The effect of factors controlling the microextraction, such as the type and volume of dispersive and extracted solvents and volume of extracted aqueous solution sample were studied and optimized. In the optimized qualification, a mixture of acetone as dispersive solvent and n-hexane toluene as extraction solvent (1: 1) is injected to water solution in the pipe, where the pesticides are transferred into an organic phase and reach the top of the column. Finally, after extraction and cleaning up, 1 ul of the prepared sample was injected into gas chromatography with flame ionization detector and its amount was determined using the standard solvent calibration curves.

The relative recovery was from 89.8 to 98.6. The limits of detection and quantification were in the range of 0.8 to 1.5 and 3 to 4.1 µg/l, respectively. The results showed that the micro liquid-liquid extraction with the GC-FID method is a convenient and fast method with a considerably high recovery percentage.

**Keywords:** Dispersive liquid-liquid microextraction, Organochlorine, Gas chromatography-flame ionization