

جداسازی و شناسایی هیدروکربنهای آروماتیک چند حلقه ای در گیاه آزولای تالاب انزلی با دستگاه GC/MS

• محمد علی صیادنژاد و • غلامرضا امینی رنجبر،
دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: شهریور ماه ۱۳۸۲

چکیده

در این بررسی در دو فصل تابستان و پائیز (۱۳۸۰) نمونه های آزولا از مناطق از پیش تعیین شده در جنوب غربی (سیاه کشیم)، مرکز (هندخاله) و شرق (شیجان) تالاب تهیه گردیدند. هیدروکربنهای آروماتیک چند حلقه ای (PAHs) موجود در آزولا با سوکسله و دستگاه تکان دهنده مورد استخراج قرار گرفتند. جداسازی و شناسایی ترکیبات در نمونه های استخراج شده با دستگاه GC/MS تله یونی و چهار قطبی انجام گرفت و تعداد سیزده ترکیب از PAHs ها شناسایی شدند. جهت تأیید ترکیبات شناسایی شده علاوه بر کاربرد استانداردهای در دسترس، از روش مشاهده یون انتخابی (SIM) نیز استفاده گردید. کلمات کلیدی: آزولا، تالاب انزلی، هیدروکربنهای آروماتیک چندحلقه ای، GC/MS

Pajouhesh & Sazandegi, No:59 pp: 26- 35.

Separation and identification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Azolla of the Anzali Lagoon by Gc/MS

By: M.A., Sayyadnejad and Amini Ranjbar, G. Islamic Azad University . North Tehran Branch.

In this research sampling of azolla was done in the southwest (Siahkeshim), center (Hendekhaleh) and east (Sheijan) of the Anzali Lagoon in summer and autumn (2001). Extraction of PAHs in azolla were done by soxhlet and shaker methods. Separation and identification of PAHs in extracted samples were done by ion trap and quadrupole GC/MS and thirteen PAHs were detected and identified. In addition using available PAHs standard, Selected Ion Monitoring (SIM) technique was also used for further confirmation of identified PAHs.

Keywords: Azolla, Anzali Lagoon, PAHs, GC/MS

و یا باکتریها نیز گزارش شده است (۱۰).

Ilnitsky و همکارانش برآورد نمودند که سالانه ۱۴-۱۲ تن بنزو (آلفا) پیرن از آتشفشانها وارد طبیعت می شود (۱۰). امروزه حضور این ترکیبات در هوا، آب، خاک، بیخ رسوبات، گیاهان و حیوانات به اثبات رسیده است (۲، ۳، ۱۱). وجود PAHs در رژیم غذایی اردکهای وحشی باعث کاهش شدید اندازه وزن و زرده تخم آنها گردیده (۱۵) و بنزو (آلفا) پیرن سبب پیدایش تومورهای سرطانی در وال شده است (۷). افرادی که در معرض دوده برشهای نفتی، قیر و محصولات زغال سنگ قرار گیرند به دلیل وجود PAHs ها در این مواد به سرطان پوست دچار خواهند شد (۱۰). جذب این ترکیبات در گیاهان از طریق اندامهای مختلف از جمله برگ و ریشه صورت می گیرد. گیاهان می توانند ذرات حاوی PAHs های موجود در هوا با قطر کمتر از یک میکرون را جذب نمایند (۱۶، ۱۷).

اگر چه روشهای کروماتوگرافی کاغذی، لایه نازک و ستونی باب جدیدی را در جداسازی و شناسایی مخلوط PAHs گشودند اما از اوایل دهه ۱۹۷۰ به بعد روشهای کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی با کارایی بالا (HPLC) به طور وسیع جایگزین آنها شدند. ساخت دستگاههای پویا و مدرن طیف سنج جرمی (MS) و اتصال آنها به دستگاههای GC و HPLC باعث انتقالی در زمینه آنالیز مواد و آلاینده ها از جمله PAHs ها در حد مقادیر جزئی تا حدود ppb در مخلوطهای پیچیده شده است به طوری که هم اکنون متخصصان شیمی تجزیه می توانند با دقت حساسیت و سرعت بسیار بالاتر از قبل به آنالیز کیفی و کمی آلاینده ها پرداخته و روش های آنالیز جدیدتری را ابداع نمایند (۱۰).

جهت استخراج PAHs ها از سطح گیاهان و یا محصولات کشاورزی معمولاً از روش دستگاه تکان دهنده و برای استخراج کامل این ترکیبات که در داخل بافتها نفوذ کرده و یا با آنها پیوند شیمیایی داده باشند. از روش سوکسله استفاده می شود (۹، ۱۰). در این بررسی هر دو روش فوق مورد استفاده قرار گرفت.

آزولا یک سرخس آبی کوچک به طول ۱ تا ۵ سانتی متر است که روی سطح آب در مزارع برنج، استخر و کانالهای آب شناور بوده و در بسیاری از کشورهای جهان از جمله هند، چین، ژاپن، ویتنام، فیلیپین و غیره به عنوان جاذب نیتروژن هوا و تثبیت کننده آن در شالیزارهای برنج به منظور ازدیاد محصول به کار می رود. به عنوان مثال سطح کشت آن به طور همزمان با برنج در کشور چین تا سال ۱۹۷۸ حدود ۶/۵ میلیون هکتار بوده است (۱۸). آزولا در سال ۱۳۶۳ از کشور هند به منظور تقویت و ازدیاد محصول برنج در شالیزارهای شمال کشور وارد ایران شد. ورود ناخواسته این گیاه از مزارع برنج به تالاب انزلی از طریق پرندگان و عوامل دیگر باعث مشکلات زیست محیطی در این تالاب گردیده است. در حال حاضر آزولا به طور گسترده سطح تالاب را پوشانده و باعث کمبود اکسیژن و در نتیجه مرگ آبزیان از جمله ماهیان شده است. در کشورهای دیگر از این گیاه جهت تغذیه حیوانات از جمله ماهیان، طیور، دام و حتی غذای انسان استفاده می شود زیرا ۲۰ تا ۳۰ درصد وزن خشک آن را پروتئین تشکیل می دهد (۱، ۱۸).

از آنجا که آزولا در تالاب انزلی به عنوان یک مشکل زیست محیطی مطرح می باشد قرار است توسط سازمانهای ذیربط جمع آوری و جهت تغذیه حیوانات در اختیار کشاورزان و دامداران قرار گیرد. لذا باید عاری از ترکیبات خطرناک و مهلک هیدروکربنهای آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs) باشد. این ترکیبات سمی از طریق زنجیره غذایی وارد بدن انسان شده و باعث بیماریهای گوناگون، جهش های نامطلوب کروموزومی و سرطان می شوند (۷، ۸، ۱۳). PAHs ها گروه عمده‌ای از آلاینده های محیط زیست بوده که از سوختن ناقص مواد آلی و سوختهای فسیلی به وجود می آیند. موتور اتومبیلها (عمدتاً دیزلی)، نیروگاههای برق، آتش سوزی جنگلها، تالیسات حرارتی خانگی و صنعتی، دود سیگار، آتشفشانها و دستگاههای حرارتی نابودکننده ضایعات از جمله منابع تولید کننده این ترکیبات می باشند (۱۲۸). بیوسنتز PAHs های گوناگون بوسیله جلبکها، گیاهان

مواد و روشها

الف- نمونه برداری

نمونه برداری آزولا در فصل تابستان (ماه مرداد) و فصل پاییز (ماه آبان) در سه منطقه جنوب غرب (سیاه کشیم)، مرکز (هندخاله) و شرق (شیجان) انجام گرفت. در هر منطقه چهار ایستگاه به فاصله ۲۰۰ متر انتخاب گردید و پس از نمونه برداری، نمونه ها به آزمایشگاه ایستگاه پژوهشهای تالاب انزلی انتقال داده شدند. با مخلوط نمودن نمونه های هر منطقه به مقدار مساوی، نمونه نماینده آن منطقه تهیه و در داخل ظرف شیشه ای منتقل گردید. جهت محافظت نمونه و جلوگیری از رشد میکروارگانیسمها، به هر ظرف ۲ میلی لیتر حلال متیلن کلراید اضافه شد. برای جلوگیری از واکنشهای فتوشیمیایی، ظروف نمونه با کاغذ آلومینیم پوشانده و سپس در یخچال در صفر درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

ب- مواد شیمیایی

مواد شیمیایی به کار رفته در این بررسی عبارت از حلالهای هگزان، دی کلرومتان و استن با درجه خلوص طیف سنجی از شرکت Aldrich، حلال استونیتربیل با درجه خلوص طیف سنجی از شرکت Merck و سدیم سولفات بی آب از شرکت Merck بوده اند.

PAHs های نفتالن با درجه خلوص ۹۸٪، آزولن ۹۹٪، بی فینیل ۹۹٪،

فنانترن ۹۸٪، آنتراسن ۹۹/۹٪ از شرکت آلدریج و ۲- متیل نفتالن ۹۸٪، ۲، ۶- دی میل نفتالن ۹۹٪، ۱، ۶- دی متیل نفتالن ۹۵٪، ۱، ۵- دی متیل نفتالن ۹۹٪، ۱، ۸- دی متیل نفتالن ۹۵٪، ۲، ۷- دی متیل نفتالن ۹۹٪، ۱- اتیل نفتالن ۹۹٪ و ۲- اتیل نفتالن ۹۹٪ از شرکت Phase sep جهت استاندارد مورد استفاده قرار گرفتند.

ج- دستگاهها

از دستگاه کروماتوگراف گازی- طیف سنج جرمی (GC-MS) از نوع تله یونی (Ion trap) مدل ساترن (Saturn II) ۲ با سیستم ورودی گاز کروماتوگراف مدل ۳۴۰۰ از شرکت وریان (Varian) به دلیل حساسیت و حد آشکار سازی بالاتر که از پارامترهای مهم در آنالیز PAHs ها در مقادیر جزئی در مخلوطهای پیچیده می باشد جهت جداسازی و شناسایی ترکیبات استفاده گردید. ستون به کار رفته در دستگاه GC موئینه با درجه قطبیت کم از نوع DB-۵ به طول ۳۰ متر، قطر ۰/۳۲ میلی متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر می باشد. سرعت طیف گیری دستگاه طیف سنجی جرمی ۱/۲ ثانیه در هر پیمایش، انرژی الکترونها ۷۰ الکترون ولت، جریان نثری ۱۰ میلی آمپر، محدوده پیمایش ۴۰۰-۳۵ واحد جرمی و دمای اتاقک یونیتراسیون ۱۸۰ درجه سانتی گراد، دمای اولیه اعمال شده بر روی ستون دستگاه گاز کروماتوگراف ۴۰ درجه سانتی

گردید. ابتدا با دستگاه تبخیر کننده چرخان تحت خلاء اکثر حلال متیلن کلراید تبخیر و در پایان عمل تبخیر حلال با گاز نیتروژن انجام گرفت به طوری که حجم نهایی محلول ۷۵۰ میکرولیتر (μL) شد.

در روش سوکسله به ۴ گرم از آزولا مقدار ۸ گرم سدیم سولفات بی آب اضافه گردید و با استفاده از هاون، مخلوط سائیده و سپس به داخل یک انگشتانه (Thimble) سلولزی منتقل گردید. انگشتانه را در داخل دستگاه سوکسیله قرار داده و حدود ۵۰ میلی لیتر مخلوط حلال استن و متیلن کلراید به نسبت حجمی مساوی در بالون سوکسیله ریخته شد. عمل استخراج به مدت ۲۰ ساعت انجام گرفت. محلول حاصل از استخراج تحت گاز نیتروژن تا نزدیک خشک شدن تغلیظ گردید. جهت جداسازی مواد مزاحم ۴ میلی لیتر مخلوط حلال هگزان- متیلن کلراید به نسبت حجمی (۱:۴) به بالون اضافه و پس از همزدن، محلول به داخل لوله سانتریفوژ منتقل شد. عمل جداسازی رسوب از محلول با دستگاه سانتریفوژ به مدت ۶ دقیقه و با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه انجام گرفت. با استفاده از گاز نیتروژن محلول جدا شده تا حجم ۳۰۰ μL تغلیظ شد.

جهت جداسازی و شناسایی PAHs ها در نمونه های استخراج شده از آزولا از دستگاه های GC/MS تله یونی و چهار قطبی استفاده گردید. مقدار نمونه تزریق شده به دستگاه تله یونی ۰/۲ μL و به دستگاه چهار قطبی ۱ μL بوده است. مقدار نمونه کمتر تزریق شده به دستگاه تله یونی نسبت به دستگاه چهار قطبی، به دلیل حساسیت آن به غلظت حتی در مقادیر ppm می باشد.

بحث

در نمودار ۱ کروماتوگرام GC/MS بالا مربوط به نمونه استخراج شده از آزولای فصل پاییز منطقه سیاه کشیم با دستگاه سوکسله و کروماتوگرام پایین مربوط به نمونه استخراج شده از همان آزولا با دستگاه تکان دهنده می باشد که با دستگاه تله یونی تهیه شده اند. بررسی کروماتوگرامها نشان می دهد که ماتریس نمونه بسیار پیچیده و شناسایی بیکهای PAHs ها در میان انبوه بیکها بسیار مشکل است. جهت شناسایی ترکیبات مورد نظر، طیفهای جرمی مربوط به کلیه بیکهای کروماتوگرام نمونه استخراج شده با سوکسله مورد بررسی و PAHs های نفتالن با زمان بازداری ۱۳/۰۴ دقیقه (بیک شماره ۱)، ایزومرهای متیل نفتالن با زمانهای بازداری ۱۶/۱۴ و ۱۶/۴۲ دقیقه (بیک ۲ و ۳)، بای فنیل با زمان ۱۸/۳۵ (بیک ۴)، اتیل نفتالن با زمان ۱۸/۵۶ (بیک ۵)، ایزومرهای دی متیل نفتالن با زمانهای ۱۹/۰۶، ۱۹/۳۸، ۱۹/۴۳ و ۲۰/۰۸ دقیقه (بیکهای ۶، ۷، ۸، ۹)، ایزومرهای تری متیل نفتالن با زمانهای ۲۲/۲۳، ۲۲/۵۳ و ۲۳/۱۶

گردد به مدت یک دقیقه، دمای نهایی ۲۸۰ درجه سانتی گراد، سرعت برنامه دمایی ۵ درجه سانتی گراد در دقیقه، هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت ۲ میلی لیتر در دقیقه و روش تزریق، غیر تقسیمی بوده است. جهت بررسی حد آشکارسازی دستگاه، PAH فلور آنتن با غلظت ۱۰ ppb به آن تزریق گردید که پاسخ دستگاه مثبت بود.

به دلیل ایجاد یون $[M+]$ به جای یون مولکولی $[M]^+$ ، افزایش یون اضافی به یون مولکولی، جفت شدن یونها، ایجاد طیفهای ناسازگار با طیف کتابخانه های موجود و همچنین وابستگی طیفها به غلظت نمونه در دستگاههای تله یونی (۴)، از دستگاه GC/MS چهارقطبی (Quadrupole) که طیفهای آن استاندارد و قابل قبول مراجع علمی می باشد نیز استفاده گردید. دستگاه به کار رفته مدل ۵۰ Incos ساخت شرکت Finnigan mat آلمان با سیستم ورودی گاز کروماتوگراف مدل ۳۴۰۰ شرکت وریان با ستون DB-۵ می باشد. سرعت طیف گیری دستگاه طیف سنخ جرمی ۰/۶ ثانیه در هر پیمایش، انرژی الکترونها ۷۰ الکترون ولت، جریان نشری ۰/۷۵ میلی آمپر، محدوده پیمایش ۳۵-۴۰۰ واحد جرمی و دمای اتاقک یونیزاسیون ۱۷۰ درجه سانتی گراد بوده است. در شرایط بهینه دمای اولیه اعمال شده بر روی ستون دستگاه گاز کروماتوگراف ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت دو دقیقه، دمای نهایی ۲۸۰ درجه سانتی گراد، سرعت برنامه دمایی ۵ درجه سانتی گراد در دقیقه، هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت ۲ میلی لیتر در دقیقه و روش تزریق، غیر تقسیمی بوده است.

د-استخراج PAHsها

استخراج PAHs ها از آزولای سه منطقه هندخاله، شیجان و سیاه کشیم با دو روش دستگاه تکان دهنده و سوکسله به شرح زیر انجام گرفت. در روش دستگاه تکان دهنده ۱۰ گرم آزولا با هاون سائیده و به داخل یک ارلن منتقل و ۳۰ میلی لیتر استن تقطیر شده به آن اضافه گردید. عمل استخراج با دستگاه تکان دهنده (Shaker) به مدت یکساعت انجام و با استفاده از قیف بوخنز و خلاء صاف شد و روی قیف دو بار با ۵ میلی لیتر استن مورد شستشو قرار گرفت. محلول صاف شده به قیف جداکننده ۲۵۰ میلی لیتری منتقل و ۹۰ میلی لیتر آب حاوی ۴ درصد سدیم سولفات به آن اضافه گردید. ۲۰ میلی لیتر حلال متیلن کلراید به قیف جداکننده افزوده و با تکان دادن محلول، عمل استخراج PAHs ها صورت گرفت. با استراحت دهی و دو فاز شدن محلول داخل قیف جداکننده، فاز زیرین جدا گردید. عمل استخراج دو بار دیگر با ۱۰ میلی لیتر متیلن کلراید تکرار و محلول زیرین به محلول قبلی اضافه شد. جهت حذف رطوبت احتمالی ۶ گرم سدیم سولفات خشک به محلول اضافه و سپس صاف

جدول ۱ - مقایسه زمان بازداری PAHs های شناسایی شده در آزولای پاییز منطقه سیاه کشیم و استاندارد آنها

نام ترکیب	زمان بازداری در نمونه استخراج شده (دقیقه)	زمان بازداری استاندارد (دقیقه)
نفتالن	۱۱/۲۱	۱۱/۲۱
۲- متیل نفتالن	۱۴/۲۷	۱۴/۲۹
بای فنیل	۱۶/۴۲	۱۶/۴۵
۲- اتیل نفتالن	۱۷/۱۲	۱۷/۱۳
۲، ۶- دی متیل نفتالن	۱۷/۲۴	۱۷/۲۵
۱، ۵- دی متیل نفتالن	۱۸/۲۴	۱۸/۲۱
آنتراسن	۲۶/۲۵	۲۶/۲۷

در حال حاضر برای شناسایی ایزومرهای ساختمانی بخصوص زمانی که استاندارد آنها در دسترس نباشد از طیف سنجی مادون قرمز استفاده می‌گردد زیرا طیف مادون قرمز آنها با یکدیگر تفاوت دارد. مزایای طیف سنجهای جرمی جدید و همچنین مزایای دستگاههای طیف سنج مادون قرمز تبدیل فوریه (FT-FR) باعث شده است که این دستگاهها به دستگاه GC متصل و سیستمهای پویا و مدرن GC/FT-IR/MS وارد بازار شوند (۶، ۱۴). بدیهی است در سیستم فوق جرم مولکولی ایزومرها با طیف سنج جرمی و ساختار مولکولی آنها با طیف سنج مادون قرمز تعیین می‌شود.

در نمودار ۵ کروماتوگرام GC/MS بالا مربوط به نمونه استخراج شده از آزولای منطقه هندخاله و کروماتوگرام پایین مربوط به نمونه استخراج شده از آزولای پاییز منطقه شیجان می‌باشد. با مقایسه این دو کروماتوگرام با کروماتوگرام منطقه سیاه کشیم (نمودار ۱) مشخص می‌شود که PAHs های شناسایی شده در آزولای منطقه سیاه کشیم در آزولای مناطق هندخاله و شیجان نیز وجود دارند. قابل ذکر است ۲- اتیل نفتالن در نمونه استخراج شده در آزولای فصل تابستان مناطق فوق مورد شناسایی قرار نگرفت.

از آنجا که بعضی از پیکهای PAHs ها از پیکهای ماتریس نمونه استخراج شده جدا نشده و با آنها همپوشانی داشتند لذا برای تایید آنها از روش مشاهده یون انتخابی (SIM) نیز استفاده گردید. در روش SIM تجزیه کننده جرمی در جرمهای تعیین شده (معمولا ۱ تا ۳ جرم) عمل می‌نماید. به عنوان مثال جهت تایید آنتراسن با استفاده از یون مولکولی $m/z=871$ یون کروماتوگرام آن تهیه شد. در نمودار ۶ کروماتوگرام بالا مربوط به نمونه استخراج شده از آزولای فصل پاییز منطقه سیاه کشیم و نمودار پائین مربوط به یون کروماتوگرام همان نمونه در $m/z=178$ می‌باشد.

نتیجه گیری

۱- با انجام این طرح، جداسازی و شناسایی PAHs ها در آزولا امکان پذیر شده است.

۲- استخراج ترکیبات با دو روش سوکسله و دستگاه تکان دهنده انجام گرفت. بررسی کروماتوگرامها با در نظر گرفتن مقدار نمونه تزریق شده یکسان به دستگاه $0.2 \mu L$ نشان می‌دهد که دستگاه سوکسله نسبت به دستگاه تکان دهنده از کارایی بالاتری در استخراج PAHs ها از گیاهان برخوردار است.

۳- برای جداسازی مواد مزاحم از ماتریس نمونه استخراج شده، از یک روش فیزیکی استفاده گردید که در مقایسه با روشهای دیگر مانند روشهای شیمیایی آسان و در زمان بسیار کوتاهی انجام گرفته و هزینه آن نیز ناچیز می‌باشد. در این روش بعد از جداسازی مواد مزاحم، نمونه مستقیما به دستگاه GC/MS تزریق می‌گردد.

۴- از بین سیزده PAHs شناسایی شده، ترکیبات نفتالن، ۲- متیل نفتالن، بای فنیل، ۲- اتیل نفتالن، ۲، ۶- دی متیل نفتالن، ۱، ۵- دی متیل نفتالن و آنتراسن با استفاده از استانداردها نیز مورد تأیید قرار گرفتند.

۵- از آنجا که پیکهای بعضی از PAHs های شناسایی شده از پیکهای ماتریس نمونه استخراج شده جدا نگردیده و همپوشانی داشتند لذا برای تأیید آنها از روش SIM نیز استفاده شد.

(پیکهای ۱۰، ۱۱، ۱۲) و آنتراسن با زمان بازداری ۲۸/۱۳ دقیقه (پیک شماره ۱۳) مورد شناسایی قرار گرفتند. شدت پیکهای ترکیبات شناسایی شده از جمله متیل نفتالن (پیک شماره ۲) در کروماتوگرام بالا نسبت به کروماتوگرام پایین نمودار ۱ بیشتر است، این مسئله میزان کارایی بالای دستگاه سوکسله نسبت به دستگاه تکان دهنده جهت استخراج PAHs ها را نشان می‌دهد.

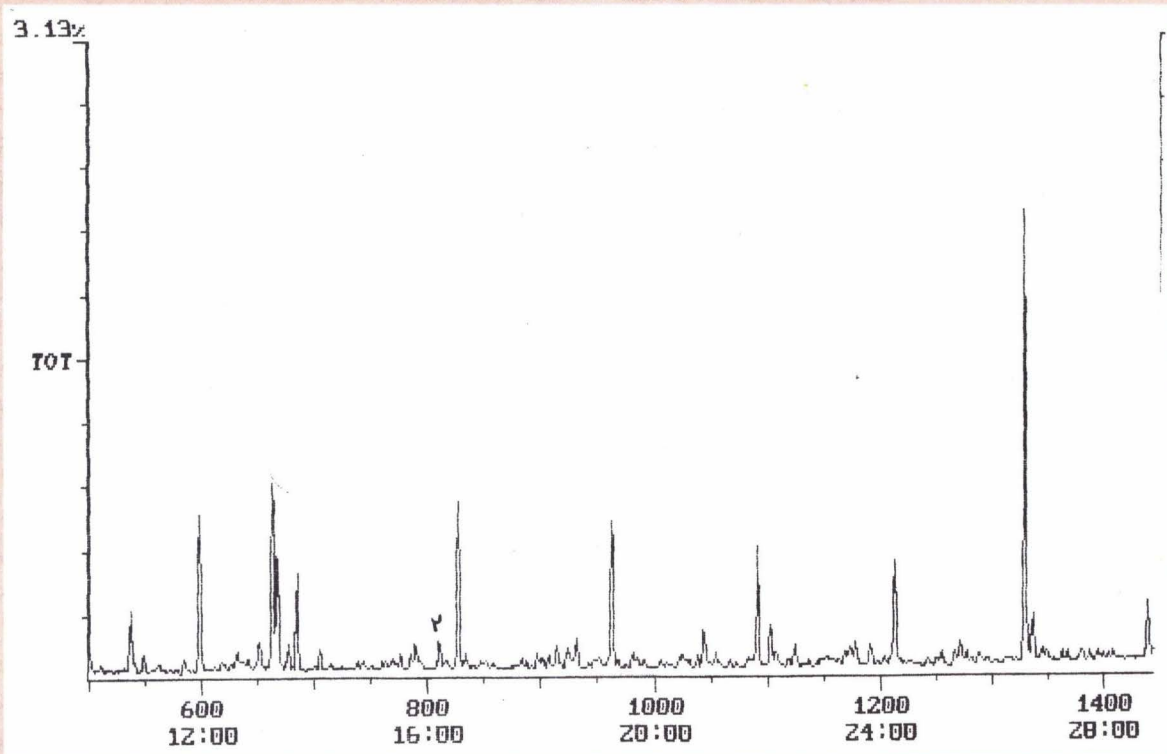
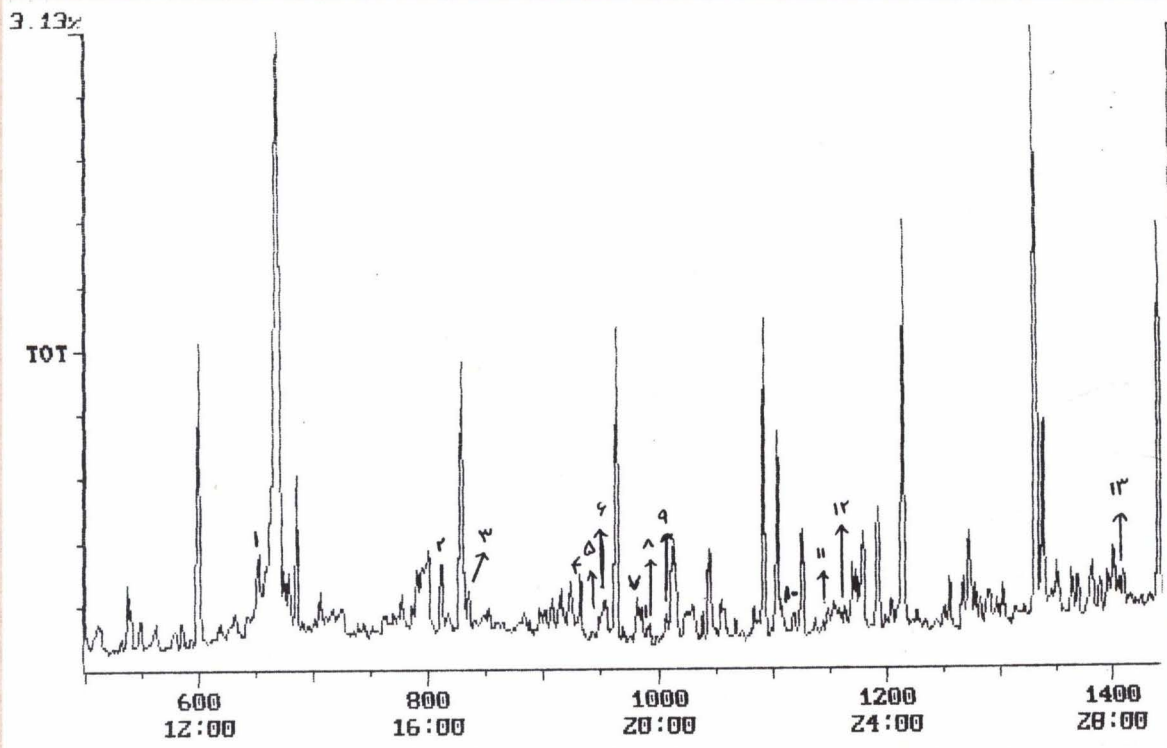
نمودار ۲ طیف جرمی اتیل نفتالن مربوط به پیک شماره ۵ و نتیجه جستجوی کتابخانه‌ای یا توسط کامپیوتر دستگاه را نشان می‌دهد. پیک در ناحیه $m/z=156$ مربوط به یون مولکولی می‌باشد که با جدا شدن یک گروه متیل از آن پیک در ناحیه $m/z=141$ به وجود می‌آید. همان طوری که در طیف جرمی مشاهده می‌شود بعد از پیک ۱۵۶ یونهای ۱۹۳، $m/z=160$ نیز ظاهر شده اند که از نظر مفسر طیف هر کدام از آنها می‌تواند یون مولکولی باشد، اگر چه این یونها در اثر افزایش یونهای دیگر به یون مولکولی یا جفت شدن یونها به وجود آمده اند.

از آنجا که طیفهای جرمی کتابخانه‌های مهم موجود در دنیا مانند Nist و Wiley با دستگاههای طیف سنج جرمی قطاع مغناطیسی و چهار قطبی تهیه شده اند (۵)، لذا برای تهیه طیفهای سازگار با کتابخانه‌ها از دستگاه GC/MS چهار قطبی نیز استفاده گردید. نمودار ۳ طیف جرمی ۲- اتیل نفتالن تهیه شده با دستگاه چهار قطبی می‌باشد که در آن یونهای ۱۹۳ و $m/z=160$ ظاهر شده در نمودار ۲ مشاهده نمی‌شوند.

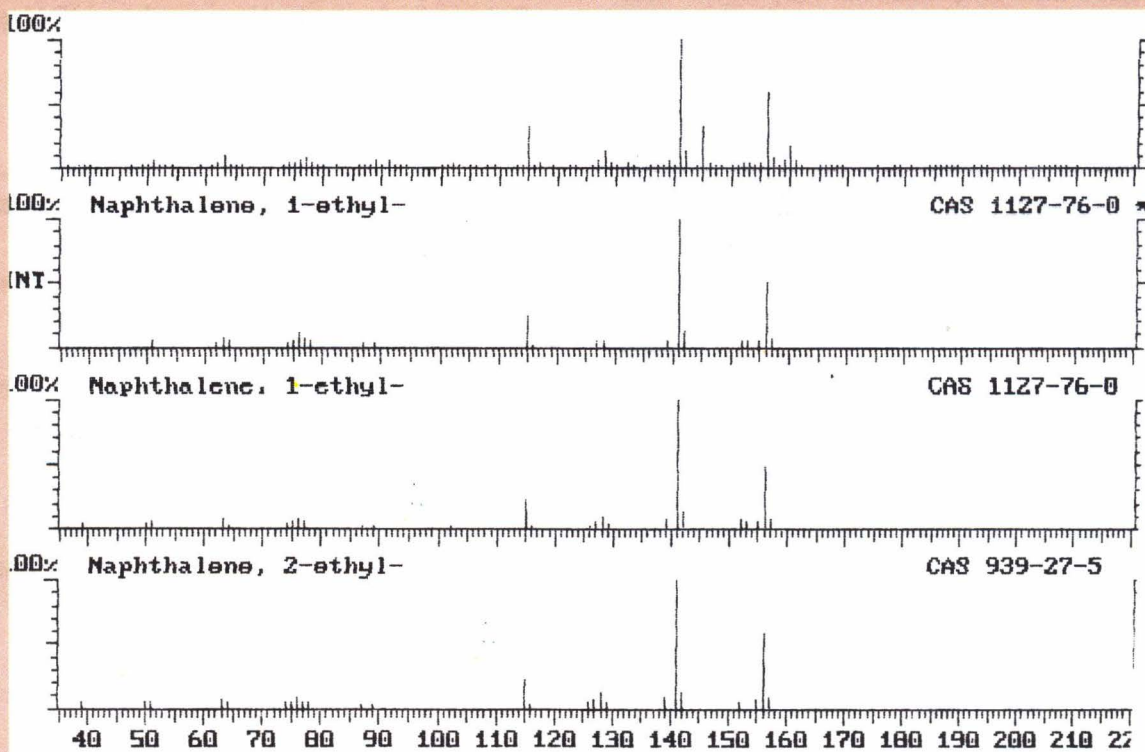
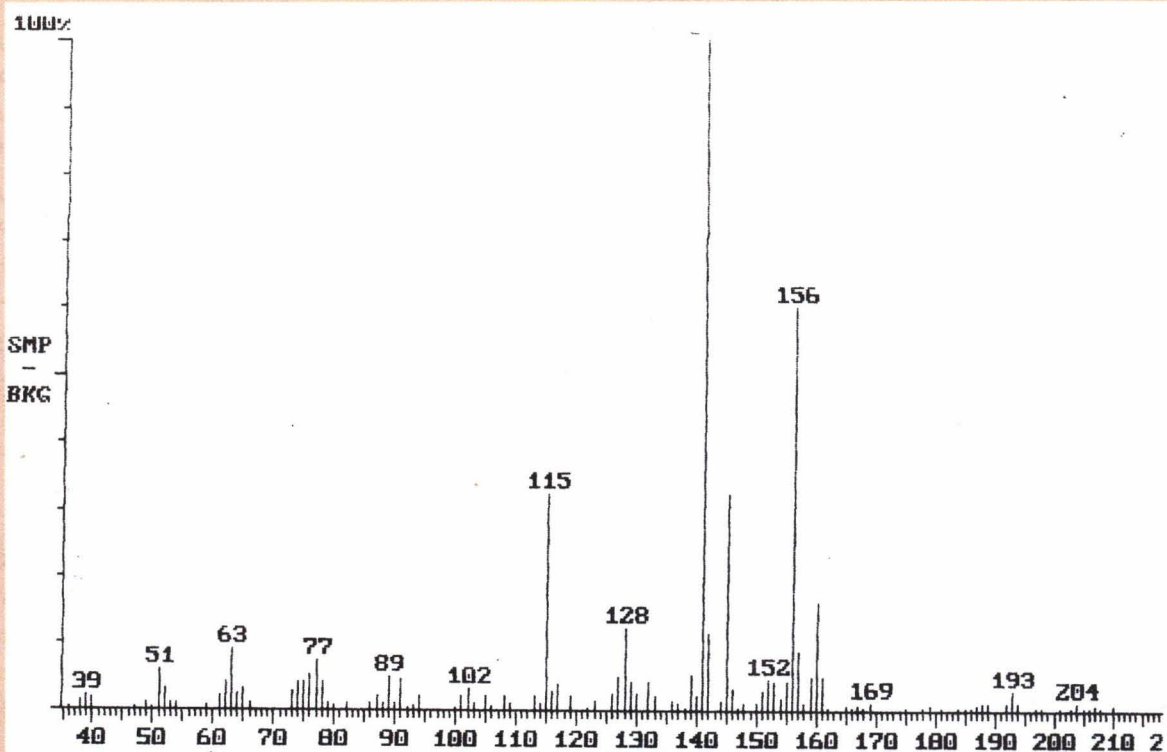
نمودار ۴ طیف جرمی آنتراسن مربوط به پیک شماره ۱۳ و نتیجه جستجوی کتابخانه‌ای توسط کامپیوتر دستگاه را نشان می‌دهد که یون مولکولی در $m/z=871$ ظاهر شده است و با جدا شدن مولکول CO از آن یون در ناحیه $m/z=152$ بوجود می‌آید.

یکی از مشکلاتی که در ارتباط با شناسایی آلاینده‌ها با دستگاههای طیف سنج جرمی وجود دارد شناسایی ایزومرهای ساختمانی مانند ایزومرهای PAHs ها است. به عنوان مثال نتیجه جستجوی کتابخانه‌ای برای طیف جرمی نمودار (۴) ترکیب آنتراسن و ایزومر آن فنانترن می‌باشد که هر دو ترکیب دارای یون مولکولی در $m/z=178$ بوده و با جدا شدن مولکول CO از هر دو ایزومر، پیک در ناحیه $m/z=152$ به وجود می‌آید. بررسی دقیقتر نشان می‌دهد که بقیه پیکهای دو ایزومر نیز یکسان هستند. این موضوع برای طیف جرمی نمودار ۲ نیز صادق است و شناسایی ایزومر ۲- اتیل نفتالن از ۱- اتیل آزولن ایزومر بوده و دی متیل نفتالن‌ها و همچنین تری متیل نفتالن‌ها نیز دارای چندین ایزومر هستند لذا برای شناسایی PAHs های نفتالن با طیف جرمی امکان پذیر نمی‌باشد. از طرفی نفتالن با موجود در نمونه‌های استخراج شده از آزولا از استانداردهای در دسترس که نام و درجه خلوص آنها در بخش مواد شیمیایی آمده است با غلظت ۱۵۰-۳۰۰ ppm در حلال دی کلرو متان تهیه گردید و به دستگاه GC/MS چهار قطبی تزریق شد. در جدول شماره ۱ زمان بازداری تعدادی از PAHs های موجود در نمونه استخراج شده از آزولای پاییز منطقه سیاه کشیم و زمان بازداری استاندارد آنها مورد مقایسه قرار گرفته است. قابل ذکر است زمان بازداری نمونه استخراج شده و استانداردها از روی کروماتوگرامهای GC/MS چهار قطبی آنها تعیین گردید.

با توجه به جدول فوق از بین چهار ایزومر دی متیل نفتالن موجود در نمونه استخراج شده، دو ایزومر قابل تأیید می‌باشند و تعیین موقعیت استخلافات گروه متیل دو ایزومر دیگر و همچنین سه ایزومر تری متیل نفتالن شناسایی شده به دلیل یکسان بودن طیف و در دسترس نبودن استاندارد آنها امکان پذیر نبوده است.



نمودار ۱- کروماتوگرامهای GC/MS نمونه استخراج شده از آذولای فصل پاییز منطقه سیاه کشیم یا سوکسیله (بالا) و دستگاه تکان دهنده (پایین)



نمودار ۲- طیف جرمی اتیل نفتالن با جستجوی کتابخانه ای (بیک شماره ۵ کروماتوگرام نمودار ۱)

- 2- Baumard, P., Budzinski, H., Garrigues, P., Sorbe, J. C., Burgeot, T., Bellocq, J., 1998, Concentration of PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) in various marine organisms in relation to those in sediments and to trophic level, Mar. Pollut. Bull, 36, 951-960.
- 3- Blumer, M., Youngblood, W.W., 1975, Polycyclic aromatic hydrocarbons in soil and recent sediments, Science, 188, 53-55.
- 4- Cairns, T., Chiu, K. S., Siegmud, E., 1992, Methan ionization of pesticide by ion trap technology: spectral characteristics and data precision, Rapid commun. Mass spectrom, 6, 331-338.
- 5- Fong, W. G., Moye, H. A., Seiber, J. N., Toth, J. P., 1999, Pesticide Residues in Food, Methods, Techniques and Regulations, John Wiley and sons, New York.
- 6- Griffith, P. R., de Haseth, J. A., 1986, Fourier Transform Infrared spectroscopy, Wiley Interscience.
- 7- Hellou, J., Stenson, G., Ni, I-H., Payne, J. F., 1990, Polycyclic aromatic hydrocarbons in muscle tissue of marine mammals from the Northwest Atlantic, Mar. Pollut. Bull, 21, 469-473.
- 8- Knopp, D., Seifert, M., Vaananen, V., Niessner, R., 2000, Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in contaminated water and soil samples by immunological and chromatographic methods, Environ. Sci. Technol, 34, 2035-2041.
- 9- Lawrence, J.F., Das, B.S., 1986, Determination of nanogram/kilogram levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in food by HPLC with fluorescence detection, Intern. J. Environ. Anal. Chem, 24, 113-131.
- 10- Lee, M. L., Novotny, M. V., Bartle, K. D., 1981, Analytical Chemistry of Polycyclic Aromatic Compounds, Academic press, New York.
- 11- Liu, Y., Zhu, L., Shen, X., 2001, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in indoor and outdoor air of Hangzhou, China, Environ. Sci. Technol, 35, 840-844.
- 12- Matsuzawa, S., Nasser- Ali, L., Garrigues, P., 2001, Photolytic behavior of polycyclic aromatic hydrocarbons in diesel particulate matter deposited on the ground, Environ. Sci. Technol, 35, 3139-3143.

پیشنهادات

- ۱- برای استخراج PAHs ها از آزولا و گیاهانی نظیر آن از دستگاه سوکسله استفاده شود.
- ۲- جهت جداسازی و شناسایی PAHs ها در مخلوطهای پیچیده از دستگاه GC/MS تله یونی به دلیل حساسیت و حد آشکار سازی بالای آن و از دستگاه MS/GC چهار قطبی برای تهیه طیفهای استاندارد و سازگار با کتابخانه های موجود استفاده گردد. چنانچه دستگاه GC/FT-IR/MS در دسترس باشد جهت جداسازی و شناسایی ترکیبات فوق ارجحیت دارد.
- ۳- طرحی در ارتباط با اندازه گیری کمی PAHs ها و فلزات سنگین انجام شود.
- ۴- آزولا از سطح تالاب جمع آوری و جهت تغذیه حیوانات استفاده گردد. بدیهی است قبل از مصرف باید ترکیبات PAH، ارگانوکلره، ارگانوفسفره و فلزات سنگین در آن مورد اندازه گیری و چنانچه میزان آنها کمتر از حد استاندارد باشد مورد مصرف قرار گیرد.

سپاسگزاری

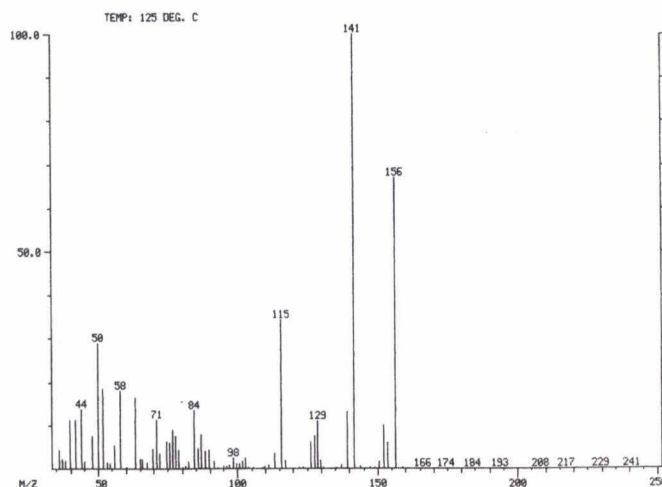
از همکاران گرامی و عزیزم در پژوهشگاه صنعت نفت، آقایان مهندس محمدرضا طلایی و آقای مهندس پرویز سلیمانی که مساعدت لازم را نموده اند صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم. از جناب آقای مهندس خدایپرست ریاست محترم بخش ایستگاه پژوهشهای تالاب انزلی که امکانات لازم را در اختیار اینجانب قرار داده و از هیچگونه مساعدتی دریغ نمودند بی نهایت سپاسگزارم.

پاورقی ها

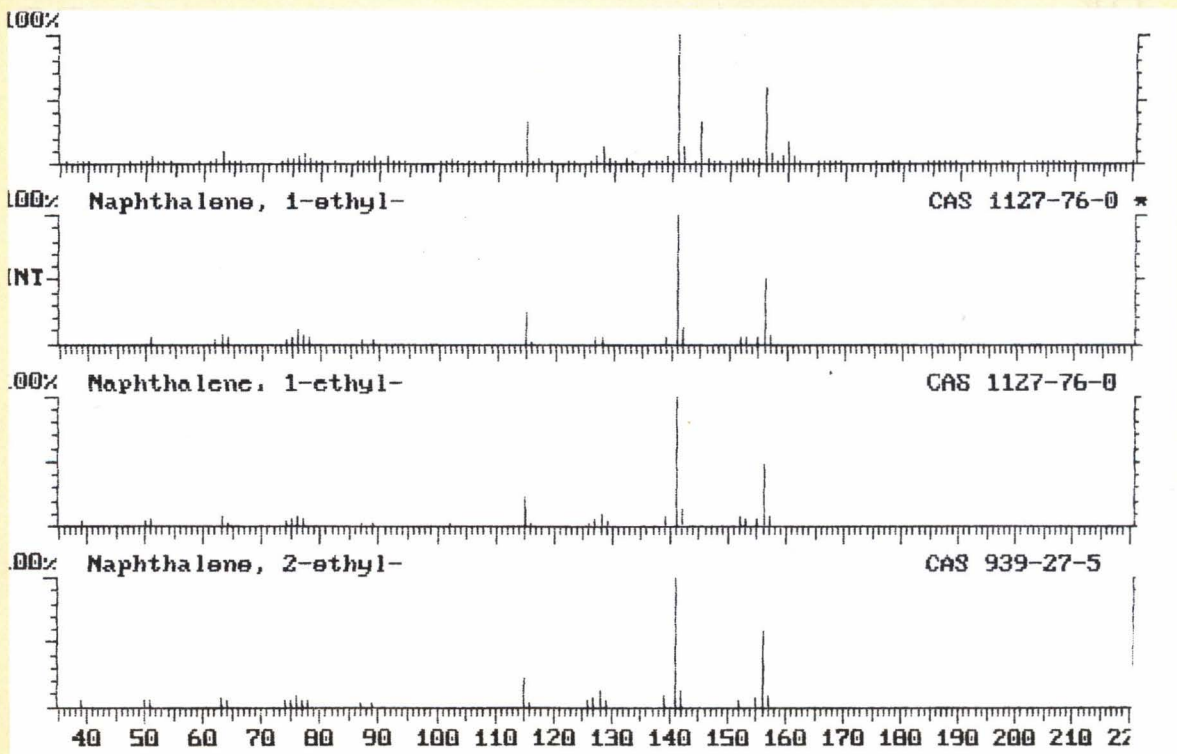
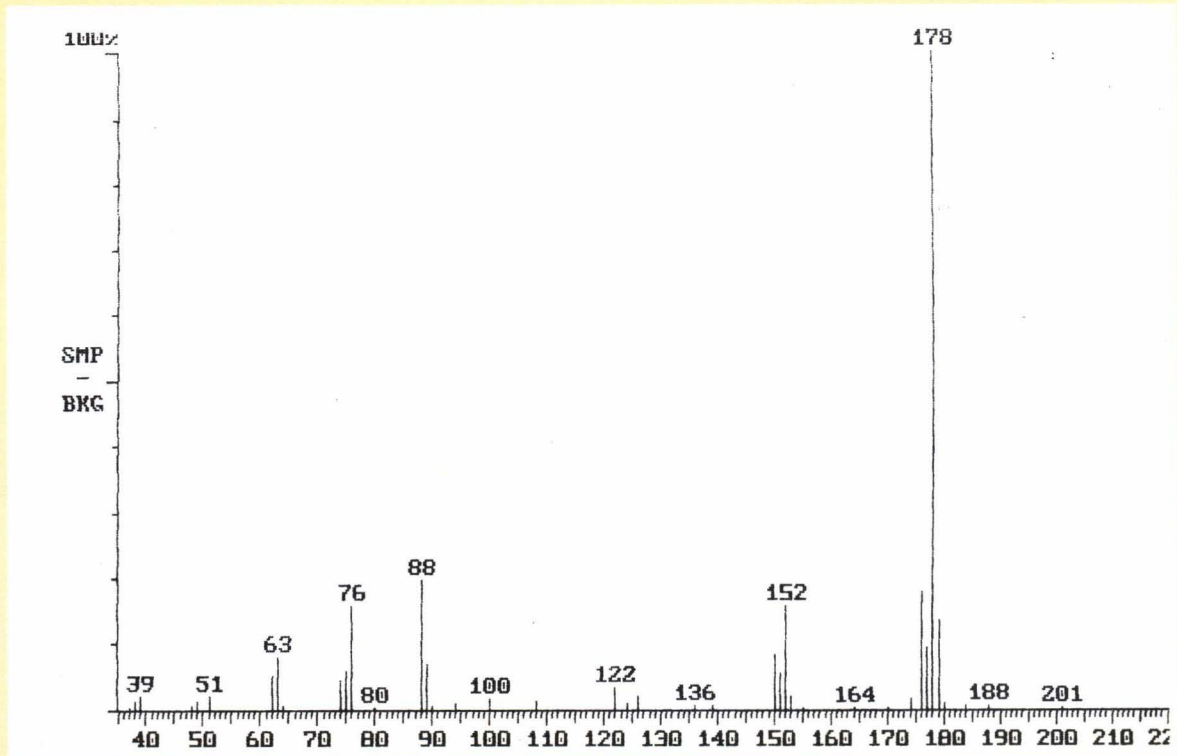
- ۱- Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)
- ۲- Selected Ion Monitoring (SIM)

منابع مورد استفاده

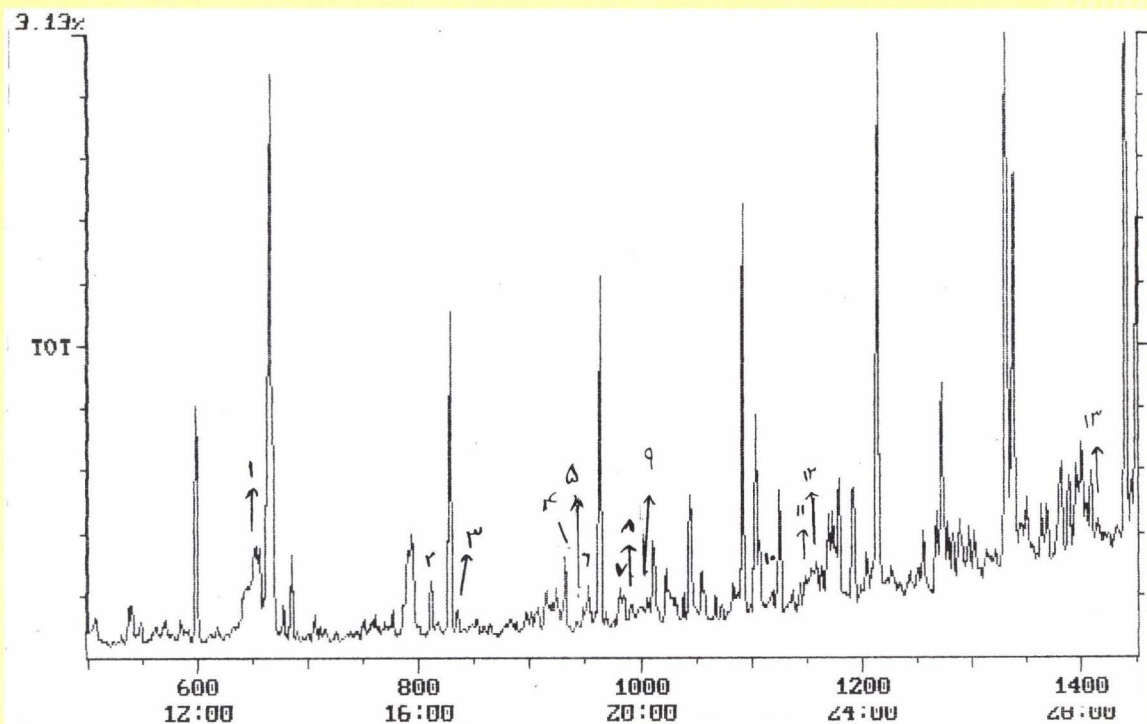
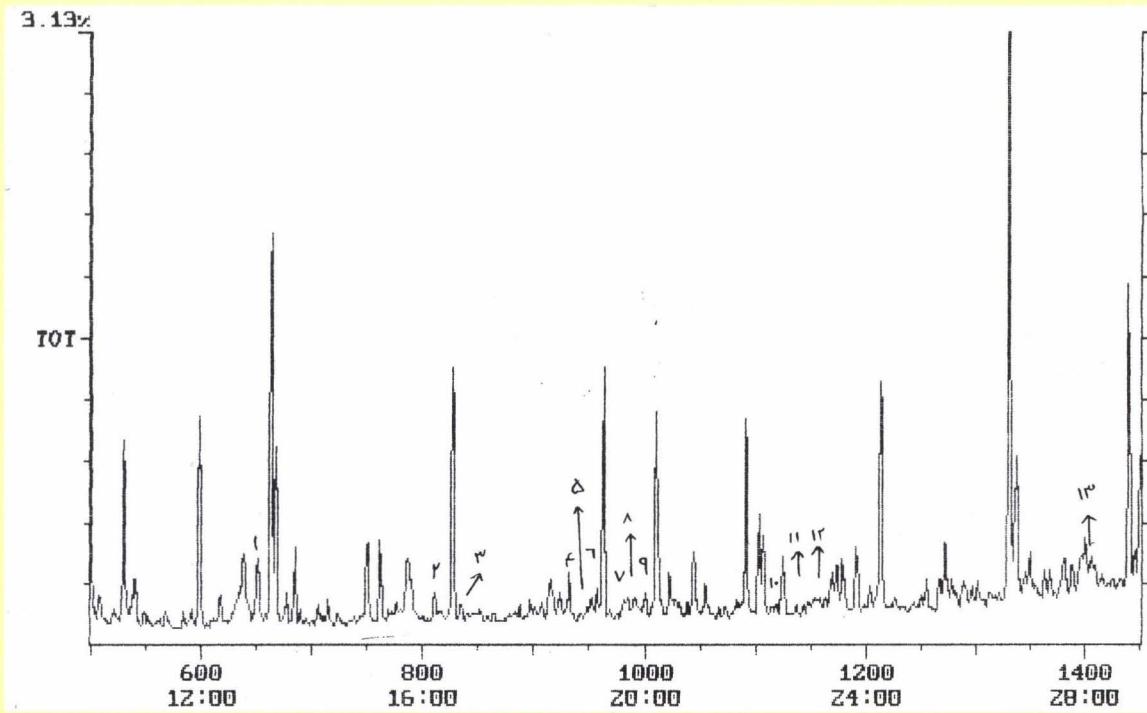
- ۱- اصفیاء محمود، ۱۳۷۱، موثاژنز آزولا، پایان نامه کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران



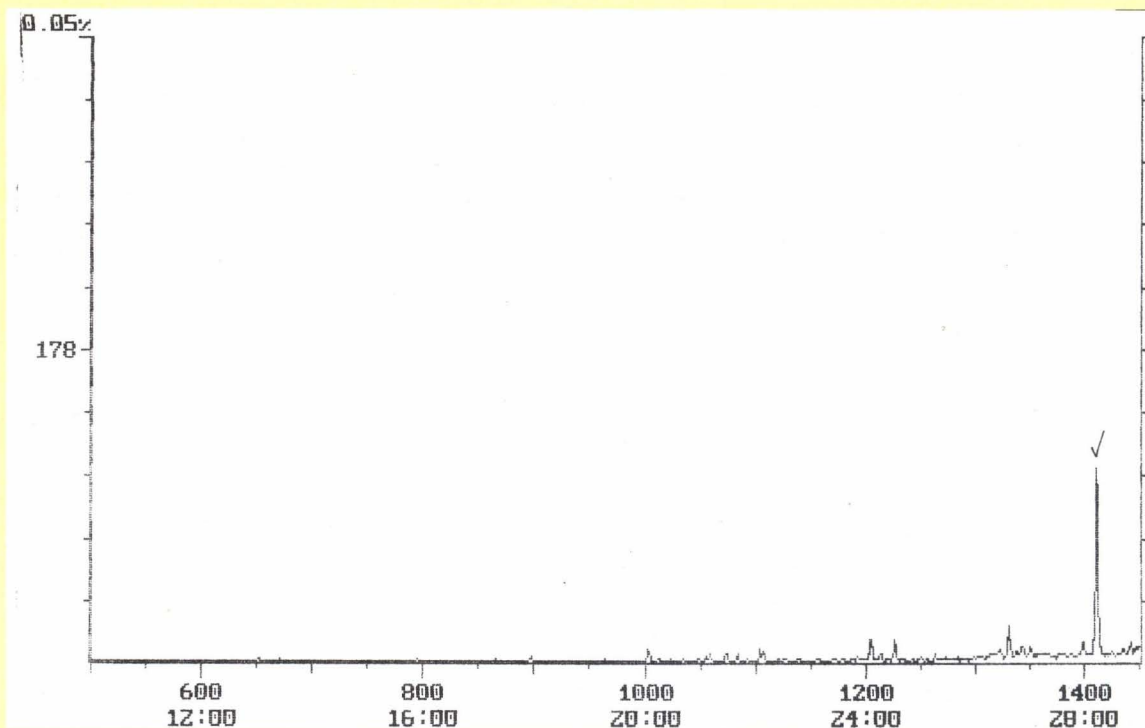
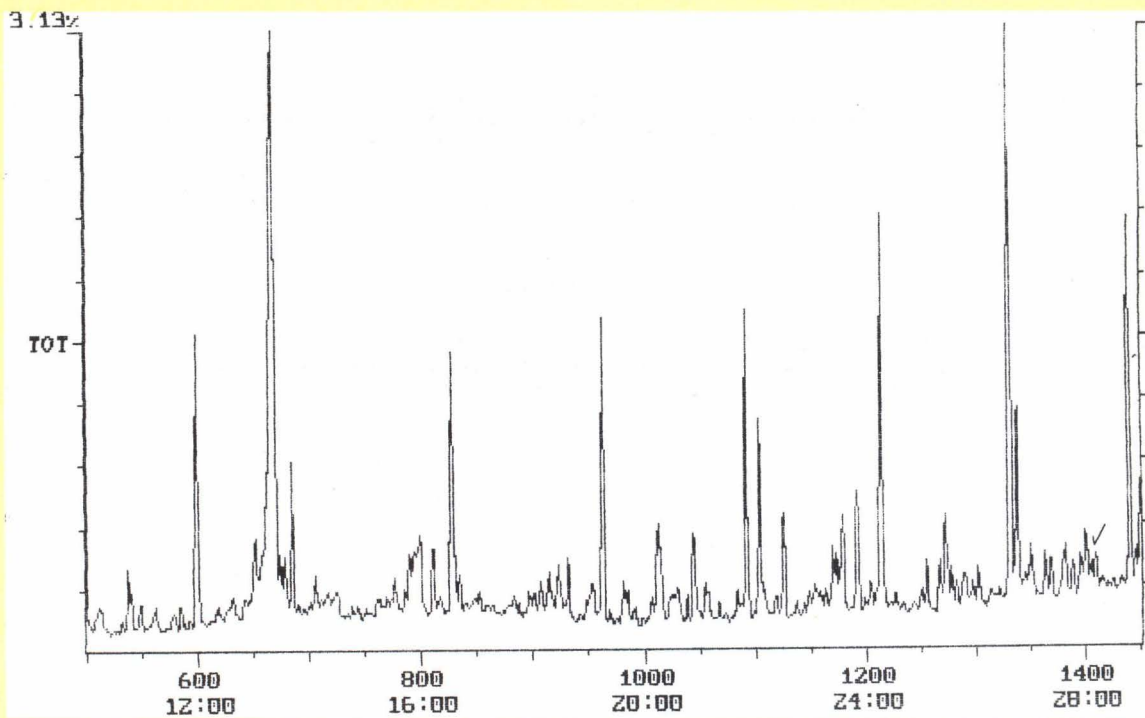
نمودار ۳- طیف جرمی ۲- اتیل نفتالن تهیه شده با دستگاه چهار قطبی



نمودار ۴- طیف جرمی آنتراسن با جستجوی کتابخانه ای (بیک شماره ۱۳ کروماتوگرام نمودار ۱)



نمودار ۵- کروماتوگرام GC/MS بالا مربوط به نمونه استخراج شده از آزولای فصل پاییز هندخاله و کروماتوگرام پایین مربوط به منطقه شیجان



نمودار ۶- کروماتوگرام GC/MS نمونه استخراج شده از آزولای فصل پاییز منطقه سیاه کشیم (بالا) و یون کروماتوگرام بدست آمده از همان نمونه با روش SIM (پایین) در $M/z = 178$