|  |  |
| --- | --- |
| **بنزو[jk]فلوئورین** | **benzo[jk]fluorene** |
| **فرمول شیمیایی**: C16H10**وزن مولکولی**:26/202 | **CAS** : 206-44-0**RTECS** : LL4025000 |
| **اسامی مترادف**:فلوئورانتین ؛ ایدریل |
| **ویژگی ها**: نقطه ذوب c˚ 110؛ نقطه جوش c˚ 384 |
| **حدمجاز**: - |
| **احتیاطات ویژه**: بنزو[jk]فلوئورین سرطان زا است. توزین آن باید در داخل محفظه های دستکش دار انجام گیرد. نمونه های استفاده شده و استاندارد های بکارنرفته جزو زباله های سمی هستند. شمارنده و تجهیزاتی که دارای تابش فرابنفش هستند باید مرتبا به لحاظ تابش فلورسانس به عنوان شاخص آلودگی با PAH مورد بررسی قرار گیرند. |
| **مواد و محلولهای لازم**: 1. حلال جهت استخراج از فیلتر: استونیتریل، بنزن، سیکلوهگزان، متیلن کلراید، یا سایر حلال های مناسب، از گروه آفت کش.
2. تولوئن، آفت کش
3. آب مقطر دیونیزه شده
4. استانداردهای مرجع بنزو[jk]فلوئورین ، مناسب برای ترکیبات حاوی بنزو[jk]فلوئورین نمونه برداری شده
5. محلول های استاندارد، mg/ml 25/0 . خلوص استانداردهای مرجع بنزو[jk]فلوئورین را توسط GC/FID ، و HPLC فلورسانس یا نقطه ذوب بررسی کنید. در صورت لزوم محلول ها را از طریق تبلور مجدد تصفیه کنید. 25 میلی گرم از بنزو[jk]فلوئورین را وارد بالن ژوژه 100 میلی لیتری کرده، و توسط تولوئن به حجم برسانید. اگر درجای خنک و دور از نور نگهداری شود تا شش ماه پایدار است.
6. هلیوم، پیش تصفیه شده
7. هیدروژن، خشک
8. هوای تصفیه شده
 |
| **وسایل و تجهیزات لازم**: 1. نمونه بردار:
* فیلتر. فیلتر غشایی PTFE لایه ای، پورسایز µm 2، و قطر mm 37 ( Gelman Zefluor، Memnrana، Pleasantown، CA، یا مشابه آنها)، داری یک جداکننده در پشت آن(قطر خارجی mm 37 و قطر داخلی mm 32) ، از یک لایه محافظ سلولزی جدا می شود و داخل کاست نگهدارنده فیلتر قرار می گیرد.

نکته: اگر نمونه برداری در برابر تابش آفتاب صورت می گیرد، برای جلوگیری از تخریب نمونه از کاست تیره استفاده کرده یا آن را با فویل بپوشانید.نکته: فیلترها را هنگامی که از بسته فیلتر بیرون می آورید وزن کنید، و قبل از توزین نهایی بگذارید تا 24 ساعت با هوای آزمایشگاه به حالت تعادل در بیاید.* لوله جاذب، که توسط لوله های PVC با حداقل طول به فیلتر وصل می شود. بعد از نمونه برداری درپوش های پلاستیکی مورد نیاز است. رزین XAD-2 شسته شده (بخش جلویی لوله: mg 100، بخش عقبی لوله= mg 50) ( Supelco ORBO 43 یا انواع مشابه). فشار عبوری از لوله در دبی L/min 2 باید kPa 2-6/1 (15 تا 20 سانتی متر آب) باشد.
1. پمپ نمونه بردار فردی قادر به کار در دبی L/min 2 در 8 ساعت، به همراه لوله های رابط قابل انعطاف.
2. فویل آلومینیومی
3. ویال شیشه ای 20 میلی لیتری براق ، با درپوش پیچ دار PTFE
4. خنک کننده ، که در داخل کیف قرار داده شده
5. لوله کشت، mm 100 × 13، با درپوش پیچ دار PTFE
6. پنس
7. فیلترها، µm 45/0 ، PTFE (برای فیلتراسیون محلول های نمونه)
8. پیپت 5 میلی لیتری
9. سرنگ یا میکروپیپت، µL 100-1
10. حمام اولتراسونیک
11. گازکروماتوگراف با آشکارساز شعله ای-یونی، اینتگراتور الکترونیکی، و ستون موئین
12. بالن ژوژه های 10 و 100 میلی لیتری
13. روشنایی در آزمایشگاه: لامپ التهابی یا فلورسنت محافظ در برابر UV
 |
| **نمونه برداری**: 1. پمپ های نمونه بردار فردی را کالیبره کنید. ضمن اینکه در هنگام کالیبراسیون یک نمونه بردار را نیز به پمپ متصل کنید.
2. نمونه های فردی را در دبی L/min 2 برای عبور حجم هوای 200 تا 1000 لیتر بگیرید. بر روی فیلترهای 2 میکرومتری PTFE هشت نمونه محیطی همزان در دبی 2 تا 4 لیتر در محوطه ای که به نظر می رسد حاوی بالاترین غلظت بنزو[jk]فلوئورین است، بگیرید.

نکته: نمونه های محیطی برای انتخاب حلال مورد نیاز هستند.1. بلافاصله بعد از نمونه برداری، فیلتر را توسط پنس با دقت به ویال انتقال دهید. برای جلوگیری از بهم خوردن مواد رسوب کرده لبه ی فیلتر را بگیرید. درپوش ویال را بسته و آن را در فویل آلومنیوم قرار دهید.

نکته: این مرحله برای جلوگیری از تصعید و تخریب آنالیت توسط نور و از دست رفتن آن ضروری است.1. درپوش لوله های جاذب را بسته و آن را در فویل آلومینیوم بپیچید.
2. نمونه ها را در محفظه های عایق دارای خنک کننده به آزمایشگاه انتقال دهید.
 |
| **آماده سازی**:نکته: اشعه فرابنفش می تواند باعث تنزل بنزو[jk]فلوئورین شود. از لامپ فلورسنت زرد دارای محافظ جاذب UV یا از لامپ های التهابی استفاده کنید.1. به محض دریافت نمونه در آزمایشگاه آن را خنک کنید.
2. حلال بهینه را جهت استخراج تعیین کنید.
* فیلتر های نمونه های محیطی را به مدت 24 ساعت در آزمایشگاه رها کرده تا با جو آن به حالت تعادل درآید.
* فیلترهای محیطی را وزن کنید. اختلاف وزن (اولیه و نهایی) را برای هر فیلتر محاسبه کنید.
* جفت اول فیلترها را توسط استونیتریل ، جفت دوم را توسط بنزن، جفت سوم را توسط سیکلوهگزان، و جفت چهارم را توسط متیلن کلراید استخراج کنید.

نکته: حلال های دیگر را اگر مناسب بود استفاده کنید. بنزو[jk]فلوئورین ممکن است مانند ذرات بر روی فیلتر جذب شود. لازم است حلالی را بیشترین مقدار بازیافت بنزو[jk]فلوئورین را در نمونه ها دارد شناسایی کنید. * محلول استخراج شده را برای تعیین مقدار بنزو[jk]فلوئورین آنالیز کنید. جرم کلی بنزو[jk]فلوئورین بدست آمده را به جرم نمونه جمع آوری شده تعدیل کنید.
* حلالی را که بیشترین مقدار بنزو[jk]فلوئورین را بازیافت می کند انتخاب کنید. حلال انتخابی را برای استخراج نمونه های فردی بکار گیرید.
1. نمونه رااز فیلترها استخراج کنید.
* 5 میلی لیتر از حلال را به هر یک از ویال های حاوی فیلتر اضافه کنید.
* درپوش ویال را ببندید و آن را به مدت 15 تا 20 دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار دهید.

نکته: زمانی که مقادیر زیادی مواد ذره ای جذبی (مانند خاکستر معلق یا دوده دیزل ها) موجود باشندممکن است لازم باشد استخراج سوکسله انجام گیرد.1. بنزو[jk]فلوئورین را از حلال جدا کنید.
* بر روی لوله جاذب در جلوی بخش اول (بزرگتر) آن علامت بگذارید. لوله را از قسمتی که علامت گذاری کرده اید بشکنید.
* محتوی بخش جلویی لوله جاذب را به همراه لایه پشم شیشه بخش جلویی را به یک لوله کشت منتقل کنید. بخش عقبی لوله جاذب را به همراه لایه پشم شیشه میانی به لوله کشت دیگری منتقل کنید.
* 5 میلی لیتر تولوئن به هر یک از لوله های کشت افزوده و درپوش آن را ببندید.
* نمونه ها را به مدت 30 دقیقه رها کنید. گهگاهی آن را تکان دهید.
1. فیلتراسیون تمامی نمونه های استخراج شده را توسط یک فیلتر غشایی µm 45/0 انجام دهید.
 |
| **کالیبراسیون و کنترل کیفی**:1. روزانه با حداقل شش استاندارد کابردی کالیبراسیون را انجام دهید.
* مقادیری از محلول کالیبراسیون را توسط تولوئن در بالن ژوژه ی 10 میلی لیتری به حجم برسانید (به عنوان مثال 5، 1، 2/0، 05/0، و 005/0 میکروگرم بر میلی لیتر).
* استانداردهای کاربردی و نمونه ها را جداگانه اندازه گیری کنید.
* منحنی های کالیبراسیون را ترسیم کنید (مساحت پیک در برابر میکرو گرم از بنزو[jk]فلوئورین در هر نمونه)
1. راندمان جداسازی و بازیافت
* راندمان جداسازی از لوله جاذب وبازیافت از فیلتر را حداقل برای هر تعداد لوله جاذب و فیلتر که در رنج مورد نظر استفاده شده اند، تعیین کنید.
1. فیلترها. با استفاده از سرنگ میکرولیتری یا میکروپیپت، در هر یک از 5 غلظت محلول استاندارد چهار فیلتر را spike کنید. بگذارید فیلترها در تمام طول شب در یک محیط تاریک خشک شوند. فیلترها را آنالیز کنید (مراحل 3و5 آماده سازی و 1تا 3 اندازه گیری). منحنی را برای بازیافت در برابر مقدار بدست آمده از اندازه گیری ترسیم کنید.
2. لوله های جاذب. محتوی بخش جلویی یک لوله جاذب استفاده نشده را به یک لوله کشت انتقال دهید. 24 لوله کشت را به جهت اندازه گیری راندمان جداسازی در 5 غلظت محلول استاندارد بعلاوه شاهد ها آماده کنید. با استفاده از سرنگ میکرولیتری یا میکروپیپت محلول استاندارد را مستقیما به جاذب اضافه کنید. درپوش لوله های کشت را بسته و بگذارید تمام شب در محیط تاریک بماند. بر اساس مراحل مراحل 4و5 آماده سازی و 1تا 3 اندازه گیری آنالیز را انجام دهید. منحنی را برای راندمان جداسازی در برابر مقدار بدست آمده از اندازه گیری ترسیم کنید.
* راندمان جداسازی و بازیافت را برای 2 غلظت در هر ستِ نمونه بررسی کنید. اگر در منحنی راندمان جداسازی اختلاف بیش از ±5% بود، آنگاه منحنی راندمان جداسازی و بازیافت را دوباره تعیین کنید.
1. حداقل 3 نمونه شاهد را برای هر نمونه مورد آنالیز قرار دهید.
 |
| **اندازه گیری**:1. دستگاه گازکروماتوگراف را بر اساس توصیه سازنده و تحت شرایط زیر تنظیم کنید.
* آنالیت(ماده مورد تجزیه): بنزو[jk]فلوئورین
* استخراج: mL 5 حلال آلی مناسب برای نمونه مورد نظر(مرحله 2آماده سازی)
* دمای تزریق:C ْ200
* دمای آشکارساز:C ْ250
* برنامه ریزی دمایی:C ْ 290-130 درC/min ْ4
* گاز حامل: هلیوم
* ستون: موئین،سیلیکای گداخته شده، با قطر داخلی mm 32/0
1. بخشی از نمونه را به دستگاه تزریق کنید. برنامه ریزی دمایی را شروع کنید.
2. مساحت پیک ها را محاسبه کنید.

نکته1: زمان ماند تقریبی بنزو[jk]فلوئورین 4/21 دقیقه است.نکته2: اگر سطح پیک بالاتر از گستره منحنی کالیبراسیون بود، با حلال مناسب رقیق کرده و مجددا آنالیز کنید و یک ضریب ترقیق مناسب در محاسبات وارد کنید.نکته3: اگر نمونه مداخله گرهای زیادی داشته باشد، ممکن است تصفیه مضاعف نمونه ها لازم باشد. روشهای تصفیه زیادی منتشر شده اند. جداسازی مایع-مایع بین سیکلوهگزان و نیترومتان کاربرد زیادی داشته است. اما ممکن برای نمونه های خاصی سایر روشها مناسب تر باشد. |
| **مداخله گرها**:هر ماده ای که در زمان ماند مورد نظر در گازکروماتوگرافی استخراج می شود می تواند ایجاد تداخل کند. گرما، ازن، NO2، یا اشعه UV ممکن است موجب تداخل شوند. |
| **محاسبات**:1. جرم برحسب µg (تصحیح شده برای راندمان جذب یا بازیافت) بنزو[jk]فلوئورین موجود در فیلتر (W) و در بخش جلویی (Wf) و عقبی (Wb) لوله جاذب نمونه اصلی، و در فیلتر (B) و بخش جلویی (Bf) و عقبی (Bb) لوله جاذب نمونه شاهد را محاسبه کنید.
2. غلظت (C) بنزو[jk]فلوئورین را بر حسب mg/m3 در هوا، به صورت مجموع غلظت ذرات و بخار در حجم واقعی هوای نمونه برداری شده (V) بر حسب لیتر محاسبه کنید.

$$C= \frac{(W-B+ W\_{f}+ W\_{b}+ B\_{f}+ B\_{b})}{V}, {mg}/{m^{3}}$$ |