|  |  |
| --- | --- |
| **فورمتانات** | **Formetanate** |
| **فرمول شیمیایی**: C11H16ClN3O2**وزن مولکولی**: 75/257 | **CAS** : 23422-53-9**RTECS** : FC2800000 |
| **ساختارمولکولی:** **D:\payan name- pedram\project - Dr.Golbabaee\Analytical methods- final\new\ORGANONITROGEN PESTICIDES\Untitled1.png** |
|  |
| **ویژگی ها**: نقطه ذوب ˚c 202-200 ؛ حلالیت در آب بیش از 50% به صورت هیدروکلراید |
| **حدمجاز**: **-**  |
| **احتیاطات ویژه**: از تماس پوستی و استنشاق بخار یا گرد و غبار فورمتانات خودداری کنید. در هنگام کار با آن از دستکش و لباس های مناسب استفاده کنید.از تماس پوستی با حلال ها اجتناب کرده و آن را در معرض شعله باز قرار ندهید. در زیر هود با آن کار کنید.از تماس پوستی با فسفریک اسید و n-بوتیل ایزوسیانات خودداری کنید. n-بوتیل ایزوسیانات می تواند ایجاد حساسیت کند. |
| **مواد و محلولهای لازم**: 1. فورمتانات؛ استاندارد داخلی استانیلید و استوفنون؛ درجه خلوص آزمایشگاهی
2. استونیتریل؛ خلوص UV
3. متانول؛ خلوص HPLC
4. آب مقطر دیونیزه شده؛ ASTM نوع II.
5. 1-پروپانول؛ خلوص UV
6. n-بوتیل ایزوسیانات
7. تری تیل آمین(TEA)، خلوص HPLC؛ در محیط خنک (در دمای 0-4 درجه سانتی گراد) نگه داشته شود و برای نگهداری طولانی تر در قفسه، تحت جریان نیتروژن ذخیره گردد.
8. اورتو- فسفریک اسید، >85% وزنی، با درجه خلوص ACS یا بالاتر
9. محلول استخراج؛ محلول های تری تیل آمین فسفات (TEA-PQ) و استاندارد داخلی را به طور جداگانه آماده کنید.
* محلول نگهدارنده TEQ-PO4، 1/0 مولار؛ 4/1 میلی لیتر TEA را در 90 میلی لیتر آب دیونیزه حل کنید. با اضافه کردن اسید فسفریک pH آن را به (±1/0(0/7 رسانده و توسط یک pH متر کالیبره ثبت کنید. حجم آن را به 100 میلی لیتر برسانید. درپوش آن را محکم بسته و در یخچال نگه داری کنید.

نکته: از کلرواستیک اسید به عنوان نگهدارنده استفاده نکنید. به عنوان مثال، فورمتانات در حضور کلرواستیک اسید ناپایدار است.* محلول های مادر استاندارد داخلی، 5 میلی گرم بر میلی لیتر؛ 100 میلی گرم از هر کدام از استاندارد های داخلی انتخاب شده را به 20 میلی لیتر از محلول های مورد نظر اضافه کنید. سپس آن را در استونیتریل حل کنید، درپوش آن را گذاشته و در دمای 1± 12- درجه سانتی گراد نگهداری کنید.
* محلول استخراج نهایی؛ 1 میلی لیتر محلول TEA-PO4 و 12 میلی لیتر محلول استوک استاندارد داخلی را به یک بالن ژوژه 500 میلی لیتری اضافه کنید. سپس آن را با استونیتریل به حجم برسانید. غلظت TEA = 2/0 میلی مول، آب = 2/0% و استاندارد داخلی 120 میکروگرم برمیلی لیتر. تا 30 روز در دمای 0 – 4 نگه داری کنید.
1. محلول استوک آنالیز فورمتانات، mg/mL 5 ؛ محلول های استاندارد فورمتانات را در بالن ژوژه های جداگانه به نسبت حجمی 50/50 متانول/استونیتریل اضافه کنید. سپس در دمای 1± 12- درجه سانتی گراد نگهداری کنید. ( محلول ها تا 30 روز پایدار می مانند.
2. محلول استوک کالیبراسیون. محلول های استوک فورمتانات را در یک بالن ژوژه ترکیب کنید تا بالاترین غلظت استاندارد تولید گردد. ( 120 تا 480 میکروگرم بر میلی لیتر پیشنهاد می شود).
3. محلول های اسپایک کنترل کیفیت: محلول های استوک فورمتانات را با غلظت هایی که در رنج آنالیز باشد به استونیتریل اضافه کنید و آن را در فریزر تحت دمای 1± 12- درجه سانتی گراد تا دقیقا قبل از زمان spiking نگهداری کنید.

نکته: محلول های spike نباید حاوی استاندارد داخلی باشند.1. فاز متحرک A. 20 میلی لیتر از 1-پروپانول و 8/2 میلی لیتر از TEA را در یک بالن ژوژه 1 لیتری ریخته و توسط آب دیونیزه به حجم برسانید. سپس با اضافه کردن اسید فسفریک و توسط pH متر، pH آن را روی (±1/0(0/7 تنظیم کنید. غلظتهای نهایی: 2% 1- پروپانول، TEA-PO4 02/0 مولار
2. فاز متحرک B. 20 میلی لیتر از 1-پروپانول را در یک بالن ژوژه 1لیتری به استونیتریل اضافه کرده و به حجم برسانید.
 |
| **وسایل و تجهیزات لازم**: 1. نمونه بردار: (OSHA VERSATILE SAMPLER) OVS-2، 13 میلی متر قطر ورودی، 6 میلی متر قطر خروجی. بخش جلویی حاوی 270 میلی گرم جاذب XAD-2 با مش 60/20 می باشد که توسط یک فیلتر با الیاف کوارتزی با قطر 11 میلی متر و یک حلقه تفلون در محل نگه داشته شده و این قسمت توسط یک لایه فوم پلی اورتان از بخش عقبی که حاوی 140 میلی گرم جاذب XAD-2 می باشد جدا شده است. قسمت عقبی توسط یک لایه فوم پلی اورتان در محل نگه داشته می شود. لوله در بازار موجود است ( SKC 226-58). لوله های OVS-2 با فیلترهای فایبر گلاس نیز همان میزان کارایی جداسازی را داشته و می توان از SKC(226-30-16) و SUPELCO(ORBO-49P) به صورت تجاری تهیه کرد.
2. پمپ نمونه برداری فردی با دبی L/min 1 –1/0 ، به همراه لوله های رابط قابل انعطاف
3. دستگاه HPLC قادر به ترکیب 2 فاز متحرک در یک گرادیان خطی باشد. همچنین باید قادر به پمپ کردن تا فشار 4000 psi بوده تا بتواند ستونی به طول 300 میلی متر ایجاد کند.
4. نمونه گیر خودکار: توانایی تزریق 5 میکرولیتر. اگر در یخچال نگهداری شود، ممکن است ماده نگهدارنده(TEA-PQ) در محلول جداسازی حذف شود.
5. ستون های تجزیه:
* ستون اولیه: ستون غیر فعال اکتادسیلسیلیل (C18)، مانند NOVA-PAK C18، 9/3 میلی متر (ID) × 300 میلی متر، سایز ذره 5 میکرومتر
* ستون ثانویه : ستون سیانوپروپیل سیلیکا، مانند Supleco LC-CN، 6/4 × 250 میلی متر، سایز ذره 5 میکرومتر.
1. ستون محافظ
2. آشکارساز UV، با یک سلول با ورودی به طول 1 سانتی متر که قادر است 2 طول موج را (200 و 225 نانومتر) همزمان پایش کند.
3. ویال های شیشه ای، 4 میلی لیتری با درپوش پیچ دار PTFE؛ ویال شیشه ای نموگیر خودکار، 2 میلی لیتری با درپوش پیچ دار پلی تترا فنل اتیلن
4. سرنگ های 01/0، 05/0، 1/0، 1 و 5/2 میلی لیتری؛ 1- یا 5/2 میلی لیتر برای فیلتراسیون نمونه ها
5. بالن ژوژه 2، 5، 10، 25، 50، 100، 500 و 1000 میلی لیتری
6. فیلتر سرنگ پلی تترا فنل اتیلن: 45/0 میکرومتر

(Gelman Acrodisc CR PTFE 0.45 µm filter, Product 4472, Gelman Sciences, Ann Arbor, MI or equivalent1. انبرک
2. تکان دهنده لوله یا ویال کوچک که 5 تا 10 RPM قدرت داشته باشد.
3. pH متر
4. سیلندر مدرج؛ 10 میلی لیتر، 25 میلی لیتر
5. پیپت هاو شیشه های مصرفی
 |
| **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 بردار را توسط لوله های رابط قابل انعطاف به پمپ نمونه بردار فردی متصل کنید. نمونه بردار باید به صورت عمودی در منطقه تنفسی کارگران به گونه ای قرار گیرد که خللی در کار ایجاد نگردد.
3. نمونه برداری را در یک دبی مشخص بین L/min 1 – 1/0 برای عبور حجم هوای 60 تا 480 لیتر انجام دهید.
4. درپوش پلاستیکی نمونه بردار را گذاشته و آن را با دقت برای انتقال بسته بندی کنید.
 |
| **آماده سازی**:1. درپوش را از قسمت بزرگ بردارید و حلقه نگدارنده پلی تترا فلورواتیلن را جدا کنید; فیلتر و بخش XAD-2 جلویی را به یک ویال 4 میلی لیتری منتقل کنید. لایه فوم پلی اورتان همراه با XAD-2 باقیمانده را در ویال 4 میلی لیتری دیگر منتقل کنید.
2. mL 2 حلال واجذب را به همراه استاندارد داخلی با استفاده از یک سرنگ 5/2 یا 5 میلی لیتری یا پیپت 2 میلی لیتری به هر یک از ویال ها اضافه کنید. درپوش ویال ها را بگذارید.
3. ویال ها را به صورت انتها به انتها به مدت تفریبا 45 دقیقه و در 5 تا 10 دور بر دقیقه (RPM) هم بزنید.
4. بخشی از مایع را با استفاده از یک فیلتر پلی تترا فنل اتیلن 45/0 میکرومتری به یک ویال اتوسمپلر 2 میلی لیتری منتقل کنید.
 |
| **کالیبراسیون و کنترل کیفی**:1. زمان های ماند برای فورمتانات را با استفاده از ستون و شرایط کروماتوگرافی که برای هر آنالیز انتخاب شده تعیین کنید.
2. کالیبراسیون را روزانه از طریق حداقل 6 استاندارد کاربردی که رنج تجزیه فورمتانات را پوشش می دهد انجام دهید.
* استانداردهای کاری را با رقیق کردن مایع استاندارد کالیبراسیون (HIGH LEVEL) توسط محلول جداسازی حاوی استانداردهای داخلی در یک بالن ژوژه تهیه کنید. همچنین یک محلول جداسازی شاهد (UNSPIKED) برای کالیبراسیون تهیه کنید.
* بخشی از محلول استاندارد و شاهد را برای آنالیز فیلتر کنید (مرحله 4 آماده سازی(.
* نمونه ها، شاهدها و نمونه های کنترل آزمایشگاهی را باهم آنالیز کنید( مراحل 1 تا 3 اندازه گیری).
* یک منحنی کالیبراسیون رسم کنید.(نسبت مساحت پیک فورمتانات بر مساحت پیک استاندارد داخلی در برابر غلظت فورمتانات بر حسب میکروگرم)

نکته: می توانید از یک استاندارد داخلی توصیه شده استفاده کنید، اما اگر دقت وسیله تزریق و سیستم HPLC به اندازه کافی باشد نیازی به این کار نیست.1. نمونه های رانمان جداسازی(DE) و نمونه های کنترل آزمایشگاهی را با هر یک از ست نمونه ها در رنج 10% نمونه ها آماده کنید.
* درپوش و حلقه نگهدانده پلی تترا فنل اتیلن را از قسمت بزرگ انتهایی لوله نمونه برداری بردارید. حجم مشخصی از محلول کالیبراسیون را در سطح فیلتر با الیاف کوارتزی استفاده کنید.

نکته: در هر بار بیشتر از 15 تا 30 میکرولیتر SPIKE نکنید. اگر بیشتر از این مقدار نیاز بود، نمونه بردار را به یک پمپ خلا با دبی کمتر 1 لیتر بر دقیقه متصل کنید و بعد محلول SPIKING را به میزان 15 تا 30 میکرولیتر استفاده کنید. اجازه دهید چندین دقیقه حلال بین مایعات بخار شده تااز WICKING در طول کناره های لوله به سمت بخش عقبی جلوگیری شود( 5% یا بیشتر ممکن است در دیواره های لوله رسوب کند).* درپوش آن را گداشته و اجازه دهید حداقل 1 ساعت باقی بماند.
* یک نمونه بردار UNSPIKED به عنوان شاهد تهیه کنید
* توسط نمونه های اصلی، شاهد و استاندارد های مایع آنالیز کنید( مراحل 1 تا 3 اندازه گیری).
 |
| **اندازه گیری**:1. دستگاه کروماتوگراف مایع را بر اساس توصیه سازنده و تحت شرایط زیر تنظیم کرده و سپس بخشی از نمونه را با استفاده از نمونه بردار خودکار به دستگاه تزریق کنید.
* آنالیت(ماده مورد تجزیه): فورمتانات
* جداساز: mL 2 ؛ 2/0% حجمی بافر تری اتیل آمین فسفات 1/0 مولار در استونیتریل
* طول موج: 254 نانومتر
* زمان ماند: 7/7 دقیقه
* ستون: NOVA-PAK® C-18, 30 cm x 3.9-mm ID یا انواع مشابه

نکته1: اگر سطح پیک بالاتر از گستره منحنی استانداردهای کاربردی بود، با حلال واجذب رقیق کرده و مجددا آنالیز کنید و یک ضریب ترقیق مناسب در محاسبات وارد کنید.1. مساحت پیک فورمتانات و استاندارد داخلی را محاسبه کنید. مساحت پیک آنالیت را بر مساحت پیک استاندارد داخلی ( در همان کروماتوگرام) تقسیم کنید.
 |
| **مداخله گرها**: به علت پاسخ وسیع آشکار ساز UV در طول موج های پایین مداخله گرهای زیادی ممکن است وجود داشته باشند. در آنالیز فورمتانات مداخله گرهای زیر را می توان برشمرد:Methomyl ؛ Sulfometuron methyl ؛ Acetanilide /IS ؛ Fenuron |
| **محاسبات**:1. جرم برحسب µg (تصحیح شده برای راندمان واجذب) فورمتانات موجود در فیلتر نمونه و بخش جلویی (Wf) و عقبی (Wb) لوله نمونه اصلی، و بخش جلویی (Bf) و عقبی (Bb) نمونه شاهد را توسط منحنی کالیبراسیون محاسبه کنید.

نکته: فیلتر با بخش جلویی ترکیب شده است. اگر Wb>Wf/10 ، به این معنی است که ماده به بخش عقبی نشت کرده و نمونه از دست می رود.1. محاسبه غلظت (C) فورمتانات در حجم هوای نمونه برداری شده (V) بر حسب لیتر:

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