

سید پروردگار



مدیریت پژوهش و فناوری
امور پژوهش، توسعه و فناوری

پروژه پژوهشی

ارزیابی ریسک تماس تنفسی نفرات بخش فنی شرکت ملی گاز ایران با ترکیبات
بودارکننده گاز و تدوین راهکارهای پیشگیرانه و کنترلی

واحد پژوهشی:

دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی دانشکده بهداشت

گروه بهداشت حرفه ای و ایمنی کار

مجری طرح:

رضوان زنده دل

گزارش نهایی

تاریخ تنظیم بهمن ۱۳۹۸

بسمه تعالی

شناسنامه گزارش

عنوان پروژه: ارزیابی ریسک تماس تنفسی نفرات بخش فنی شرکت ملی گاز ایران با ترکیبات بودارکننده گاز و تدوین راهکارهای پیشگیرانه و کنترلی

شماره قرارداد: ۱۳۱۱۶۳

واحد پژوهشی: دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی دانشکده بهداشت و ایمنی، گروه بهداشت حرفه ای و ایمنی کار

نام و نام خانوادگی مجری پروژه: رضوان زنده دل

نام و نام خانوادگی مشاورین پروژه: مصطفی مهرباب، رضا غلامی

نام و نام خانوادگی همکاران مجری: علی اصغر موسوی مهربانی و

نام و نام خانوادگی ناظرین: دکتر مسعود ریسمانچیان، دکتر عباس میرزایی

تاریخ شروع: آبان ۹۶ **تاریخ خاتمه:** بهمن ۹۸ **مدت اجرا:** ۲۷ ماه

نوع گزارش: گزارش نهایی

○ مقدماتی مربوط به فاز ۲

● نهایی ویرایش

○ مدیریتی ویرایش

این گزارش در اجرای مفاد پژوهشی شماره ۱۳۱۱۶۳ مورخ ۹۵/۱۲/۲۱ مدیریت پژوهش و فناوری تهیه و کلیه هزینه های اجرای پروژه توسط شرکت ملی گاز ایران تامین و پرداخت شده است.

فهرست مطالب

۱- فصل ۱ کلیات

۲	۱-۱ مهمترین دلایل اجرای طرح
۵	۲-۱ اهمیت موضوع
۱۰	۳-۱ مطالعات تئوری
۱۲	۱-۳-۱ مواد بودارکننده ی گاز طبیعی در ایران
۱۵	۲-۳-۱ کلیاتی در مورد ترکیبات بودارکننده ی گاز
۱۶	۱-۲-۳-۱ ترشیو بوتیل مرکاپتان
۱۸	۲-۲-۳-۱ دی متیل سولفید
۱۹	۳-۲-۳-۱ متیل اتیل سولفید
۲۰	۴-۲-۳-۱ ایزوپروپیل مرکاپتان
۲۱	۵-۲-۳-۱ نرمال پروپیل مرکاپتان
۲۲	۳-۳-۱ دستگاه گاز کروماتوگرافی
۲۵	۱-۳-۳-۱ گاز حامل
۲۶	۲-۳-۳-۱ فلومتر
۲۶	۳-۳-۳-۱ محل تزریق نمونه
۲۷	۴-۳-۳-۱ ستون
۲۸	۵-۳-۳-۱ گرم کننده
۲۸	۶-۳-۳-۱ آشکارساز
۳۵	۴-۳-۱ دستگاه اسپکتروفتومتر
۳۶	۵-۳-۱ دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا
۳۷	۱-۵-۳-۱ پمپ
۳۸	۲-۵-۳-۱ فاز متحرک
۳۸	۳-۵-۳-۱ ستون کروماتوگرافی مایع
۳۹	۴-۵-۳-۱ سیستم تزریق نمونه
۴۰	۵-۵-۳-۱ آشکارساز
۴۰	۶-۳-۱ رادیکال های آزاد
۴۲	۱-۶-۳-۱ گونه های فعال اکسیژن
۴۹	۲-۶-۳-۱ سیستم دفاع آنتی اکسیدانی
۵۳	۳-۶-۳-۱ استرس اکسیداتیو
۵۵	۴-۶-۳-۱ روش های ارزیابی استرس اکسیداتیو
۵۸	۷-۳-۱ فعالیت کولینرژیک

۳-۱-۷-۱ اندازه گیری فعالیت آنزیم استیل کولین استراز..... ۵۹

۲- فصل ۲ بررسی مطالعات گذشته

۱-۲ مقدمه..... ۶۳
۲-۲ مروری بر تحقیقات..... ۶۳
۱-۲-۲ اندازه گیری ترکیبات مرکپتان با روش کروماتوگرافی گازی..... ۶۳
۲-۲-۲ تماس با ترکیبات بودارکننده..... ۶۶
۳-۲-۲ تعیین اثرات مرکپتان هاباتاکیدبر فعالیت کولینرژیک واسترس اکسیداتیو..... ۶۷

۳- فصل ۳ مواد و روشها

۱-۳ مقدمه..... ۷۳
۲-۳ جمع آوری اطلاعات دموگرافیک..... ۷۴
۳-۳ راه اندازی روش اندازه گیری ترکیبات بودارکننده در مواجهه تنفسی..... ۷۵
۳-۳-۱ بهینه سازی شرایط کاربری در دستگاه کروماتوگرافی گازی..... ۷۸
۳-۳-۲ تعیین یون شاخص در دتکتور جرمی..... ۷۹
۳-۳-۳ تعیین کارایی استخراج ترکیبات بودارکننده بر روی فیلتر..... ۷۹
۳-۳-۴ شبیه سازی نمونه برداری ترکیبات بودارکننده از هوا..... ۸۰
۳-۳-۵ کالیبراسیون پمپ نمونه بردار فردی..... ۸۱
۳-۳-۶ ترسیم منحنی استاندارد جهت تعیین مواجهه تنفسی..... ۸۳
۳-۴ تعیین مواجهه تنفسی باترکیبات بودارکننده ی گاز..... ۸۴
۳-۵ تعیین استرس اکسیداتیو..... ۸۶
۳-۵-۱ اندازه گیری پراکسیداسیون لیپیدی در پلاسما..... ۸۶
۳-۵-۲ اندازه گیری توانایی احیای پلاسما..... ۹۱
۳-۶ اعتبار سنجی آزمایشات انجام یافته با روش های کروماتوگرافی..... ۹۳
۳-۶-۱ تعیین دقت..... ۹۳
۳-۶-۲ تعیین صحت..... ۹۴
۳-۶-۳ تعیین حد تشخیص کیفی (LOD)..... ۹۴
۳-۶-۴ تعیین حد تشخیص کمی (LOQ)..... ۹۴
۳-۷ اندازه گیری فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در خون..... ۹۴
۳-۷-۱ روش المن..... ۹۶

۴- فصل ۴ نتایج

۱-۴ مقدمه..... ۱۰۰
۲-۴ راه اندازی روش ارزیابی مواجهه تنفسی با ترکیبات بودارکننده گاز..... ۱۰۱
۱-۲-۴ یون شاخص جهت تعیین کمی ترکیبات بودارکننده..... ۱۰۱
۲-۲-۴ بهینه سازی استخراج ترکیبات بودارکننده ی مدنظر از روی فیلتر..... ۱۰۹
۳-۲-۴ شبیه سازی نمونه برداری ترکیبات بودارکننده از هوا..... ۱۱۰

۴-۲-۴	اعتبار سنجی روش آنالیز ترکیبات بودارکننده.....	۱۱۱
۴-۳	ارزیابی مواجهه تنفسی با ترکیبات بودارکننده گاز.....	۱۱۴
۴-۴	تعیین شاخص های استرس اکسیداتیو.....	۱۱۷
۴-۴-۱	اعتبارسنجی روش ارزیابی مالون دی آلدید در پلاسما.....	۱۱۸
۴-۴-۲	ارزیابی مالون دی آلدید در پلاسما.....	۱۲۰
۴-۴-۳	ارزیابی ظرفیت تام آنتی اکسیدانی پلاسما.....	۱۲۱
۴-۵	ارزیابی فعالیت کولینرژیک.....	۱۲۳
۴-۵-۱	ارزیابی فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در خون.....	۱۲۳

۵-فصل ۵ بحث و نتیجه گیری

۵-۱	ارزیابی مواجهه تنفسی با ترکیبات بودارکننده.....	۱۲۸
۵-۲	ارزیابی میزان استرس اکسیداتیو درمواجهه تنفسی با ترکیبات بودارکننده.....	۱۳۴
۵-۳	ارزیابی فعالیت آنزیم استیل کولین استراز درمواجهه تنفسی با ترکیبات بودارکننده.....	۱۳۷

فهرست جداول

۱۴	جدول ۱-۱: خواص فیزیکی و شیمیایی ترکیبات گوگرد دار
۱۵	جدول ۲-۱: حدود تماس مجاز شغلی برای تعدادی از بودارکننده های گاز
۱۸	جدول ۳-۱: خواص فیزیکی ترکیب ترشیوبوتیل مرکاپتان
۱۹	جدول ۴-۱: خواص فیزیکی ترکیب دی متیل سولفید
۲۰	جدول ۵-۱: خواص فیزیکی ترکیب متیل اتیل سولفید
۳۱	جدول ۶-۱: ترکیباتی با پاسخ بسیار کم در FID
۷۵	جدول ۱-۳: پارامترهای همسان سازی شده در پرسنل فنی و اداری
۸۳	جدول ۲-۳: محدوده ی منحنی استاندارد ترکیبات بودارکننده گاز
۸۴	جدول ۳-۳: وظایف شغلی پرسنل فنی شرکت گاز
۸۴	جدول ۴-۳: تعداد نمونه های تهیه شده براساس وظایف شغلی
۸۵	جدول ۵-۳: تعداد نمونه های تنفسی تهیه شده با حضور ماسک تنفسی
۱۰۲	جدول ۱-۴: دمای بهینه دستگاه کروماتوگرافی جهت جداسازی ترکیبات مدنظر
۱۰۸	جدول ۲-۴: یون شاخص جهت تعیین کمی ترکیبات بودار کننده مدنظر
۱۰۹	جدول ۳-۴: درصد بازیافت ترکیبات بودار کننده در مقادیر مختلف از جیوه استات
۱۰۹	جدول ۴-۴: کارآیی استخراج ترکیبات بودار کننده
۱۱۰	جدول ۵-۴: درصد بازیافت ترکیبات بودار کننده در نمونه شبیه سازی شده
۱۱۲	جدول ۶-۴: درصد بازیافت روش (میانگین $\pm$ انحراف معیار) برای ترکیبات بودارکننده
۱۱۲	جدول ۷-۴: ضریب تغییرات درون روز برای ترکیبات بودارکننده
۱۱۳	جدول ۸-۴: ضریب تغییرات برون روز برای ترکیبات بودارکننده
۱۱۳	جدول ۹-۴: پایین ترین غلظت قابل تشخیص و پایین ترین غلظت قابل ارزیابی
۱۱۴	جدول ۱۰-۴: ضریب تغییرات برون روز برای ترکیبات بودارکننده
۱۱۸	جدول ۱۱-۴: درصد ضریب تغییرات درون ریز مالون دی آلدید
۱۱۹	جدول ۱۲-۴: درصد ضریب تغییرات برون ریز مالون دی آلدید
۱۱۹	جدول ۱۳-۴: درصد بازیافت مالون دی آلدید در پلاسما
۱۲۰	جدول ۱۴-۴: غلظت مالون دی آلدید در افراد مطالعه شده
۱۲۱	جدول ۱۵-۴: نسبت شانس پراکسیداسیون لیپیدی در بین پرسنل فنی و افراد مواجهه نیافته
۱۲۲	جدول ۱۶-۴: نسبت شانس توانایی پلاسما در کاهش یونهای فریک در بین پرسنل فنی و افراد مواجهه نیافته
۱۲۴	جدول ۱۷-۴: رگرسیون لجستیک فعالیت آنزیم استیل کولین استراز

فهرست شکل ها

- شکل ۱-۱: فرمول شیمیایی ترشیوبوتیل مرکاپتان ۱۷
- شکل ۲-۱: نشانه های خطر برای ترکیب ترشیوبوتیل مرکاپتان ۱۷
- شکل ۳-۱: لوزی خطر برای ترکیب ترشیوبوتیل مرکاپتان ۱۷
- شکل ۴-۱: فرمول شیمیایی دی متیل سولفید ۱۸
- شکل ۵-۱: نشانه های خطر برای ترکیب دی متیل سولفید ۱۸
- شکل ۶-۱: لوزی خطر برای ترکیب دی متیل سولفید ۱۹
- شکل ۷-۱: فرمول شیمیایی متیل اتیل سولفید ۱۹
- شکل ۸-۱: نشانه های خطر برای ترکیب متیل اتیل سولفید ۲۰
- شکل ۹-۱: لوزی خطر برای ترکیب متیل اتیل سولفید ۲۰
- شکل ۱۰-۱: فرمول شیمیایی ایزوپروپیل مرکاپتان ۲۱
- شکل ۱۱-۱: فرمول شیمیایی نرمال پروپیل مرکاپتان ۲۱
- شکل ۱۲-۱: جهت حرکت فاز متحرک ۲۳
- شکل ۱۳-۱: قسمت های مختلف دستگاه گاز کروماتوگرافی ۲۳
- شکل ۱۴-۱: پدیده فوق پهن شدگی ۲۵
- شکل ۱۵-۱: اتصال خروجی ستون به محفظه یونش طیف سنج جرمی ۳۴
- شکل ۱۶-۱: دستگاه گاز کروماتوگرافی باطیف سنج جرمی ۳۴
- شکل ۱۷-۱: دستگاه اسپکتروفتومتر UV/Vis ۳۶
- شکل ۱۸-۱: دستگاه کروماتوگرافی مایع با کار آبی بالا ۳۷
- شکل ۱۹-۱: ایجاد استرس اکسیداتیو ۵۵
- شکل ۱-۳: استخراج ترکیبات بودارکننده با روش مایع-مایع ۷۶
- شکل ۲-۳: اتمسفرسازی از ترکیبات بودارکننده ۸۰
- شکل ۳-۳: نمونه برداری هوا از ترکیبات بودارکننده ۸۱
- شکل ۴-۳: هولدردوبخشی برای نمونه برداری از ترکیبات بودارکننده ۸۱
- شکل ۵-۳: کالیبراسیون روتامتر با حباب صابون الکترونیکی ۸۲
- شکل ۶-۳: منجنی کالیبراسیون روتامتر با حباب صابون ۸۳
- شکل ۷-۳: ساختار شیمیایی مالون دی آلدید ۸۷
- شکل ۸-۳: تبدیل ۱و ۳و ۳-تترا اتوکسی پروپان به مالون دی آلدید ۸۷
- شکل ۹-۳: کروماتوگرام مالون دی آلدید ۸۹
- شکل ۱۰-۳: کروماتوگرام پلاσμα آغشته نشده به مالون دی آلدید ۹۱

- شکل ۳-۱۱: کروماتوگرام پلاسما حاوی مالون دی آلدید ۹۱
- شکل ۳-۱۲: واکنش بین DTNB و گروه تیول ایجاد شده در اثر کاتالیز آنزیم ۹۶
- شکل ۴-۱: کروماتوگرام ترکیبات بودارکننده با شرایط ۲۵۴۲ NIOSH ۱۰۱
- شکل ۴-۲: کروماتوگرام ترکیبات بودارکننده با ستون DB-1 ۱۰۲
- شکل ۴-۳: کروماتوگرام ترکیبات بودارکننده با ستون DB-5 ۱۰۳
- شکل ۴-۴: کروماتوگرام ترکیبات بودارکننده با ستون DB-10 ۱۰۳
- شکل ۴-۵: کروماتوگرام ترکیبات بودارکننده با ستون DB-5 و حلال دی کلرو متان ۱۰۴
- شکل ۴-۶: کروماتوگرام ترکیبات بودارکننده با ستون Hp-5 ۱۰۴
- شکل ۴-۷: کروماتوگرام ترکیبات بودارکننده گاز با کروماتوگرافی جرمی ۱۰۵
- شکل ۴-۸: یونهای تولید شده برای ترکیب دی متیل سولفید در کروماتوگرافی جرمی ۱۰۶
- شکل ۴-۹: یونهای تولید شده برای ترکیب ترشیو بوتیل مرکاپتان در کروماتوگرافی جرمی ۱۰۷
- شکل ۴-۱۰: یونهای تولید شده برای ترکیب متیل اتیل سولفید در کروماتوگرافی جرمی ۱۰۷
- شکل ۴-۱۱: یونهای تولید شده برای ترکیب ۴-متیل تیوفنل در کروماتوگرافی جرمی ۱۰۸
- شکل ۴-۱۲: آنالیز نمونه کیسه تدلار حاوی متان با روش بهینه شده ۱۱۹
- شکل ۴-۱۳: منحنی استاندارد برای ترکیبات بودارکننده در در کروماتوگرافی جرمی ۱۱۹
- شکل ۴-۱۴: میزان تماس هوا برد با ترشیو بوتیل مرکاپتان در وظایف شغلی پرسنل فنی ۱۱۵
- شکل ۴-۱۵: منحنی استاندارد مالون دی آلدید در پلاسما ۱۱۸
- شکل ۴-۱۶: منحنی استاندارد ظرفیت تام آنتی اکسیدان های پلاسما ۱۲۱
- شکل ۴-۱۷: ظرفیت آنتی اکسیدان های تام پلاسما در افراد مطالعه شده ۱۲۲
- شکل ۴-۱۸: فعالیت آنزیم کولین استراز در افراد مطالعه شده ۱۲۳

چکیده:

به کارگیری مواد بودار کننده در صنعت گاز، شناسایی نشتی گاز را تسهیل می نماید. یکی از مهمترین راه های بهداشتی برای کاهش اثرات زیان آور ترکیبات شیمیایی، ارزیابی مواجهه تنفسی می باشد. NIOSH^{۲۵۴۲} روش گازکروماتوگرافی با دتکتور فوتومتری شعله ای را برای ارزیابی تماس شغلی با مرکاپتان ها پیشنهاد می نماید. یکی از اهداف این مطالعه توسعه یک روش برای ارزیابی دی متیل سولفید، اتیل متیل سولفید و ترشیوبوتیل مرکاپتان در نمونه های هوا با استفاده از کروماتوگرافی گازی با دتکتور جرمی می باشد. مرکاپتان ها با ساختار تیولی به عنوان عامل تهدیدکننده در سلامتی انسان مطرح می باشند. تاثیر تیول ها بر تشکیل گونه های فعال اکسیژن در مطالعات متعددی گزارش شده است. همچنین تعدادی از ترکیبات ارگانو سولفور بدلیل مشابهت ساختاری با ترکیبات ارگانوفسفات دارای اثرات کولینرژیک می باشند.

اعتبار بخشی روش کروماتوگرافی گازی-دتکتور جرمی جهت تعیین مواجهه شغلی با ترکیبات بودارکننده ی گاز با تخمین پارامترهای صحت، دقت، حد تشخیص کیفی و کمی بررسی شد. در این مطالعه تعیین ریسک بر سلامتی با ارزیابی فعالیت کولینرژیک و استرس اکسیداتیو در پرسنل فنی شرکت گاز انجام گردید. مطالعه بر روی ۸۰ نفر از پرسنل فنی صنعت گاز و ۸۰ مرد از پرسنل اداری به عنوان افراد مواجهه نیافته انجام شد که از لحاظ سن، سابقه کار و مصرف سیگار با یکدیگر همسان سازی شدند. مالون دی آلدئید به عنوان بیومارکر پراکسیداسیون لیپیدی و توانایی پلاسما در احیای یون های فریک به عنوان بیومارکر برای استرس اکسیداتیو در نظر گرفته شد. همچنین فعالیت کولینرژیک با اندازه گیری فعالیت آنزیم استیل کولین استراز و با روش المن فراهم شد.

نتایج نشان داد ضریب تغییرات درون روز و برون روز برای ترکیبات مطالعه شده زیر ۱۰ درصد می باشد. حداقل مقدار قابل تشخیص برای دی متیل سولفید، اتیل متیل سولفید و ترشیوبوتیل مرکاپتان به ترتیب ۴، ۵ و ۰/۸۶ میکروگرم بر نمونه گزارش شد. میزان مالون دی آلدئید پلاسما، بین کارگران فنی و پرسنل اداری تفاوت معنی داری نشان داد ($p < 0.0001$) بطوریکه غلظت

مالون‌دی‌آلدئید در افراد مواجهه‌یافته بیشتر از پرسنل اداری مشخص شد. ارتباط مثبت در آزمون پیرسون بین میزان تماس هفتگی با ترشیوبوتیل‌مرکاپتان و میزان مالون‌دی‌آلدئید مشاهده شد. میزان توانایی پلاسما برای احیای یون‌های فریک در پرسنل فنی کاهش معنی‌داری با افراد مواجهه‌یافته نشان داد ($p < 0.0001$). فعالیت آنزیم استیل‌کولین استراز در پرسنل فنی به شکل معنی‌داری نسبت به گروه مواجهه‌یافته کمتر تعیین گردید ($p < 0.02$). تعداد افراد با فعالیت کولینرژیک غیر نرمال در افراد مواجهه‌یافته ۲/۱ برابر گروه کنترل تخمین زده شد.

کروماتوگرافی گازی- دتکتور جرمی به عنوان یک روش جایگزین برای روش NIOSH ۲۵۴۲ در تعیین مواجهه‌ی شغلی با ترکیبات بودارکننده گاز پیشنهاد می‌گردد. ترشیوبوتیل‌مرکاپتان در مواجهه شغلی می‌تواند برای سلامتی مخاطره‌آمیز باشد بنابراین بایستی استراتژی‌های مراقبت بهداشتی، جهت به حداقل رساندن اثرات سمی این ترکیبات مورد توجه قرار گیرد.

کلمات کلیدی : ترکیبات بودارکننده گاز طبیعی ، مواجهه شغلی، استرس اکسیداتیو، فعالیت کولینرژیک

فصل اول

کلیات

۱-۱ مهمترین دلایل اجرای طرح

در دنیای امروز گاز طبیعی یکی از منابع تولید انرژی با آلودگی کم محسوب می شود که در سال های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است . کشور ایران از لحاظ منابع گاز طبیعی و نفت غنی بوده و دارای پنجمین ذخایر بزرگ نفتی و دومین ذخایر گاز طبیعی در جهان است که ۱۷ درصد ذخایر گاز طبیعی جهان و بیش از یک سوم ذخایر اوپک را به خود اختصاص داده است. از سویی دیگر، با وجود اینکه ایران دارای ذخایر غنی از سوخت های فسیلی نیز هست، ۹۹ درصد تولید انرژی در ایران توسط نفت و گاز تامین شده و تنها یک درصد به وسیله منابع انرژی تجدیدپذیر تامین می گردد (۱). گاز طبیعی، گازی قابل اشتعال، بی رنگ و یک هیدروکربن قابل احتراق است و متان به عنوان ترکیب اصلی گاز طبیعی مطرح می باشد (۲) بنابراین حضور آن در شرایط خاص می تواند خطر آفرین باشد، علاوه بر این، اگرچه متان اغلب به عنوان یک ماده ی شیمیایی غیرسمی شناخته می شود ولی غلظت های بالای آن می تواند باعث کاهش درصد اکسیژن هوا و خفگی گردد. از این رو در فرایند توزیع گاز برای استفاده صنعتی و عمومی، تامین ایمنی کاربران در درجه ی اول اهمیت قرار دارد. حوادث بسیاری سالانه گزارش می شوند که ناشی از نشت گاز باعث بروز حوادث ناخوشایند و مرگ افراد شده است. حادثه فاجعه بار انفجار یک مدرسه در شهر تگزاس آمریکا در سال ۱۹۳۰ میلادی، برای درک میزان آسیب ناشی از نشت احتمالی گاز طبیعی و شعله ور شدن آن کافی بود (۳) بنابراین به دلیل احتمال وقوع این حوادث ، تدوین مقرراتی مبنی بر ایجاد یک هشدار به هنگام نشت گاز طبیعی مورد توجه قرار گرفته است.

بودار کردن گاز طبیعی در شبکه گاز رسانی شهری به منظور تشخیص، کشف نشت گاز قبل از ایجاد شرایط انفجار و همچنین تامین ایمنی مصرف کنندگان صورت می پذیرد. گاز طبیعی که توسط خطوط لوله سراسری و شبکه های شهری منتقل و به مصرف کنندگان خانگی و تجاری عرضه می شود باید به حدی بود داشته باشد که اگر گاز نشت یافته در فضا به مقدار یک پنجم حد پایین انفجار خود برسد، توسط افراد عادی با حد متوسط بویایی قابل تشخیص باشد.

در گذشته چنین تصور می شد که از مواد گوگرد دار که بطور طبیعی در ترکیب گاز وجود دارد می توان به عنوان یک عامل اخطار دهنده ی قابل اعتماد استفاده کرد ولی واقعیت انکار ناپذیر این است که میزان و درصد این ترکیبات در گاز طبیعی متفاوت است و در نتیجه میزان بودار کنندگی آنها متغیر می باشد. از طرفی در بعضی ذخایر، میزان بودار کنندگی این ترکیبات بقدری کاهش می یابد که تشخیص وجود گاز طبیعی در یک محیط بسته غیر ممکن می شود. به همین دلیل بکارگیری ترکیبات بودار کننده در گاز طبیعی برای ایستگاههای گاز شهری^۱ اجتناب ناپذیر می باشد و مدیریت ترکیبات بودار کننده برای تشخیص نشت گاز اهمیت ویژه ای داراست. برای این منظور غلظت های پایین ترکیبات آلی حاوی گوگرد به علت بوی مشخصی که دارند به عنوان بودار کننده^۲ گاز طبیعی استفاده می شوند. مواد بودار کننده گاز معمولاً پایه سولفوری دارند و متعلق به یک کلاس شیمیایی خاص به نام ترکیبات اورگانو سولفور می باشند (۴). از عمده ترین ترکیبات بودار کننده گاز طبیعی، ترکیبات حاوی مرکاپتان می باشند که دارای فرمول عمومی RSH هستند و در شیمی آلی به این ترکیبات، تیول گفته می شود. در فرمول شیمیایی مرکاپتانها، R نشان دهنده بنیان هیدروکربنی و S نشان دهنده گوگرد می باشد. مرکاپتانها به طور طبیعی در نفت خام وجود دارند ولی برای جلوگیری از تولید SO₂ به هنگام سوختن مشتقات نفتی، در مراحل گوگرد زدائی حذف می شوند آلکیل مرکاپتانها دارای بوی بسیار شاخصی هستند و به دلیل همین ویژگی در صورت هر گونه نشتی گاز، حس بویایی را تحریک کرده و تشخیص داده می شوند (۵). مرکاپتان ها آستانه ی بویایی پایین ولی آستانه

^۱ City gas station

^۲ odorant

تحریک بسیار بالایی دارند ، حداقل غلظتی از ماده که توسط حس بویایی قابل تشخیص باشد آستانه ی بویایی گفته می شود. این ترکیبات در هوا با غلظت 1 ppb ^۱ قابل شناسایی می باشند(۶).

ارزشیابی مواجهه تنفسی با ترکیبات بودارکننده از اهمیت خاصی در موضوع پیشگیری و تامین سلامت کارگران شرکت گاز برخوردار است. جهت تعیین میزان ترکیبات مرکپتان روش های پیشنهاد شده بر اساس کروماتوگرافی گازی^۲ می تواند حساسیت^۳ و دقت^۴ مورد نیاز توسط سازمان های بین المللی را تامین کند و در توسعه سیستم های کروماتوگرافی گازی برای تعیین ترکیبات گوگرد دار، انتخاب آشکارساز^۵ نقش کلیدی عهده دار است.

با توجه به اینکه روش شناسایی و تعیین مقدار ترکیبات بودار کننده گاز به سادگی قابل اجرا نمی باشد پایش روتین این ماده به شکل دقیق در کشور امکانپذیر نیست. همچنین بادر نظر گرفتن اینکه در پایش طب صنعتی اسپرومتری و پایش روتین خون انجام می یابد لذا مهمترین دلایل ضرورت اجرای این طرح به شرح ذیل می باشد:

- راه اندازی روشی قابل اجرا برای تعیین مواجهه تنفسی با ترکیبات بودارکننده قدم مناسبی برای پیشبرد اهداف بهداشتی فراهم می نماید.
- آزمایشات اسپرومتری و پایش روتین خون جهت بررسی اثرات سیستمیک بر روی بافت های عصبی و یا اثرات مزمن این ترکیبات مکفی نمی باشد لذا بررسی پارامترهای اعلام شده در این تحقیق کمک شایانی به تامین سلامت کارگران مواجهه یافته خواهد داشت.
- با در نظر گرفتن اینکه مهمترین سازمانی که از ترکیبات بودار کننده استفاده می نماید شرکت ملی گاز می باشد و این ترکیبات در صنایع دیگر چندان قابل طرح نیست اجرایی شدن پروژه ای برای بررسی این ترکیبات در شرکت ملی گاز ضروری است.

^۱ Part per billion

^۲ Gas chromatography.

^۳ sensitivity.

^۴ Precision .

^۵ Detector .

• با ارایه پروژه ای مناسب و تعیین عوارض ترکیبات بودار کننده گاز می توان اقدامات پیشگیرانه ای طراحی و ارائه نمود تا مواجهه با این ترکیبات در شرکت ملی گاز به اثرات غیر قابل جبرانی منجر نگردد.

۱-۲ اهمیت موضوع

گاز شهری توسط خطوط لوله انتقال با فشار حداکثر $1000 - 700 \text{ psi}$ و فشار حداقل $350 - 300 \text{ psi}$ وارد ایستگاه اصلی گاز شهری می گردد و پس از تقلیل فشار به 250 psi و تزریق ماده بودار کننده توسط خطوط اصلی شبکه تغذیه و یا حلقه کمربندی وارد ایستگاههای تقلیل فشار می گردد. ایستگاههای تقلیل فشار گاز بخش مهمی از سیستم گازرسانی بوده که با اشکال و تجهیزات متفاوت طراحی و نصب می گردند و به دو نوع عمده ایستگاههای برون شهری و ایستگاههای درون شهری تقسیم می شوند. گاز طبیعی عموماً "بی رنگ است. البته در زمان تخلیه با فشار بالا می توان رنگ آبی ملایمی را در گاز فشرده تشخیص داد. گاز طبیعی قبل از افزودن مواد بودار کننده در ایستگاههای گاز شهری تقریباً "بدون بو است. بعضی اوقات مرکاپتان همراه گاز طبیعی در فرایند پالایش جدا نمی شود و مقداری از آن همراه گاز طبیعی پالایش شده راهی خطوط انتقال می گردد. البته در غلظت های بالای پنج درصد حجمی بوی کامل خانواده هیدروکربن ها در مورد گاز طبیعی نیز قابل تشخیص می باشد ولی جهت افزایش ضریب اطمینان و تسریع در درک نشت گاز از طرف مصرف کنندگان، در ایستگاههای گاز شهری مواد بودار کننده به گاز طبیعی افزوده می شود. ترکیبات حاوی سولفور سبک، فرار و خورنده هستند و بوی بسیار تندی دارند. از این رو تولید، حمل و نقل، ذخیره سازی و فراوری گاز با محتوای بالای سولفید هیدروژن و مرکاپتان ها، ما را با مشکلات زیست محیطی و تکنولوژیکی جدی روبرو می کند که اغلب بر کیفیت زندگی تأثیر می گذارد (۷). همچنین ترکیبات بودارکننده، تأثیراتی بر سلامت عمومی و وضعیت فیزیولوژیکی و روانی افراد دارند. مواجهه طولانی مدت با ترکیبات ارگانوسولفور می تواند منجر به آسیب های کبدی گردد (۸، ۹). از دیگر اثرات ترکیبات سولفیدی تشکیل رادیکال های آزاد است (۱۰). اکثر تیول ها به عنوان ترکیبات مضر و سمی طبقه بندی می شوند و اثرات مهای یا شتاب دهنده روی فرایندهای متابولیکی بدن ایجاد می کنند.

باتوجه به آثار زیانبار مواد بو دارکننده، پایش مواجهه تنفسی با این مواد اهمیت بالایی دارد. جهت تعیین میزان ترکیبات مرکاپتان روش پیشنهاد شده در انستیتوی ملی بهداشت و ایمنی شغلی^۱ بر اساس کروماتوگرافی گازی با نورسنج شعله ای با روش شماره ی ۲۵۴۲ NIOSH است. امروزه کروماتوگرافی گازی با آشکارساز نورسنج شعله ای^۲ برای تعیین مقدار ترکیبات گوگرد دار پیشنهاد می شود. اگرچه آشکارساز نورسنج شعله ای برای ترکیبات مرکاپتان قابل اعتماد و حساس می باشد، اما این روش معایبی دارد که در زیر به مواردی از آن اشاره شده است:

• اثر خاموشی^۳

در این دتکتور یک شعله غنی از هیدروژن وجود دارد که بسیاری مولکول ها از جمله ترکیبات مرکاپتان در آن تحریک می گردند و با توجه به نور ساطع شده تعیین مقدار می شوند. در حضور مقادیر زیادی از ترکیبات هیدروکربنی در شعله دی اکسید کربن بوجود می آید که نور ساطع شده از مرکاپتان ها را جذب می نماید و سبب خطا در تعیین مقدار این ترکیبات می گردد.

• ارتباط درجه ی ۴۲

در این دتکتور تحریک ترکیبات تیولی به شکل دو اتمی رخ می دهد بنابراین سیگنال خروجی دستگاه با مربع غلظت ترکیبات تیولی ارتباط دارد و خطی نبودن پاسخ به ازای غلظت های مختلف سبب ایجاد خطا در اندازه گیری می گردد (۱۲،۱۱).

با توجه به موارد ذکر شده استفاده از آشکار ساز نورسنج شعله ای نیاز به تبحر و تجربه ی آنالیز کننده دارد و این آشکارساز به عنوان یک دتکتور قابل دسترس با کاربری آسان مطرح نمی باشد و جایگزینی این

^۱ (NIOSH) National Institute of occupational and Safety health

^۲ Gas chromatography-flame photoionization detector

^۳ Quenching effect

^۴ Square dependence

دکتور با یک روش قابل ارایه ضروری بنظر می رسد. کروماتوگرافی گازی - طیف سنج جرمی^۱ یک ابزار بسیار قدرتمند در تجزیه و تحلیل نمونه های ناشناخته است. این روش جهت آنالیز ترکیبات آلی در ماتریس های متنوع استفاده می شود. این روش گران است ولی با توجه به مشکلات موجود در کشور برای آنالیز مواد بودارکننده با آشکار ساز نورسنج شعله ای استفاده از دکتور جرمی اجتناب ناپذیر است. اساس تشخیص در این آشکار ساز بدست آوردن نسبت بین جرم به بار الکتریکی مولکولها می باشد و به دلیل عدم وجود محدودیت در تشخیص مولکول ها، این دکتور برای ترکیبات با فرمول شیمیایی مختلف قابل استفاده است. به کارگیری کروماتوگرافی گازی - طیف سنج جرمی برای تجزیه و تحلیل ترکیبات مختلف در پتروشیمی و در مطالعات مختلف اشاره شده است (۱۳). در دستگاه کروماتوگرافی گازی - طیف سنج جرمی دو سیستم کروماتوگرافی و دکتور جرمی جداسازی اجزا و مولکولهای موجود در گاز طبیعی را انجام می دهند (۱۴).

وارن^۲ و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند با بکارگیری کروماتوگرافی گازی- طیف سنج جرمی می توان ترکیبات تیولی متعدد همچون مرکاپتو اتانول ، بوتان تیول و تیوفن در سیر را تشخیص داد (۱۵). کارتیکیان^۳ و همکاران در سال ۲۰۱۲ با استفاده از کروماتوگرافی گازی- طیف سنج جرمی ترکیب ترشیوبوتیل مرکاپتان را در نمونه های آب تعیین مقدار نمودند (۱۶). کروماتوگرافی گازی- طیف سنج جرمی دستگاهی است که از اتصال دو تکنیک قدرتمند به وجود آمده است (۱۷). این دستگاه دارای حد تشخیص پایین برای اندازه گیری کمی ترکیبات است. دقت و صحت مناسب نتایج در این دستگاه به اندازه ای است که از این دستگاه برای تایید نتایج کروماتوگرافی گازی با آشکار ساز یونیزاسیون شعله ای^۴ استفاده می گردد (۱۸).

^۱ Gas chromatography-Mass spectroscopy

^۲ Warren

^۳ Karthikeyan

^۴ Gas chromatography-Flame ionization detector

با توجه به مشکلات موجود برای تعیین مقدار ترکیبات بودارکننده بر اساس روش ۲۵۴۲ NIOSH و با استفاده از آشکار ساز نورسنج شعله ای امروزه در کشورمان جهت تعیین مقدار این ترکیبات از روش قرائت مستقیم استفاده می گردد که روش مناسبی برای قضاوت در مورد میزان مواجهه طولانی مدت با این مواد نمی باشد. با در نظر گرفتن قابلیت دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف سنج جرمی در تشخیص و جداسازی ترکیبات یک مخلوط ، در این تحقیق تلاش براین است که روشی مناسب برای تعیین مقدار ترکیبات بودارکننده گاز طبیعی تعیین و اعتبار بخشی گردد.

علاوه بر این ارزیابی بیولوژیک ترکیبات بودارکننده کمک شایانی به کنترل ریسک این مواد خواهد داشت. مطالعات انجام یافته برای ارزیابی بیولوژیک این ماده بسیار محدود است و در جوامع بین المللی ترکیب استاندارد برای پایش بیولوژیک این مواد پیشنهاد نشده است. تیول ها با دریافت یا انتقال اتم هیدروژن، به سرعت با رادیکال های آزاد واکنش نشان می دهند و به همین دلیل سبب تغییر در میزان رادیکال های آزاد می گردند (۱۹). رادیکال های آزاد به عنوان مولکول های حاوی یک یا چند الکترون جفت نشده تعریف می شوند که به طور کلی بعنوان گونه های فعال اکسیژن^۱ مطرح می باشند (۲۰). گونه های فعال اکسیژن بصورت رادیکال سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل در طول اکسیداسیون تیول ها به وجود می آیند (۲۱). رادیکال های آزاد اکسیژن در تمام موجودات هوازی وجود داشته و محصول متابولیسم طبیعی سلول های بدن می باشند (۲۲) و بسته به میزان آن ها در بدن ، اثرات متفاوتی بر جای می گذارند (۲۳).

سلول های بدن در هر ثانیه توسط رادیکال های آزاد بطور طبیعی بمباران می شوند، وقتی دفاع آنتی اکسیدانی بدن کافی است، آسیب ناشی از رادیکال های آزاد بدون عواقب زیادی برطرف می شود ولی در صورت تولید مقدار بیش از حد رادیکال های آزاد، با اثر بر DNA ، پروتئین ها و چربی ها، اثرات مخرب اکسیداسیون را ایجاد می نماید (۲۴). مطابق مطالعات انجام یافته ، برآورد شده است که استرس اکسیداتیو با بروز بیش از ۱۰۰ نوع بیماری مرتبط است (۲۵) و می تواند باعث بیماری های مختلف مانند آترواسکلروزیس، آرتریت، اختلالات نوروزنیک، بیماری های قلبی عروقی، تنفسی، عصبی و همچنین فرایند پیری شود. درواقع استرس اکسیداتیو می تواند در اثر قرار گرفتن در معرض عوامل محیطی مختلف مانند اشعه یونیزه یا اشعه ماوراء

^۱ Reactive oxygen species

بنفش، فلزات سنگین، حلال‌های مختلف آلی یا مواد شیمیایی مختلف از جمله آفت‌کش‌ها و... ایجاد شود (۲۶).

در این حالت، بسیاری از ماکرومولکول‌ها آسیب می‌بینند و اکسیداسیون DNA^۱، اکسیداسیون پروتئین‌ها، پراکسیداسیون‌لیپیدها و غیرفعال شدن آنزیم‌ها و اختلال عملکرد غشاهای مختلف اتفاق می‌افتد (۲۷). در مطالعه تجالوین^۲، افراد مواجهه‌یافته با ترکیبات سولفوردار، علائم عصبی مانند سردرد، سرگیجه، خستگی و اختلال در خواب را بروز داده‌اند (۲۸). محصولات حاصل از پراکسیداسیون، گیرنده‌های غشایی و آنزیم‌ها را غیرفعال ساخته و نفوذپذیری بافت را افزایش می‌دهند (۲۹) لذا جهت تایید استرس اکسیداتیو، به اندازه‌گیری محصولات واکنش آنها با مولکول‌های بدن مانند پراکسیداسیون‌لیپیدی پرداخته می‌شود.

در ایران ماده بودار کننده مصرفی برای تزریق به گاز طبیعی شامل ۸۰٪ ترشیو بوتیل مرکاپتان و ۲۰٪ متیل اتیل سولفید می باشد. ترکیبات سولفید خاصیت بودار کنندگی بالایی ندارد و به همین دلیل آن را با مرکاپتان‌ها مخلوط می کنند تا از سایر خواص مطلوب آن مانند مقاومت در مقابل یخ زدگی و کنترل فشار بخار استفاده کنند. ترشیو بوتیل مرکاپتان باعث ایجاد عوارض پوستی، چشم، تنفس، عدم حس بویایی، حالت تهوع و استفراغ، اسهال، مشکل تنفسی، سردرد، سیانوز، گرفتگی ریه، آسیب کلیه، تشنج و کما می شود. استنشاق بوی مرکاپتان باعث اثرات جسمی و روحی شامل تنگی نفس، تحریکات چشم و آشفته‌گی رفتاری می شود. همچنین مواجهه با ترشیو بوتیل مرکاپتان باعث علائمی چون تهوع، سردرد، سرگیجه، ضعف عمومی، تحریک چشم، بینی و گلو می گردد. این ترکیبات باعث ایجاد عوارض پوستی، مشکلات تنفسی، سردرد، سیانوز، گرفتگی ریه، آسیب به کلیه، تشنج و کما می گردند. نرمال بوتیل مرکاپتان باعث تولید ۶ فسفات دهیدروژناز می شود که در نهایت منجر به لیز شدن گلبول قرمز و تشکیل مت هموگلوبین می گردد (۶). مطالعات نشان می دهد ترکیبات مرکاپتان دارای تاثیر بر سیستم اعصاب مرکزی می باشند، به عنوان مثال مواجهه حاد با نرمال بوتیل مرکاپتان باعث کاهش فعالیت در سیستم عصبی مرکزی، عدم هماهنگی عضلات بدن، فلج، بی حالی، سیانوز و کما می شود. این ترکیب سبب مهار آنزیم استیل کولین

^۱ deoxyribonucleic acid

^۲ Tjalvan

استراز می گردد. آنزیم استیل کولین استراز از آنزیم های مهم در کنترل فعالیت سیستم اعصاب مرکزی است که توسط سموم ارگانو فسفره مهار می گردد. ترکیبات ارگانو سولفور از جمله متابولیت های اصلی سموم ارگانو فسفره محسوب می شوند و به همین دلیل مهار آنزیم استیل کولین استراز توسط ترکیبات ارگانو سولفور امکانپذیر می باشد. در این مطالعه سعی گردید تا با پایش ریسک ایجاد اثراتی همچون تغییر فعالیت کولینرژیک و استرس اکسیداتیو، پیشنهادات مناسبی برای کاهش اثرات سمی این مواد داده شود.

۳-۱ مطالعات تئوری

از زمان آغاز صنعت گاز تاکنون، اعمال غلظت مناسب مواد بودارکننده به گاز طبیعی یک اقدام کلیدی برای اطمینان از ایمنی توزیع گاز و تسریع در درک نشت گاز می باشد (۳۱). منظور از بودارکردن، عملیاتی است که برای بوجود آوردن بوی مشخص به گاز طبیعی، ترکیبات بودارکننده اضافه می شوند تا افراد به وسیلهی آن، حضور گاز را در غلظت های پایین تر از حد انفجار^۱ در هوا تشخیص دهند (۳۲).

مواد بودارکننده عمدتاً^۲ پایه گوگردی دارند مانند ترشیوبوتیل مرکاپتان^۳، تترا هیدرو تیوفن^۴، دی متیل سولفید^۵، کربونیل سولفید^۶ و کربن دی سولفید^۶ که متعلق به یک دسته خاص از مواد شیمیایی به نام ارگانو سولفورها هستند (۳۱-۳۳).

بودارکننده های گاز را می توان در دو گروه اصلی تقسیم بندی نمود:

- بودارکننده های "کلاسیک" که مبتنی بر گوگرد هستند.
- آکریلات ها که با عدم انتشار گاز دی اکسید گوگرد در زمان احتراق، به لحاظ زیست محیطی حائز توجه می باشند (۴۴).

^۱ Lower Explosive level (LEL)

^۲ Tert-butyl mercaptane (TBM)

^۳ tetrahydrothiophene (THT)

^۴ Dimethyl sulfoxide

^۵ Carbonyl sulfide

^۶ Carbon disulfide

مهمترین مواد بودار کننده ی کلاسیک به شرح زیر هستند:

۱- الکیل مرکاپتان ها : تترا بوتیل مرکاپتان و ایزوپروپیل مرکاپتان

۲- الکیل سولفیدها : دی متیل سولفید و اتیل سولفید

۳- سیکلیک سولفیدها : تتراهیدروتیوفن

الکیل مرکاپتان ها دارای بوی بسیار شاخصی هستند و به دلیل همین ویژگی در صورت هر گونه نشستی گاز، حس بویایی را تحریک کرده و تشخیص داده می شوند. از متداول ترین انواع این ترکیبات ترشیو بوتیل مرکاپتان و ایزوپروپیل مرکاپتان است که خاصیت بودار کنندگی زیادی دارند. معمولاً برای به دست آوردن خواص مطلوبتر در بودار کننده ها از مخلوط دو یا چند نوع مرکاپتان و سایر مواد بودار کننده و با نسبت های معین استفاده می گردد. ترکیبات بودارکننده، تاثیر قابل توجهی بر سلامت عمومی و وضعیت فیزیولوژیکی و روانی افراد دارند (۳۶،۳۷). همچنین تاثیر تیولها بر محیط زیست می تواند یک نگرانی جدی محسوب شود، که اغلب بر کیفیت زندگی تأثیر می گذارد (۳۸). دی متیل سولفید در غلظت های بالا منجر به تهوع شده و سیستم عصبی را تحریک می کند (۳۹). در آزمایشی که توسط گوستاف^۱ و همکارانش، بر روی موش ها صورت گرفت، نشان داد که دی متیل سولفید باعث تخریب غشاهای مخاطی (ترشح از چشم ها و بینی، مشکل در باز نگه داشتن چشم ها) و از کار انداختن عضلات ارادی و در نهایت عضلات تنفسی می شود و حدود ۵ درصد حجم دی متیل سولفید برای مرگ موش در ۱۵ دقیقه کفایت می کند (۴۰).

در سال های اخیر ترکیبات بودارکننده بدون گوگرد بر پایه آکریلات ها به بازار معرفی شده اند که به ویژه در زمینه مسائل زیست محیطی، به علت عدم انتشار گاز دی اکسید گوگرد پس از احتراق گاز، مورد توجه هستند. از آن جمله می توان آلکیل آکریلات ها، اتیل آکریلات، سایر ترکیبات حاوی وینیل و آلکیل، آلکیل اتر و سیکلو هگزان را نام برد (۴۷). انتخاب نوع ترکیب بودارکننده، جنبه ی مهمی از سیستم تزریق بودارکننده به گاز طبیعی می باشد که به ترکیب شیمیایی گاز، ویژگی های فیزیکی و شیمیایی بودارکننده ها، چینش خطوط لوله و مخزن ذخیره، شرایط محیطی و شناخته شده بودن بو در میان مردم منطقه وابسته می باشد. گاهی اوقات تغییر ترکیب بودارکننده ی مصرفی، ممکن است مغایر با بویی باشد که مردم منطقه به آن عادت دارند

^۱ Gustaf

۱-۳-۱ مواد بودار کننده ی گاز طبیعی در ایران

گاز طبیعی سوختی است که معمولاً اثرات زیان‌آور کمتر نسبت به سوخت‌های فسیلی دارد و جزء منابع تجدیدناپذیر می‌باشد. گاز طبیعی عمدتاً^۱ از متان تشکیل شده است به همین دلیل در محاسبات مربوط به سوختن گاز طبیعی، معمولاً ترکیب شیمیایی آن متان در نظر گرفته می‌شود. گازهای قابل اشتعال مختلف در نسبت‌های معینی از اختلاط با هوا قابلیت سوختن دارند به طوری که در سایر نسبت‌های اختلاط نمی‌توانند با هوا ترکیب قابل اشتعال یا انفجار ایجاد نمایند. گاز طبیعی نیز فقط در محدوده‌های خاص از نسبت‌های اختلاط با هوا قادر است مخلوط قابل انفجار یا قابل سوختن تشکیل دهد. گاز طبیعی تقریباً دارای حد پایین اشتعال ۵ درصد حجمی و حد بالای اشتعال ۱۵ درصد حجمی است. قویترین و خطرناکترین حالت برای اشتعال گاز طبیعی یا انفجار آن تقریباً ۱۰ درصد حجمی می‌باشد. افزایش میزان متان به بیش از ۱۰ درصد تا حدودی قابل قبول است اما در ترکیب‌های بیش از ۱۵ درصد حجمی امکان انفجار گاز وجود دارد. در صورت نشت گاز و تشکیل مخلوط قابل انفجار با هوا خطرات جبران‌ناپذیری ایجاد می‌گردد لذا با افزودن مواد شیمیایی خاصی به نام بودارکننده‌ها گاز را بودار می‌کنند تا نشت گاز به راحتی تشخیص داده شود. اولین عملیات بودارکردن گاز، در سال ۱۸۸۰ میلادی توسط کاگلیو^۱ در آلمان اجرا شد که جهت شناسایی نشت گاز، از اتیل مرکاپتان استفاده گردید. پس از آن نیز تلاش برای پیدا نمودن ماده‌ای که بتواند بوی خاصی به گاز بدهد آغاز شد، با این وجود استقبال واقعی برای استفاده از بودارکننده‌ها در سال ۱۹۳۰ میلادی، در ایالات متحده آغاز گردید. در اوایل سال ۱۹۳۰، هیئت مدیره‌ی جدید مدرسه‌ای در لندن، قرارداد تهیه ی گاز طبیعی را به منظور صرفه‌جویی در امور مالی لغو کردند و بجای آن یک شیر در خطوط انتقال نفت اضافه نمودند. این عمل با وجود اینکه در مقررات محلی شرکت‌های نفت، مجاز شناخته نمی‌شد ولی در اکثر مناطق اجرا می‌گردید. حین انتقال نفت از خطوط لوله، گاز طبیعی بدون بو، از محل اتصال شیر، نشت نموده و در ساختمان منتشر گردید. در نهایت جرقه‌ای باعث شعله‌ور شدن مخلوط گاز و هوا گردید و با ویران شدن ساختمان، ۳۱۹ نفر جان باختند. پس از این حادثه، لزوم استفاده از ترکیبات بودارکننده در آمریکا و کانادا، با عنوان "ترکیبات بودارکننده گاز" به تصویب رسید (۴۴). سابقه استفاده از مرکاپتان به عنوان

^۱ Quaglio

ترکیب بودارکننده در ایران نیز ، به اولین استفاده از گاز طبیعی در سال ۱۳۵۹ باز می‌گردد (۴۶). طبق پیشنهاد سازمان ملی استاندارد ایران بودار کننده های گازی باید توصیه های کلی زیر را برآورده کنند (۴۱).

- بودارکننده ی گازی باید در غلظت خیلی کم دارای بوی شدید باشد.
- شاخص بوی بودارکننده لازم است نامطلوب و مشخص باشد و با بوهای دیگری که به طور معمول همراه با بوی گاز در اثر نشت وجود دارند اشتباه نشود.
- شاخص بو در غلظت های مختلف گاز طبیعی در هوا یکسان باشد.
- بودارکننده باید در حین ذخیره سازی و زمانی که با گاز طبیعی مخلوط می شود به اندازه کافی پایدار باشد.
- فراریت بودارکننده باید به طور قابل ملاحظه ای مواد باقیمانده بر جای نگذارد.
- فراریت بودار کننده باید به اندازه ی کافی زیاد باشد به طوری که بودارکننده تحت شرایط دما و فشار موجود در سامانه خط لوله به طور قابل ملاحظه ای متراکم نشود.
- بودارکننده باید در دمای پایین در مواقع اضطراری قابل استفاده باشد.
- احتراق بودارکننده نباید رسوبات جامد قابل توجهی بر جای بگذارد.
- اضافه کردن بودارکننده به گاز طبیعی نباید گاز حاصل را مضر سازد.
- درصد خلوص ترکیبات شیمیایی بودارکننده و رقیق نشده باید کمتر از ۹۵ درصد باشد.

از زمان آغاز صنعت گاز تاکنون، اعمال غلظت مناسب مواد بودارکننده به گاز طبیعی یک اقدام کلیدی برای اطمینان از ایمنی توزیع گاز و تسریع در درک نشت گاز می‌باشد. بودارکردن گاز یک نگرانی جدی برای شرکت‌های توزیع گاز محسوب می‌شود. تزریق دقیق بودارکننده‌ها، به کارگیری تکنیک‌های مناسب برای پایش تزریق و نگهداری سوابق، از جمله مواردی است که به حفظ و توسعه‌ی روش موفق در بودارکردن گاز کمک می‌کند. مقادیر اضافی بودارکننده‌ها منجر به ایجاد بوهای اضافی در شیرها، لوله‌ها و دیگر تجهیزات مورد استفاده در توزیع گاز طبیعی می‌گردد. بودارکننده اضافی باعث می‌شود که حتی پس از سوختن گاز طبیعی، بوی بودارکننده‌ها متمایز گردد که این امر منجر به نارضایتی مصرف‌کنندگان می‌شود. این امر نیز مهم است که مقادیر ترکیبات بودارکننده خیلی پایین نباشد تا در زمان نشت گاز قابل تشخیص گردد (۴۴). میزان ترکیبات بودارکننده بایستی در حدی باشد که افراد بتوانند با کمک آن، حضور گاز را در

غلظت یک پنجم از حد پایین انفجار آن تشخیص دهند، این بدین معنی است که بایستی حضور گاز طبیعی در هوا به میزان ۱/۲۶٪، توسط بودارکننده قابل تشخیص باشد (۴۵) تا بدین طریق ریسک خطرات مسمومیت ناشی از گازها، آتش سوزی و یا انفجار کاهش یابد. در واقع با بودارکردن گاز، باید اطمینان حاصل کرد که اپراتور بدون هیچ ابزاری از نشت گاز مطلع شده است.

جدول ۱-۱ برخی از مشخصات ترکیبات بودارکننده را مشخص ساخته است.

جدول ۱-۱: خواص فیزیکی و شیمیایی ترکیبات گوگرد دار

ترکیب سولفور	فرمول	جرم مولکولی g/mol	نقطه جوش C	چگالی g/cm ³
دی متیل سولفید (DMS)	CH ₃ SCH ₃	۶۲/۱۴	۳/۳۷	۰/۸۴۸۳
متیل اتیل سولفید (MES)	CH ₃ SC ₂ H ₅	۷۶/۱۶	۶۶/۷	۰/۸۴۲۲
دی اتیل سولفید (DES)	(C ₂ H ₅) ₂ S	۹۰/۱۹	۹۲/۱	۰/۸۳۶۲
تترا هیدروتیوفن (THT)	C ₄ H ₈ S	۸۸/۱۷	۱۲۱/۵	۰/۹۹۸۷
متیل مرکاپتان (MM)	CH ₃ SH	۴۸/۱۱	۵/۹	۰/۸۶۶۵
اتیل مرکاپتان (EM)	C ₂ H ₅ SH	۶۲/۱۴	۳۵/۱	۰/۸۳۱۵
نرمال پروپیل مرکاپتان (NPM)	C ₃ H ₇ SH	۷۶/۶	۶۷	۰/۸۴۱۱
ایزوپروپیل مرکاپتان (IBM)	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ SH	۹۰/۱۹	۸۸/۸	۰/۸۳۵۷
ترشیو بوتیل مرکاپتان (TBM)	(CH ₃) ₃ CSH	۹۰/۱۹	۶۴/۳	۰/۷۹۴۳

در ایران ماده بودارکننده مصرفی رایج در کل کشور برای تزریق به گاز طبیعی، توسط شرکت ملی گاز ایران (NIGC)^۱ مطابق استاندارد شماره IGS-M-CH-38(1)، سه نوع می باشد:

نوع اول شامل، ۸۰٪ ایزوپروپیل مرکاپتان، ۱۰٪ ترشیو بوتیل مرکاپتان و ۱۰٪ n-پروپیل مرکاپتان بوده و نوع دوم شامل ۸۰٪ ترشیو بوتیل مرکاپتان و ۲۰٪ متیل اتیل سولفید می باشد و سومین نوع از ترکیبات بودارکننده شامل ۸۰٪ ترشیو بوتیل مرکاپتان و ۲۰٪ دی متیل سولفید نیز در ایران مصرف می شود (۴۸). شرکت گاز مطالعه شده در این تحقیق از فرمول نوع دوم استفاده نموده است.

^۱ National Iranian Gas Company

۱-۳-۲ کلیاتی در مورد ترکیبات بودارکننده ی گاز

گاز طبیعی پس از استخراج از منابع و مخازن مربوطه، به منظور تصفیه و فرآوری، جهت دستیابی به استانداردهای مصرف مشترکین، به پالایشگاه‌های گاز ارسال می گردد و در آنجا عملیات شیرین سازی و حذف گاز اسیدی و خورنده سولفید هیدروژن انجام می یابد. همچنین میزان آب موجود در گاز طبیعی کاهش داده می شود تا از تشکیل هیدرات‌های گازی ممانعت شود و جهت مصارف مختلف به خطوط انتقال و توزیع تزریق گردد (۴۸). پس از انجام فرآیندهای مربوط به پالایش و فرآوری، گاز طبیعی از نظر شیمیایی آماده مصرف می باشد. از نظر فیزیکی گاز طبیعی بی رنگ و بدون بو بوده و در ترکیب با درصد معینی از هوای محیط، بسیار قابل اشتعال و انفجار است. از دیدگاه ایمنی، به منظور هشدار دهی به مصرف کنندگان جهت پیشگیری از بروز خطرات ناشی از نشت گاز، باید تغییری در آن اعمال گردد تا در مواقع نشت به محیط، به سرعت و به راحتی قابل شناسایی باشد. به همین منظور و برای حصول اطمینان از قابل تشخیص بودن گاز طبیعی (حتی در مقادیر بسیار اندک) توسط مصرف کنندگان، به آن ماده‌ای بودارکننده افزوده می شود. در مجامع بین المللی همچون ACGIH برای ترکیبات ترشیو بوتیل مرکاپتان، دی متیل سولفید و اتیل متیل سولفید حدود مجاز شغلی وجود ندارد. از جمله ترکیب بودارکننده‌ای که حدود مجاز شغلی آن تعیین شده است می توان n- بوتیل مرکاپتان و متیل مرکاپتان را نام برد که حدود تعیین شده در جدول ۱-۲ ذکر شده است.

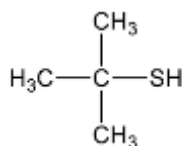
جدول ۱-۲ حدود تماس مجاز شغلی برای تعدادی از بودارکننده های گاز

حدود مجاز (بر گرفته در سال ۲۰۱۹)		متیل مرکاپتان		n- بوتیل مرکاپتان	
		ppm	mg/m ³	ppm	mg/m ³
OSHA- TWA		۱۰	۳۵	۲۰	۱۰
NIOSH- ceiling (15 min)		۱/۸	۰/۵	۱	۰/۵
ACGIH -TWA		۱/۵	۰/۵	۱	۰/۵

در **OSHA** و مکزیک حد مجاز مواجهه در ۸ ساعت به میزان ۰/۵ پی پی ام برای ۲-متیل ۲-پروپان تیول (ترشیو بوتیل مرکاپتان) در نظر گرفته شده است (۵۲). مطالعه ای توسط گروتی جالوین (۲۰۱۸)، با هدف بررسی تاثیرات بهداشتی درازمدت مواجهه با مرکاپتان‌ها و سایر ترکیبات سولفوردار، پس از انفجار شیمیایی در یک مخزن نفت در بندر شیمیایی نروژ انجام گرفت. یک سالونیم پس از حادثه، اتیل، متیل، پروپیل و بوتیل مرکاپتان به مقدار کم در نمونه‌های هوا تشخیص داده شدند. تمام ساکنین در شش کیلومتری محل انفجار و کل جمعیت مشغول به کار در منطقه بندر صنعتی، در مواجهه با آلودگی بودند و برای شرکت در یک نظرسنجی بهداشتی از جمله تکمیل پرسشنامه و معاینه بالینی دعوت شدند. از بین ۱۰۶۲ نفر از دعوت-شدگان، ۷۳۴ نفر تصمیم گرفتند در مطالعه همکاری نمایند. افرادی که در ۲۰-۳۰ کیلومتری از محل انفجار زندگی می‌کردند، به لحاظ جنس و سن همسان‌سازی و به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند. نتایج مطالعه نشان داد کارمندان منطقه صنعتی و کارگران پاک‌سازی محیط، به‌طور قابل توجهی شکایات ذهنی و به ویژه علایم عصبی داشته اند. همچنین در این مطالعه شیوع بالایی از اثراتی همچون افسردگی، سردرد، سرگیجه، مشکلات خواب و خستگی در میان کارکنان منطقه صنعتی و کارگران پاک‌سازی محیط گزارش شده است. اطلاعات موثقی در مورد اثرات زیست‌محیطی ترکیبات مرکاپتان وجود ندارد، ولی مطالعات موجود نشان می‌دهد که مرکاپتان‌ها در طبیعت تجمع نیافته و پس از مدتی تجزیه می‌گردند که محصولات حاصل از تجزیه آنها نیز عموماً غیرسمی می‌باشند (۱۰۷).

۱-۲-۳-۱ ترشیو بوتیل مرکاپتان

ترشیو بوتیل مرکاپتان متعلق به خانواده آلکیل مرکاپتان‌هاست که توسط سازمان ایمنی و سلامت شغلی^۱ بعنوان عامل مخاطره‌آمیز در نظر گرفته شده است. این ماده معروف ترین ماده بودارکننده در صنعت گاز با فرمول شیمیایی $C_4H_{10}S$ می باشد (شکل ۱-۱).



شکل ۱-۱: فرمول شیمیایی ترشیوبوتیل مرکاپتان

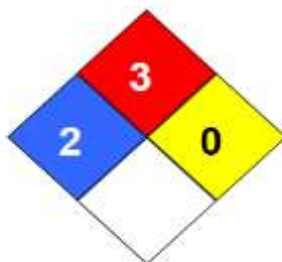
از مهم‌ترین ویژگی‌های ترشیوبوتیل مرکاپتان، نقطه انجماد بالای آن است. از این رو جهت بهبود خواص ضد یخ‌زدگی، آن را با دیگر مرکاپتان‌ها و سولفیدها مخلوط می‌کنند. قرارگرفتن کوتاه مدت در معرض ترشیوبوتیل مرکاپتان باعث سرگیجه، سوزش چشم و پوست، حالت تهوع و واکنش‌های آلرژیک، اختلال در خواب، خواب‌آلودگی، عدم حس‌بویایی، استفراغ، اسهال، سردرد، سیانوز، گرفتگی ریه، آسیب‌کلیه، تشنج و حتی کما می‌شود، ولی در مورد اثرات نامطلوب بهداشتی مرتبط با مواجهه طولانی مدت ترشیوبوتیل مرکاپتان برای انسان اطلاعات چندانی وجود ندارد. تماس طولانی مدت این ترکیب برای آبریان خطرناک است، همچنین هیچگونه اختلالات تولیدمثلی و سمیت ژنتیکی در موش‌ها و خرگوش‌هایی که در معرض ترشیوبوتیل مرکاپتان بودند، مشاهده نگردیده است (۴۹-۵۲).

این ترکیب به عنوان یک ماده ی شیمیایی خطرناک (شکل ۱-۲) مطرح است که به شکل مایع و بخار بسیار آتشگیر بوده و ممکن است سبب ایجاد واکنش‌های آلرژیک در پوست گردد.



شکل ۱-۲: نشانه‌های خطر برای ترکیب ترشیوبوتیل مرکاپتان

در لوزی خطر این ماده درجه ی خطر برسلامتی ۲، درجه ی خطر آتشگیری ۳ و واکنش پذیری صفر در نظر گرفته می‌شود (شکل ۱-۳).



شکل ۱-۳: لوزی خطر برای ترکیب ترشیوبوتیل مرکاپتان

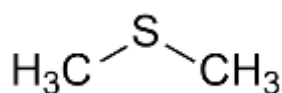
مواد حاصل از سوختن ترشیوبوتیل مرکاپتان ، سولفید هیدروژن و دی اکسید گوگرد می باشد. این ماده دارای مقاومت بالایی در برابر اکسایش است . استفاده از این ترکیب زمانیکه میزان رطوبت مایعات در درون لوله زیاد باشد توصیه نمی شود. خواص فیزیکی ترشیوبوتیل مرکاپتان در جدول ۱-۳ مشخص شده است.

جدول ۱-۳: خواص فیزیکی ترکیب ترشیوبوتیل مرکاپتان

نام های دیگر	۲-متیل-۲-پروپان تیول
چگالی	۰/۸ گرم بر میلی لیتر
جرم مولکولی	۹۰/۱۹ گرم بر مول
فشاربخار	۵/۸۶۸ psi
نقطه ی جوش	۶۲ تا ۶۵ درجه ی سانتیگراد

۱-۳-۲ دی متیل سولفید

دی متیل سولفید با فرمول C_2H_6S مایعی بیرنگ با بویی شبیه بوی کلم گندیده است که از آن در اکثر موارد بعنوان یکی از تشکیل دهنده های مخلوط بودارکننده استفاده می شود. بوی شبیه به سیر دی متیل سولفید می تواند باعث سردرد، تحریک چشم و سیستم تنفسی شود بنابراین در غلظت های بالا منجر به تهوع شده و سیستم عصبی را تحریک می کند (۵۰).



شکل ۱-۴: فرمول شیمیایی دی متیل سولفید

جهت تماس با این ترکیب هشدار وجود دارد و این ماده به عنوان ماده آتشگیر مطرح است (شکل ۱-۵).



شکل ۱-۵: نشانه ی خطر برای ترکیب دی متیل سولفید

در لوزی خطر این ماده درجه ی خطر برسلامتی ۲ ، درجه ی خطر آتشگیری ۴ و واکنش پذیری صفر در نظر گرفته می شود(شکل ۱-۶).



شکل ۱-۶: لوزی خطر برای ترکیب دی متیل سولفید

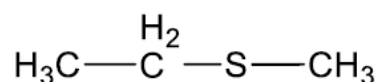
جرم مولکولی دی متیل سولفید و فشار بخار این ماده بالاتر از ترشیو بوتیل مرکاپتان می باشد و بهمین دلیل در سیستم های توزیع و انتقال مایع نمی گردد.از دی متیل سولفید برای بودارکردن گاز مایع نیز استفاده می شود.این ماده دارای خاصیت انباشته شدن در محیط نمی باشد. خواص فیزیکی دی متیل سولفید در جدول ۱-۴ مشخص شده است(۵۳).

جدول ۱-۴: خواص فیزیکی ترکیب دی متیل سولفید

نام های دیگر	دی متیل تیواتر
چگالی	۰/۸۴۷ گرم بر میلی لیتر
جرم مولکولی	۶۲/۴ گرم بر مول
فشاربخار	۹/۷۰۵ psi
نقطه ی جوش	۳۷/۳ درجه ی سانتیگراد

۱-۳-۲-۳ متیل اتیل سولفید

متیل اتیل سولفید با فرمول C_3H_8S مقاومت مناسبی در برابر اکسایش داراست و به عنوان ماده ای در مخلوط با سایر مواد بودار کننده مطرح می باشد.



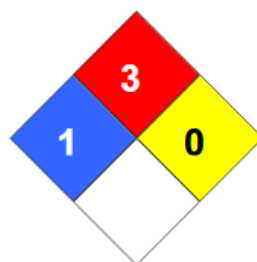
شکل ۱-۷: فرمول شیمیایی متیل اتیل سولفید

متیل اتیل سولفید به عنوان ماده آتشگیر مطرح است(شکل ۱-۸).



شکل ۸-۱: نشانه ی خطر برای ترکیب متیل اتیل سولفید

در لوزی خطر این ماده درجه ی خطر برسلامتی ۲ ، درجه ی خطر آتشگیری ۴ و واکنش پذیری صفر در نظر گرفته می شود(شکل ۹-۱).



شکل ۹-۱: لوزی خطر برای ترکیب متیل اتیل سولفید

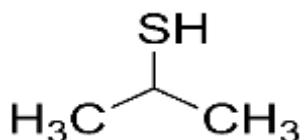
خواص فیزیکی متیل اتیل سولفید در جدول ۵-۱ مشخص شده است(۵۴).

جدول ۵-۱: خواص فیزیکی ترکیب متیل اتیل سولفید

چگالی	۰/۸۴۸ گرم بر میلی لیتر
جرم مولکولی	۷۶ گرم بر مول
فشاربخار	۵/۲۶ psi
نقطه ی جوش	۱۴۷/۳ درجه ی سانتیگراد

۱-۳-۲-۴ ایزوپروپیل مرکاپتان

این ماده دومین ماده ی مرکاپتانی است که در مقابل اکسیداسیون مقاومت بالایی دارد و دارای بویی شبیه سیر و نقطه انجماد پایین است. فرمول ساختاری آن مطابق شکل ۱۰-۱ است .



شکل ۱-۱۰ فرمول شیمیایی ایزوپروپیل مرکاپتان

تأثیرات حاد مشاهده شده در خرگوش‌هایی که با مقدار زیاد این ماده در تماس بودند را به خاصیت محرک بودن ایزوپروپیل مرکاپتان نسبت می‌دهند (۵۵).

۱-۳-۲-۵ نرمال پروپیل مرکاپتان

این ماده دارای نقطه انجماد پایینی بوده و بوی قوی دارد ولی به دلیل اینکه نسبت به بقیه مرکاپتان‌ها مقاومت کمتری به اکسایش نشان می‌دهد، یک جز اصلی در بودارکننده‌ها به شمار نمی‌رود و فقط بین ۳ تا ۵ درصد از این ماده در گاز طبیعی استفاده می‌گردد. فرمول ساختاری این ماده مطابق شکل ۱-۱۱ است:



شکل ۱-۱۱ فرمول ساختاری نرمال پروپیل مرکاپتان

آزمایش‌های مربوط به بررسی میزان سمیت این ماده بر موش‌های صحرایی نشان می‌دهد که این ماده غیرسمی است. عوارض تماس مزمن با این ماده مسمومیت حاد به همراه افسردگی، ایست قلبی، تأثیرات مخرب بر سیستم اعصاب مرکزی و در نهایت مرگ ناشی از تخریب سیستم تنفسی است (۵۶).

۳-۳-۱ دستگاه گاز کروماتوگرافی

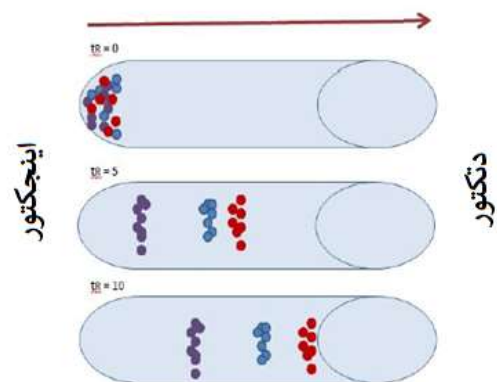
کروماتوگرافی گازی^۱ با کاربرد گسترده ای در سالهای اخیر برای جداسازی و اندازه گیری اجزای مواد در یک مخلوط مورد استفاده قرار داده می شود. بیشتر آنالیزهای شیمیایی، شامل جداسازی اجزاء موجود در یک مخلوط می باشد و مهم ترین روش برای چنین جداسازی استفاده از کروماتوگرافی است. کروماتوگرافی با جداسازی ترکیبات در دو فاز انجام می شود. یکی از این فازها، فاز ساکن است که دارای سطح جذب زیادی است و دیگری فاز متحرک است. حرکت غیریکنواخت اجسام جداشونده به دلیل نابرابری در برآیند دو نیروی متقابل محرکه و بازدارنده از طرف عامل جداکننده اساس کروماتوگرافی است که مجموعه نیروی محرکه و بازدارنده به نام عامل تفکیک کننده یا جداکننده نامیده می شود. روش مذکور اولین بار توسط دانشمند روسی بنام تسوت^۲ برای جداسازی کلروفیل به وسیله ستون پر شده با یک جاذب به کار گرفته شد. این روش بر اساس جذب سطحی یا تقسیم بین دو فاز ساکن^۳ و متحرک^۴ می باشد. در کروماتوگرافی گازی فاز متحرک یک گاز می باشد که معمولاً گاز حامل نامیده می شود. تنها نقش فاز متحرک در کروماتوگرافی گازی حمل مواد به جلو و خارج کردن آنها از ستون است. شکل ۱-۱۲ جهت حرکت فاز متحرک را در ستون نشان می دهد. فاز متحرک هیچ نقشی در جداسازی ندارد و یکی از تفاوت های کروماتوگرافی گازی با کروماتوگرافی مایع همین موضوع است.

^۱ Gas Chromatography

^۲ Tswett

^۳ Stationary phase

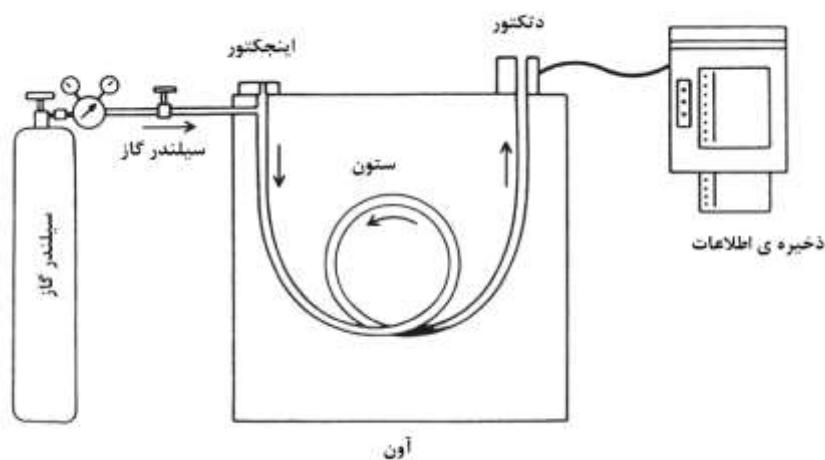
^۴ Mobile phase



شکل ۱-۱۲: جهت حرکت فاز متحرک

قسمت‌های مختلف دستگاه گاز کروماتوگرافی در شکل ۱-۱۲ نشان داده است که عبارت است از:

- ۱- سیلندر گاز حامل
- ۲- ادوات تنظیم فشار و جریان
- ۳- محل تزریق نمونه
- ۴- ستون
- ۵- آشکارساز
- ۶- محفظه‌های گرم‌کن
- ۷- ثبات، داده‌پرداز و نمایشگر



شکل ۱-۱۳: قسمت‌های مختلف دستگاه گاز کروماتوگرافی

ابتدا نمونه توسط سرنگ به داخل اینجکتور تزریق می شود. نمونه پس از ورود به اینجکتور به بخار تبدیل و با فاز متحرک مخلوط و وارد ستون می گردد. نمونه جذب ستون می شود و در زمان های مختلف به وسیله گاز حامل از ستون بیرون می آید و سپس وارد آشکارساز می شود. ستون قلب دستگاه است زیرا عمل اصلی جداسازی توسط آن انجام می شود و آشکارساز کار شناسایی را انجام می دهد. جهت شناسایی مواد با گازکروماتوگرافی از زمان ماند^۱ ترکیب در ستون استفاده می شود. زمان ماند مدت زمانی است که ترکیب جداسازی شده به آشکارساز رسیده و در آنجا ایجاد پالس می نماید. پیک روی دستگاه برای یک ماده تحت شرایط ثابت، مقداری مشخص است.

یک پارامتر مهم در گاز کروماتوگرافی، ارتفاع یا سطح زیر منحنی است. بطور کلی کروماتوگرام دستگاه حاوی دو سری اطلاعات ارزنده به شرح زیر می باشد:

۱- زمان بازداری برای شناسایی جایگاه خروج آنالیت

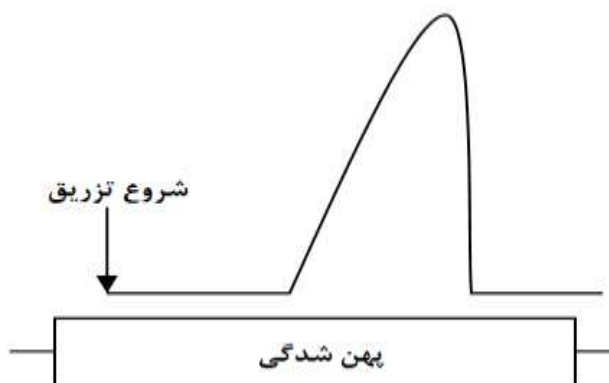
۲- ارتفاع یا سطح زیر منحنی برای تعیین مقدار کمی آنالیت

برای تعیین کمی آنالیت باید از استاندارد داخلی استفاده گردد که با هدف حذف خطای حاصل از حجم تزریق استفاده می شود؛ زیرا حجم تزریق در دستگاه گاز کروماتوگرافی کم است و احتمال اشتباه زیاد می باشد و برای استفاده کمی و حذف این خطا از یک استاندارد داخلی با ساختمان شیمیایی نزدیک به نمونه استفاده می گردد مثلاً برای تعیین مقدار اتانول، از بوتانول به عنوان استاندارد داخلی استفاده می شود زیرا از لحاظ ساختمان شیمیایی نزدیک به نمونه اتانول است بنابراین ضمن اینکه پیک های مربوط به هر کدام جدا می باشد، زمان ماند آنها نیز تفاوت زیادی با هم ندارند.

اگر دو پیک مجاور هر دو پهن باشند، پیک ها نسبت به همدیگر همپوشانی خواهند داد و این به معنی یک جداسازی ناقص می باشد. این پدیده در پیک های باریک به ندرت اتفاق می افتد به طوری که چنانچه اختلاف کمی در زمان بازداری داشته باشند کارایی یا جداسازی آنها کامل خواهد بود. توانایی تولید پیک های باریک توسط یک ستون، بازده ستون نامیده می شود. یک ستون با کارایی مناسب، ستونی است که برخلاف طول زیاد بتواند پیک های باریک ایجاد کند. پهن شدن نمونه در ستون به شکل ستون و شرایط کار بستگی دارد.

^۱ Retention time

گاهی اوقات پدیده ای بنام فوق پهن شدگی^۱ مشاهده می‌گردد. این پدیده حالتی است که مقدار اجزاء موجود در نمونه به قدری زیاد است که شکل پیک نامتقارن و بزرگ می‌گردد. این پیک در حالتی که فاز ساکن مایع باشد به صورت یک پیک رو به جلو و در حالتی که فاز ساکن جامد باشد به صورت پیک دنباله دار ظاهر می‌گردد (شکل ۱- ۱۴).



شکل ۱- ۱۴: پدیده فوق پهن شدگی

این پدیده در He بیشتر و در H_2 کمتر است چون تحت شرایط مناسب سرعت گاز H_2 چهار برابر بیشتر از N_2 و برای He دو برابر گاز N_2 می‌باشد.

اتفاک تبخیر^۲ توسط یک سپتوم از محیط بیرون جدا می‌شود. سپتوم یک قطعه پلاستیکی از جنس سیلیکون می‌باشد که باعث بسته شدن سیستم کروماتوگرافی شده و به وسیله آن یک نمونه می‌تواند به آرامی داخل شود.

۱-۳-۳-۱ گاز حامل

گاز حامل باید یک گاز بی‌اثر مانند هلیوم، نیتروژن یا هیدروژن باشد. انتخاب گاز حامل عموماً با توجه به نوع آشکارساز مورد استفاده، صورت می‌گیرد و معمولاً یک الک مولکولی در دتکتور برای حذف آب و سایر ناخالصی‌ها وجود دارد. سرعت جریان معمولاً با شیر دومرحله‌ای کنترل می‌شود و سرعت جریان فاز

^۱ Overloading

^۲ Linear or Vaporization Chamber

متحرک برای ستون‌های پرشده معمولاً بین ۲۵ تا ۱۵۰ میلی‌لیتر بر دقیقه و برای ستون‌های مویین بین ۱ تا ۲۵ میلی‌لیتر بر دقیقه تنظیم می‌شود. گاز حامل نیتروژن قدرت جداسازی بیشتری نسبت به هلیم و هیدروژن دارد و در سرعت‌های کمتر فاز متحرک ارتفاع بشقابک آن کمتر است. در نتیجه کارایی ستون بسیار زیاد است؛ اما مینیمم منحنی ارتفاع بشقابک برحسب سرعت جریان فاز متحرک در آن بسیار کوچک است و در نتیجه با تغییر کوچک در سرعت جریان، کارایی آن به شدت تحت تأثیر قرار می‌گیرد. درحالی‌که برای هلیم و هیدروژن این مینیمم بسیار وسیع است اما سرعت انتقال جرم در این دو گاز زیاد است. علاوه بر این هیدروژن آتش‌گیر است و کاملاً بی‌اثر نمی‌باشد. ارتفاع معادل بشقابک فرضی طول مورد نیاز از ستون است که نمونه مورد نظر در آن طول بین فاز متحرک و فاز ساکن به حالت تعادل می‌رسد. از بین H_2 ، He و N_2 هلیم از همه بهتر است ولی قیمت بالایی داراست. نگهداری H_2 هم خطرناک است چون قابلیت انفجار دارد.

۱-۳-۳-۲ فلومتر

دستگاه تنظیم فشار گاز حامل توسط فلومتر صورت می‌گیرد که اگر نمونه سریع‌تر بیرون بیاید ممکن است دو پیک روی هم بیفتند. هر چه دبی بیشتر باشد، مواد سریع‌تر از ستون خارج می‌شوند. دبی برحسب میلی‌لیتر بر دقیقه است. در کار با کروماتوگرافی گازی باید نوع گاز حامل و دبی آن ذکر شود.

۱-۳-۳-۳ محل تزریق نمونه

بهترین جداسازی‌ها زمانی صورت می‌گیرد که نمونه سریع و به‌صورت تویی از بخار وارد ستون شود. تزریق آهسته مقدار زیاد از نمونه، سبب پهن شدن پیک و کاهش تفکیک می‌شود. سیستم تزریق نمونه معمولاً به دو صورت انجام می‌شود:

۱- دستی - تزریق مستقیم

۲- اتوماتیک - اتوسمپلر

۱-۳-۳-۴ ستون

دو نوع ستون در کروماتوگرافی گاز- مایع استفاده می شود:

۱- ستون های پر شده

۲- ستون های مویینه

ستون های پر شده از جنس شیشه یا فلز (مس، فولاد ضدزنگ یا آلومینیوم) هستند. طول این ستون ها حدوداً ۲ تا ۳ متر است و قطر درونی (۲-۳ میلی متر) بیش تری دارند. درون این ستون ها از مواد پرکننده فشرده بسیار ریز پر شده که با لایه نازکی از فاز ساکن مایع پوشش داده شده است. مقاومت (ناشی از فشار ایجاد شده) در برابر عبور فاز متحرک سبب می شود که نتوان از این ستون ها با طول بلندتر استفاده نمود. مواد پرکننده برای آنکه بتوانند فاز ساکن بیش تری روی سطح خود نگه دارند و دارای ذرات کروی ریز یکنواخت با قدرت مکانیکی خوب و مساحت سطح ویژه بالا هستند. متداول ترین تکیه گاه خاک دیاتومه است.

ستون های مویینه شامل لوله باریک و بسیار بلند به طول ۳۰ متر و بیشتر می باشند که لایه نازکی از فاز ساکن مایع یا جامد در سطح داخلی آن پوشش داده شده، یا به طور شیمیایی پیوند داده شده است. در این ستون ها به دلیل سرعت زیاد انتقال جرم پهن شدگی ناشی از این پدیده ناچیز بوده و در نتیجه ارتفاع بشقاب کم و کارایی ستون افزایش می یابد. دو نوع ستون لوله باز وجود دارد:

۱- ستون های لوله ای باز با دیوار اندود

۲- ستون های لوله ای باز با تکیه گاه اندود

ستون نقش اصلی در جداسازی را به عهده دارد که از جنس های مختلف می باشد: ستون از جنس فولاد، مس، شیشه ای یا استیل می باشد که سخت پر می شود و حتماً باید توسط کارخانه سازنده پر گردد. ستون مسی انعطاف پذیری خوبی دارد و به راحتی پر می شود زیرا می توان آن را به صورت مستقیم پر کرد و سپس به صورت مارپیچ درآورد ولی عیب آن ها تشکیل اکسید مس در جداره ستون می باشد که می تواند برخی واکنش ها را کاتالیز کند. در حالی که ستون های فولادی این عیب را ندارند.

مزیت ستون های شیشه ای این است که داخل آن ها را می توان مشاهده کرد، بنابراین اگر هوا گرفته باشد قابل پیگیری است و عیب آن ها شکننده بودنشان است. ستون های فولادی خیلی مستحکم اند و باید در

کارخانه به صورت مارپیچ درآیند بنابراین پر کردن آن‌ها مشکل است و احتیاج به دستگاه ویبراتور دارد. یک ویژگی مهم و تأثیرگذار در ستون‌ها پلاریته آن‌هاست که توسط کارخانه سازنده مشخص می‌شود و بر این اساس می‌توان ستون‌های مشابه را انتخاب کرد. برای تثبیت فاز مایع از خاکه آجر یا کروموزورب که بی‌اثر است استفاده می‌شود و مایع دیرجوشی را روی خاکه آجر می‌دمند و تثبیت می‌کنند، معمولاً پارافین یا گریس سیلیکون است.

۱-۳-۳-۵ گرم کننده

سه قسمت از دستگاه باید گرم شوند و آون قسمت گرم‌کننده گازکروماتوگرافی است. گرم کننده در اینجکتور، محفظه ستون و آشکارساز قرار دارد. در ستون دو نوع برنامه دمایی قابل تعریف است. روش هم دما: اگر روش کار ایزوترمال باشد، به آون یک دمای ثابت داده می‌شود. این روش زمانی استفاده می‌شود که در نمونه مورد آنالیز فقط یک ماده مورد شناسایی وجود دارد یا اگر چند ماده وجود دارد، نقطه جوش آن‌ها نزدیک به هم است.

روش برنامه‌ریزی دمایی: این روش در مواقعی استفاده می‌شود که مواد موجود در نمونه دامنه وسیعی از نقطه جوش دارند و اگر ابتدا دمای آون را بالاتر از نقطه جوش دیر جوش‌ترین ماده قرار دهیم، مواد با نقطه جوش کمتر تجزیه خواهند شد و نمی‌توان آن‌ها را شناسایی کرد؛ بنابراین دما طوری تنظیم می‌شود که مواد موجود در ترکیب با سرعت مشخصی به ترتیب نقطه جوش از ستون بیرون آیند یعنی هر چه تعداد کربن‌های ماده بیشتر باشد دیرتر بیرون می‌آیند و پیک آن‌ها دیرتر ظاهر می‌شود. وقتی نمونه‌ای حاوی چند جزء با طیف وسیع نقطه جوش است نمی‌توان از روش ایزوترمال استفاده کرد زیرا با داشتن فقط یک دما، ممکن است یک جزء خیلی سریع بیرون بیاید و بنابراین باید از روش برنامه دمایی استفاده شود.

۱-۳-۳-۶ آشکارساز

آشکارسازهای ایده آل در گازکروماتوگرافی باید حساسیت کافی، تکرارپذیری، گستره وسیع گرمایی (تا دمای بالای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد)، زمان پاسخ کوتاه و مستقل از سرعت جریان، قابلیت اعتماد بالا،

سهولت کاربرد و عدم تخریب نمونه داشته باشند. آشکارسازهای مورد استفاده در کروماتوگرافی گازی شامل موارد زیر هستند:

۱. آشکارساز یونش شعله‌ای
۲. آشکارساز گرما رسانندگی
۳. آشکارساز الکترون گیراندازی
۴. آشکارساز نورتابی شیمیایی گوگرد
۵. آشکارساز گرما یونی
۶. آشکارساز نشر اتمی
۷. آشکارساز نورسنجی شعله‌ای
۸. آشکارساز فوتو یونشی
۹. آشکارساز طیف سنج جرمی

آشکارساز یونش شعله‌ای: یکی از آشکار سازهای کروماتوگرافی گازی، آشکارساز یونش شعله ای می‌باشد. در این دتکتور نمونه‌ها در شعله آشکارساز می‌سوزند و ایجاد یون و الکترون می‌کنند و غلظت نمونه متناسب با افزایش میزان جریان الکترون است. برای تشکیل شعله از سوخت هیدروژن با اکسیژن هوا استفاده می‌شود و برای تأمین اکسیژن هم از کپسول هوا استفاده می‌گردد. نشانه ی روشن بودن دستگاه آشکارساز این است که بخار آب از آن خارج شود. شعله حاصل از سوختن، دمایی ایجاد می‌کند که بیشتر ترکیبات آلی را سوزانده و یون‌های با بار مثبت و الکترون آزاد می‌شود. برای آشکارسازی این یون‌ها، دو الکتروود به منظور ایجاد اختلاف پتانسیل به کار گرفته می‌شوند. الکتروود مثبت به عنوان سر نازلی که در آنجا شعله ایجاد می‌شود نیز به کار می‌رود. الکتروود منفی بالای شعله قرار می‌گیرد و در طراحی‌های اولیه، الکتروود منفی به صورت قطره اشک یا قطعه‌ای زاویه‌ای از پلاتین می باشد. امروزه الکتروودهای لوله‌ای به عنوان صفحه جمع کننده ، در طراحی این دتکتورها به کار می‌روند. یون‌ها به صفحه جمع کننده جذب می‌شوند و با برخورد به صفحه، جریان القاء می‌شود. این جریان توسط یک پیکو آمپر متر با امپدانس بالا اندازه گیری و به یک انتگرال گیر وارد می‌شود. چگونگی نمایش داده‌های نهایی بستگی به کامپیوتر و

نرم افزار مورد استفاده دارد. در کل، نموداری نشان داده می شود که زمان در محور طول و میزان یون کل در محور عرض قرار دارد.

جریان اندازه گیری شده به طور کلی وابسته به نسبت اتم های کربن احیاء شده در شعله است. پاسخ آشکارساز توسط تعداد یون های کربن برخورد کننده به آشکارساز بر واحد زمان مشخص می شود. وقتی هیچ نمونه ای وارد شعله نشود، مقدار کمی یونش وجود خواهد داشت و جریان بسیار ضعیفی ایجاد می کند که ناشی از ناخالصی های موجود در جریان هوا و هیدروژن می باشد.

عمل یونیزاسیون در شعله ممکن است به دلایل زیر اتفاق بیافتد:

۱- تشکیل یون H_3O^+ و اگزوترمیک بودن فعل و انفعال باعث عمل یونیزاسیون می شود.

۲- یونیزاسیون توسط شعله ایجاد شده در آشکارساز رخ می دهد.

۳- تشکیل رادیکال آزاد که اگزوترمیک می باشد و باعث عمل یونیزاسیون می شود.

به هر حال در اثر یونیزاسیون یک جریان میکرو آمپری به وجود می آید که پس از تقویت توسط یک الکترومتر به صورت یک سیگنال به ثبات فرستاده می شود. فاصله بین دو الکتروود مانند یک مقاومت متغیر عمل کرده و مقدار مقاومت از روی تعداد ذرات باردار معین می شود. ناخالصی های موجود در گاز حامل همیشه یک جریان ثابتی از ذرات باردار بین دو الکتروود ایجاد می نماید که جریان زمینه نامیده می شود و معمولاً برای حذف این جریان از ولتاژ مخالف استفاده می گردد تا خط مبدأ مناسبی فراهم شود.

آشکارساز یونیزاسیون شعله ای به همه ترکیبات آلی که در شعله حاصل از هیدروژن و اکسند می سوزند، حساسیت نشان می دهد. پاسخ دستگاه تقریباً متناسب با میزان کربن است یعنی پاسخی از تبدیل همه اتم های کربن موجود در یک محلول آلی به متان در فرایند سوختن با یونیزاسیون شعله ای حاصل می شود؛ بنابراین همه هیدروکربن ها باید پاسخ مشابهی بر واحد کربن نشان دهند. وقتی هترو اتم ها مثل اکسیژن و نیتروژن وجود داشته باشند، در این حالت مقدار ضریب پاسخ ثابت کاهش می یابد (۵۸).

آلودگی در این آشکارساز به سه دلیل رخ می دهد؛

۱- آلوده شدن توسط فاز مایع

۲- آلوده شدن در اثر استفاده از حلال هایی نظیر بنزن و تولوئن

۳- آلوده شدن توسط آب

فازهای مایع سیلیکونی به دلیل تشکیل SiO_2 در شعله باعث آلوده شدن آشکارساز یونیزاسیون شعله ای شده و وجود ذرات SiO_2 در قسمت‌های جمع کننده یون و جت سبب نوساناتی در خط مبدأ خواهند شد، در چنین مواردی باید آشکارساز را بازکرده و قسمت‌های آلوده شده را با حلال مناسب و یا سمباده نرم تمیز کنند. استفاده از حلال‌هایی نظیر بنزن و تولوئن در شعله ایجاد دوده نموده و آلوده شدن قسمت‌های مختلف سبب نوساناتی در خط مبدأ خواهد شد که باید آشکارساز تمیز گردد. در صورت پایین بودن درجه حرارت آشکارساز آب تشکیل شده در شعله آن را آلوده کرده که برای رفع آن کافی است درجه حرارت آشکارساز بالاتر از ۱۲۰ درجه سانتی گراد انتخاب شود. ترکیباتی که حاوی کربن آلی نباشند، نمی‌سوزند و در این دتکتور آشکار نمی‌شوند. مهم‌ترین این ترکیبات در جدول ۱-۶ آمده است.

جدول ۱-۶: ترکیباتی با پاسخ بسیار کم در FID

He	CS_2	NH_3
Ar	COS	CO
Kr	H_2S	CO_2
Ne	SO_2	H_2O
Xe	NO	SiCl_4
O_2	N_2O	SiHCl_3
N_2	NO_2	SiF_4

آشکار ساز جرمی: آشکار ساز جرمی یکی از پیشرفته‌ترین دستگاه‌های مورد استفاده در آنالیز دستگاهی می‌باشد که ترکیبات پس از جداسازی با استفاده از طیف‌سنج جرمی شناسایی می‌شوند. دستگاه کروماتوگرافی گازی با دتکتور جرمی کاربرد گسترده‌ای در صنایع داروسازی، کشاورزی، پتروشیمی و غیره به منظور جداسازی و شناسایی ترکیبات ناشناخته با نقطه جوش پایین دارند.

طیف سنج جرمی یکی از روش‌های طیف سنجی است که شامل جداسازی یون‌های یک یا چند اتمی بر پایه نسبت جرم به فراوانی یون‌ها (m/z) در فاز گازی است. به عبارت دقیق‌تر طیف سنجی جرمی به بررسی m/z و اندازه‌گیری نسبت جرم به بار مولکول‌ها با استفاده از میدان‌های الکتریکی و مغناطیسی می‌پردازد. دوجز اساسی در طیف سنج جرمی عبارتند از یونساز و آنالیزور جرم که به ترتیب تولیدکننده و جدا کننده یونها هستند. اجزای اصلی در سیستم جرمی شامل سیستم ایجاد کننده خلا، اتاقک یونساز، آنالیزور جرمی، ردیاب یونی و سیستم پردازش داده ها می باشد. سیستم طیف سنجی باید تحت خلا 10^{-5} تا 10^{-7} تور قرار گیرد.

دو طریق عمده برای یونیزاسیون نمونه در اتاقک یونساز وجود دارد که به شرح زیر می باشد:

۱- روش الکترون یونیزاسیون: که انرژی حدود ۷۰ الکترون ولت به جسم اعمال می شود. مقدار شکست مولکول بالاست و اطلاعات بدست آمده راجع به ساختمان شیمیائی مولکول بیشتر می شود.

۲- روش یونیزاسیون شیمیایی: از گاز متان، ایزو بوتان، آمونیاک برای شکستن جسم استفاده می شود و روش نرم تری برای یونیزاسیون مولکولی است.

در شروع کار با دستگاه باید از تشکیل خلأ مطمئن شد. به خاطر اینکه وجود آب پیکی با جرم ۱۸، ازت ۲۸، اکسیژن ۳۲ ایجاد می کنند که ممکن است با طیف نمونه تداخل ایجاد نماید. انجام کالیبراسیون ماهانه دستگاه ضروری است، بدین منظور از یک جسم استاندارد طیف جرمی گرفته می شود و مشاهده می گردد که آیا طیف ماده با کتابخانه مطابقت دارد یا نه؟ به عنوان مثال ماده استاندارد پرفلوروتری بوتیل آمین به عنوان پیشنهاد مناسبی برای کالیبراسیون دستگاه می باشد.

پس از اینکه مولکول های آنالیت در اتاقک یونساز تبدیل به یونهایی در فاز گازی شدند باید به طرف دتکتور کشیده شوند تا در برخورد با صفحه حساس دتکتور ایجاد سیگنالی متناسب با تعداد یونها نمایند. برای اینکه یون ها به سوی دتکتور کشیده شوند از یک گرادیان ولتاژ (اختلاف پتانسیل) بین اتاقک یونساز و دتکتور استفاده می شود بطوریکه اتاقک یون ساز در پتانسیل پایین تری قرار دارد و این امر باعث هدایت یون ها به سوی دتکتور می شود اما در مسیر بین دتکتور و اتاقک یون ساز نیز باید وسیله ای وجود داشته باشد که یونها را بر اساس اختلاف جرمی که دارند از یکدیگر تفکیک نمایند. آنالیزور چهار قطبی یا کوادرپول متداولترین آنالیزور جرمی است. این سیستم از چهار میله فلزی تشکیل شده است که به صورت موازی در رؤس یک مربع قرار گرفته اند. در فضای بین چهار الکتروود یک میدان مغناطیسی ایجاد می شود که آن را میدان کوادرپل می نامند. بنابراین یونهایی که وارد فضای بین چهار الکتروود فوق می شوند تحت تاثیر این میدان تا حدی از مسیر مستقیم منحرف می شوند. میزان این انحراف تابع جرم و بار یون مدنظر و قدرت میدان کوادرپل می باشد. پتانسیل اعمال شده بر روی هر یک از جفت الکتروودهای فوق مجموعه ای از یک ولتاژ مستقیم و یک ولتاژ متناوب با فرکانسی در محدوده ی امواج رادیویی است. آنالیزور جرمی کوادرپل را می توان به عنوان یک فیلتر جرمی به دو صورت مورد استفاده قرار داد:

الف-حالت پایش یک یون واحد^۱: در این حالت ولتاژهای مستقیم و رادیوفرکانسی ثابت نگه داشته می شوند تا بدین ترتیب تنها یک یون معین قابلیت عبور از سیستم کوادرپل را دارا باشد.

ب-حالت روبیدن^۲: در این حالت مقادیر ولتاژهای مستقیم و رادیوفرکانسی از مقدار خاصی شروع و بتدریج افزایش می یابند بطوریکه نسبت ولتاژ مستقیم به ولتاژ رادیوفرکانسی ثابت باقی می ماند. به این ترتیب محدوده وسیعی از یونها با جرم های متفاوت اجازه عبور از کوادرپل را پیدا می کنند.

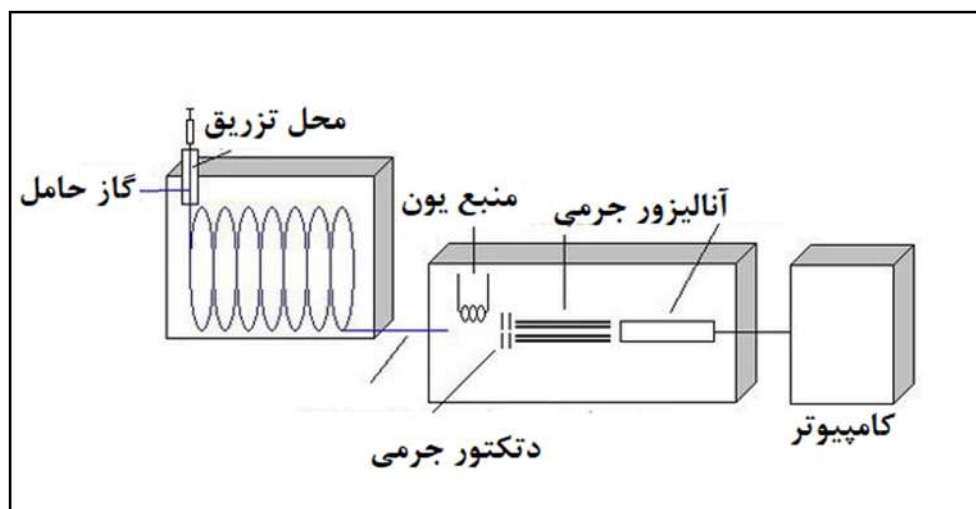
در حالت پایش یک یون واحد آنالایزور تمام زمان خود را تنها صرف پایش یک یون می نماید لذا در این حالت دستگاه حداکثر حساسیت خود را خواهد داشت. این روش برای آنالیز کمی مواد از قدرت بالایی برخوردار است اما از آنجا که در این حالت یک یا چند یون محدود مورد پایش قرار می گیرد اطلاعات چندانی در مورد ماهیت جسم مورد نظر نمی دهد. علاوه بر این کروماتوگرام روبیدن بسیار شلوغ و حاوی پیک های متعدد می باشد.

دستگاه تلفیقی کروماتوگرافی گازی- طیف سنج جرمی از دو قسمت کروماتوگرافی گازی و طیف سنجی جرمی تشکیل شده است. در این دستگاه گاز کروماتوگرافی و دتکتور جرمی از هم جدا نمی باشند و وارد کردن نمونه به دستگاه از طریق کروماتوگرافی گازی می باشد، بنابراین در این دستگاه، فقط از نمونه هایی می توانیم طیف جرمی تهیه کنیم که به کروماتوگرافی گازی تزریق شده است.

در دستگاه کروماتوگرافی گازی با دتکتور جرمی اجزای یک مخلوط به ترتیب توسط یک ستون کروماتوگرافی از هم جدا می شوند و پس از ورود به منبع یونش طیف سنج جرمی می گردند و سپس به واسطه تولید میدان های الکتریکی پر قدرت، شناسایی کمی و کیفی اجزای مخلوط بر اساس نسبت بار الکتریکی به جرم انجام می یابد. سرعت جریان از ستون مویینه عموماً به اندازه ای کم است که خروجی ستون را مطابق شکل ۱-۱۵ مستقیماً به محفظه یونش طیف سنج جرمی وصل می کند.

^۱ SIM

^۲ FCM



شکل ۱- ۱۵: اتصال خروجی ستون به محفظه یونش طیف سنج جرمی

یکی از مزایای کروماتوگرافی گازی با دکتور جرمی نسبت به دیگر روش‌های تلفیقی وجود اطلاعات مفید طیفی بسیار زیاد است. شناسایی ترکیب‌های مجهول از طریق مقایسه طیف جرمی مواد شیمیایی با طیف‌های جرمی ترکیب‌های معلوم موجود در کتابخانه دستگاه طیف سنجی جرمی صورت می‌پذیرد (۵۹).
شکل ۱- ۱۶: دستگاه کروماتوگرافی گازی با دکتور جرمی مورد استفاده در این تحقیق تولید شرکت اجیلنت^۱ از کشور آمریکا را مشخص ساخته است.



شکل ۱- ۱۶: دستگاه گاز کروماتوگرافی با طیف سنج جرمی

^۱ Agilent

دستگاه کروماتوگرافی گازی با دتکتور جرمی مشابه دستگاه کروماتوگرافی گازی است. تنها تفاوت این است که در این دستگاه آشکارساز مربوطه آشکارساز جرمی می باشد.

۱-۳-۴ دستگاه اسپکتروفتومتری

اسپکتروفتومتر^۱ متشکل از دو واژه^۲ اسپکتر (طیف) و فوتومتر^۳ (نور سنج) است. اندازه گیری کمی در روشهای طیف سنجی بر اساس تابش یک دسته پرتو نورانی تکفام (نوری دارای یک فرکانس) می باشد که به نمونه تابانده و سپس مقدار نور جذب شده توسط محلول اندازه گیری می شود. مولکولهای مواد آلی و معدنی به دلیل داشتن الکترون در اوربیتال های مولکولی قادر به جذب تابش الکترومغناطیس می باشند بنابراین می توانند به ترازهایی با انرژی بالاتر ارتقاء یابند. قانون بیر قانون حاکم بر جذب تمام انواع تابش های الکترومغناطیس است. در دستگاه اسپکتروفتومتری مری-ماورای بنفش جذب نور توسط آنالیت در طول موج های مشخص از انرژی تابشی مرئی-ماورای بنفش صورت می گیرد (۶۰).

دستگاه اسپکتروفتومتر از اجزای زیر تشکیل یافته است:

۱. منبع انرژی تابشی

۲. تکفام ساز

۳. کنترل کننده شدت نور

۴. ظروف یا سلولهای شفاف برای نگهداری نمونه و حلال

۵. ردیاب

۶. ثبات یا نگارنده

در این مطالعه از اسپکتروفتومتر مری-ماورای بنفش مدل CE 2021 استفاده گردید (شکل ۱-۱۷).

^۱ Spectrophotometer

^۲ Spectro

^۳ Photometer



شکل ۱- ۱۷: دستگاه اسپکتروفتومتری مری-ماورای بنفش

۱-۳-۵ دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

این تکنیک در نتیجه ی پیشرفت های چشمگیر در زمینه تولید ذرات یک شکل برای فاز ساکن با قطر حدود ۳-۵ میکرومتر به همراه توانایی تغییر ماهیت شیمیایی عوامل سطحی حاصل گردید. به منظور عبور یکنواخت و قابل تکرار فاز متحرک از ستونهای با کارایی بالا که به وسیله ی ذرات با قطر بسیار کم پر شده اند به فشار بسیار بیشتری نیاز است که به وسیله ی پمپ های ویژه ایجاد می گردد. از آنجا که سیستم تحت فشار بالاست وارد کردن نمونه به سیستم نیاز به طراحی خاص قسمت تزریق نمونه دارد. در این روش هم فاز ساکن و هم فاز متحرک قابلیت اثرگذاری بر نمونه را دارا می باشند. در اغلب موارد دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا از پمپ فشار قوی، تامین کننده فاز متحرک، ستون، واحد تزریق کننده و آشکارگر تشکیل شده است. علاوه بر این چند صافی در مسیر جریان فاز متحرک تعبیه شده است تا هرگونه ذره ای را از فاز متحرک بگیرد. در اغلب موارد سیستم کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و بر اساس شرایط جریان ثابت فاز متحرک عمل می نماید بطوریکه یک حلال منفرد یا مخلوطی از حلال ها با ترکیب ثابت در طول مدت انجام آنالیز به عنوان فاز متحرک استفاده می شوند.

در این مطالعه از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با دتکتور مری-ماورای بنفش مدل D- Hitachi 7000 ساخت کشور کره استفاده گردید (شکل ۱- ۱۸).



شکل ۱- ۱۸: دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

۱-۳-۵-۱ پمپ

وظیفه ی اصلی پمپ در کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا این است که فاز متحرک را با فشار بالا و با سرعت کنترل شده از ستون عبور دهد. پمپ مناسب باید دارای خصوصیات زیر باشد.

۱. قسمت های داخلی پمپ در مقابل حلال های فاز متحرک مقاوم باشند و فاسد نشوند.
۲. پمپ قادر باشد تا محدوده ای از سرعت عبور را فراهم آورد و ایجاد تغییر در سرعت عبور آسان باشد.
۳. عبور حلال بدون ضربان باشد.
۴. تغییر فاز متحرک از یک نوع به نوع دیگر به آسانی امکانپذیر باشد.
۵. پمپ به گونه ای باشد که تعمیر و جدا کردن آن از سیستم به آسانی امکانپذیر گردد.

عموماً دو نوع پمپ در دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مورد استفاده قرار می گیرد که شامل پمپ های با فشار ثابت و پمپ با حجم ثابت است. حرکت حلال از یک پمپ با فشار ثابت حساسیت زیادی به تغییرات نفوذپذیری ستون و ویسکوزیته حلال دارد.

اگر یک پمپ با حجم ثابت استفاده گردد تغییر در قابلیت نفوذپذیری سیستم که در نتیجه ی ته نشین شدن یا تغییرات ویسکوزیته فاز متحرک ایجاد می گردد با تغییرات فشار و سرعت جریان در حد ثابتی می ماند.

تغییرات جریان ایجاد زمانهای بازداري غیرقابل تکرار نموده و جداسازی را مغشوش می کند بنابراین پمپ

های با حجم ثابت قادر به انجام اندازه گیری های دقیق خواهند بود.

۳-۱- ۲-۵- فاز متحرک

فاز متحرک از مخزن فاز متحرک به وسیله لوله های مخصوصی از جنس فولاد زنگ نزن به سایر قسمت های دستگاه جریان می یابد. قطر لوله های اتصال از محل تزریق به ستون و از ستون به آشکارساز بسیار مهم می باشد چرا که توزیع شعاعی حلال در سطح مقطع لوله به طور موثری سبب پهن شدن پیک ها می گردد بنابراین لوله های اتصال باید کوتاه و دارای قطر یکنواخت باشند. خارج کردن هوای حل شده در فاز متحرک و یا حباب های هوای معلق در آن دارای اهمیت بسزایی است. هوا می تواند در پمپ یا محفظه آشکارساز یا مکانهای دیگر تجمع کرده و سبب رفتار غیر عادی آشکارگر و پمپ شود. با قرار دادن فاز متحرک در خلا یا با حرارت دادن و روش به هم زدن ماورای صوتی یا با انجام دادن هر دوی این روشها می توان فاز متحرک را عاری از هر گاز کرد. جهت جلوگیری از جذب مجدد هوا می توان فاز متحرک را با هلیوم اشباع نمود تا عبور هوا به درون مایع محدود گردد.

۳-۱- ۳-۵- ستون کروماتوگرافی مایع

جداسازی اجزای یک مخلوط با کمک ستون انجام می یابد. ستون هایی که امروزه بیشتر مورد استفاده قرار می گیرند از جنس فولاد زنگ نزن با ابعادی همچون قطر داخلی ۴/۶ میلی متر و قطر خارجی ۶/۳۵ میلی متر و طول حداکثر ۳۰ سانتی متر می باشند. بیشتر کارخانه های سازنده طول و قطرهای دیگری نیز ارائه می دهند. ستونها می توانند توسط ذراتی با قطر ۳، ۵، یا ۱۰ میکرومتر انباشته شوند. این ذرات ریز معمولاً از جنس سیلیکا می باشند. ذرات سیلیکا به گونه های مختلف در کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مورد استفاده قرار می گیرند. روش معمول استفاده از فاز پیوندی است که سطح بسیار قطبی سیلیکا توسط گروههای مختلف جایگزین می شوند. این گروه های متصل می توانند غیر قطبی (مثل C_3 ، فنیل و C_{18}) و یا قطبی (مثل CN و NH_2) باشند.

اصطلاح فاز نرمال و فاز معکوس برای تشریح جداسازی توسط بسیاری از فازهای پیوندی مورد استفاده قرار می گیرد. فاز نرمال یعنی قطبیت فاز ساکن بیشتر از فاز متحرک است و در عمل همانند زمانی می باشد

که از سیلیکا در کروماتوگرافی جذب سطحی استفاده شود. فاز معکوس یعنی قطبیت فاز ساکن کمتر از فاز متحرک است همانند زمانی که فاز پیوندی هیدروکربنی وجود داشته باشد. با این روش ها اجزای نمونه بر اساس قطبیت ترکیبات خارج می شوند و زمان بازداری اجزای نمونه را می توان توسط تعویض قطبیت فاز ساکن یا فاز متحرک تغییر داد. قبل از ستون معمولاً از پیش ستون استفاده می شود که دو نقش اساسی داراست:

۱- پیش ستون با ذرات درون ستون اصلی پر می شود با این تفاوت که قطر ذرات سیلیکا آئروژل تقریباً ۶۰ میکرومتر است. درشتی ذرات نسبت به ذرات ستون اصلی باعث می شود پیش ستون در برابر جریان فاز متحرک نیروی مقاومی ایجاد نکند و باعث تغییر جریان نگردد. این پیش ستون ها که به ستون محافظ معروفند نقش محافظتی از ستون اصلی را بازی می کنند. پیش ستون از صدماتی مثل فشار بالای حلال و نیز عبور مواد و ذرات احتمالی از داخل ستون محافظت می نماید. همچنین موادی که امکان دارد توسط فاز ثابت ستون جذب غیر قابل برگشت داشته باشند قبل از ورود به ستون جذب می شوند.

۲- به دلیل اینکه در کروماتوگرافی مایع فاز ثابت در pH بین ۲-۷ پایدار است لذا عبور فاز متحرک با pH خارج از این محدوده باعث حل شدن و شسته نشدن تدریجی فاز ثابت ستون جداکننده می شود به همین دلیل پیش ستون را از مواد فاز ثابت پر نموده و در نتیجه اگر فاز متحرک با pH خارج از محدوده عبور کند قسمتی از مواد درون پیش ستون را در خود حل کرده و از فاز ثابت اشباع می شود و هنگام ورود به ستون اصلی بدلیل اشباع بودن از فاز ثابت باعث آسیب به ستون اصلی نمی گردد.

۱-۳-۵-۴ سیستم تزریق نمونه

در کروماتوگرافی مایع با کار آیی بالا تزریق نمونه بیشتر از طریق دریچه ی حلقه ای می باشد. این سیستم دارای دو حالت است، یک راه این است که فاز متحرک مستقیماً وارد ستون می شود و در راه دوم فاز متحرک از طریق لوپ یا حلقه ی خارجی که حاوی نمونه است وارد ستون می گردد. در حالت بازکردن حلقه ی خارجی یا لوپ یا یک سرنگ پر از نمونه می شود و با چرخاندن آن حلال طوری هدایت می شود که از داخل لوپ عبور کرده و نمونه را همراه خود به ستون می برد.

۱-۳-۵ آشکارساز

عمل آشکار ساز در کروماتوگرافی مایع با کار آیی بالا آشکارکردن فاز متحرکی است که از ستون بیرون می آید. خروجی آشکارگر علامات الکتریکی است که با خصوصیات فاز متحرک یا اجزای نمونه متناسب می باشد. مهمترین خصوصیات آشکارگر ها عبارتند از :

- داشتن حساسیت مناسب
- خطی بودن پاسخ ها
- جامعیت یا انتخابگری مناسب
- داشتن پاسخ های قابل پیشگویی که با تغییر شرایط اثر نپذیرد
- حجم مرده پایین
- مخرب نمونه نباشد
- ارزان ، قابل اعتماد و استفاده از آن آسان باشد.

در حالیکه تعداد زیادی آشکارگر نظیر آشکارگرهای جذب ماورای بنفش و فلوئورسنس و الکتروشیمیایی و..... برای کروماتوگرافی مایع با کار آیی بالا در دسترس می باشد انتخاب ردیاب مناسب به منظور دستیابی به اهداف خاص مهم است. معمولا اولین انتخاب ردیاب مرئی-ماورای بنفش می باشد.

آشکارگر مرئی-ماورای بنفش عمومی ترین آشکارگر کروماتوگرافی مایع با کار آیی بالا است. اصول کارکرد آن بر این مبناست که فاز متحرک از ستون به درون محفظه ای کوچک جاری می شود. محفظه در مقابل اشعه مرئی-ماورای بنفش قرار می گیرد. این آشکارگرها فقط می توانند اجزای نمونه ای که نور مرئی یا ماورای بنفش را جذب می نمایند آشکار سازد. مناسب ترین طول موج جهت اندازه گیری ، طول موج حداکثر می باشد زیرا بهترین پاسخ دریافت خواهد شد (۶۱).

۱-۳-۶ رادیکال های آزاد

رادیکال های آزاد اتم ها ، مولکول ها یا یون های بسیار واکنش پذیر و ناپایداری هستند که به خاطر وجود الکترون منفرد در مدار بیرونی خود قادرند در بدن موجودات زنده به طور برگشت ناپذیر با مولکول های سیستم های بیولوژیک نظیر DNA ، پروتئین ها ، اسید آمینه آزاد ، لیپید ها ، لیپوپروتئین ها ، کربوهیدرات ها

و ماکرومولکول های بافت همبند واکنش داده (۶۲، ۶۳) و آسیب های جبران ناپذیری را به سلول های بدن وارد نمایند و باعث اختلال در عملکرد و در نهایت مرگ سلول شوند (۶۴، ۶۵).

تولید رادیکال های آزاد در شرایط هوازی اجتناب ناپذیر است. به علت متابولیسم های طبیعی همچون متابولیسم هوازی در زنجیره تنفسی میتوکندریایی و قرار گرفتن در معرض اکسیدان های محیطی نمی توان از تشکیل رادیکال آزاد درونی و بیرونی جلوگیری کرد. در حقیقت رادیکال های آزاد مواد فعالی هستند که در نتیجه عوامل مختلفی تولید می شوند. بدن انسان با در معرض قرار گرفتن عفونت های میکروبی، آلاینده ها، دود سیگار، الکل، پرتوهای یونیزاسیون، پرتو فرا بنفش و یا آفت کش ها رادیکال های آزاد تولید کنند. رادیکال های آزاد به دلیل داشتن الکترون غیرپیوندی، تمایل به واکنش با دیگر ترکیبات داشته و به عنوان پذیرنده الکترون و عامل اکسیدان عمل می کنند مهمترین رادیکال های آزاد از سه عنصر اصلی اکسیژن، نیتروژن و گوگرد مشتق می شوند که شامل گونه های فعال اکسیژن^۱ (ROS)، گونه های فعال نیتروژن^۲ (RNS) و گونه های فعال سولفور^۳ (RSS) می باشند. عامل اصلی آسیب اکسیداتیو به مولکول های زیستی در بدن گونه های فعال اکسیژن می باشند. گونه های فعال نیتروژن از واکنش نیتریک اکسید با آنیون سوپراکسید تشکیل می شوند و گونه های فعال سولفور از واکنش گونه های فعال اکسیژن با تیول ها تشکیل می شوند (۶۶). در سال های اخیر ثابت شده است که رادیکال های آزاد با منبع داخلی یا خارجی از مهم ترین عوامل بروز شرایط پاتولوژیک در بیماری های التهابی مانند دیابت ملیتوس، آترواسکلروز، ایسکمی قلبی و مغزی، سرطان، نقص ایمنی و پیری در انسان می باشند.

پراکسیداسیون لیپیدی به علت اثر گونه های فعال اکسیژن بر روی اسیدهای چرب غیر اشباع^۴، یکی از اصلی ترین آسیب های سلولی می باشد. لیپیدها از مهم ترین مولکول هایی هستند که مورد تهاجم رادیکال های آزاد قرار می گیرند. مطالعات نشان داده است که اکثر بیوملکول هایی که حاوی درصد بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع هستند، از جمله غشاء ها بسیار مستعد آسیب پذیری توسط رادیکال های آزاد

^۱ Reactive Oxygen Species

^۲ Reactive Nitrogen Species

^۳ Reactive Sulfur Species

^۴ Unsaturated Fat

هستند. غشاء ها بیشتر از سایر قسمت های سلول به پراکسیداسیون حساس هستند و به آسانی لیپیدپراکسیداسیون در آن ها صورت می گیرد که منجر به آسیب سلولی می شوند. وقتی اسیدهای چرب غیر اشباع تحت تاثیر رادیکال های آزاد قرار می گیرند یک سری واکنش های زنجیره ای منجر به تشکیل لیپیدهای الکترون دوست و پراکسیداسیون چربی ها می شود. در نتیجه، آرایش دو لایه لیپید غشایی مختل شده که به نوبه خود خواص عملکردی غشا را تحت تاثیر قرار می دهد. علاوه بر این، حاصل پراکسیداسیون لیپیدی تولید آلدید های غیر اشباع^۱ و متابولیت هایی همچون مالون دی آلدید، ۴- هیدروکسی نونال، آکرولین می باشد که محصولات سیتوتوکسیک و موتاژنیک هستند. این متابولیت ها با اتصال به پروتئین ها و تغییر در عملکرد آن ها می توانند بسیاری از پروتئین های سلولی را غیرفعال کرده، موجب مهار آنزیمی و تغییر در ساختار گیرنده های سلولی شوند (۷۰).

۱-۳-۶-۱ گونه های فعال اکسیژن

در سال ۱۹۵۴ فرضیه ای توسط گرشمان^۲ و گیلبرت^۳ ارائه شد که اثرات زیان آور اکسیژن مولکولی (O_2) به گونه های فعال اکسیژن^۴ نسبت داده می شود. بطور کلی مولکول اکسیژن دارای دو الکترون جفت نشده در اربیتال π^* با اعداد اسپین کوانتومی یکسان می باشد لذا بر اساس اصل پائولی^۵ چنانچه این مولکول اکسیژن بخواهد اتم یا مولکول دیگری را اکسید نموده و یک جفت الکترون از آن دریافت کند، می بایست این دو الکترون اعداد اسپین یکسان و در عین حال مخالف اعداد اسپین تک الکترونها موجود در اربیتالهای π^* موردنظر داشته باشند تا بتوانند به این اربیتالها وارد شوند. البته وارد شدن فقط یک الکترون به مولکول اکسیژن با سهولت بیشتری صورت می گیرد. به هر حال این پدیده، محدودیت هائی را برای اکسیژن مولکولی در انجام واکنش ها ایجاد می کند. بدیهی است چنانچه در شرایط مختلف این محدودیت برطرف

^۱ Unsaturated Aldehydes

^۲ Gershaman

^۳ Gilbert

^۴ Reactive Oxygen Species (ROS)

^۵ Paulis Principle

شود میزان فعالیت اکسیژن مولکولی افزایش می یابد و در گونه های فعال اکسیژن این محدودیت اسپین برداشته شده و بهمین دلیل، فعالیت شیمیائی این مولکولها بسیار بیشتر از اکسیژن مولکولی است.

بسیاری از گونه های اکسیژن بصورت رادیکال های آزاد هستند. بنا به تعریف رادیکال آزاد به اتم یا مولکولی اطلاق می شود که حاوی یک یا چند الکترون جفت نشده باشد و این حالت، فعالیت شیمیائی یک اتم یا مولکول را تغییر داده و آن را فعالتر می سازد. این تعریف دامنه گسترده ای داشته و شامل اتم هیدروژن با یک الکترون جفت نشده، بسیاری از فلزات و همچنین مولکول اکسیژن می باشد. مهمترین رادیکالهای آزاد عبارتند از:

الف) رادیکال سوپراکسید (O_2)

ب) رادیکال هیدروکسیل (OH)

ج) رادیکال پراکسیل (RO_2)

د) اکسیدهای نیتروژن (NO_2, NO)

بعضی دیگر از گونه های فعال اکسیژن ساختمان غیر رادیکالی دارند که مهمترین آن عبارتند از:

ه) اکسیژن منفرد (1O_2)

و) پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

ز) اسید هیپوکلروس ($HOCl$)

رادیکال های اکسیژنی آزاد به دلیل دارا بودن یک یا چند الکترون جفت نشده واکنش پذیری بیشتری نسبت به نوع غیر رادیکالی دارند. بعضی انواع رادیکال های اکسیژن فعال در غلظت های پایین به عنوان مولکول های سیگنال دهنده در بدن استفاده می شوند و برای بسیاری از اعمال سلولی و فعالیت های بیولوژیکی مفید می باشند. با این وجود، گونه های فعال اکسیژنی در صورت تولید بیش از حد، اثرات مضر ایجاد می کنند. سمیت مرتبط با تولید بیش از حد رادیکال های آزاد از طریق سیستم های دفاع آنتی اکسیدانی کنترل می شود تا در نهایت محیط سلولی سالم فراهم شود. از منابع داخلی برای تولید گونه های فعال اکسیژن می توان به فعالیت میتوکندری، پراکسی زوم ها، سلول های التهابی (نوتروفیل ها، ائوزینوفیل ها و ماکروفاژها)، آدرنالین ها و دوپامین ها، کویینون ها، آنزیم های کمپلکس سیتوکروم P450، NADPH

اکسیدازها و گزانتین اکسیدازها، متابولیسم اسید آراشیدونیک و اکسیداسیون خودکار کاتیکول آمین اشاره کرد. از منابع خارجی برای تولید رادیکال های آزاد می توان به آلاینده های محیطی، پرتوها و همچنین ترکیبات شیمیایی مانند داروهای ضد سرطان، دود سیگار و الکل اشاره کرد (۶۷).

الف: رادیکال آنیونی سوپراکسید ($O_2^{\bullet-}$) فرم کاهش یافته اکسیژن است که یک الکترون به مولکول اکسیژن اضافه شده است و توسط سلول های فاگوسیتوز برای غیر فعال کردن ویروس ها و باکتری ها تولید می شود. سوپراکسید توسط مسیرهای مختلفی تولید می شود که از آن جمله به فعالیت گلبول های سفید خون، قیروبیلاست ها و سلول های آندوتلیال عروقی، اکسیداسیون خودکار کاتیکول آمین ها، تتراهیدروفولات ها و نشت الکترونی از زنجیره انتقال الکترونی میتوکندری اشاره نمود. این رادیکال یک مولکول داخل سلولی مهم است که در تنظیم رشد و در مکانیسم های دفاعی از طریق فاگوسیت ها شرکت می نماید. واکنش این رادیکال با کاتیون هایی مانند آهن و مس، گونه های فعالی با بیشترین واکنش پذیری مانند رادیکال هیدروکسیل تولید می کند. این رادیکال در نتیجه وارد شدن یک الکترون به یکی از اربیتالهای π^* مولکول اکسیژن ایجاد می شود و بر حسب محیطی که در آن تولید می شود می تواند بعنوان یک اکسید کننده و یا یک احیاء کننده قوی عمل نماید. تشکیل سوپراکسید در قسمتهای مختلف سلول از جمله میتوکندری، رتیکولوم اندوپلاسمیک و در بعضی موارد غشاء سیتوپلاسمیک رخ می دهد که اکثر این واکنشها آنزیماتیک هستند. نحوه ایجاد این مولکول های فعال در زیر عنوان شده است:

۱- میتوکندری: در زنجیره انتقال الکترون دو مکان آنزیماتیک، بعنوان منابع اصلی تولید سوپر اکسید مطرح شده اند. این دو آنزیم ابی کینون، سیتوکروم C رودکتاز و NADH دهیدروژناز هستند که بترتیب ۸۵ و ۱۵٪ سوپراکسید میتوکندری را تولید می کنند.

۲ - غشاء رتیکولوم اندوپلاسمیک: در این قسمت آنزیم سیتوکروم P-450 ردوکتاز وابسته به NADPH است که یک فلاوپروتئین دخالت دارد و موجب تولید رادیکالهای سوپراکسید می شود.

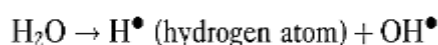
۳- غشاء پلاسمائی سلولهای خاص، همچون گلبولهای سفید که دارای یک زنجیره انتقال الکترون خاص و محتوی NADPH اکسیداز هستند، مقدار بسیار زیادی سوپراکسید تولید می کنند که اینها در فرایند

فاگوسیتوز نقش بسیار مؤثری خواهند داشت. همچنین مولکولهای مختلفی قادر به واکنش با اکسیژن هستند و سبب اتواکسیداسیون آن می گردند و در نتیجه این واکنشها، گونه های فعال اکسیژن تشکیل می شود. اتواکسیداسیون اسکوربات، گلو تاتیون، پیرو گالول، کاتکول آمین ها نظیر آدرنالین فلاوین های احیاء شده و تشکیل سوپراکسید می کنند. از طرف دیگر بعضی از فاکتورهای محیطی مانند پرتوهای ماوراء بنفش، گاما، ایکس و اولتراسوند قادر به تولید رادیکال سوپراکسید هستند.

مهمترین راه حذف سوپراکسید، عمل دیسموتاسیون بوده که طی آن دو مولکول رادیکال سوپراکسید تبدیل به پروکسید هیدورژن می شود. این واکنش توسط آنزیم سوپراکسید دیسموتاز^۱ کاتالیز می شود. رادیکال سوپراکسید می تواند در واکنش هابر-ویس^۲ شرکت کرده و تشکیل اکسیژن مولکولی و رادیکال هیدروکسیل نماید. اگرچه رادیکال هیدروکسیل بسیار فعال تر و خطرناکتر می باشد (۶۸).

ب) رادیکال هیدروکسیل

رادیکال هیدروکسیل ($\text{OH}^\bullet$) متعلق به گونه های فعال اکسیژن می باشد و به عنوان واکنش پذیرترین گونه با نیمه عمر بسیار کوتاه شناخته می شود. این رادیکال با یونیزاسیون مولکول آب تولید می شود. شواهد نشان می دهد که رادیکال هیدروکسیل قوی ترین گونه فعال اکسیژن است و احتمالاً شروع کننده یک سری از واکنش های زنجیره ای است که تشکیل پروکسیدهای لیپیدی و رادیکالهای آلی را می دهند.



راههای مختلفی برای تولید رادیکال هیدروکسیل وجود دارد مثل تأثیر پرتوهای یونیزان و اولتراسوند بر روی پیوند O-O در مولکول H_2O_2 که باعث تولید رادیکال هیدروکسیل می شود. اما مهمترین راه برای تولید این رادیکال واکنش فنتون^۳ می باشد. این واکنش کاربردهای زیادی دارد و در موارد مختلف جهت بررسی اثرات تخریبی رادیکال هیدروکسیل روی مولکولهای بیولوژیک استفاده می شود. در واکنش فنتون H_2O_2 و Fe^{2+} تولید رادیکال هیدروکسیل می نمایند. در جریان واکنشهای فنتون و هابرویس، رادیکال

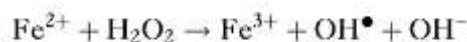
^۱ Superoxide dismutase (SOD)

^۲ Haber- weiss

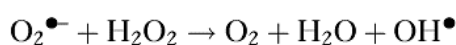
^۳ Fenton reaction

هیدروکسیل تولید می شود. جمع کلی واکنشها را می توان به صورت زیر در نظر گرفت که طی آن H_2O_2 در حضور نمکهای آهن، نهایتاً به آب و اکسیژن تبدیل خواهد شد. البته عناصر مس و منگنز نیز می توانند واکنشهای مشابهی را ایجاد کنند.

$OH^\bullet$ در دو واکنش بیولوژیکی مهم فتون و هابر - ویس تولید می شود. در واکنش فتون H_2O_2 با پذیرش یک الکترون از یک یون فلزی (به عنوان مثال آهن) کاهش یافته و تجزیه می شود.



در حالی که در واکنش هایبری-ویس، $OH^\bullet$ بوسیله برهمکنش $O_2^{\bullet-}$ و H_2O_2 تولید می شود:



$OH^\bullet$ با پروتئین های سلولی، کربوهیدرات ها، چربی ها و DNA واکنش می دهد؛ همچنین این رادیکال با شروع پراکسیداسیون لیپیدی قادر به ایجاد واکنش زنجیره ای برای تولید رادیکال های آزاد می باشد. امروزه مشخص شده است که واکنش های متعدد دیگری نیز، تولید رادیکال هیدروکسیل می نمایند بعنوان مثال واکنشهای مربوط به رادیکال هیدروکسیل عبارتند از:

- ۱- دریافت هیدروژن از مولکولهای مختلف و تشکیل رادیکالهای دیگر مانند شروع پراکسیداسیون لیپیدها
 - ۲- رادیکال هیدروکسیل بعنوان ناقل الکترون می تواند یک اکسید کننده قوی بشمار رود و پذیرنده الکترون در واکنشهای انتقال الکترون باشد.
 - ۳- اضافه شدن رادیکال هیدروکسیل بر روی حلقه های آروماتیک مثل بازهای پورینی و پیریمیدینی این واکنش بخاطر صدماتی که به ساختمان بازها و DNA ایجاد می کند بسیار مهم است .
- ج) رادیکال پراکسیل^۱

در جریان پراکسیداسیون لیپیدها، تشکیل رادیکال پراکسیل نقش بسیار مهمی دارد. البته این رادیکال می تواند در جریان صدمات وارد شده به پروتئین ها و یا DNA نیز حاصل شود. به هنگام شروع پراکسیداسیون لیپیدها، ابتدا رادیکالهای فعالی از قبیل OH و NO_2 ، به اسیدهای چرب غیر اشباع حمله کرده و یک اتم هیدروژن دریافت می کنند و تولید رادیکال کربن می نمایند. رادیکال کربن، سرعت با یک مولکول اکسیژن

^۱ Peroxyl (RO2)

ترکیب شده و رادیکال پراکسیل ایجاد می کند. این رادیکال می تواند با یک اسید چرب دیگر واکنش داده و مجدداً تولید رادیکال کربن نماید و خود به یک پراکسید تبدیل شود.

(د) رادیکال اکسیدهای نیتروژن (NO_2):

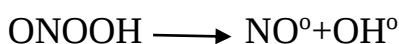
رادیکال NO می تواند بطور فعال با اکسیژن مولکولی، رادیکال سوپراکسید و رادیکالهای آلی واکنش دهد و شاید بسیاری از خواص زیانبار نیتریک اکسید، در نتیجه ایجاد مولکولهای سمی تری است که از این واکنشها بدست می آیند.

واکنش با سوپراکسید: در محیط آبی، با pH قلیائی، رادیکال NO با رادیکال سوپراکسید $\text{O}_2^{\cdot-}$ واکنش داده و تشکیل پروکسی نیتريت را می نماید.



که بخش عمده ای از این مولکول در pH فیزیولوژیک ($\text{pKa}=6/8$) بصورت پروکسی نیتريت در آمده و نیمه عمر این ترکیب در $\text{pH}=7$ حدود ۱ تا ۲ ثانیه است.

پراکسی نیتريت یک ترکیب اکسید کننده قوی بشمار می رود و می تواند آسیب های جدی به مولکولهای مختلف همچون لیپیدها، پروتئین ها و DNA وارد نماید که بخشی از این صدمات مستقیماً صورت گرفته و بخش دیگر در نتیجه تجزیه این ترکیب به رادیکالهای هیدروکسیل و نیتروژن دی اکسید می باشد.



$\text{NO}^\bullet$ توانائی واکنش با رادیکالهای دیگر همچون $\text{RS}^\bullet, \text{RO}^\bullet, \text{R}_3\text{C}^\bullet$ را دارا می باشد. بدلیل اینکه $\text{NO}^\bullet$ بصورت گاز است و بکارگیری مستقیم آن در مطالعات مشکل می باشد لذا از دهنده های $\text{NO}^\bullet$ استفاده می شود.

(ه) اکسیژن منفرد (1O_2)

اکسیژن منفرد^۱ (Singlet oxygen) یک رادیکال محسوب نمی شود ولی بدلیل برطرف شدن محدودیت اسپین، فعالیت آن از اکسیژن معمولی بیشتر است. اکسیژن منفرد، یک اکسید کننده قوی محسوب می شود و می تواند سریعاً به مولکولهای مختلفی از جمله اسیدهای چرب اشباع نشده حمله کند. از طرف دیگر

^۱ Singlet oxygen

توانائی عبور از غشاءهای بیولوژیک را نیز دارد.

تشکیل اکسیژن منفرد: این گونه فعال اکسیژن، بیشتر در جریان واکنش های فتوشیمیایی بوجود می آید. بدینصورت که وقتی پیگمان های بیولوژیکی مثل کلروفیل، رتینال، فلاوین ها و پورفیرین ها در حضور O_2 ، تحت تأثیر نور قرار گیرند، مولکول O_2 تهییج شده و به اکسیژن منفرد تبدیل می شود. تولید این گونه فعال در لنز و رتینای چشم پستانداران بسیار مهم است. همچنین در نتیجه برخورد ازن (O_3) با مایعات بیولوژیکی بدن تولید اکسیژن منفرد می شود.

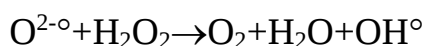
(و) پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به عنوان یک عضو از خانواده غیر رادیکالی گونه های فعال اکسیژنی مطرح می باشد که الکترون جفت نشده ندارد. پراکسید هیدروژن توسط برخی از اکسیدازها مانند آمینو اسید اکسیداز، اکسیداز زانتیک و NADPH اکسیداز تولید می شود، این مولکول نیز رادیکال آزاد محسوب نمی شود و در شرایط عدم حضور عناصر فلزی مثل Fe^{2+} ، نسبتاً پایدار است و خاصیت اکسید کنندگی و احیاء کنندگی ضعیفی از خود نشان می دهد. حلالیت آن در آب بسیار بالاست و بسرعت از طریق غشاء سلول قابل انتشار است.

فرآیند اصلی در تشکیل هیدروژن پروکسید، واکنش دیسموتاسیون رادیکال سوپر اکسید است. این واکنش توسط آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کاتالیز می شود و نقش این آنزیم در خنثی سازی سوپراکسید بسیار مهم است. راه دیگر برای تشکیل هیدروژن پراکسید، احیاء مستقیم اکسیژن با دو الکترون توسط اکسیدازها می باشد مهمترین این آنزیم ها عبارتند از:

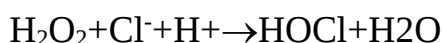
گزانتین اکسیداز، مونوآمین اکسیداز، دی آمینو اسید اکسیداز

بیشتر اکسیدازها در پراکسیزوم ها وجود دارند. در این ارگانل مقدار زیادی کاتالاز نیز یافت می شود. این آنزیم، هیدروژن پروکسید را به آب و اکسیژن تجزیه می کند. پراکسیدازها نیز می توانند هیدروژن پروکسید را خنثی نمایند. مهمترین این آنزیم ها گلوکاتایون پراکسیداز می باشد، هیدروژن پروکسید می تواند در واکنشهای فنتون و هابرویس شرکت نموده و تولید رادیکال هیدروکسیل نماید که بسیاری از جنبه های سمیت مربوط به این گونه فعال اکسیژن در واقع نشأت گرفته از اثرات سوء رادیکال هیدروکسیل است.

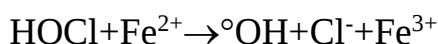
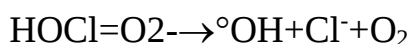


ی) هیپوکلروس اسید^۱ (HOCl)

اسید هیپوکلروس یک اکسید کننده قوی است و در بدن توسط نوتروفیل های فعال شده ساخته می شود. آنزیم میلوپراکسیداز^۲ که یک آنزیم محتوی هم^۳ می باشد طبق واکنش زیر ساخت HOCl را کاتالیز می نماید.



اخیرا تصور می شود که این گونه فعال یعنی HOCl می تواند توسط واکنش وابسته به آهن و یا غیر وابسته به آهن تولید رادیکال هیدروکسیل نماید.



و بدین ترتیب رادیکال هیدروکسیل که بسیار فعال است واکنش های زنجیره ای برای تشکیل رادیکالهای دیگر مانند پراکسیداسیون لیپیدها را شروع می نماید. در ائوزینوفیل های خون انسان، آنزیمی شبیه میلوپراکسیداز یافت می شود که ترجیحاً یونهای برومید را اکسید نموده و تولید HOBr می کند .

۱-۳-۶-۲ سیستم دفاع آنتی اکسیدانی

طبق تعریف، آنتی اکسیدان یعنی هر ماده ای که وقتی در غلظت بسیار کم در مقایسه با دیگر مواد قابل اکسید شدن وجود داشته باشد، بطور قابل ملاحظه ای اکسیداسیون این مواد را مهار کرده و یا به تأخیر می اندازد. آنتی اکسیدان ها می توانند با مکانیسم های مختلف عمل نمایند :

الف- برداشت اکسیژن یا کاهش غلظت موضعی اکسیژن

ب- برداشت یونهای فلزی کاتالیتیک مثل Fe^{2+} و Cu^+

^۱ Hypochlorous acid

^۲ Myeloperoxidase

^۳ Heme

ج- برداشت گونه های فعال اکسیژن مثل سوپراکسید و هیدروژن پروکسید

د- بدام انداختن رادیکال های فعال همچون هیدروکسیل، الکوکیل و پروکسیل

ه- قطع کردن واکنشهای زنجیره ای اکسیداسیون

- بدام انداختن اکسیژن منفرد

بعضی از آنتی اکسیدان ها در جریان فعالیت خود مصرف نمی شوند بعنوان مثال آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز که عمدتاً رادیکال سوپراکسید، هیدروژن پروکسید و پروکسیدهای آلی را بترتیب خنثی می نمایند. از طرف دیگر بعضی از آنتی اکسیدان ها در جریان واکنش ها مصرف می شوند مثل آنهایی که اکسیژن منفرد را به دام می اندازند و یا کمپلکس هائی با عناصر فلزی کاتالیتیک و.... برقرار می کنند.

بطور کلی قابلیت یک آنتی اکسیدان در خنثی کردن گونه های فعال اکسیژن و رادیکالهای آزاد به عوامل مختلف بستگی دارد که مهمترین آن ها عبارتند از:

۱- فعالیت شیمیائی ذاتی برای رادیکالهای آزاد مثل ویتامین E یا α توکوفرول که بخاطر لیپوفیل بودن بیشتر بر روی رادیکالهای بخش لیپوفیلیک غشاء یا لیپوپروتئین مؤثر است.

۲- محل تولید رادیکال آزاد و میزان فعالیت آن

۳- محل آنتی اکسیدان

۴- غلظت و تحرک آن در محیط

۵- سرنوشت رادیکال آنتی اکسیدان ایجاد شده

۶- تداخل با دیگر آنتی اکسیدان ها

سلولها، سیستم های دفاعی مختلفی را بر علیه گونه های فعال اکسیژن و رادیکال های آزاد به خدمت گرفته اند که اینها در سطوح مختلف عمل نموده و صدمات ناشی از فعالیت عوامل اکسیداتیو مخرب را به حداقل می رسانند. آنتی اکسیدان ها می توانند در سطوح زیر وارد عمل گردند:

الف- جلوگیری از تشکیل رادیکالهای آزاد

ب- جلوگیری و یا قطع فعالیت رادیکالهای آزاد بدنبال تشکیل آنها

ج- ترمیم صدمات ناشی از فعالیت رادیکالها

د- افزایش دفع یا جذب مولکولهای صدمه دیده

ه- به حداقل رساندن موتاسیون ها

در بدن انسان برای مقابله با آسیب حاصل از رادیکال های آزاد و به منظور کنترل سطح گونه های فعال اکسیژن سیستمی به نام سیستم دفاع آنتی اکسیدانی توسعه یافته است. آنتی اکسیدان ها مکانیسم های دفاعی بدن در برابر اکسیدان ها هستند که در حفظ وضعیت ردوکس و حذف گونه های فعال و برقراری تعادل بین واکنش های اکسایش- کاهش در بدن نقش مهمی را ایفا می کنند. آنتی اکسیدان ها مولکول هایی هستند که در غلظت کم در مقایسه با سوبسترا، به طور قابل ملاحظه ای با مکانیسم های مختلف باعث کاهش سرعت واکنش های اکسیداتیو مانند اکسیداسیون بیومولکول های حیاتی چون پروتئین ها، کربوهیدرات ها، لیپیدها و DNA می شوند و از بدن در برابر آن ها محافظت می کنند. آنتی اکسیدان ها با دادن یک اتم هیدروژن به رادیکال های آزاد مانع گسترش واکنش های زنجیره ای اکسیداسیون می گردند و بدین صورت توان به تاخیر انداختن یا مهار فرایند اکسیداتیو را دارند و مانع آسیب اکسیداتیو بافت ها می شوند.

سیستم دفاع آنتی اکسیدانی به دو بخش تقسیم می شود.

دفاع آنزیماتیک: دسته ای از آنتی اکسیدان ها به صورت آنزیم در بدن وجود دارند که با رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن واکنش می دهند و آنها را خنثی می کنند. این آنزیم ها ساز و کارهای دفاعی درونزای بدن را برای کمک به حفاظت و پیشگیری در مقابل رادیکال های آزاد شکل می دهند و شامل آنتی اکسیدان های آنزیمی کاتالاز^۱، گلووتاتیون پراکسیداز^۲، گلووتاتیون ردوکتاز^۳، سوپراکسید دیسموتاز^۴ می باشند (۷۰).

سوپراکسید دیسموتاز به فرم های Zn/Cu-SOD و Mn-SOD در سیتوپلاسم، لیزوزوم ها و میتوکندری وجود دارند و آنیون سوپر اکسید را به اکسیژن و پراکسید هیدروژن کاتالیز می کنند. این آنزیم ها تقریباً در

^۱ Catalase

^۲ Glutathione Peroxidase

^۳ Glutathione Reductase

^۴ Superoxide Dismutase (SOD)

همه سلول های هوازی و مایعات خارج سلولی وجود دارند. کاتالاز فراوان ترین آنزیم اکسیدانی در پراکسیزوم هاست که با پراکسید هیدروژن واکنش داده و سبب تجزیه آن به آب و اکسیژن می گردد. گلووتاتیون پراکسیداز نیز به واسطه گلووتاتیون سبب احیای پراکسید هیدروژن و هیدروپراکسیدهای لیپیدی به آب والکل می گردد که طی این فرایند گلووتاتیون به گلووتاتیون دی سولفید با پیوند دی سولفیدی اکسید می شود و در نهایت توسط آنزیم گلووتاتیون ردوکتاز به فرم احیا تبدیل می شود.

دفاع غیر آنزیماتیک^۱: آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی غالباً از طریق منابع غذایی مثل سبزیجات و میوه جات تامین می شوند که شامل گلووتاتیون^۲، ویتامین های A، E، C، فلاونوئیدها، اسید اوریک، کاروتن، تیوردوکسین ها، بیلی روبین، آلبومین و متابولیت های پلی فنول، شلاته کننده های یون فلزی مانند فریتین، ترانسفرین و سروپلاسمین می باشند. گلووتاتیون فراوان ترین تیول غیر پروتئینی در بدن پستانداران است. گلووتاتیون آنتی اکسیدانی است که با گونه های اکسیژن آزاد به طور مستقیم و یا با واسطه آنزیم های پراکسیداز و ترانس هیدروژناز واکنش می دهد و به ویژه برای اندام های در معرض استرس اکسیداتیو اهمیت دارد.

ترکیبات فنولی که در گیاهان خوراکی و غیر خوراکی به طور معمول یافت می شود اثرات بیولوژیکی گوناگونی مانند فعالیت آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد التهابی دارند و یک رابطه معکوس بین مصرف آنها و بروز بیماری ها در انسان وجود دارد. این مشتقات فنولی و فلاونوئیدها در بسیاری از موارد بسیار فعال تر از ترکیبات شناخته شده ای مانند ویتامین C، E و بتاکاروتن شناسایی شده اند. این مشتقات در قسمت های مختلف گیاه از جمله برگ، ساقه، میوه، ریشه و دانه گیاه یافت می شود.

وضعیت آنتی اکسیدان ها در بدن حالت دینامیک داشته و توسط عوامل متفاوت تاثیر پذیر می باشد. با وجود آنتی اکسیدان های داخلی در پلاسما، سیستم دفاعی بدن نیازمند تامین آنتی اکسیدان بیشتر از منابع خارجی برای مبارزه با رادیکال های آزد تولید شده در بدن است. چرا که در شرایط تنش زای محیطی با افزایش قابل توجه عوامل اکسیداتیو دفاع آنتی اکسیدانی بدن کارایی لازم را نخواهد داشت و لذا استفاده از آنتی اکسیدان های طبیعی و سنتتیک لازم است. تعداد زیادی ترکیبات آنتی اکسیدان داخلی و خارجی،

^۱ non enzymatic defense

^۲ Glutathione

طبیعی یا مصنوعی جهت درمان یا پیشگیری از بیماری های مرتبط با رادیکال های آزاد معرفی شده اند. از طرفی ثابت شده است که تعدادی از آنتی اکسیدان های مصنوعی که در صنایع غذایی به عنوان محافظ استفاده می شوند دارای عوارض جانبی می باشند. با آنکه میزان مصرف این ترکیبات به عنوان محافظ باعث ایجاد عوارض نمی گردد توجه محققان به یافتن آنتی اکسیدان های طبیعی معطوف شده است.

۱-۳-۶-۳ استرس اکسیداتیو

استرس اکسیداتیو اصطلاحی است که به مفهوم عدم تعادل بین اکسیدان ها (رادیکال های آزاد) و آنتی اکسیدان ها اشاره دارد و در وضعیت ردوکس بدن و واکنش های اکسایش- کاهش اختلال به وجود می آید. در حالت عادی در بدن یک فرد سالم بین تولید رادیکال های آزاد و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی تعادل دینامیک برقرار است اما اگر فرد در معرض مواجهه با عوامل اکسیداتیو قرار گیرد تولید رادیکال های آزاد در بدن افزایش یافته و این تعادل به هم می خورد .

بدلیل اهمیت پدیده استرس اکسیداتیو در انسان، نیاز روزافزون به روشهای دقیق تر و بهتر برای ارزیابی آن احساس می شود. مواجهه با عوامل محیطی و شغلی، داروها، سموم، گازهای بیهوشی، پرتوها باعث افزایش تولید رادیکال های آزاد در بدن می شود. در حال حاضر هنوز یک شاخص مطلق و تعریف شده ای برای استرس اکسیداتیو یافت نشده است ولی پارامترهای زیادی تعریف شده اند که می توانند نشاندهنده استرس اکسیداتیو باشند. اندازه گیری مستقیم رادیکالهای آزاد بسیار مشکل است، بعنوان مثال، نیمه عمر رادیکالهای آزاد غالباً کمتر از ۴-۱۰ ثانیه است و همچنین تولید آنها با یک مکانیسم ثابت و منظم صورت نمی گیرد بلکه غالباً در فرم ضربانی و بسیار سریع در محیط رها می شود تولید رادیکالهای آزاد در قسمت های مختلف بدن صورت می گیرد. البته روشهایی برای اندازه گیری مستقیم رادیکالهای آزاد مخصوصاً در محیط *in vitro* طراحی شده اند که بخوبی مورد استفاده قرار می گیرند. امروزه بیشتر از اندازه گیری فراورده های بیولوژیک اکسید شده برای ارزیابی استرس اکسیداتیو استفاده می شود.

استرس اکسیداتیو و آسیب ناشی از آن نقش مهمی در پیشرفت بسیاری از بیماری ها دارد. بسیاری از فرآیندهای سلولی از قبیل متابولیسم سلولی، مسیرهای انتقال پیام، تنظیم بیان ژن، تکثیر سلول و همچنین مرگ برنامه ریزی شده سلول تحت تاثیر استرس اکسیداتیو قرار می گیرند. استرس اکسیداتیو عملکرد سلول را دچار اختلال کرده

و منجر به شرایط پاتولوژیکی مختلفی مانند پیری، آترواسکلروز، آرتریت روماتوئید، آسم، بیماری های خود ایمنی، سرطان زایی، اختلالات قلبی عروقی، اختلالات هورمونی و عصبی، آب مروارید، دیابت، فشار خون بالا، آلزایمر و پارکینسون می شود (۷۱).

همانطور که قبلاً عنوان شده است در سیستم های بیولوژیک تولید رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن اجتناب ناپذیر است و طبیعت با طراحی مکانیسم های دفاع آنتی اکسیدانی، اثرات زیان بار آنها را تا حدودی خنثی می نماید. در صورت افزایش تولید رادیکالهای آزاد و یا از طرف دیگر، کاهش عوامل دفاع آنتی اکسیدانی، صدمات ناشی از رادیکال های آزاد افزایش می یابد که به این حالت استرس اکسیداتیو^۱ می گویند (شکل ۱-۱۹). به عبارت دیگر عدم تعادل بین تولید رادیکالهای آزاد از یک طرف و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی از طرف دیگر منجر به بروز استرس اکسیداتیو می شود. در صورت بوجود آمدن استرس اکسیداتیو خفیف یا ملایم، غالباً بافتها با افزایش دفاع آنتی اکسیدانی اثر آن را خنثی می نمایند ولی در حالت استرس اکسیداتیو شدید سلولها صدمه دیده و ممکن است منجر به مرگ سلولها شود. در نکرور و آپوپتوز، یکی از عوامل مهم مرگ سلولها، رادیکالهای آزاد هستند و ژنهای ضد آپوپتوز، در واقع تعدادی از خنثی کننده های رادیکالهای آزاد را کد می نمایند.

برخی از سموم از طریق تولید رادیکالهای آزاد یا تهی سازی دفاع آنتی اکسیدانی و ایجاد استرس اکسیداتیو اثرات زیان باری را بوجود می آورند. علاوه بر آن مشخص شده است که اثرات جانبی بسیاری از ترکیبات شیمیایی بواسطه ایجاد استرس اکسیداتیو و افزایش صدمات ناشی از آن است. در یک تقسیم بندی تولید رادیکالهای آزاد توسط مواد شیمیایی را می توان در چهار گروه تقسیم نمود.

الف- سمومی که خود بصورت رادیکال آزاد هستند مثل دی اکسیدنیتروژن (NO_2)

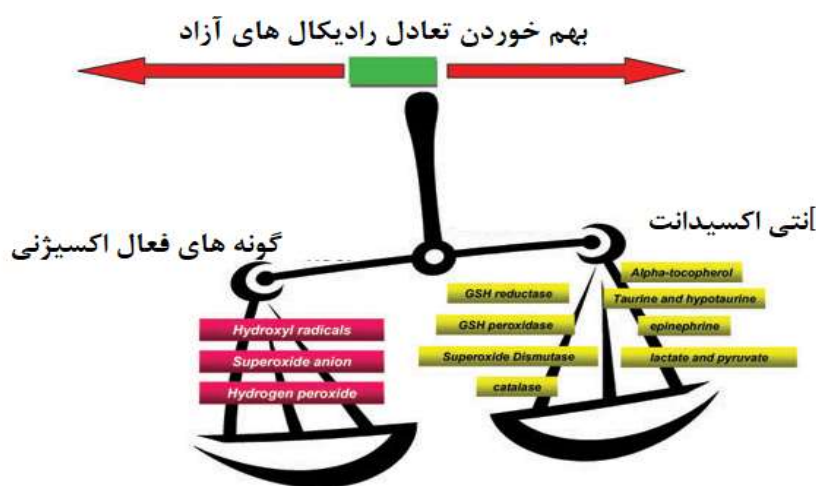
ب- سمومی که به رادیکالهای آزاد متابولیزه می شوند مثل تتراکلرید کربن

ج- سمومی که در نتیجه متابولیزه شدن تولید گونه های فعال اکسیژن را می نمایند مثل پاراکوت که تولید سوپراکسید (O_2^-) می نماید.

د- سمومی که سیستم آنتی اکسیدانی را تهی و یا تضعیف می کند مثل متابولیسم پاراستامول توسط سیتوکروم p-450 که تولید فراورده ای خاص نموده و منجر به کاهش گلووتاتیون می شود. با توجه به اینکه

^۱ Oxidative stress

سیستم دفاع آنتی اکسیدان درونی بدن ما بطور کامل در برابر عوامل اکسیدان مؤثر نیست لذا مصرف بعضی از آنتی اکسیدانها در رژیم غذایی جهت جلوگیری از بروز استرس اکسیداتیو و صدمات ناشی از آن بسیار موثر خواهد بود. مطالعات مختلفی تأثیر مثبت آنتی اکسیدان ها را در جلوگیری از ایجاد آترواسکلروز و بروز سرطانها و کاهش علائم بسیاری از بیماریهای دیگر نشان داده اند. امروزه کاملاً مشخص شده است که رادیکالهای آزاد، در پاتوژنز بیش از یکصد بیماری دخالت دارند که از آن جمله می توان دیابت ملیتوس، آرتریت روماتوئید، بیماریهای قلبی، عروقی، آسم، ایدز، مالاریا، سرطانها، بیماریهای آمیلوئید، پدیده پیری و مسمومیت با الکل نام برد.



شکل ۱-۱۹: ایجاد استرس اکسیداتیو

۱-۳-۶ روش های ارزیابی استرس اکسیداتیو

پارامترهای زیادی تعریف شده اند که می توانند نشاندهنده استرس اکسیداتیو باشند. دسته ای از تکنیک ها بر پایه ی شناسایی مستقیم رادیکال های آزاد پایه ریزی شده اند. به عنوان مثال می توان به روش رزونانس پارامغناطیس الکترون^۱ یا رزونانس اسپین الکترون^۲ اشاره کرد. تکنیک های دیگر به طور غیر مستقیم با شناسایی برخی از واسطه های پایدار تر به سنجش رادیکال های آزاد می پردازند که از آن جمله می توان به

^۱ Paramagnetic Electron Resonance

^۲ Electron Spin Resonance

ارزیابی اثرات حمله رادیکال های آزاد به مولکول های بیولوژیک با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، کروماتوگرافی گاز-مایع و آزمون های رنگی اشاره کرد. روش های غیر مستقیم^۱ معمولاً تغییرات در سیستم های دفاع آنتی اکسیدانی درون زا^۲ و یا آسیب ناشی از گونه های فعال اکسیژن به اجزای سلولی را اندازه گیری می کنند.

تولید رادیکالهای آزاد در قسمت های مختلف بدن صورت می گیرد. البته روشهایی برای اندازه گیری مستقیم رادیکالهای آزاد مخصوصاً در محیط *in vitro* طراحی شده اند که بخوبی مورد استفاده قرار می گیرند. امروزه بیشتر از اندازه گیری فراورده های بیولوژیک اکسید شده برای ارزیابی استرس اکسیداتیو استفاده می شود.

در جریان حمله رادیکالهای آزاد به مولکولهای بیولوژیک، ممکن است رادیکالهای ثانویه ای ایجاد شود که خوشبختانه نیمه عمر این رادیکالها بیشتر است و راحت تر قابل اندازه گیری هستند. از طرف دیگر مولکولهای اکسید شده بیولوژیک که نسبتاً پایدار هستند با روشهای مختلف قابل شناسایی می باشند. اگرچه اندازه گیری آنتی اکسیدان ها به تنهایی و یا مجموعه آن ها با یکدیگر نیز می تواند بعنوان شاخصهای مهمی برای استرس اکسیداتیو مطرح شوند، متابولیت های حاصل از آسیب، به عنوان بیومارکر های استرس اکسیداتیو شناسایی می شوند و باید ویژگی خاصی داشته باشد یعنی با افزایش استرس اکسیداتیو افزایش یابند و در غیاب رویداد اکسیداتیو بدون تغییر باقی بمانند. بیومارکرهای استرس اکسیداتیو از نظر بالینی قابل توجه بوده و از بررسی میزان آن ها در خون، پلاسما، ادرار و سایر مایعات بدن جهت تعیین شرایط پاتولوژیک و تشخیص انواع بیماری ها استفاده می شود. به عنوان مثال رادیکال های آزاد در بدن از طریق واکنش با مولکول های زیستی سبب ایجاد ترکیب هایی مانند مالون دی آلدید و هیدروکسی گوانوزین می گردند که از آن ها می توان به عنوان شاخصی در جهت سنجش استرس اکسیداتیو استفاده نمود.

متابولیت های حاصل از آسیب، به عنوان بیومارکر های استرس اکسیداتیو شناسایی می شوند و باید ویژگی خاصی داشته باشند یعنی با افزایش استرس اکسیداتیو افزایش یابند و در غیاب رویداد اکسیداتیو بدون تغییر باقی بمانند. بیومارکرهای استرس اکسیداتیو از نظر بالینی قابل توجه بوده و از بررسی میزان آن ها در خون،

^۱ Indirect

^۲ endogenous antioxidant defense systems

پلاسم، ادرار و سایر مایعات بدن جهت تعیین شرایط پاتولوژیک و تشخیص انواع بیماری‌ها استفاده می‌شود. به عنوان مثال رادیکال‌های آزاد در بدن از طریق واکنش با مولکول‌های زیستی سبب ایجاد ترکیب‌هایی مانند مالون دی‌آلدید و هیدروکسی گوانوزین می‌گردند که از آن‌ها می‌توان به عنوان شاخصی در جهت سنجش استرس اکسیداتیو استفاده نمود.

الف- پراکسیداسیون لیپیدها^۱

فرایند واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون خودبخودی لیپیدها توسط رادیکال‌های آزاد ابتدا در سال ۱۹۴۰ مطرح شد. بطورکلی، در نتیجه اکسیداسیون لیپیدها در بعضی از خواص آن مثل ترکیب، رنگ، مزه و بو تغییر ایجاد می‌شود که اصطلاحاً به ترشیدگی^۲ لیپیدها مشهور است. اکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده در سیستم‌های بیولوژیکی بعنوان پراکسیداسیون لیپیدها خوانده می‌شود استرس اکسیداتیو در محیط سلولی منجر به تشکیل لیپیدپراکسیدازهای ناپایدار و واکنش‌گر می‌شود. تجزیه پراکسیدهای ناپایدار و مشتق شده از اسیدهای چرب غیر اشباع منجر به تشکیل مالون دی‌آلدید می‌شود. مالون دی‌آلدید یا ۱،۳-پروپان دی‌آل با فرمول شیمیایی $C_3H_4O_2$ آلدیدی سه کربنه است که به آسانی از هیدرولیز اسیدی ۱،۳،۱،۳-تترا اتوکسی پروپان توسط هیدروکلریک اسید آزاد می‌شود. مطالعات گویای آن است که مالون دی‌آلدید به عنوان یکی از شناخته شده ترین محصولات ثانویه برای پراکسیداسیون لیپیدی و شاخص استرس اکسیداتیو محسوب می‌شود (۷۳).

ب- اکسیداسیون پروتئین‌ها

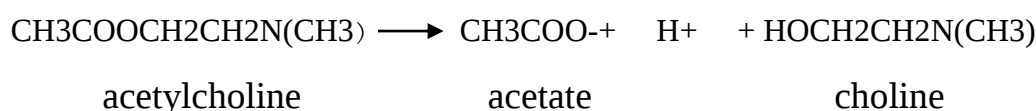
پروتئین‌ها نقش مهمی برای دفاع از بدن در مقابل صدمات ناشی از استرس اکسیداتیو به عهده دارند و این نقش را از طریق توانایی اتصال به عناصر واسطه و همچنین گروه‌های سولفیدریل موجود در سطح پروتئین‌ها اعمال می‌کنند. اگرچه، این فرایند بیولوژیکی، باعث اکسیداسیون پروتئین‌ها و در نتیجه ایجاد تغییراتی در آنها می‌شود ارزیابی آن در طی سال‌های گذشته بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته است (۷۴).

^۱ Lipid peroxidation

^۲ rancidity

۱-۳-۷ فعالیت کولینرژیک

انتقال پیام عصبی در بخشی از سیستم اعصاب خودکار توسط مولکولهایی از بدن همچون استیل کولین انجام می یابد. استیل کولین، استری با اهمیت فیزیولوژیک بسیار مهم است که برای اولین بار در سال ۱۸۶۷ توسط بایر سنتز شد و عملکرد آن به عنوان یک انتقال دهنده عصبی، در سال ۱۹۲۶ توسط اتولویی مورد بررسی قرار گرفت. استیل کولین، انتقال دهنده عصبی منحصر بفرد موجود در همه سیناپسهای عصبی و عضلات اسکلتی است و علاوه بر آن در عقدههای خودکار و پایانههای سیناپسی اعصاب پاراسمپاتیک وجود دارد. فعالیت این اعصاب خودکار به عنوان فعالیت کولینرژیک در نظر گرفته می شود. از طرفی کنترل فعالیت کولینرژیک در سیستم اعصاب مرکزی توسط استیل کولین استراز انجام می یابد. استیل کولین استراز متعلق به گروه بسیار بزرگی از آنزیم های بدن است که هیدرولاز نامیده می شوند. هیدرولازهایی که استیل کولین را مطابق واکنش زیر تجزیه می کنند، کولین استراز نامیده می شوند.

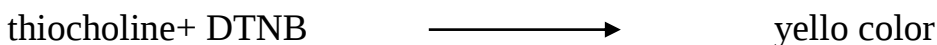
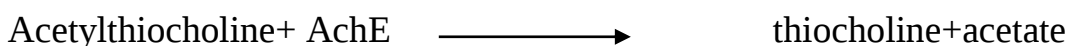


این واکنش برگشت پذیر است ولی به طور معمول به سمت راست تمایل دارد (۷۴). این آنزیم به عملکرد صحیح سیستم عصبی کمک می نماید. دو نوع آنزیم کولین استراز در بدن وجود دارد، ۱- استیل کولین استراز که در گلبولهای قرمز، ریه ها، ماده خاکستری مغز، پایانه اعصاب و طحال وجود دارد ۲- سودو کولین استراز که در سرم، کبد، ماهیچه، پانکراس، قلب و ماده سفید مغز وجود دارد. استیل کولین استراز با عمل شکستن استیل کولین در پایانه های اعصاب باعث توقف انتقال پیامهای عصبی کولینرژیک می گردد و فعالیت کولینرژیک را کاهش می دهد. از ویژگیهای خاص آنزیم کولین استراز اریتروسیت این است که استیل کولین بهترین سوبسترا برای این آنزیم است و مهار آنزیم منجر به افزایش سوبسترا می گردد. مهار فعالیت آنزیم استیل کولین استراز به عنوان بیومارکری برای ترکیبات مهار کننده این آنزیم استفاده می شود (۷۵).

۱-۷-۳-۱ اندازه گیری فعالیت آنزیم استیل کولین استراز

برای اندازه گیری این آنزیم روشهای مختلفی ارائه گردیده است که مهمترین آنها روشهای الکترومتری، تیترومتری، اسپکتروفتومتری UV، کالریمتری و گاز کروماتوگرافی می باشد.

روشهای الکترومتری و تیترومتری به علت عدم برخورداری از دقت و حساسیت لازم و نیز وقت گیر بودن فاقد کارایی لازم می باشند. روش کالریمتری در مقایسه با روش اسپکتروفتومتری UV و گاز کروماتوگرافی از امتیازات بیشتری برخوردار است زیرا در این روش علاوه بر برخورداری از سرعت و حساسیت لازم، انجام آن با دستگاههای ساده تری میسر است. روش مورد استفاده در این تحقیق یک روش کالریمتری است که به روش المن (Ellman) معروف می باشد (۷۶). در این روش مجاورت کولین استراز با استیل تیوکولین یداید سبب هیدرولیز آن به تیوکولین و استات می شود. تیوکولین حاصل باعث شکسته شدن ۵-دی تیویس-۲-نیتروبنزوئیک اسید (DTNB 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)) در محل اتصال تیولی شده و آن را به ماده رنگی ۵-تیو-۲-نیتروبنزوئیک اسید (5-thiobis-(2-nitrobenzoic acid)NTB تبدیل می نماید. رنگ زرد حاصله قابل اندازه گیری در طول موج ۴۰۵ نانومتر می باشد.



بنابراین جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم استیل کولین استراز مقدار افزایش میزان جذب در طول موج ۴۰۵ نانومتر و در طول زمان بررسی می گردد.

فصل دوم

مروری بر مطالعات گذشته

۲-۱ مقدمه

این مطالعه در دو بخش طراحی شد: ۱- اعتباربخشی روش ارزیابی مواجهه تنفسی با ترکیبات بودارکننده ۲- بررسی اثرات زیانبار ترکیبات بودارکننده بر پرسنل فنی شرکت گاز. لذا تحقیقات گزارش شده در سه موضوع مورد بررسی قرار گرفت ۱- اندازه گیری ترکیبات مرکاپتان با روش های کروماتوگرافی گازی ۲- تماس با بودارکننده های گاز ۳- تعیین اثرات مرکاپتان ها با تاکید بر فعالیت کولینرژیک و استرس اکسیداتیو در ترکیبات ارگانوسولفور

۲-۲ مروری بر تحقیقات

۲-۲-۱ اندازه گیری ترکیبات مرکاپتان با روش های کروماتوگرافی گازی

در مطالعه گرس^۱ و همکاران روشی عملی برای اندازه گیری آلکیل مرکاپتان ها در گاز طبیعی و با استفاده از کروماتوگرافی گازی چند بعدی با کمک دتکتور یونیزاسیون شعله ای پیشنهاد شد. در این مطالعه جهت حذف تداخلات هیدروکربنی و آنالیز ترکیبات مرکاپتان در گاز طبیعی از کروماتوگرافی دو بعدی استفاده شده است بدین معنی که دو دتکتور و دو مسیر ستونی همزمان استفاده گردیده است. جهت جداسازی ترکیبات مداخله گر هیدروکربنی در یک بعد از VF-WAXms و برای جداسازی ترکیبات مرکاپتانی در یک بعد دیگر

^۱ Grass



از CP-PoraBOND استفاده شده است. نتایج نشان داده است آلکیل مرکاپتان ها در روش ارایه شده با کمترین حد تشخیص ۲۰۰ پی پی بی در محدوده خطی ۰/۲ تا ۱۰۰ پی پی ام قابل استفاده است. در این تحقیق چهار نوع ترکیب آلکیل مرکاپتان در زمان ۱۵ دقیقه آنالیز گردیده است (۷۷).

هنسن^۱ و همکاران مطالعه ای با عنوان "بررسی میزان بازیافت ترکیبات بودارکننده از بوسنج با روش اسپکتروسکوپی جرمی -انتقال پروتون" انجام داده اند. در این مطالعه جهت شناسایی دی متیل سولفید از اسپکتروسکوپی جرمی - انتقال پروتون استفاده شده است. در این نوع اسپکتروسکوپی مولکول های حاوی تیول با کمک آب پروتون دار یونیزه شده، ترکیبات بودارکننده را بمباران نموده است و یونهای بوجود آمده از ترکیبات بودارکننده با کمک دتکتورجرمی شناسایی گردیده است. نتایج مطالعه نشان داد که دی متیل سولفید در دتکتورجرمی با کمترین حد تشخیص ۰/۱ پی پی بی قابل مشاهده است و میزان بازیافت دی متیل سولفید 100 ± 2 گزارش شده است (۷۸).

کلس^۲ و همکاران ترکیبات مختلفی همچون متیل پروپیل سولفید، دی آلیل دی سولفید و آلیل مرکاپتان را با کمک دستگاه کروماتوگرافی گازی بررسی نمودند. در این مطالعه از ستون HP-5 MS - $0.25 \mu m$ $30 m \times 0.25 mm$ برای جداسازی ترکیبات مرکاپتان استفاده شده است. هلیوم به عنوان فاز متحرک با دبی ۱ میلی لیتر بر دقیقه استفاده شده است. دمای ستون ۵۰ درجه سانتیگراد برای زمان ۱ دقیقه تنظیم و سپس با سرعت ۴ درجه سانتیگراد بر ثانیه به دمای ۲۰۰ درجه سانتیگراد رسانده شده است. با روش استفاده شده مقادیر مرکاپتان در نمونه های سیر تعیین مقدار گردیده است (۷۹).

در مطالعه ایمانیشی^۳ و همکارانش با عنوان "یک روش جدید برای آنالیز کیفی مقادیر بسیار جزیی از ترکیبات حاوی سولفور در گاز طبیعی" از کروماتوگرافی با دتکتور یا آشکارساز لومینسانس گوگردی استفاده گردیده است. در این مطالعه از ستون ID Silica PLOT $30 mm \times 0.32 \mu m$ در دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شده است. دمای ۳۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه اعمال شده سپس با سرعت ۲۰ درجه بر دقیقه

^۱ Hensen

^۲ Keles

^۳ Imanishi

افزایش یافته تا به ۲۶۰ درجه رسیده است. دمای آشکارساز لومینسانس گوگردی ۸۰۰ درجه سانتیگراد و هیدروژن با فلوی ۴۵ میلی لیتر بر دقیقه و هوا با دبی ۶۶ میلی لیتر بر دقیقه قرار داده شده است. در این مطالعه کمترین حد مقدار تشخیص ۱ پی بی بی و کمترین حد تعیین مقدار ۱ پی بی بی برای ترکیبات بررسی شده تعیین شده است. محققین این مطالعه معتقدند که به کارگیری آشکارساز لومینسانس گوگردی یک روش مناسب برای بررسی ترکیبات گوگرد دار همچون ترشیو بوتیل مرکاپتان، دی متیل سولفید، سولفید هیدروژن و سولفید کربونیل در گاز طبیعی می باشد (۸۰).

بای^۱ و همکاران مطالعه ای تحت عنوان "آنالیز گازهای پایدار با استفاده از کروماتوگرافی گازی با دتکتور ماورای بنفش در خلا" ترکیبات سولفیدی همچون کربن دی سولفید را ارزیابی نمودند. در این مطالعه از ستون $20 \text{ m-HP PLOT/Q} \times 0.32 \text{ mm} \times 30 \text{ m}$ استفاده گردیده است. دمای ستون از ۵۰ درجه سانتیگراد شروع و با سرعت ۱۵ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به ۲۰۰ درجه سانتیگراد رسیده است. دتکتور مورد استفاده ماورای بنفش در خلا بوده است که در ناحیه ۱۱۵ تا ۲۴۰ نانومتر قابل استفاده می باشد. در این بررسی از دستگاه مورد استفاده جهت تعیین کیفی نوع گازها استفاده شده است. نتایج مطالعه نشان می دهد ترکیبات موجود در گاز با کمک کتابخانه موجود در این سیستم قابل تشخیص است و نویسنده در بحث خود این دستگاه را جایگزین مناسبی برای دتکتور جرمی اعلام می نماید (۸۱).

پاپوریلو^۲ و همکاران در مطالعه ای با عنوان "اسپکتروسکوپی جرمی انتقال پروتون برای ارزشیابی ترکیبات فرار حاوی سولفید در سیستم پاکسازی واحد کنترل کیفیت سلول های سوختی" مطالعه ای طراحی نمودند. این دستگاه قرائت مستقیم با تحریک مولکولها به واسطه H_3O^+ پروتونهای تولید می کند که در دتکتور جرمی اندازه گیری می شود. در این مطالعه لوله هدایت کننده با ولتاژ ۶۰۰ ولت فشار و ۲/۰۱ میلی بار و ۸۰ درجه سانتیگراد استفاده شده است. نتایج نشان داه است که منحنی خطی مناسبی در محدوده ی غلظت پی بی بی برای ترکیبات مختلف وجود دارد و به عنوان مثال در ترکیب دی متیل سولفید محدوده ۱۰

^۱ Bai

^۲ Papurello



تا ۱۳۰۰ پی بی بی رگرسیون ۰/۹۹ گزارش شده است. در بحث این مطالعه روش اسپکتروسکوپی جرمی انتقال پروتون را به عنوان جایگزین مناسبی برای کروماتوگرافی گازی با دتکتور جرمی اعلام کرده است (۸۲).

۲-۲-۲ تماس با بودارکننده های گاز

نگارش و همکاران مدلی برای بودارنمودن گاز طبیعی توسعه داده اند. در این مطالعه تاکید شده است که بودارکردن گاز طبیعی، مسئله ای بسیار مهم در توسعه و پیشرفت صنعت گاز می باشد زیرا امکان تشخیص زود هنگام در صورت نشتی گاز و پیشگیری از حوادث مرگبار را فراهم می آورد بدین منظور ترکیبات مرکپتان بدلیل بوی بسیار بالایی که دارند و به راحتی تشخیص داده می شوند به گاز طبیعی طی فرآیند بودارکردن افزوده می شود (۹۹).

طاهری و همکاران عنوان نمودند که مرکپتان ها ترکیباتی بسیار سمی، بی رنگ، واکنش پذیر و با خاصیت خوردندگی می باشند که شامل گروه عاملی SH متصل شده به یک زنجیره هیدروکربنی با فرمول کلی RSH می باشند. این ترکیبات در طی فرایندهای مختلف صنعتی چون انتشار گاز، فاضلاب ها، صنعت چوب، فعالیت های مرتبط با انرژی و ... آزاد می شوند (۱۰۰).

یوسف زادگان^۱ و همکاران با هدف بررسی حوادث احتمالی ناشی از نشت مرکپتان ها در ایستگاه های گازی، مطالعه ای در اطراف ایستگاه عباس آباد انجام دادند و گزارش کردند که با توجه به اینکه این ترکیبات سمی و قابل اشتعال می باشند، حفاظت در مقابل آنها ضروری است. پارگی مخزن نگهداری مرکپتان ها به عنوان حادثه ای با ریسک بالا شناسایی شد و بوی مرکپتان ها در آب و هوای سرد تا فواصل دورتری منتقل گردید. حداکثر قابلیت اشتعال برای ترشیو بوتیل مرکپتان ۱۱/۵٪ و برای متیل اتیل سولفید ۱۳/۹٪ گزارش شد (۸۵).

میزرا^۲ و همکاران بیان نمودند: در آغاز قرن بیستم گاز طبیعی حاوی ترکیباتی بود که باعث بوجود آمدن بو در گاز می شد ولی با توسعه صنعت گاز این ترکیبات از گاز طبیعی حذف شد و در نتیجه انتشار گاز توسط

^۱ Yousefzadegan

^۲ Misra



حس بویایی تشخیص داده نمی‌شد. این نقص ایمنی در سال ۱۹۳۷ منجر به فاجعه ای در مدرسه ابتدایی در تگزاس آمریکا شد، بعد از این فاجعه آمریکا و کانادا در خواست استفاده از مواد بودارکننده در گاز طبیعی را صادر نمودند (۹۹).

۲-۲-۳ تعیین اثرات مرکپتان ها با تاکید بر فعالیت کولینرژیک و استرس اکسیداتیو در ترکیبات ارگانوسولفور

بهبود^۱ و همکاران در یک مطالعه برای بررسی اثرات بهداشتی مرکپتان به دنبال نشت ترشیو بوتیل مرکپتان از تانک ذخیره سازی آن در آلاباما بودند. در این مطالعه میزان نشتی این ترکیبات در ۱ و ۲ مایلی از ایستگاه پمپاژ بررسی شد و نتایج نشان داد که ۹۷/۹٪ از افراد در منطقه یک مایلی و ۷۷/۶٪ افراد در منطقه دو مایلی، بوی مرکپتان را گزارش کرده اند. شدت بو در منطقه یک مایلی بیشتر از منطقه دو مایلی بوده است و در نتیجه باعث اثرات جسمی و روحی بیشتری چون تنگی نفس، تحریکات چشم و آشفستگی رفتار شده است. این محققین عنوان کردند که مواجهه طولانی مدت با بوی مرکپتان باعث اثرات بهداشتی به جسم و روح افراد می شود (۸۳).

ماندی^۲ و همکاران در یک مطالعه مروری به بررسی اثرات بهداشتی ناشی از مواجهه با مرکپتان پرداخته و گزارش کردند که غذا یک منبع مهم مواجهه انسان با انواع مرکپتان ها می باشد. این ترکیبات فرار در طی پروسه های مختلف صنعتی همچون: پالایش نفت، ساخت کاغذ، مزرعه های پرورش حیوانات به ویژه خوک، فاضلاب ها و کودهای کشاورزی آزاد می شوند. همچنین مرکپتان ها از هیدرولیز ترکیبات ارگانو فسفره تولید می شوند. از بین مرکپتان های آلیفاتیک، بیشترین سمیت به متیل مرکپتان نسبت داده شده است. هیچ اثری از تراژژنیک بودن مرکپتان ها در اثر استنشاق وجود ندارد و هیچ اطلاعاتی در مورد ژنوتوکسیک بودن این ترکیبات در دسترس نمی باشد (۸۴).

^۱ Behbod

^۲ Munday



کومار^۱ و همکاران در یک مطالعه توصیفی-تحلیلی به بررسی تاثیر داروی الیسین (ارگانوسولفور بدست آمده از سیر) در درمان بیماری آلزایمر پرداخته و نشان دادند که این ترکیب شیمیایی ارگانوسولفور، با مهار آنزیم استیل کولین استراز، سطح استیل کولین خون را افزایش داده و باعث کندتر شدن پیشرفت بیماری می گردد. در این مطالعه تاکید شده است که سیر می تواند اثر حفاظتی در برابر آسیبهای اکسیداتیو داشته باشد (۱۰۲).

یوسف زادگان و همکاران با هدف بررسی حوادث احتمالی ناشی از نشت مرکپتان ها در ایستگاه های گازی ، مطالعه ای در اطراف ایستگاه عباس آباد انجام دادند و گزارش کردند که با توجه به اینکه این ترکیبات سمی و قابل اشتعال می باشند حفاظت در مقابل آنها ضروری است . در این مطالعه پارگی مخزن نگهداری مرکپتان ها به عنوان حادثه با ریسک بالا شناسایی شد و اعلام داشتند که بوی مرکپتان ها در آب و هوای سرد تا فواصل دورتری منتقل می گردد. حداکثر قابلیت اشتعال برای ترشیو بوتیل مرکپتان ۱۱/۵٪ و برای متیل اتیل سولفید ۱۳/۹٪ گزارش گردیده است (۸۵).

فیو^۲ و همکاران در یک مطالعه مروری ، اثرات آلاینده های زیست محیطی ، همچون آفت کش ها را بر فعالیت آنزیم استیل کولین استراز مورد بررسی قرار دادند ، در نتایج این مطالعه آمده است که استیل کولین استراز بیومارکری مناسب برای آلاینده های زیست محیطی و شغلی می باشد (۸۶).

گوزمن^۳ و همکاران با انتشار کتابی به معرفی گروه های تیول و اهمیت بیولوژیک آنها پرداخته و در این خصوص ویژگی های تیول ها ، گروه های تیول پروتئین ها ، تیول های آنزیمی و دیگر عملکردهای تیولی در پروتئین ها را عنوان نموده و نشان دادند که تیول ها ترکیباتی بسیار واکنش پذیر هستند و به راحتی اکسید و احیا می شوند و با ترکیبات حاوی هالوژن ها واکنش می دهند. رفتار گروه های تیول در پروتئین ها متناسب با واکنشگرهای مختلف ، متفاوت می باشد. در این مطالعه نتیجه گیری شده است که تیول های

Kumar^۱Phyu^۲Guzman^۳

پروتئینی به طور کلی به عنوان تیول های محلول غیر پروتئینی واکنش می دهند و تفاوت های زیادی در واکنش ها ایجاد می نمایند (۸۷).

رای^۱ و همکاران با انتشار کتابی به معرفی تیول های ارگانیک، سولفیدها و همچنین به معرفی خصوصیات و ویژگی های تیول های آلیفاتیک، خواص فیزیکی و شیمیایی آنها پرداخته و عنوان کردند که تیول های آلیفاتیک قبلاً به عنوان مرکپتان شناخته می شدند که به دلیل وابستگی آنها به جیوه می باشد و در طی تجزیه آنزیمی سولفیدها، دی سولفیدها و سایر ترکیبات حاوی گوگرد آزاد می شوند. گروه تیول نقش مهمی در متابولیسم بیولوژیکی بازی می کند و به همین دلیل تیول ها ممکن است نقش بازدارندگی یا تسریعی در واکنش های متابولیسمی داشته باشند (۸۸).

کالینیک^۲ و همکاران در یک مطالعه مروری به بررسی تاثیرات استرس اکسیداتیو ترکیبات ارگانیک آلی بر اندام های مختلف بدن پرداخته و عنوان نمودند که رادیکال های آزاد تولید شده در بدن در اثر عوامل بیرونی چون سیگار، اشعه ماوراء بنفش، آلودگی محیط زیست می باشد که اغلب در میتوکندری و پس از نشت الکترون در زنجیره تنفسی رخ می دهد. تجمع رادیکال های آزاد در بدن باعث بروز بیماری های مختلف در بدن می شود که از آن جمله می توان سرطان، دیابت، سندرم متابولیک، آسیب قلب و عروق، بیماری های ریوی یا مشکلات تنفسی را نام برد. همچنین در سطح سلولی افزایش گونه های فعال اکسیژن باعث آسیب به فسفولیپیدها به عنوان اجزای غشای سلولی پروتئین ها و DNA می شود و بطور کلی افزایش این ترکیبات در سیستم عصبی منجر به نکروز و مرگ سلول می گردد (۸۹).

یکی از متابولیت های آفت کش های ارگانوفسفره ترکیبات ارگانوسولفور است. مطالعات متعددی در زمینه اثر استرس اکسیداتیو در سموم ارگانوفسفره انجام یافته است (۸۹)، این مطالعات تأیید می نمایند که استرس اکسیداتیو می تواند در آسیب سلول ناشی از آفت کش ها نقش داشته باشد (۹۰). پاراتیون یکی از مهمترین حشره کش های ارگانوفسفره است که باعث تولید رادیکال های آزاد و القای اختلال در سیستم آنتی اکسیدانی

^۱ Roy

^۲ Calenic



بدن می‌شود. در تبدیل پاراتیون به پاراکسون متابولیت‌های حاوی گوگرد تشکیل می‌شود که نسبت به پاراتیون سمیت بیشتری دارند (۹۰).

مطالعه‌ای توسط شادنیا^۱ و همکاران، با عنوان بررسی اثر استرس اکسیداتیو و سمیت ژنتیکی در فرمولاسیون حشره‌کش‌های ارگانوفسفره انجام گرفت، ۲۱ نفر از کارگران مواجهه‌یافته و ۲۱ نفر به عنوان گروه مواجهه نیافته انتخاب شدند. سپس با استفاده از پرسشنامه، افراد دارای سابقه ی بیماری دیابت، کم‌خونی، بیماری کلیوی، فشارخون بالا، بیماری کبدی، سوء تغذیه، افراد با سابقه رادیوتراپی و مصرف سیگار از مطالعه حذف شدند. نتایج نشان داد، فعالیت سوپر اکسیددسموتاز خون در کارگران مواجهه‌یافته ($6.8 \pm U/mL$) $84/14$ ، به طور قابل توجهی بیشتر از گروه شاهد بوده است ($40/13 \pm 3/82 U/mL \text{ blood}$). همچنین فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز ایتروسیت (با سنجش میزان کاهش جذب NADPH)، در افراد مواجهه‌یافته بیشتر از افراد گروه مواجهه‌یافته بوده است ($29/3 \pm 1/7$ در مقابل $24/94 \pm 0/8 Ug/Hb$). نتایج مطالعه نشان داده است، مواجهه درازمدت با حشره‌کش‌های ارگانوفسفره می‌تواند موجب تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش آسیب به DNA شود (۹۱).

مطالعه‌ای توسط چاترجی^۲، با هدف بررسی اثر پرسولفید بر ایجاد استرس اکسیداتیو با روش کشت سلولی انجام گرفت. استفاده از بنزیل‌هیدروکسی‌سولفید مصنوعی نشان می‌دهد که تحت شرایط کشت، بنزیل‌مرکاپتان به آرامی اکسید شده و مقادیر اندک پرسولفید توانایی ایجاد استرس اکسیداتیو را دارد. در واقع پرسولفید نقش کاتالیزور را جهت تبدیل اکسیژن مولکولی به رادیکال‌سوپراکسید ایفا می‌کند. بنزیل‌مرکاپتان باعث تقسیم DNA شده و نهایتاً رادیکال‌هیدروکسیل به عنوان عامل نابود کننده DNA تولید می‌شود (۹۲).

مطالعه‌ای توسط یوزاوا^۳ و همکاران، با هدف بررسی نقش سولفید هیدروژن بر سلول‌های تحت استرس اکسیداتیو اپیتلیال مخاطی معده، انجام گرفت. این مطالعه با دو روش انجام یافت. در این مطالعه رده‌های سلولی نرمال از اپیتلیال معده ی rat مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در روش کشت سلولی، NaHS در

Shadnia^۱Chatterji^۲Yonezawa^۳

دوغلظت بالا و پایین به همراه H_2O_2 به محیط کشت اضافه شد. در این مطالعه مشخص شد که H_2S / $NaHS$ ، از طریق تحریک مسیرهای کیناز، سلول‌های مخاطی معده را در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند ولی این دامنه کاهشی بسیار محدود است (۹۳).

مطالعه‌ای توسط پوهانکا^۱ و همکاران، با هدف بررسی سولفورموسستارد در ایجاد استرس اکسیداتیو عضلات، مجاری ادرار و کلیه موش صحرایی انجام گرفت. در این مطالعه ۳۰ موش صحرایی، به پنج گروه شش تایی تقسیم شدند. گروه اول، بعنوان گروه کنترل انتخاب گردید. چهار گروه دیگر با نسبتهای ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ mg/kg از سولفورموسستارد مواجهه یافتند. تعیین میزان پراکسیداسیون لیپیدی با روش تیوباربیتوریک اسید نشان داد سطح مالون‌دی‌آلدهید در کبد و کلیه تغییر نکرده است اما در عضله به صورت وابسته به دوز افزایش یافته است که این افزایش برای دوزهای ۱۶۰-۶۰ mg/kg ($p=0/01$) معنی دار بوده است (۹۴).

مطالعه‌ای توسط زالد^۲ و همکارانش، با هدف بررسی فعال شدن آمیگدال در تحریک حس بویایی ناخوشایند انجام شد، ۱۲ نفر از زنان سالم، از طریق استنشاق، در معرض بودارکننده‌های قوی (مخلوطی از گازهای سولفوردار) شامل اتان‌تیول، متان‌تیول، دی‌متیل سولفید قرار گرفتند. از افراد خواسته شد بعد از هر اسکن مغز، گازها را با استفاده از مقیاس آنالوگ و براساس میزان خوشایندی و شدت بو رتبه‌بندی کنند و هم‌زمان سطح خون مغزی با برش‌نگاری گسیل پوزیترون اندازه‌گیری شد. ارزیابی‌ها نشان داد که افراد شدت بوی سولفیدها را بسیار زیاد عنوان کرده‌اند که منجر به تنش عضلانی و ترس و انزجار از محیط در افراد شده است. همچنین این بو باعث فعال شدن نیمکره چپ آمیگدال شده است که فعالیت سیستم عصبی را با پاسخ‌های فیزیولوژیک متفاوت از جمله ضربان قلب، عرق کردن و ترشح مولکول‌های تامین‌کننده ایمنی تحت تاثیر قرار می‌دهد، بنابراین فعالیت در سمت چپ آمیگدال به طور معنی‌داری با امتیازات ذهنی مرتبط بوده است (۹۵).

^۱ Pohanka

^۲ Zald



مطالعه‌ای توسط گان^۱ و همکاران، با هدف بررسی تاثیر ترکیبات هیدروژن سولفید و دی‌متیل سولفید بر کاهش توانایی شناختی، التهاب عصبی و ایجاد استرس اکسیداتیو در موش صحرایی، انجام گرفت. مطالعه به صورت مورد-شاهدی، بر روی ۶۰ موش صحرایی بالغ انجام پذیرفت. اختلال شناختی با تزریق دوز درماید مغزی نخاعی همه موشها ایجاد شد. مالون دی‌آلدئید به عنوان شاخصی برای پراکسیداسیون لیپیدی طی آسیب اکسیداتیو مورد بررسی قرار گرفت. برای این کار از روش رنگ سنجی و کیت‌های مالون دی‌آلدئید استفاده گردید. افزایش مالون دی‌آلدئید با کاهش متناوب گلووتاتیون در موش‌های مواجهه یافته با مقابل گروه شاهد ($p = 0/00001$ برای گلووتاتیون و مالون دی‌آلدئید)، تایید کننده بروز استرس اکسیداتیو می باشد (۹۶).

مطالعه‌ای توسط چن^۲ و همکاران، با هدف بررسی اثر محافظتی دی‌متیل سولفید در مقابل استرس اکسیداتیو ناشی از اتانول و آپوپتوز ناشی از هیدروژن سولفید انجام گرفت. در این مطالعه ۵۰ موش صحرایی به طور تصادفی به ۵ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. گروه اول بعنوان گروه کنترل انتخاب گردید. در گروه دوم اتانول به مصرف خوراکی رسید. به گروه‌های سوم، چهارم و پنجم، اتانول و دی‌متیل سولفید بصورت خوراکی داده شد. سپس کبد آنها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج نشان داد که دی‌متیل سولفید می‌تواند از طریق سلول‌های وابسته به گلوکز و تیول‌ها و واکنش‌های تک‌سلولی وابسته به گلووتاتیون، به سولفید هیدروژن تبدیل شود. سلول‌های حاوی اتانول دارای سطح بالای گونه‌های اکسیژن فعال درون سلولی بودند که دی‌متیل سولفید باعث کاهش مالون دی‌آلدئید و افزایش گلووتاتیون و سوپراکسید دسموتاز و در نهایت کاهش قابل توجهی در ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن گردید، که از اثرات سولفید هیدروژن است (۹۷).

بلوچی نژاد^۳ و همکاران عنوان نمودند که S-آلیل سیستئین یک مولکول بیواکتیو ارگانوسولفور در عصاره سیر با خواص ضد دیابتی، آنتی‌اکسیدان، ضد التهاب و خواص نوتروپیک می‌باشد. بدین منظور به بررسی اثر بخشی این دارو پرداختند. موش‌های نر نژاد ویستار مبتلا به استرپتوزوتوسین را به گروه‌های کنترل، دیابتی

^۱ Guan

^۲ chen

^۳ Baluchnejadmojard

و دیابتی تحت درمان با S - آلیل سیستئین تقسیم نمودند و در انتها به این نتایج دست یافتند که این دارو فعالیت استیل کولین استراز و نشانگر پراکسیداسیون لیپید را کاهش داده و در مقابل سبب افزایش سیستم دفاع آنتی اکسیدانی از جمله سوپر اکسید دیسموتاز می شود (۱۰۱).

مطالعه ای توسط بیگی^۱ و همکاران ، با هدف بررسی تولید گونه های فعال اکسیژن و ایجاد استرس اکسیداتیو توسط سولفورموستارد (به عنوان یک ترکیب ارگانوسولفور) انجام گرفت. نتایج نشان داد سولفورموستارد می تواند باعث بی ثباتی کروموزوم، تغییر بیان برخی از ژن ها، جهش ژنتیکی و آسیب به DNA و نهایتاً آسیب به ریه شود. همچنین این ترکیب می تواند منجر به اکسیداسیون پروتئین و چربی و استرس اکسیداتیو در بافت ریه گردد (۹۸).

فصل سوم

مواد و روش ها

۳-۱ مقدمه

این مطالعه تحلیلی به شکل آزمایشگاهی-تجربی در واحد فنی شرکت ملی گاز استان چهارمحال و بختیاری انجام یافت. در این مطالعه دستیابی به اهداف زیر محقق گردید:

- اعتباربخشی روش اندازه گیری جهت تعیین مقدار ترکیبات بودار کننده ی گاز با استفاده از

کروماتوگرافی گازی-طیف سنج جرمی

مراحل نمونه برداری از سه ترکیب متیل اتیل سولفید، دی متیل سولفید و ترشیو بوتیل مرکاپتان از روش NIOSH 2542 اقتباس شد. در روش NIOSH 2542 دتکتور نورسنج شعله‌ای به عنوان روش آنالیز ترکیبات مرکاپتان پیشنهاد شده است. در این مطالعه برای آنالیز ترکیبات بودارکننده مدنظر از دستگاه کروماتوگرافی گازی با دتکتور جرمی به عنوان جایگزین دتکتور نورسنج شعله‌ای استفاده شد.

- ارزیابی تماس تنفسی با ترکیبات بودار کننده گاز در کارگران بخش فنی شرکت ملی گاز استان

چهار محال بختیاری

- ارزیابی تماس با ترکیبات بودارکننده ی گاز با وجود بکارگیری لوازم حفاظت فردی تنفسی

- ارزیابی آنزیم شاخص فعالیت کولینرژیک در گلبولهای قرمز خون کارگران تماس یافته با

ترکیبات بودار کننده گاز و مقایسه با کارگران تماس نیافته

۸۰ نفر از پرسنل فنی شرکت ملی گاز به عنوان گروه مواجهه یافته در نظر گرفته شد. همچنین یک گروه ۸۰

نفری از بین پرسنل بخش اداری به عنوان گروه مواجهه نیافته انتخاب شد، این دو گروه از نظر سن، سابقه

کار و مصرف سیگار با یکدیگر همسان سازی گردید.

- ارزیابی شاخص های استرس اکسیداتیو در پلاسمای خون کارگران تماس یافته با ترکیبات

بودار کننده گاز و مقایسه با کارگران تماس نیافته

برای رسیدن به این هدف میزان مالون دی آلدئید و ظرفیت آنتی اکسیدان های پلاسما ارزیابی گردید.

۳-۲ جمع آوری اطلاعات دموگرافیک

با کمک برگه مشخصات کارگران واحد فنی شرکت گاز چهار محال و بختیاری اطلاعات دموگرافیک کارگران (پیوست ۱) شامل سن، وضعیت مصرف سیگار و سابقه ی کار مشخص گردید و براساس اطلاعات بدست آمده ۸۰ نفر از پرسنل اداری با پرسنل واحد فنی همسان سازی شد (جدول ۴-۱). نرمال بودن توزیع داده ها با استفاده از تست کلموگروف -استمیرنوف (one sample K-S) بررسی شد. با توجه به نرمال بودن پراکندگی داده ها برای سن و سابقه ی کار از آزمون آماری تی مستقل استفاده گردید. نتایج آزمون ها نشان داد دو گروه از لحاظ سن و سابقه کار همگن می باشند ($P > 0/05$) همچنین با توجه به غیر نرمال بودن پراکندگی داده ها برای مصرف سیگار از آزمون کای دو استفاده شد.

جدول ۳-۱: پارامترهای همسان سازی شده در پرسنل فنی و اداری

مشخصات	گروه پرسنل فنی N= ۸۰	گروه پرسنل اداری N=۸۰	P-value
سن*	۳۶/۶۵±۶/۶۴	۳۷/۳۷±۵/۵۶	۰/۴۶۹
سابقه ی کار*	۱۰/۲۹±۵/۴۹	۱۰/۵±۵/۴۹	۰/۸۱۹
سیگار می کشند**	۷	۸	۰/۶۱۰
سیگار نمی کشند**	۷۳	۷۲	

* میانگین ± انحراف معیار

** فراوانی

تمامی افراد شرکت کننده در این مطالعه فاقد بیماری خاصی بودند و از داروی خاصی همچون داروهای مهار کننده فعالیت آنزیم استیل کولین استراز استفاده نمی کردند. همچنین نمونه خون از افرادی تهیه شد که ده روز قبل سیر مصرف نکرده باشند. از هر کارگر در پایان شیفت کاری، به میزان ۵ سی سی خون، توسط پرستار دوره دیده تهیه و به لوله پلی اتیلنی حاوی ماده ضد انعقاد منتقل گردید. نمونه های خون تهیه شده در

دور ۳۰۰۰RPM و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و پلاسما تهیه گردید. نمونه‌های تهیه شده، در جعبه‌ی حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل گردید.

سلامت عمومی افراد مطالعه شونده از طریق پرسشنامه سلامت عمومی (GHQ)^۱ مورد بررسی قرار گرفت (پیوست ۳). آزمون پرسشنامه سلامت عمومی یکی از قوی ترین آزمون ها برای غربالگری افراد سالم و بیمار می باشد. این پرسشنامه ۲۸ سوالی توسط گلدبرگ و هیلر در سال ۱۹۷۹ ارائه شد. این پرسشنامه دارای ۴ مقیاس فرعی است و هر مقیاس ۷ پرسش دارد. مقیاس های مذکور شامل علائم جسمانی، علائم اضطراب و اختلال خواب، کارکرد اجتماعی و علائم افسردگی می باشد. برای هر فرد نمرات هر مقیاس به طور جداگانه محاسبه و پس از آن نمرات مقیاسها باهم جمع و نمره کلی بدست آمد. معیار ورود افراد به مطالعه کسب نمره ۲۲ و کمتر از آن بود. با کمک پرسشنامه ی سلامت عمومی وضعیت سلامت افراد مطالعه شده ارزیابی گردید.

۳-۳ راه اندازی روش اندازه گیری ترکیبات بودارکننده در مواجهه تنفسی

برای راه اندازی روش مناسب در تعیین مقدار ترکیبات بودارکننده بر روی دستگاه گازکروماتوگرافی ابتدا اصول مطرح شده در روش NIOSH2542 مورد توجه قرار گرفت زیرا این روش یک روش اعتباربخشی شده و مورد قبول جوامع بین المللی است. در روش NIOSH2542 نمونه برداری از ترکیب مرکاپتان بر روی فیلتر فایبر گلاس آغشته شده به ۵٪ استات جیوه پیشنهاد می شود. بررسی ها نشان می دهد مرکاپتان با جیوه مرکوریک مرکاپتید $Hg(SR)_2$ تولید می کند (۱۰۳). ترکیب تولید شده در محیط اسیدی شکسته شده و مرکاپتان تولید می نماید. مطابق روش NIOSH2542 مرکاپتان تولید شده از طریق استخراج مایع-مایع به دی کلرو اتان انتقال داده شده و با دستگاه گازکروماتوگرافی تعیین مقدار می گردد. از آنجاییکه علاوه بر ترشیوبوتیل مرکاپتان ترکیب متیل اتیل سولفید و دی متیل سولفید نیز مورد نظر است سوال این جاست که آیا جیوه با ترکیبات سولفیدی نیز واکنش می دهد؟ بررسی مطالعات نشان داد که سولفیدها با جیوه کمپلکس $Hg(R1R2S)_2$ تشکیل می دهند که در محیط اسیدی شکسته می شود (۱۰۴) بنابراین انتظار می رود پس از استخراج نمونه های تهیه شده از شرکت گاز طبق روش NIOSH2542 محلولی از متیل اتیل سولفید ، دی اتیل سولفید و ترشیوبوتیل مرکاپتان در دی کلرواتان وجود داشته باشد.

^۱ General Health Questionnaire

نمونه برداری از ترکیبات بودارکننده و استخراج نمونه های تهیه شده براساس روش NIOSH2542 با مراحل زیر پیشنهاد می گردد:

- حجمی از هوا به میزان ۱۰ تا ۱۵۰ لیتر بر روی یک فیلتر فایبرگلاس آغشته شده به جیوه استات نمونه برداری گردد.
- در یک قیف جدا کننده ۲۰ میلی لیتر اسید کلریدریک ۲۵ درصد و ۵ میلی لیتر دی کلرواتان استفاده شود.
- فیلتر های نمونه برداری شده بر روی دهانه قیف جدا کننده قرار داده شود.
- با کمک درب قیف، فیلتر به داخل محلول هدایت و فوراً درب قیف بسته شود.
- به مدت ۲ دقیقه فیلتر و محلول داخل قیف به هم زده شود بطوریکه قیف با حرکاتی به شکل 8 و ∞ تکان داده شود.
- به مدت ۵ دقیقه قیف جداکننده آویزان نگه داشته شود تا فاز دی کلرواتان از اسید جدا گردد.
- فاز دی کلرواتان تخلیه و به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق گردد.



شکل ۳-۱: استخراج ترکیبات بودارکننده با روش مایع-مایع

میزان غلظت آلاینده های شیمیایی در محیط کار باید در رنج حدود مجاز و تعیین شده در جوامع بین المللی در نظر گرفته شود. بررسی های به عمل آمده نشان می دهد حد مجاز تماس شغلی با ترکیب ترشیو بوتیل مرکاپتان در OSHA و مکزیک ۰/۵ پی پی ام می باشد لذا میزان غلظت ترکیبات بودار کننده مدنظر باید در حدود ۰/۵ پی پی ام در هوا نگه داشته شود. فرض کنیم غلظت ۰/۵ پی پی ام از ترکیبات بودارکننده در هوا

وجود داشته باشد، اگر طبق روش NIOSH 2542 با کمترین حجم هوای نمونه برداری در هوا به اندازه ۱۰ لیتر این غلظت فراهم گردد باید محلول استاندارد از ترشیوبوتیل مرکاپتان با میزان ۰/۰۱۸ میلی گرم (۱۸ پی پی ام در ۱ سی سی حلال) و اتیل متیل سولفید با غلظت ۰/۰۱۶ میلی گرم (۱۶ پی پی ام در ۱ سی سی حلال) و دی متیل سولفید با غلظت ۰/۰۱۳ میلی گرم (۱۳ پی پی ام در ۱ سی سی حلال) در دی کلرو اتان تهیه گردد و به عنوان محلول تست در نظر گرفته شود تا در آن غلظت شرایط روش اندازه گیری بهینه گردد. در محلول های آماده سازی شده غلظت ۳۰ پی پی ام از ۴-متیل تیوفنل به عنوان استاندارد داخلی استفاده گردید.

وسایل و مواد مورد استفاده

۱. تمامی محلول های مورد استفاده در این پروژه از شرکت Merck تهیه گردید. ترشیو بوتیل مرکاپتان (CAS 75-66-1) ، دی متیل سولفید (CAS 75-18-3) ، ۱و۲- دی کلرو اتان (CAS 107-06-) ، ۲،۴-متیل تیوفنل (CAS 106-45-6) ، جیوه استات (CAS 1600-27-7) و اسید کلریدریک ، متیل اتیل سولفید (CAS -sigma-624-89-5) .،

۲. ترازوی الکترونیکی مدل Sartorius TE1245 با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم، شیکر مدل PARS TEB (VX) و سانتریفوژ مدل HERMLE Z206A

۳. لوازمی نظیر بشر، بالن ژوژه، پیپت سمپلر، پوآر، انبرک فلزی، قیف جدا کننده و پیپت، ویال شیشه- ای ۲ میلی لیتری، فیلتر هولدر و لوله تایگون، کیسه تدلار ۳ و ۱۰ لیتری مدل SKC و سمپلر.

۴. فیلتر فایبر گلاس ۲۵ میلی متری آغشته شده بایندر با کد 225-703 (فیلتر توصیه شده در روش NIOSH 2542).

۵. دستگاه کروماتوگرافی گازی با طیف سنج جرمی (Gas Chromatography-Mas Spectroscopy) مدل 7890 A

با ستون DB-1 (۳۰- mm × ۰/۲۵ m ID, 1 μm DB-1) و ستون DB-5 (۳۰- mm × ۰/۲۵ m ID, 1 μm DB-5) -۰/۲۵m ID, 1 μm DB-10 (۳۰- mm × ۰/۲۵ m ID, 1 μm DB-10) و ستون HP-5MS (۳۰- mm × ۰/۲۵ m ID, 1 μm HP-5MS)

۶. سرنگ Gas tight ۱۰، ۵۰ و ۲۵۰ میکرولیتری.

۷. پمپ نمونه برداری فردی مدل SKC.

۸. سرنگ GC ۱۰، ۲۰ و ۱۰۰ میلی لیتری

۹. کیسه تدلار SKC

۱۰. هولدر دوبخشی جهت نمونه برداری

۱۱. روتامتر

۱۲. پیستون بدون اصطکاک

۳-۳-۱ بهینه سازی شرایط کاربری در دستگاه گاز کروماتوگرافی

در روش NIOSH2542 ستون BP-1 (به عنوان یک ستون کاملاً" غیرقطبی) برای آنالیز مرکاپتان ها پیشنهاد شده است بنابراین ابتدا این ستون جهت جداسازی پیکهای مدنظر مورد استفاده قرار گرفت. با توجه به عدم پاسخ دهی مناسب ستون های نیمه قطبی DB-5 و BP-5 و BP-10 مورد استفاده قرار گرفت. ۲ میکرو لیتر از محلول تست به دستگاه گاز کروماتوگرافی تزریق گردید و جهت جداسازی مناسب ترکیبات در دستگاه و ایجاد یک کروماتوگرام با شکل مناسب با روش آزمون و خطا شرایط دستگاه بهینه گردید.

بهینه سازی دمای ستون: در روش NIOSH ۲۵۴۲ دمای اولیه ۳۰ درجه سانتیگراد قرار داده شده است که به مدت ۲ دقیقه در این دما می ماند سپس با سرعت ۱۵ درجه بر دقیقه به میزان ۲۰۰ درجه ی سانتیگراد می رسد. با توجه به عدم کارایی مناسب در این دما میزان بهینه ی دما مورد ارزیابی قرار گرفت.

- شرایط اینجکتور به شکل Split انتخاب شد و شکل پیک در مقادیر مختلف از Split ارزیابی شد.

۳-۳-۲ تعیین یون شاخص در دتکتور جرمی

برای تعیین شرایط بهینه ای همچون دمای ستون و ، دتکتور جرمی بر روی وضعیت اسکن کامل^۱ قرار داده شد تا تمامی یونهای ترکیبات مدنظر که در اتاقک یون ساز ایجاد می شود قابل رویت گردد و

قضاوت مناسبی برای شرایط بهینه فراهم شود. از طرفی اگر برای اندازه گیری کمی و نهایی از اسکن کامل استفاده شود پاسخ جرمی بسیار شلوغ و حاوی یون های متعدد ایجاد می گردد که امکان اختلاط آنها و محاسبات صحیح را غیرممکن می سازد لذا برای تعیین کمیت مواد از وضعیت پایش تک یون^۱ استفاده شد که تنها یک یون توسط دتکتور جرمی شناسایی می گردد. این حالت را می توان معادل فیلتری در نظر گرفت که شکل و سایز منافذ آن ثابت بوده و تنها اجازه ی عبور به یک سری مولکول ها و یون های خاص را می دهد. برای بدست آوردن یون شاخص ترشیوبوتیل مرکاپتان، اتیل متیل سولفید و دی متیل سولفید میزان بزرگی پاسخ ها (m/z) برای یونهای مختلف تولید شده در هر ترکیب بررسی گردید و بهترین یون جهت ارزیابی کمی انتخاب شد.

۳-۳-۳ بهینه سازی استخراج ترکیبات بودارکننده از روی فیلتر

الف- بهینه سازی غلظت استات جیوه : روش NIOSH ۲۵۴۲ نمونه برداری از ترکیبات مرکاپتان بر روی فیلتر فایبر گلاس آغشته به آکرلیک بایندر را پیشنهاد می نماید که به استات جیوه آغشته شده است . در این پژوهش جهت بهینه سازی جذب ترکیبات بودار کننده بر روی جیوه استات سه فیلتر با غلظت های جیوه استات به میزان ۳، ۵ و ۷ درصد آغشته گردید. سپس غلظت های مدنظر از محلول تست بر روی این فیلترها ریخته و طبق روش NIOSH ۲۵۴۲ استخراج شد.

ب- بهینه سازی غلظت اسید کلریدریک

طبق روش NIOSH ۲۵۴۲ ترکیبات مرکاپتان با کمک اسید کلریدریک از روی فیلتر واجذب می گردد. در این پژوهش فیلتری حاوی مقادیر بهینه از جیوه استات تهیه و به محلول تست آغشته و استخراج شد. برای این منظور ۲۰ میلی لیتر از غلظت های ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد اسید کلریدریک برای واجذب و استخراج ترکیبات به ۵ میلی لیتر دی کلرو اتان استفاده گردید.

۳-۳-۴ شبیه سازی نمونه برداری از ترکیبات بودارکننده در هوا

با کمک پمپ نمونه بردار فردی کالیبره شده در کیسه تدار ۱۰ لیتری ۸ لیتر هوا پر شد. یک کپسول گاز طبیعی (۱۰ لیتری) تهیه شد و با درخواست از شرکت گاز چهار محال و بختیاری با گاز طبیعی و بدون

^۱ Single Ion monitoring-SIM

ترکیبات بودارکننده ی گاز پر گردید. حد آتش گیری گاز طبیعی بین ۵ الی ۱۵٪ می باشد و بنابراین ۲ درصد از حجم موجود در کیسه شامل ۱۶۰ میلی لیتر گاز طبیعی به داخل کیسه تدلار تزریق گردید.

- غلظت ۰/۵ پی پی ام از ترشیوبوتیل مرکاپتان ، اتیل متیل سولفید، دی متیل سولفید در هرکیسه تهیه گردید. برای این منظور حجم مورد نیاز از هر ترکیب به کیسه تزریق و با کمک هیتر گرم شد تا اتمسفری استاندارد از ترکیبات بودارکننده ی گاز تولید شود.



شکل ۳-۲: اتمسفر سازی از ترکیبات بودارکننده

- با دبی ۰/۲ لیتر بر دقیقه از کیسه بر روی یک فیلتر آغشته شده به جیوه استات به مدت ۴۰ دقیقه نمونه برداری شد.



شکل ۳-۳: نمونه برداری هوا از ترکیبات بودارکننده

- پس از استخراج ترکیبات بودارکننده از روی فیلتر میزان ترشیوبوتیل مرکاپتان ، اتیل متیل سولفید، دی متیل سولفید تعیین مقدار شد.

۳-۳-۵ کالیبراسیون پمپ نمونه برداری فردی

پمپ نمونه بردار فردی جهت نمونه برداری فعال از گازها، بخارات و آئروسول ها استفاده می گردد، این وسیله با جابجایی هوا از جاذب مناسب، فرایند نمونه برداری را انجام می دهد. در نمونه برداری فردی مواجهه کارگر با تعیین غلظت آلاینده های هوا در ناحیه تنفسی ارزیابی می شود. پمپ نمونه بردار به کمر کارگر وصل شده و نمونه ی هوای ناحیه تنفسی با قرار دادن هولدر دوبخشی (شکل ۳-۴) بر روی منطقه ی تنفسی کارگر، جمع آوری می شود.



شکل ۳-۴: هولدر دوبخشی برای نمونه برداری از ترکیبات بودارکننده

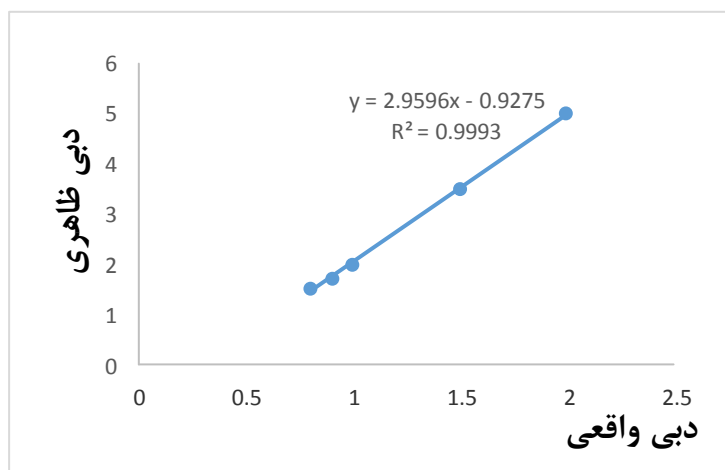
جهت کالیبراسیون پمپ از روتامتر کالیبره شده با فلومتر حباب صابون استفاده شد. روتامتر یکی از وسایل کالیبراسیون ثانویه محسوب می شود، جریان هوا از پایین به روتامتر وارد و شناور آن را به سمت بالا حرکت می دهد. ارتفاع شناور فلوی جریان هوا را نشان می دهد (شکل ۳-۵). فلومتر حباب صابون بعنوان یک استاندارد اولیه برای کالیبراسیون پمپ و استاندارد های ثانویه استفاده می شود.



شکل ۳-۵: کالیبراسیون روتامتر با حباب صابون

مراحل کالیبراسیون روتامتر با کمک فلومتر حباب صابون الکترونیکی به شرح زیر می باشد:

- ورودی فلومتر حباب صابون به روتامتر و خروجی آن به پمپ نمونه برداری متصل گردید.
- روتامتر به ترتیب بر روی ۴ دبی مختلف (۰/۸ ، ۰/۹ ، ۱ ، ۲ L/min) تنظیم شد و برای هر دبی (دبی ظاهری) یک دبی از کالیبراتور الکترونیکی (دبی واقعی) قرائت شد.
- با ترسیم دبی واقعی برحسب دبی ظاهری منحنی کالیبراسیون تهیه گردید.
- با کمک معادله بدست آمده بر روی منحنی دبی مدنظر جهت تنظیم بر روی روتامتر به ازای هر دبی ظاهری تعیین شد.



شکل ۳-۶: منحنی کالیبراسیون روتامتر با حباب صابون

۳-۶- ترسیم منحنی استاندارد جهت تعیین مواجهه تنفسی

تعیین کمیت ترکیبات بودارکننده با رسم منحنی استاندارد میسر می گردد بنابراین منحنی استاندارد باید در محدوده ی غلظتی مناسبی ترسیم شود. جهت تعیین رنج منحنی استاندارد تعدادی نمونه های پیش آزمون از صنعت گاز تهیه گردید بطوریکه نمونه های هوا در منطقه ی تنفسی پرسنل فنی با حجم ۱۰ تا ۱۵۰ لیتر طبق پیشنهاد روش NIOSH2542 تهیه شد. بررسی ها نشان داد میزان مواجهه تنفسی پرسنل فنی با تهیه ی ۱۵۰ لیتر هوا قابل تشخیص می باشد و میزان ترکیبات بودارکننده درمقادیر کمتر از ۲۰ میکروگرم قابل بررسی است. جدول ۳-۲ محدوده درنظر گرفته شده برای ترکیبات ترشیو بوتیل مرکاپتان ، اتیل متیل سولفید و دی متیل سولفید جهت ترسیم منحنی استاندارد را مشخص نموده است.

جدول ۳-۲: محدوده ی منحنی استاندارد برای ترکیبات بودارکننده گاز

ترشیو بوتیل مرکاپتان	اتیل متیل سولفید	دی متیل سولفید
جرم(میکروگرم)	جرم(میکروگرم)	جرم(میکروگرم)
۰/۱۶	۰/۶۷	۰/۱۱
۰/۶۴	۱/۶۸	۰/۷۴
۱/۶	۴/۲۱	۱/۳۰
۴	۸	۴
۸	۲۵	۸

۳-۴- تعیین مواجهه تنفسی باترکیبات بودارکننده ی گاز

برنامه فعالیت روزانه پرسنل فنی برای یک ماه در جدول ارایه شده در پیوست ۲ ثبت گردید و به تایید مدیر واحد فنی آن بخش رسید تا وظایف شغلی پرسنل فنی مشخص گردد و این اطلاعات به عنوان جدول فعالیت پرسنل استفاده شد. ارزیابی های انجام یافته مشخص ساخت دو نوع وظیفه ی فنی به شرح زیر برای پرسنل قابل تعریف است:

- ۱-عیب زدایی از خطوط انتقال گاز ۲-تنظیم و بهینه سازی شرایط انتقال گاز
- شرح وظایف این دو نوع وظیفه در جدول ۳-۳ مشخص شده است.

جدول ۳-۳: وظایف شغلی پرسنل فنی شرکت گاز

شرح وظایف فنی	
عیب زدایی	تنظیم و بهینه سازی
نشت گیری، تعویض المنت،	تعویض و تنظیم رگلاتور
تعویض فیلتر	

بررسی ها نشان داد پرسنل فنی در هر روز فقط یکی از وظایف فنی را به عهده دارد، به عبارت دیگر هر فرد ۳ تا ۴ ساعت عیب زدایی یا بهینه سازی در خطوط انتقال گاز انجام می دهد و بقیه ساعات روز به بازرسی مشغول است. بر طبق برنامه ی کاری پرسنل فنی تعداد نمونه های تهیه شده در هر وظیفه در جدول ۳-۴ مشخص شده است.

جدول ۳-۴: تعداد نمونه های تهیه شده براساس وظایف شغلی

تعداد نمونه ها	شرح	وظایف شغلی
۱۲	نشت گیری	عیب یابی
۱۲	تعویض المنت	
۱۲	تعویض فیلتر	
۳۷	تعویض و تنظیم رگلاتور	تنظیم و بهینه سازی
۲۰	سرکشی به ایستگاه ها	بازرسی

میانگین مواجهه شغلی در هر وظیفه تعیین شد و به عنوان میزان غلظت برای آن وظیفه ی شغلی در نظر گرفته شد. جهت تعیین میزان مواجهه تنفسی با کمک فرمول (۳-۱)، میزان تماس تنفسی در روز و همچنین مواجهه هفتگی برای هر فرد محاسبه گردید.

$$C_{TWA} = \frac{C_1 T_1 + C_2 T_2 + \dots + C_n T_n}{T_1 + T_2 + \dots + T_n}$$

فرمول (۳-۱)

C_{TWA} : غلظت وزن یافته زمانی

C_n : غلظت اندازه گیری شده در زمان T_n (ppm)

T_n : زمان نمونه برداری (دقیقه)

پرسنل فنی علاوه بر وظایف فنی یک تا دوبار در سال ترکیبات بودارکننده را به سیستم انتقال گاز تزریق می کنند. از آنجاییکه تزریق گاز به عنوان یک وظیفه ی روتین در پرسنل فنی محسوب نمی گردد این وظیفه در تعیین مواجهه تنفسی روزانه لحاظ نگردید و میزان مواجهه تنفسی با ترشیوبوتیل مرکاپتان و اتیل متیل سولفید در فرآیند تزریق بودارکننده ها به گاز تعیین شد.

بررسی های به عمل آمده نشان می دهد در صنعت گاز استان چهار محال و بختیاری از ماسک تنفسی تمام صورت مدل A2B2E2K2 برای محافظت از مسیر تنفسی استفاده می گردد. میزان مواجهه تنفسی با ترکیبات بودارکننده به هنگام استفاده از ماسک تنفسی در وظایف مختلف پرسنل فنی تعیین گردید (جدول ۳-۵). ماسک های مورد استفاده در مراحل نمونه برداری نو بوده و برای اولین بار مورد استفاده قرار می گرفت.

جدول ۳-۵: تعداد نمونه های تنفسی تهیه شده با حضور ماسک تنفسی

تعداد نمونه ها	شرح وظایف فنی
۵	نشت گیری
۵	تعویض المنت
۵	تعویض فیلتر
۸	تعویض و تنظیم رگولاتور
۷	تزریق گاز

نمونه برداری با حجم ۱۵۰ لیتر با دبی ۲/۵ لیتر بر دقیقه در زمان ۶۰ دقیقه انجام یافت. با کمک منحنی های استاندارد، میزان جرم ترکیب نمونه برداری شده محاسبه و میزان غلظت برحسب میلی گرم بر مترمکعب با استفاده از فرمول (۳-۲) محاسبه شد.

$$C = \frac{w_s - w_b}{V} \quad \text{فرمول (۳-۲)}$$

w_s = جرم آنالیت در فیلتر نمونه برداری شده (برحسب میکروگرم)

w_b = جرم آنالیت در فیلتر شاهد برحسب میکروگرم

V = حجم هوای نمونه برداری شده و تصحیح شده برحسب مترمکعب

و با کمک معادله (۳-۳) غلظت بر حسب mg/m^3 به ppm تبدیل شد:

$$C(ppm) = \frac{C(mg / m^3) \times 24.45}{MW} \quad \text{فرمول (۳-۳)}$$

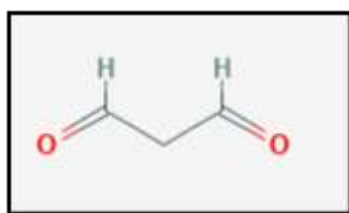
MW = وزن مولکولی ترکیب شیمیایی

۳-۵ تعیین استرس اکسیداتیو

سنجش استرس اکسیداتیو با تکنیک های مختلف و تعیین آسیب به بدن و وضعیت آنتی اکسیدانی بدن ممکن می باشد. در این مطالعه جهت تعیین میزان استرس اکسیداتیو دو پارامتر پراکسیداسیون لیپیدی و ظرفیت احیای تام پلاسما ارزیابی گردید.

۳-۵-۱ اندازه گیری پراکسیداسیون لیپیدی در پلاسما

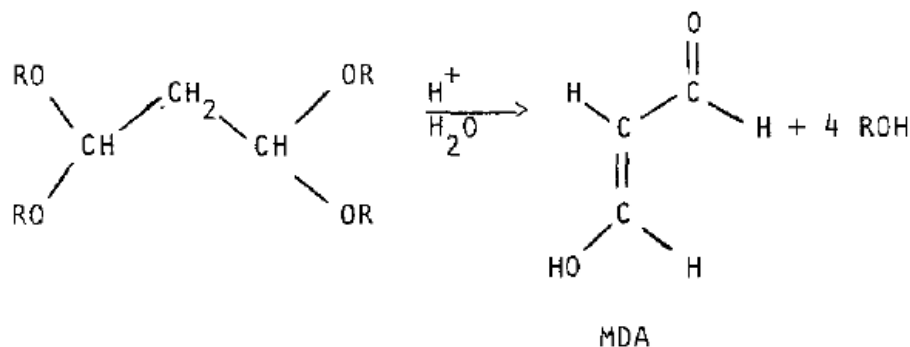
استرس اکسیداتیو در محیط سلولی منجر به تشکیل لیپیدپراکسیداز های ناپایدار و واکنش گر می گردد و تجزیه پراکسیدهای ناپایدار و مشتق شده از اسیدهای چرب غیر اشباع منجر به تشکیل مالون دی آلدید می شود. مالون دی آلدید یا ۱،۳-پروپان دی آل با فرمول شیمیایی $C_3H_4O_2$ آلدیدی سه کربنه است (شکل ۳-۷) که به آسانی از هیدرولیز اسیدی ۱،۳،۳،۱-تترا اتوکسی پروپان توسط هیدروکلریک اسید آزاد می شود. از آنجا که مالون دی آلدید از محصولات آلدیدی پایدار و فراوان ترین محصول پراکسیداسیون لیپیدی است نشانگر متداولی برای ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدی می باشد.



شکل ۳-۷: ساختار شیمیایی مالون دی آلدید

بررسی های به عمل آمده نشان داد این ترکیب با ساختارهایی همچون نمک تترا بوتیل آمونیم مالون دی آلدید (از شرکت سیگما) و مالون دی آلدید بیس (دی متیل استات) (از کشور آلمان شرکت مرک) در بازار موجود است و مالون دی آلدید آزاد در بازار وجود ندارد.

بررسی مطالعات نشان داد (۱۰۵) مالون دی آلدید از هیدرولیز اسیدی ترکیب ۱ و ۳ و ۳-تترا اتوکسی پروپان و طبق واکنش زیر ایجاد می گردد (شکل ۳-۸).



شکل ۳-۸: تبدیل ۱ و ۳ و ۳-تترا اتوکسی پروپان به مالون دی آلدید

میزان پراکسیداسیون لیپیدی (مالون دی آلدید پلاسما) با کمک روش ارایه شده توسط کاراتاس^۱ و همکاران و با کمک دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا تعیین مقدار گردید (۱۰۵).

برای این هدف مقدار ۱۰ میکرولیتر از ۱، ۱، ۳، ۳، ۳-تترا اتوکسی پروپان با میکرو سمپلر برداشته و در یک بالن ژوژه ریخته شد، سپس بالن ژوژه با هیدروکلریک اسید ۰/۱ مولار به حجم رسانده شد (هیدروکلریک اسید ۰/۱ مولار از به حجم رساندن ۰/۲ میلی لیتر اسید در ۲۵ میلی لیتر آب مقطر تهیه شد). بالن ژوژه به مدت ۵ دقیقه در حمام آب جوش بن ماری گذاشته شد. بعد از ۵ دقیقه بالن ژوژه با آب سرد کاملاً خنک گردید. بدین گونه محلول استاندارد مادر با غلظت ۲۹۲ میکروگرم بر میلی لیتر مالون دی آلدید ساخته شد. در این روش جهت آنالیز مالون دی آلدید دستگاه HPLC با ستون C18 و دتکتور UV با طول موج ۲۵۴ نانومتر پیشنهاد شده است. فاز متحرک با محتوای ۶۵ درصد بافر فسفات و ۳۵ درصد متانل با pH = ۱/۵ و با دبی ۱/۵ لیتر بر دقیقه استفاده شده است.

مواد مورد نیاز

تمامی مواد مورد نیاز در این پروژه با درجه ی خلوص بالا خریداری گردید.

۱. ۱ و ۳ و ۳-تترا اتوکسی پروپان

۲. اسیدکلریدریک

۳. اسیدپرکلریدریک

۴. اسیدفسفریک

۵. پتاسیم دی فسفات

۶. متانل با درجه خلوص کروماتوگرافی

وسایل مورد استفاده

۱. لوله هپارینه جهت تهیه نمونه های خون

۲. سانتریفیوژ Hermle 2206 A

۳. بالن ژوژه

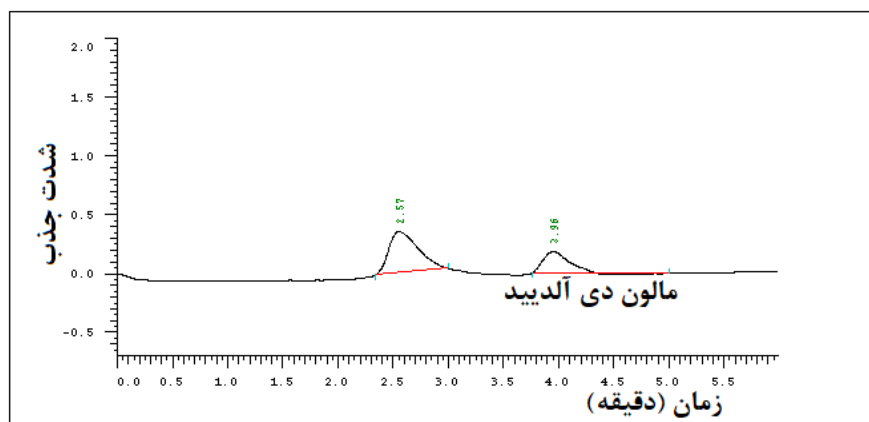
۴. اپندروف

۵. سمپلر و سر سمپلر

۶. ست فیلتراسیون HPLC

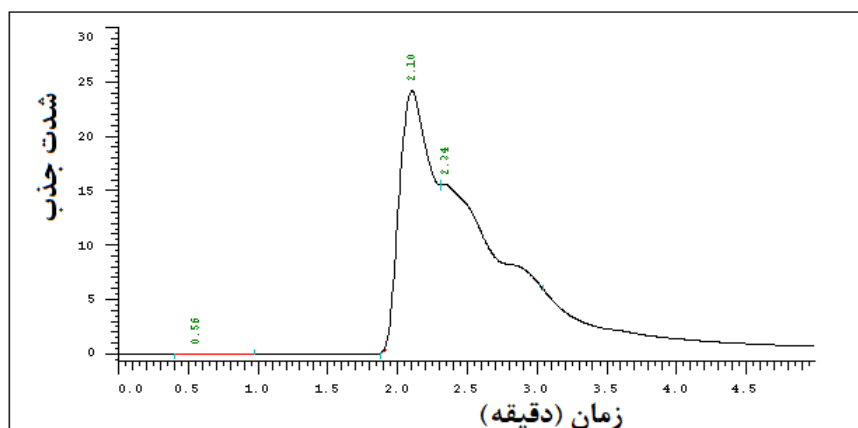
۷. کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مدل Hitachi D-7000

محلولهای استاندارد کاربردی با گستره غلظتی ۱۷/۵۲ تا ۱۷۵/۲ میکرو گرم بر میلی لیتر از مالون دی آلدید در فاز متحرک تهیه شد. از محلول های تهیه شده ۵۰ میکرولیتر برداشته با ۲۵۰ میکرولیتر اسید پرکلریدریک ۰/۱ مولار و ۷۰۰ میکرولیتر فاز متحرک مخلوط و با دستگاه گازکروماتوگرافی مایع با کارایی بالا ارزیابی شد. شکل ۳-۹ نمونه ای از کروماتوگرام مالون دی آلدید در فاز متحرک را نشان می دهد.



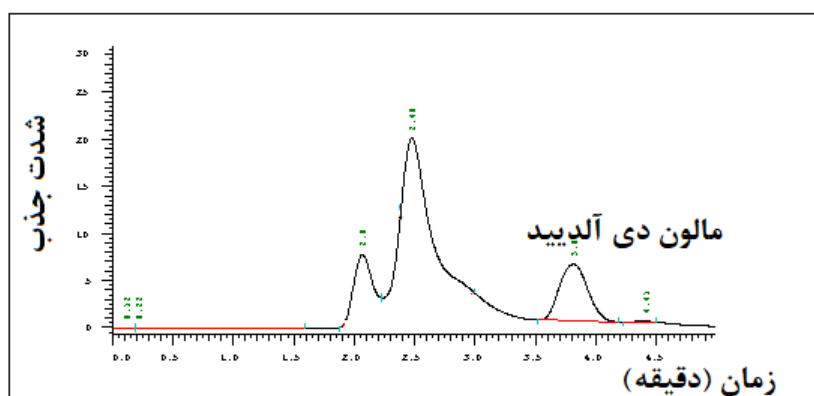
شکل ۳-۹: کروماتوگرام مالون دی آلدید

پس از تهیه منحنی خطی از محلول مالون دی آلدید جهت نهایی شدن روش، از نمونه ی پلاسمای اسپایک شده (آغشته سازی شده) به مالون دی آلدید برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. برای رسیدن به این هدف از ۲۰ دانشجوی کارشناسی نمونه خون تهیه شد و پلاسمای آنها استخراج گردید و با هم مخلوط گردید. به ۵۰ میکرو لیتر پلاسمای تهیه شده ۲۵۰ میکرو لیتر اسید پرکلریک ۰/۱ مولار و ۷۰۰ میکرو لیتر فاز متحرک اضافه شد و از آن طیف تهیه گردید (شکل ۳-۱۰). نتایج نشان می دهد در نمونه پلاسمای مالون دی آلدید وجود ندارد و پلاسمای تهیه شده انتخاب مناسبی برای روش آغشته سازی مالون دی آلدید و رسم منحنی استاندارد می باشد.



شکل ۳-۱۰: کروماتوگرام پلاسما آغشته نشده به مالون دی آلدید

در ۰/۵ میلی لیتر نمونه پلاسما با کمک محلول مادر از مالون دی آلدید غلظت های ۱۷/۵۲ و ۳۵/۰۴ و ۵۸/۴ و ۱۱۶/۸ و ۱۷۵/۲ میکروگرم بر میلی لیتر از مالون دی آلدید تهیه گردید و طبق روش آنالیز گردید. بعد از آماده شدن دستگاه ۲۰ میکرولیتر از استاندارد ها به دستگاه تزریق و سطح زیر پیک مالون دی آلدید بدست آمد. شکل ۳-۱۱ کروماتوگرام پلاسما حاوی مالون دی آلدید را مشخص ساخته است.



شکل ۳-۱۱: کروماتوگرام پلاسما حاوی مالون دی آلدید

جهت تعیین غلظت مالون دی آلدید در نمونه های خون به ۵۰ میکرو لیتر پلاسما خون، ۲۵۰ میکرو لیتر اسید پرکلریدریک ۰/۱ مولار (۰/۴ میلی لیتر اسید در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر) و ۷۰۰ میکرولیتر فاز متحرک اضافه شد. زمانی که دستگاه آماده شد، ۲۰ میکرولیتر از نمونه به دستگاه تزریق شد و بر اساس پاسخ

دستگاه میزان غلظت مالون دی آلدیید در پلاسمای خون افراد مطالعه شونده با کمک منحنی استاندارد تعیین گردید.

۳-۵-۲ اندازه گیری توانایی احیای پلاسما

حفاظت سلولی در برابر اکسیداسیون ناخواسته عمدتاً توسط آنزیم هایی نظیر سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز ایجاد می گردد، این در حالی است که آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی نقش عمده ای در پلاسما دارند. آنتی اکسیدان های به دام اندازنده رادیکال در حین واکنش با گونه های فعال اکسیژن مصرف می شوند و وضعیت آنتی اکسیدانی می تواند به طور غیر مستقیم برای ارزیابی فعالیت های رادیکال آزاد استفاده شود. اندازه گیری آنتی اکسیدان ها به طور کل یا هر یک به تنهایی از مهم ترین روش هایی است که امروزه کاربرد بسیاری پیدا کرده است. سنجش آنتی اکسیدان های منفرد^۱ (مانند آسکوربات، α -توکوفرول، اورات) در خون، پلاسما یا بافت روشی است که در آن باید به اندازه گیری تمام مولکول های منفرد آنتی اکسیدان پرداخته شود. این رویکرد دارای نقایص متعددی است که می توان به زمان بر بودن، هزینه بالا و نیازمندی به تکنولوژی بالا اشاره کرد. علاوه بر این ممکن است اثرات سینرژیک بین آنتی اکسیدان ها را شناسایی نکند و آنتی اکسیدان های شناخته نشده موجود را به حساب نیاورد. به همین منظور روش دیگر، اندازه گیری ظرفیت یا فعالیت آنتی اکسیدانی کل است که می توان آن را با روش های رنگی، ایمنی و یا آنزیمی محاسبه نمود. در این تحقیق با تعیین توانایی پلاسما در احیای محلول های استاندارد از فریک، توانایی احیای نمونه های مجهول تعیین گردید.

مواد و تجهیزات مورد نیاز

۱. بافر استات ۳۰۰ میلی مولار (PH=۳/۶) متشکل از ۳/۱ gr استات سدیم تری هیدرات و ۱۶ mL اسیداستیک
۲. اسید کلریدریک ۴۰ میلی مولار: ۳/۳ mL اسید کلریدریک در یک لیتر آب مقطر
۳. محلول کلرید آهن ۲۰ میلی مولار: ۳/۲۴ gr کلرید آهن در یک لیتر آب
۴. معرف TPTZ^۲: ۰/۰۱۳ gr در ۱۰ mL از اسید کلریدریک ۴۰۰ میلی مولار

^۲ 2,4,6-tripyridyl-s-triazine

۵. محلول استاندارد سولفات آهن با غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار، که از آن رقت‌های ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰

میکرومولار تهیه شد.

۶. معرف FRAP: با مخلوط کردن ۲۵ میلی‌لیتر بافر استات و ۲/۵ میلی‌لیتر کلرید فریک و ۲/۵ میلی‌لیتر

محلول TPTZ تهیه گردید. این محلول بایستی تازه تهیه شود و پس از ۳۰ دقیقه کدر می‌شود و قابل

استفاده نیست.

۷. دستگاه اسپکتروفتومتر UV/Vis مدل CE 2021

برای اجرای این روش مراحل زیر انجام یافت.

۱) محلول استاندارد سولفات آهن (III) با غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار تهیه شد و از آن غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰،

۶۵۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار تهیه شد.

۲) بافر استات ۳۰۰ میلی‌مولار با اختلاط ۳/۱ گرم استات سدیم و ۱۶ میلی‌لیتر اسیداستیک در یک لیتر آب

مقطر تهیه شد. این بافر به مدت ۳ ماه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد پایدار است. PH این محلول در

۳/۶ تنظیم گردید.

۳) اسید کلریدریک ۴۰۰ میلی‌مولار، با حل نمودن ۳/۳ میلی‌لیتر اسید کلریدریک در یک لیتر آب تهیه شد.

۴) معرف TPTZ با حل کردن ۰/۰۱۳ گرم TPTZ در ۱۰ میلی‌لیتر از اسید کلریدریک ۴۰۰ میلی‌مولار تهیه

گردید. (معرف TPTZ بسیار ناپایدار و حساس به نور است و مدت پایداری آن ۳۰ دقیقه است که در

برابر نور آبی کدر می‌شود).

۵) محلول کلرید آهن (III) ۲۰ میلی‌مولار با حل نمودن ۳/۲۴ gr کلرید آهن در یک لیتر آب مقطر تهیه

شد.

۶) معرف FRAP با مخلوط کردن ۲۵ میلی‌لیتر بافر استات و ۲/۵ میلی‌لیتر کلرید فریک و ۲/۵ میلی‌لیتر

محلول TPTZ تهیه شد، این محلول بایستی تازه تهیه شود و بعد از ۳۰ دقیقه کدر شده و دیگر قابل

استفاده نیست.

۷) ۱/۵ میلی‌لیتر FRAP به لوله آزمایش اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری

شد. نمونه بلانک با اضافه کردن ۵۰ میکرولیتر آب مقطر به لوله آزمایش حاوی محلول FRAP تهیه و

دستگاه صفر گردید.

۸) ۱/۵ میلی لیتر محلول FRAP به فالكون اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. سپس ۵۰ میکرولیتر از محلول های استاندارد سولفات فریک به لوله ها اضافه و میزان جذب محلول در طول موج ۵۹۳ نانومتر به عنوان جذب اولیه توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد.

۹) بلافاصله فالكون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴ دقیقه نگهداری و مجدداً میزان جذب محلول به عنوان جذب ثانویه ثبت شد.

۱۰) در هر محلول استاندارد اختلاف جذب ثانویه و جذب اولیه تعیین و منحنی استاندارد ترسیم گردید (۱۰۶).

۱۱) همانند نمونه های استاندارد جذب ثانویه و اولیه برای ۵۰ میکرولیتر نمونه ی پلاسما اندازه گیری و با کمک منحنی استاندارد میزان FRAP تعیین شد.

۳-۶ اعتبار سنجی آزمایشات انجام یافته با روش های کروماتوگرافی

در این مطالعه برای اعتبار سنجی آزمایش های انجام یافته با روش های کروماتوگرافی مایع و کروماتوگرافی گازی میزان دقت، صحت، کمترین حد تعیین مقدار کمی، کمترین حد تشخیص محاسبه گردید.

۳-۶-۱ تعیین دقت

دقت به معنی نزدیکی مقدار داده های تعیین شده توسط روش آنالیز می باشد. برای تعیین دقت از مقدار ضریب تغییرات استفاده شد. به منظور تعیین ضریب تغییرات، هر غلظت استاندارد سه بار در یک روز (برای محاسبه ضریب تغییرات درون روز) و سه بار در سه روز متوالی (برای محاسبه ی ضریب تغییرات برون روز) مورد آنالیز قرار گرفت. در نهایت ضریب تغییرات با قرار دادن نتایج حاصل از آنالیز دستگاهی در فرمول زیر محاسبه گردید.

$$CV = \sigma / X * 100 \quad \text{فرمول ۳-۴}$$

CV=ضریب تغییرات(%)

σ = انحراف معیار

X=میانگین غلظت

۳-۶-۲ تعیین صحت

صحت به معنی نزدیکی نتیجه ی آزمایش به مقدار واقعی است. برای تعیین صحت آنالیز داده ها از شاخص بازیافت نمونه ها استفاده گردید و پس از تعیین مقدار نمونه های استاندارد میزان بازیافت با استفاده از رابطه ی زیر محاسبه گردید.

$$\text{Recovery (\%)} = \frac{\text{Estimated level of Cells (cell/mL)}}{\text{Actual level of Cells (cell/mL)}} \quad \text{فرمول ۳-۵}$$

۳-۶-۳ تعیین حد تشخیص کیفی (LOD)

حد تشخیص کیفی پایین ترین غلظتی از آنالیت است که می توان آن را تشخیص داد و لزوماً تحت شرایط آزمایش قابلیت تعیین مقدار ندارد. این مقدار با کمک رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{LOD} = 3S_A/M \quad \text{فرمول ۳-۶}$$

M = میانگین شیب منحنی استاندارد

S_A = انحراف استاندارد نمونه بلانک

۴-۶-۴ تعیین حد تشخیص کمی (LOQ)

حد تشخیص کمی پایین ترین غلظتی از آنالیت است که می توان آن را تحت شرایط آزمایش با دقت و صحت قابل قبول تعیین مقدار نمود.

$$\text{LOQ} = \text{LOD} * 3.3 \quad \text{فرمول ۳-۷}$$

۷-۳ اندازه گیری فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در خون

سطح فعالیت آنزیم استیل کولین استراز یک شاخص مهم بیوشیمیایی و یک پارامتر حساس برای ارزیابی تماس با سموم و یا حضور مواد سمی در بدن است. از آنجا که کولین استراز در بافت مغز برای اندازه گیری مستقیم دردسترس نمی باشد، استیل کولین استراز در گلبول قرمز خون جانشین قابل اعتمادی برای ارزیابی فعالیت آنزیم استیل کولین استراز می باشد. روش المن روش حساس (۱۰۶) و دارای سوبسترای

اختصاصی است و عموماً روش ارجح تری نسبت به بقیه روشهاست. این روش توسط جوامع بین المللی همچون NIOSH پیشنهاد شده است (۱۰۹).

استیل کولین یک نروترانسمیتر است که پس از ایفای نقش خود در محل سیناپس های عصبی توسط استیل کولین استراز تجزیه می شود، در روش المن^۱ جهت ارزیابی فعالیت آنزیم در محیط آزمایشگاهی از سوبسترای اختصاصی به نام استیل تیوکولین استفاده می شود که توسط آنزیم استیل کولین استراز استخراج شده از گلبول قرمز، تجزیه می شود.

مواد مورد نیاز

۱. (EDTA) Ethylene Diamine Tetra Acetic acid

۲. بافر پتاسیم هیدروژن فسفات (۱۰۰ میلی مولار)

۳. استیل تیوکولین

۴. تریتون x-100

۵. دی تیو بیس نیتروبنزوئیک اسید (DTNB)

۶. نرمال سالین

۷. کوئینیدین (Quinidine sulfat salt dihydrate)

۸. مالاتیون

وسایل مورد استفاده

۱. لوله هپارینه جهت تهیه نمونه های خون

۲. سانتریفیوژ

۳. لوله فالكون

۴. پیپت پلاستیکی

۵. سمپلر و سر سمپلر

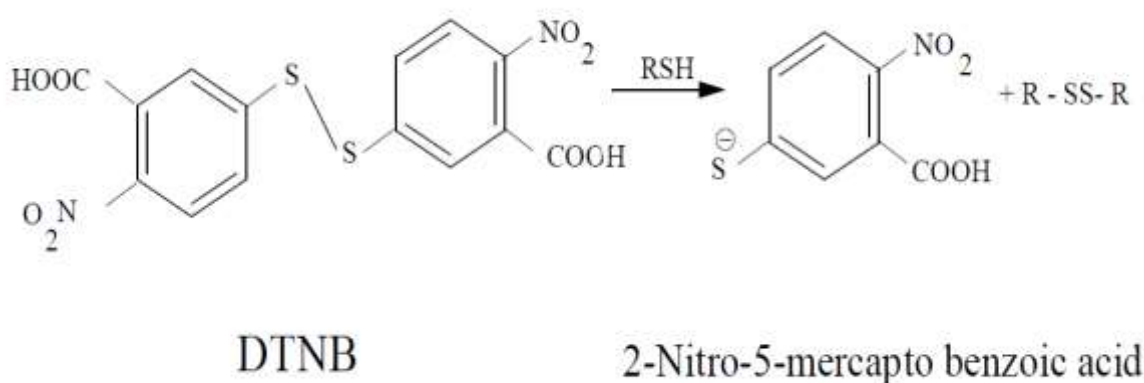
۶. کورنومتر

۷. اسپکتروفتومتر مدل CE 2021

^۱ Ellman

۳-۷-۱ روش المن

اساس این روش اندازه گیری سرعت تولید تیوکولین به عنوان محصول کاتالیز آنزیمی بر روی استیل تیوکولین به عنوان سوبسترا می باشد. تیوکولین به محض تولید با دی تیو بنزوئیک اسید واکنش می دهد تا آنیون زرد رنگ ۲- نیترو ۵-مرکاپتو بنزوئیک اسید ایجاد شود. سرعت ایجاد رنگ در طول موج ۴۰۵ نانومتر به وسیله ی دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه گیری می شود.



شکل ۳-۱۲: واکنش بین DTNB و گروه تیول ایجاد شده در اثر کاتالیز آنزیم

در این تحقیق روش Ellman با مراحل به شرح زیر اجرایی گردید:

۱. لیز گلبول‌های قرمز جهت استخراج آنزیم استیل کولین استراز: ۰/۵ سی سی خون با ۲۵۰ میکرولیتر محلول لیزکننده (۰/۵۸ گرم نمک طعام، ۰/۰۰۳ گرم EDTA، یک سی سی بافر فسفات و ۱/۲ سی سی تریتون x-100) به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۶۰۰۰ RPM سانتریفیوژ شد.
۲. رقیق‌سازی نمونه خون لیز شده: ۱۰ میکرولیتر خون لیز شده با نرمال سالین به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. به جهت عاری نمودن محیط از کولین استراز سرمی (بوتیریل کولین استراز، پسودوکولین استراز یا کولین استراز کاذب) از محلول نرمال سالین حاوی کوئینیدین (Quinidine sulfat salt dihydrate) استفاده گردید.
۳. ۸۰۰ میکرولیتر نمونه رقیق شده از خون لیز شده و ۱۳/۵ میکرو لیتر استیل تیوکولین (۷۵ mM) در آب) و ۲ میلی‌لیتر DTNB (۰/۱۲۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حل شده در بافر پتاسیم هیدروژن فسفات ۱۰۰ میلی مولار با pH= ۷-۸) مخلوط شد.
۴. بررسی واکنش آنزیم استیل کولین استراز با استیل تیوکولین در دستگاه اسپکتروفتومتر با پیگیری واکنش و به واسطه رنگی شدن DTNB و تغییر جذب در طول موج ۴۰۵ نانومتر انجام گرفت. تعیین فعالیت آنزیم استیل کولین استراز با بررسی میزان تغییرات جذب در دستگاه اسپکتروفتومتر در ناحیه ۴۰۵ نانومتر و در مدت ۵ دقیقه صورت گرفت.
۵. پس از قرائت مقادیر جذب با روابط زیر فعالیت آنزیم استیل کولین استراز محاسبه گردید.

$$\text{Cholinesterase Activity} \left(\frac{U}{L} \right) = \frac{\Delta A \times TV \times 1000}{13.6 \times LP \times SV}$$

فرمول ۳-۸

ΔA : تغییرات جذب در زمان در ۴۰۵ نانو متر

TV: حجم کل (۰/۸۱۳۵ ml)

SV: حجم تیوکولین mL

LP: طول سل اسپکتروفوتومتر (cm)

۱۰۰۰: تبدیل واحد میلی لیتر به لیتر

$$\Delta A = \frac{\text{end absorb} - \text{first absorb}}{5}$$

فرمول ۳-۹

فصل چہارم

نتائج

۴-۱ مقدمه

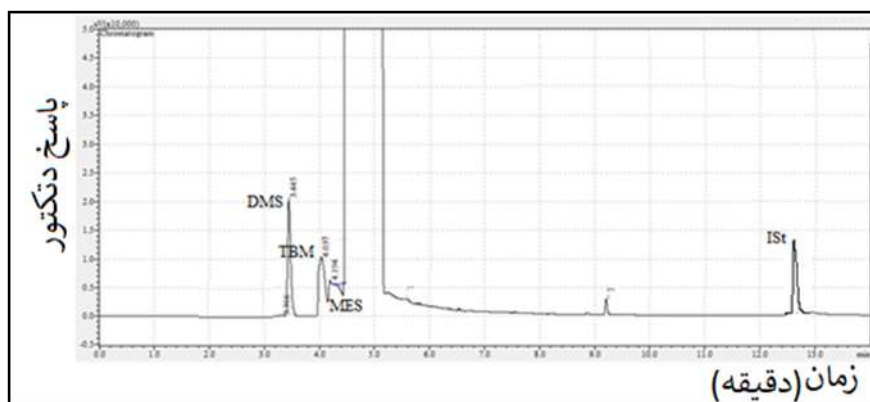
اضافه نمودن مواد بودارکننده به گاز به عنوان یک اقدام ایمنی برای به کارگیری گاز شهری در مصارف خانگی مطرح می باشد. با به کارگیری یک روش نمونه برداری قابل قبول و سپس آماده سازی و آنالیز نمونه های تهیه شده می توان مواجهه تنفسی با ترکیبات بودار کننده را ارزیابی نمود. در این مطالعه روش تعیین مواجهه تنفسی برای سه ترکیب متیل اتیل سولفید، دی متیل سولفید و ترشیو بوتیل مرکاپتان مورد مطالعه قرار گرفت. اعتبار بخشی روش با تعیین پارامترهای دقت، درصد بازیافت، حد تعیین کیفی و حد تعیین کمی ارزیابی شد. تکرارپذیری نتایج در یک روز با سه بار تکرار و در سه روز بر اساس ضریب تغییرات و انحراف معیار مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان مواجهه فردی براساس روش اعتبار بخشی شده اندازه گیری گردید. در این مطالعه به بررسی آسیب استرس اکسیداتیو ناشی از مواجهه ی کارگران با ترکیبات بودارکننده پرداخته شد. آسیب استرس اکسیداتیو با کمک میزان پراکسیداسیون لیپیدی و توانایی پلازما در احیای یون های فریک ارزیابی شد. ترکیبات بودارکننده ی گاز در دسته ی مواد شیمیایی ارگانو سولفور قرار دارند (۱۰۷) و به دلیل اینکه ساختار شیمیایی ارگانو سولفور ها شباهت زیادی به ارگانو فسفات ها دارند و می توانند اثرات بیولوژیکی مشابهی داشته باشند. از آنجاییکه ارگانو فسفات ها فعالیت استیل کولین استراز را کاهش می دهند (۱۰۸) در این مطالعه ارزیابی فعالیت آنزیم استیل کولین استراز به عنوان یک روش ارزیابی بیولوژیک در پرسنل فنی یک شرکت گاز مورد بررسی قرار گرفت.

۴-۲ راه اندازی روش ارزیابی مواجهه تنفسی با ترکیبات بودارکننده گاز

مشکلات موجود برای تعیین مقدار ترکیبات بودارکننده بر اساس روش ۲۵۴۲ NIOSH در استفاده از کروماتوگرافی گازی با دتکتور فوتومتریک شعله ای سبب شده است تا امروزه در کشورمان جهت تعیین مقدار این ترکیبات از روش قرائت مستقیم استفاده گردد که روش مناسبی برای قضاوت در مورد میزان مواجهه طولانی مدت با این مواد نمی باشد. قابلیت دستگاه کروماتوگرافی گازی با دتکتورجرمی در تشخیص و جداسازی ترکیبات یک مخلوط سبب شد تا در این تحقیق روشی مناسب برای تعیین مقدار ترکیبات بودارکننده گاز طبیعی اعتبار بخشی گردد.

۴-۲-۱ شرایط بهینه شده در دستگاه گاز کروماتوگرافی

محلول تست حاوی ترشیو بوتیل مرکاپتان و اتیل متیل سولفید و دی متیل سولفید با دما و ستون پیشنهاد شده توسط NIOSH 2542 به دستگاه کروماتوگرافی گازی با ستون DB-1 تزریق گردید. نتایج آزمون نشان داد این شرایط برای جداسازی پیک های ترکیبات مدنظر مناسب نمی باشد (شکل ۴-۱). دی متیل سولفید با نقطه جوش ۳۷ درجه سانتیگراد و متیل اتیل سولفید با دمای جوش ۶۵ درجه سانتیگراد و ترشیو بوتیل مرکاپتان دارای دمای جوش ۶۵ درجه سانتیگراد است و ترکیب فنیل مرکاپتان به عنوان استاندارد داخلی نقطه جوش ۱۶۹ درجه سانتیگراد داراست. چون نقطه جوش متیل اتیل سولفید و ترشیو بوتیل مرکاپتان کاملاً برابر است در دستگاه کروماتوگرافی به سختی از هم جدا می شوند.



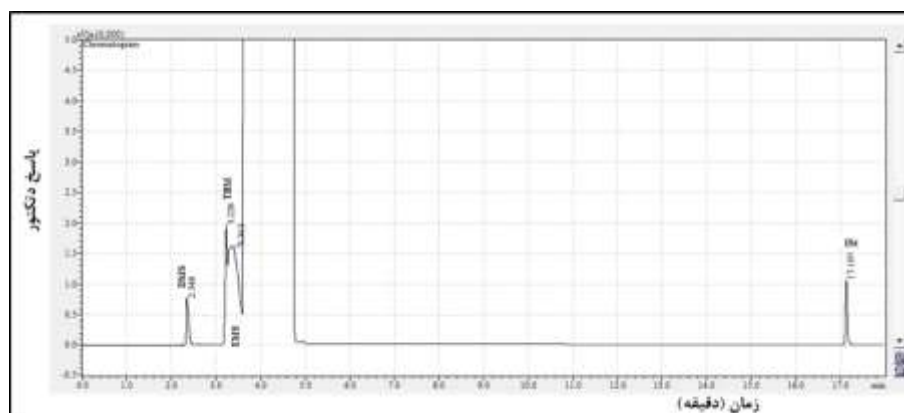
شکل ۴-۱: کروماتوگرام ترکیبات بودار کننده با شرایط ۲۵۴۲ NIOSH

با روش آزمون و خطا مرتباً دمای ستون تغییر داده شد تا اینکه پس از چندین بار تغییرات شرایط دمایی در جدول ۴-۱ انتخاب شد.

جدول ۴-۱: دمای بهینه دستگاه کروماتوگرافی جهت جداسازی ترکیبات مدنظر

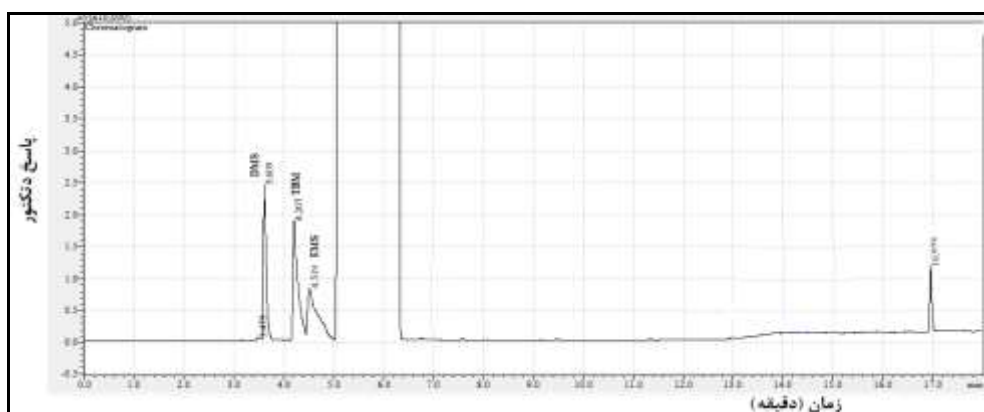
روش	دما (درجه سانتیگراد)	دما (درجه سانتیگراد)	وضعیت ورود نمونه	دمای اولیه	سرعت تغییر	زمان نگهداری دمای نهایی	ستون
NIOSH	۲۰۰	۲۰۰	Split	۳۰	-	۳۰	زمان نگهداری
	۲۰۰	۲۰۰	۱/۱۰	۳۰	۱۰	۱۵۰	دمای نهایی
بهینه	۲۸۰	۲۰۰	Split	۲۶	۰/۳	۲۷	زمان نگهداری
	۲۸۰	۲۰۰	۱/۲۰	۲۷	۵۰	۱۵۰	دمای نهایی

همانطوریکه در کروماتوگرام شکل ۴-۲ مشخص شده است جداسازی مناسبی بین متیل اتیل سولفید و ترشیو بوتیل مرکاپتان در ستون DB-1 انجام نیافته است. به همین دلیل ستون DB-5 انتخاب شد.



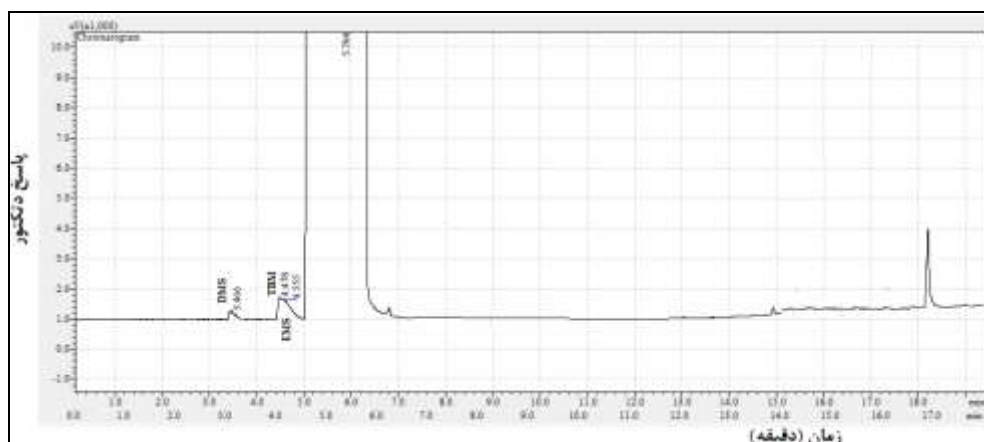
شکل ۴-۲: کروماتوگرام ترکیبات بودارکننده با ستون DB-1

شکل ۴-۳ کروماتوگرام ترکیبات ترشیوبوتیل مرکاپتان (TBM) و اتیل متیل سولفید (EMS) و دی متیل سولفید (DMS) با ستون DB-5 را مشخص ساخته است. نتایج نشان می دهد پیک ترکیبات بودار کننده ی گاز از هم جداسازی شده اند. با توجه به اینکه پیک دی متیل سولفید کمی پهن نشان داده می شود ستون قطبی DB-10 مورد آزمون قرار گرفت.



شکل ۴-۳: کروماتوگرام ترکیبات بودار کننده با ستون DB-5

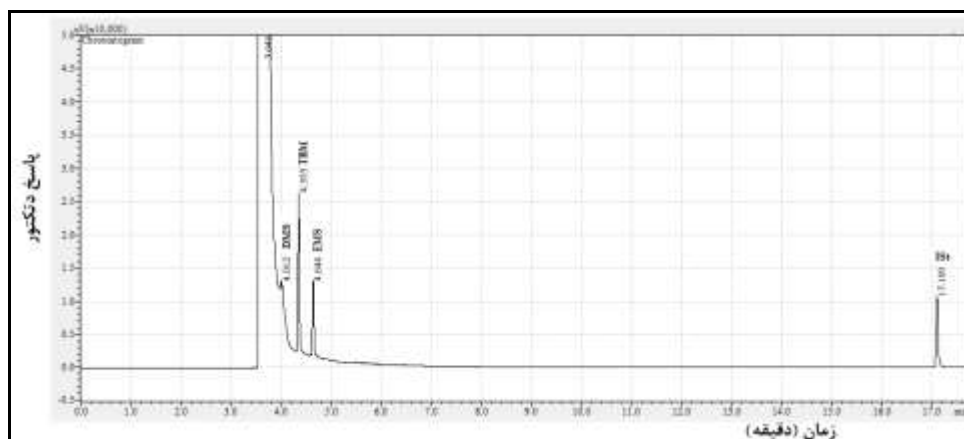
نتایج نشان داد جداسازی مناسبی بین پیک های مدنظر در ستون DB-10 وجود ندارد (شکل ۴-۴) و ستون DB-5 کروماتوگرام مناسب تری فراهم نموده است.



شکل ۴-۴: کروماتوگرام ترکیبات بودار کننده با ستون DB-10

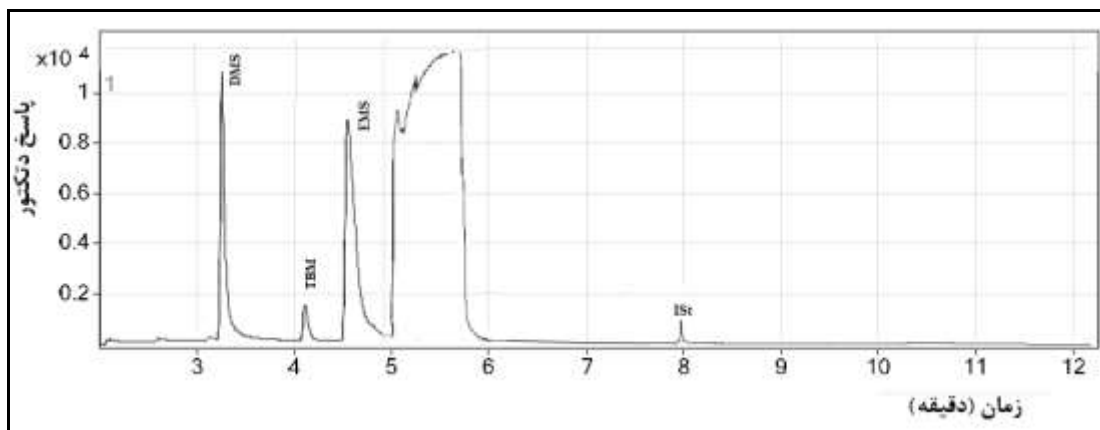
برای بهتر شدن شکل پیک ها در مرحله بعد از حلال دی کلرو متان به جای دی کلرواتان استفاده گردید. شکل ۴-۵ نشان می دهد که پیک دی کلرو متان با وجود اینکه قبل از ترکیبات مدنظر خارج می شود و شرایط

آنالیز مناسب تری را فراهم می نماید ولی با پیک دی متیل سولفید مخلوط می گردد. تغییر دمای ستون جداسازی مناسبی برای پیک ها ایجاد نکرد.



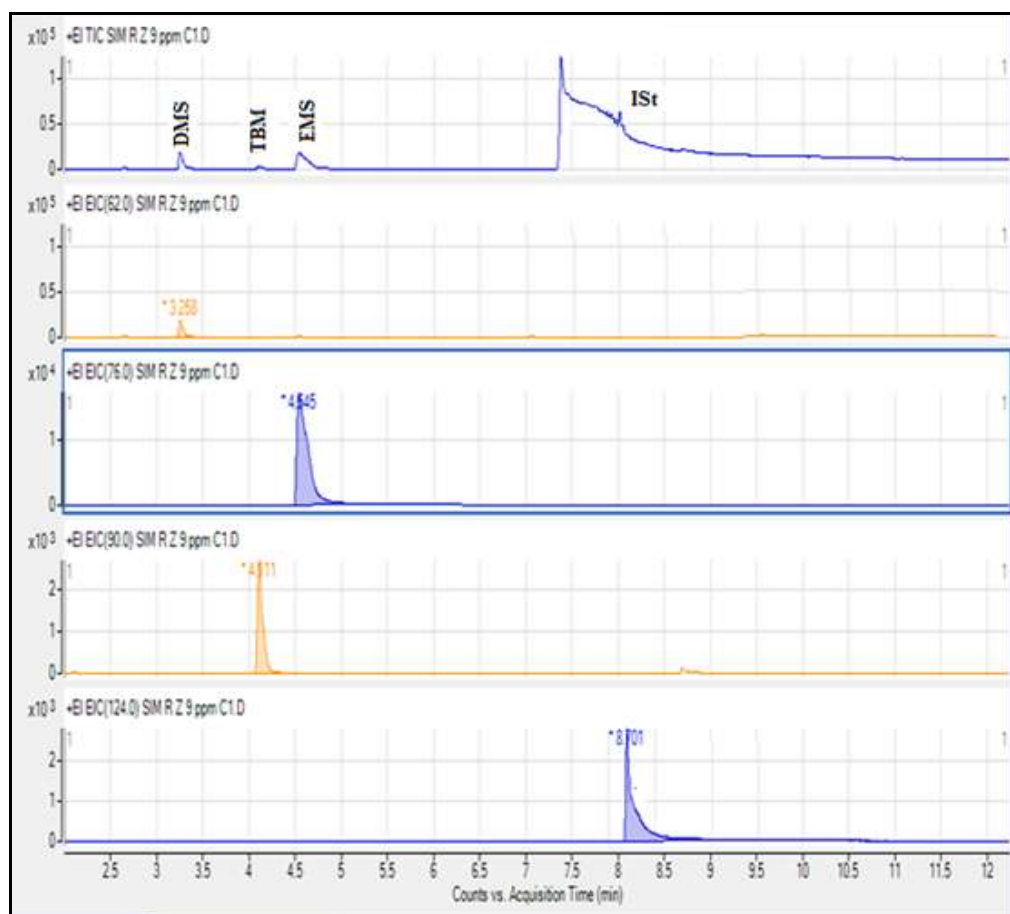
شکل ۴-۵: کروماتوگرام ترکیبات بودار کننده با ستون DB-5 و حلال دی کلرو متان

DB-5 ستونی حاوی ۵ درصدفیل و ۹۵ درصد دی متیل پلی سیلوکسان می باشد و توسط شرکت آنتالیتیکال ساینس^{۱۰۴} تولید می شود. شرکت اجیلنت^{۱۰۵} ستون HP-5 را با همین ترکیبات تولید می نماید. با استفاده از ستون HP-5 و با قرار دادن Split اینجکتور به میزان ۲۰ درصد، کروماتوگرام کاملاً مناسبی در دستگاه ایجاد گردید (شکل ۴-۶).



شکل ۴-۶: کروماتوگرام ترکیبات بودار کننده با ستون Hp-5

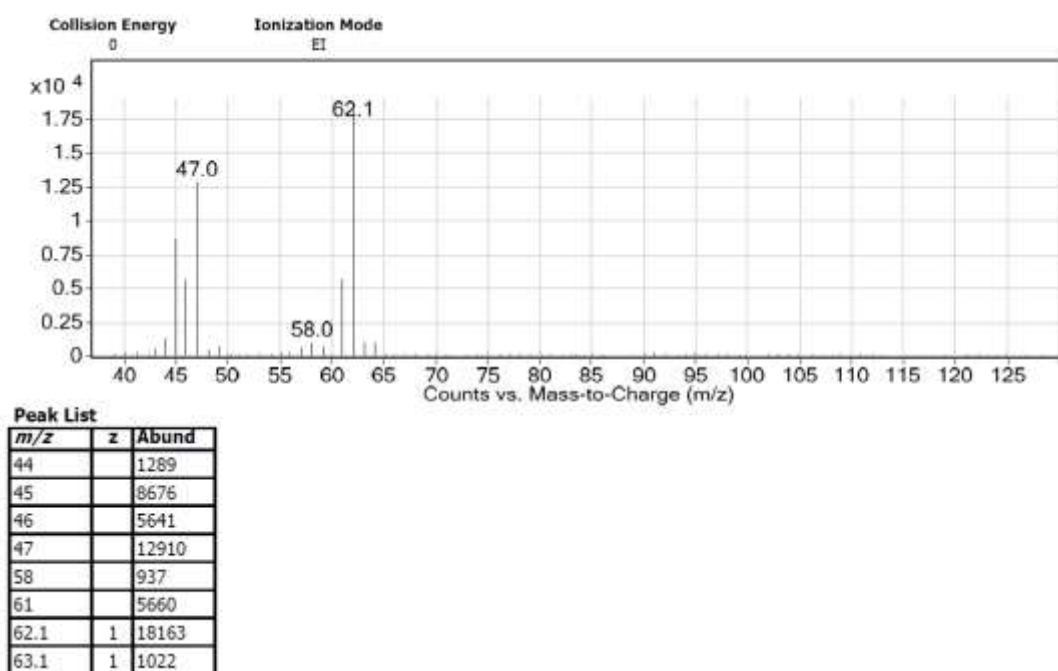
با توجه به اینکه پیک حلال بخش عمده ای از کروماتوگرام محلول تزریق شده را به خود اختصاص می دهد و پیک بسیار بزرگی داراست امکان دارد در تعداد تزریق بالا در فیلان دتکتور جرمی آسیب ایجاد نماید. از طرفی پیک حلال بعد از پیک ترکیبات مدنظر ظاهر می شود و این مشکل با افزایش اسپلیت حل نمی گردد. برای رفع این مشکل دتکتور دستگاه در فاصله زمانی ۵ تا ۷/۵ دقیقه خاموش گردید تا یون های ایجاد شده در این فاصله ی زمانی توسط دتکتور ارزیابی نگردد. شکل ۴-۷ کروماتوگرام نهایی شده از ترکیبات مدنظر را مشخص ساخته است. دتکتور دستگاه در زمان ۷/۵ دقیقه روشن می شود تا پیک استاندارد داخلی مشاهده شود بهمین دلیل در این زمان دستگاه یک سیگنال تولید می کند که مربوط به ماده ی خاصی نمی باشد. در کروماتوگرام حاصل مشخص گردید دی متیل سولفید در زمان ۳/۲۸ دقیقه ، ترشیو بوتیل مرکاپتان در ۴/۱۱ دقیقه و پیک متیل انیل سولفید در زمان ۵/۴۵ دقیقه و استاندارد داخلی در زمان ۸/۰۱ از دستگاه خارج می گردند.



شکل ۴-۷: کروماتوگرام ترکیبات بودارکننده گاز با کروماتوگرافی جرمی

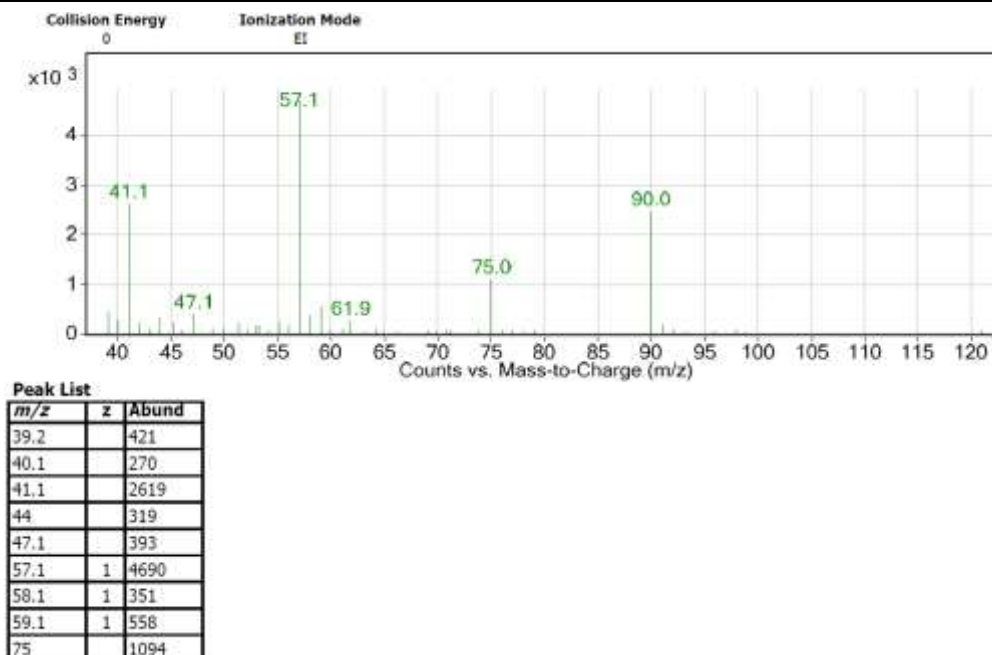
۲-۴-۲ یون شاخص جهت تعیین کمی ترکیبات بودار کننده

شکل ۴-۸ میزان M/Z را برای یونهای مختلف تولید شده در دتکتور جرمی و بزرگی سیگنال در هر یون برای ترکیب دی متیل سولفید را مشخص می سازد. نتایج نشان می دهد یونی با M/Z به میزان ۶۲/۱ بیشترین سیگنال را تولید نموده است که به عنوان یون شاخص برای اندازه گیری دی متیل سولفید انتخاب شد.



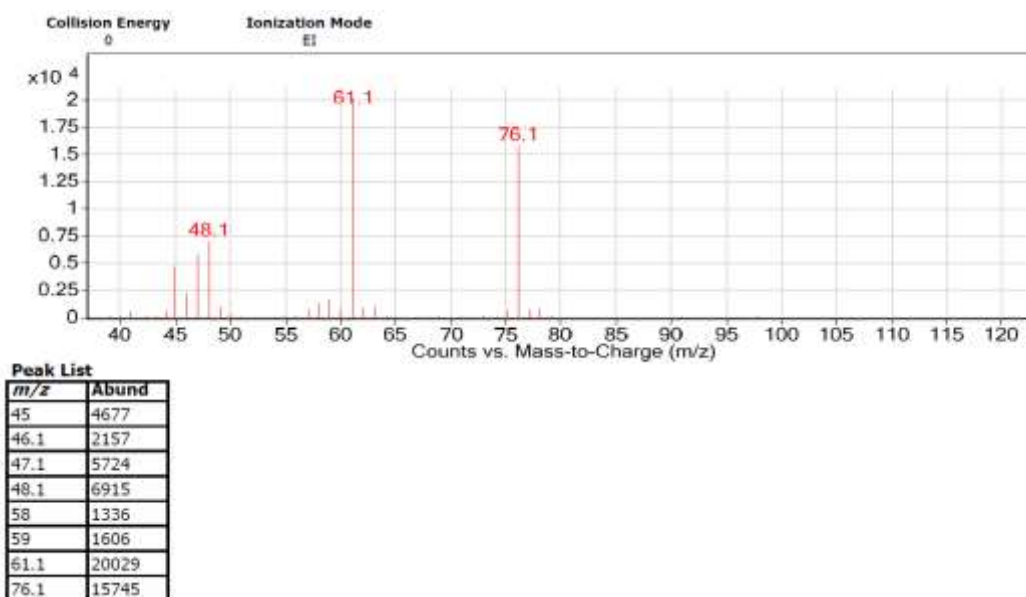
شکل ۴-۸: یونهای تولید شده برای ترکیب دی متیل سولفید در کروماتوگرافی جرمی

یون با M/Z به میزان ۵۷/۱ برای ترکیب ترشیو بوتیل مرکاپتان بیشترین سیگنال را داراست و به عنوان یون شاخص برای اندازه گیری بوتیل مرکاپتان انتخاب شد (شکل ۴-۹).



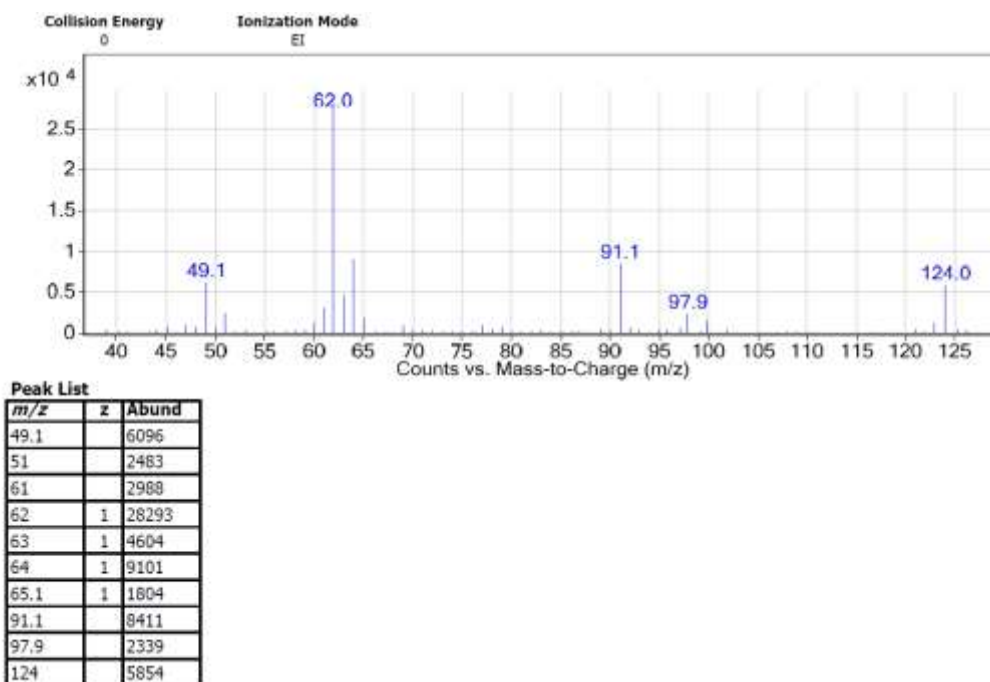
شکل ۴-۹: یونهای تولید شده برای ترکیب ترشیو بوتیل مرکاپتان در کروماتوگرافی جرمی

شکل ۴-۱۰ میزان M/Z در انواع یونهای تولید شده و بزرگی سیگنال در هر یون برای ترکیب متیل اتیل سولفید را مشخص می سازد. نتایج نشان می دهد یون با M/Z به میزان ۶۱/۱ بیشترین سیگنال را تولید نموده است ولی به دلیل نزدیکی به یون منتخب در ترکیب دی متیل سولفید یون با M/Z به میزان ۷۶/۱ به عنوان یون شاخص برای اندازه گیری متیل اتیل سولفید انتخاب شد.



شکل ۴-۱۰: یونهای تولید شده برای ترکیب متیل اتیل سولفید در کروماتوگرافی جرمی

شکل ۴-۱۱ میزان M/Z برای انواع یونهای تولید شده و بزرگی سیگنال در هر یون برای ترکیب ۴-متیل تیوفنل را مشخص می سازد. نتایج نشان می دهد یون M/Z با میزان ۶۲ بیشترین سیگنال را تولید نموده است. با توجه به اینکه این یون در دی متیل سولفید وجود دارد یون M/Z با میزان ۹۱/۱ به عنوان یون شاخص برای اندازه گیری ۴-متیل تیوفنل انتخاب شد.



شکل ۴-۱۱: یونهای تولید شده برای ترکیب ۴-متیل تیوفنل در کروماتوگرافی جرمی

یون های شاخص برای ترکیبات مدنظر در جدوی ۴-۲ مشخص شده است.

جدول ۴-۲: یون شاخص جهت تعیین کمی ترکیبات بودار کننده مدنظر

ماده	جرم به بار (M/Z)
دی متیل سولفید	۶۲/۱
متیل اتیل سولفید	۷۶/۱
ترشیو بوتیل مرکاپتان	۵۷
۴-متیل تیوفنل	۱۲۴

۲-۴-۲ بهینه سازی استخراج ترکیبات بودارکننده‌ی مدنظر از روی فیلتر

جدول ۳-۴ نتایج استخراج ترکیبات بودارکننده‌ی مدنظر در مقادیر مختلف از جیوه استات را نشان می‌دهد.

جدول ۳-۴: درصد بازیافت ترکیبات بودارکننده در مقادیر مختلف از جیوه استات

درصد بازیافت (%)			
جیوه استات (%)	متیل اتیل سولفید	ترشیوبوتیل مرکاپتان	دی اتیل سولفید
۳	۷۷/۶۴	۳۴/۵۴	۶۹/۱۰
۵	۸۰/۶۲	۹۹/۲۲	۹۰/۹۴
۷	۹۸/۰۶	۹۵/۹۳	۹۴/۷۴

همچنین میزان کارایی استخراج ترکیبات دی متیل سولفید، ترشیوبوتیل مرکاپتان و متیل اتیل سولفید در جدول ۴-۴ مشخص شده است.

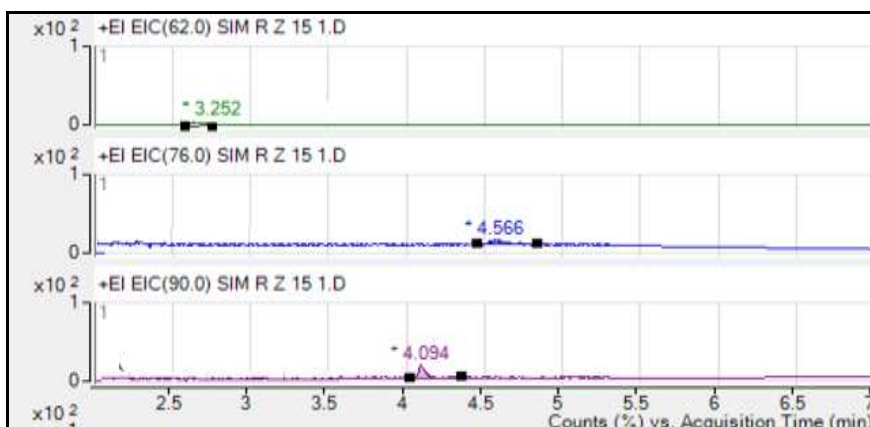
جدول ۴-۴: کارایی استخراج ترکیبات بودارکننده

درصد بازیافت (%)			
اسیدکلریدریک (%)	متیل اتیل سولفید	ترشیوبوتیل مرکاپتان	دی اتیل سولفید
۱۵	۸۵/۸	۷۱/۸	۷۶/۹
۲۰	۹۷	۱۰۲/۳	۹۶/۵
۲۵	۸۷/۶۴	۸۴/۵۴	۸۹/۱۰

نتایج بدست آمده نشان می‌دهد فیلتر فایبر گلاس آغشته به ۷ درصد جیوه استات بهترین شرایط نمونه برداری برای ترکیبات مدنظر را فراهم می‌نماید و همچنین ۲۰ درصد اسید کلریدریک واجذب مناسبی از ترکیبات بودارکننده از روی فیلتر فراهم می‌سازد.

۴-۲-۳ شبیه سازی نمونه برداری ترکیبات بودارکننده از هوا:

کیسه تدلار تهیه شده از نمونه‌ی گاز با روش بهینه شده آنالیز گردید و کروماتوگرام مناسبی ایجاد نمود (شکل ۴-۱۲).



شکل ۴-۱۲: آنالیز نمونه کیسه تدلار حاوی متان با روش بهینه شده

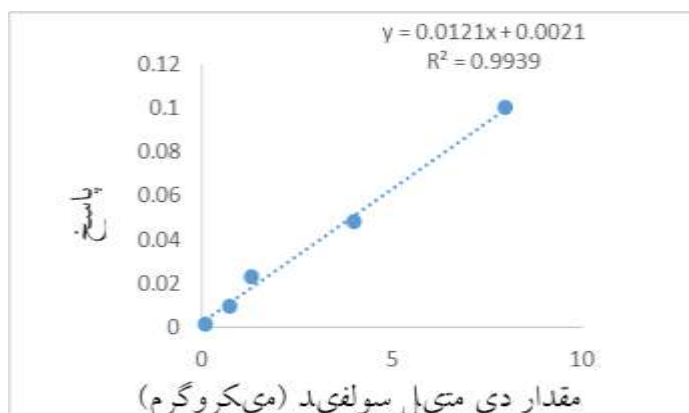
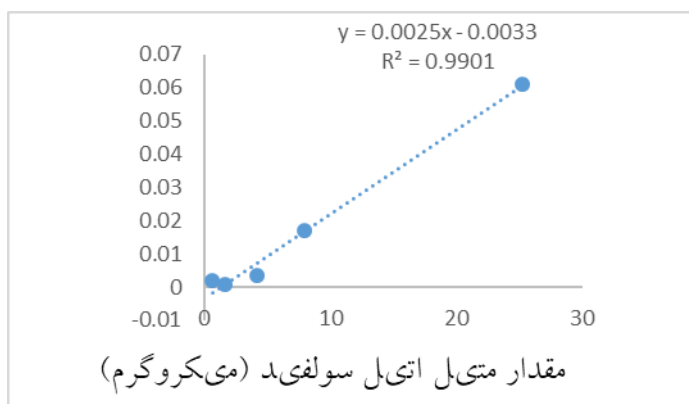
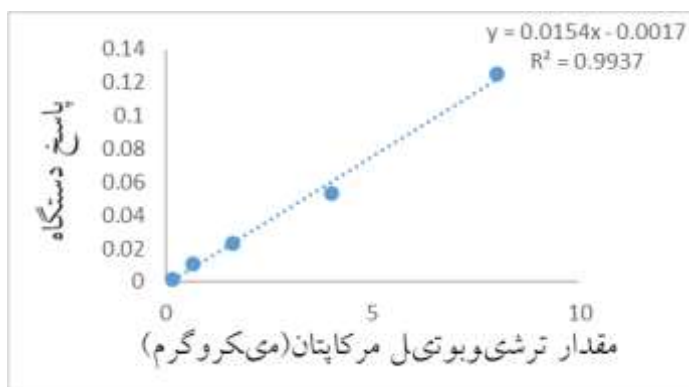
جدول ۴-۵ نشان می‌دهد ترکیبات بودار کننده‌ی مدنظر در حد مناسبی استخراج یافته است.

جدول ۴-۵ درصد بازیافت ترکیبات بودار کننده در نمونه شبیه سازی شده

ماده	غلظت تعیین شده (ppm)	درصد بازیافت (%)
دی متیل سولفید	۴/۹۸	۹۶/۵۱
متیل اتیل سولفید	۴/۹۳	۱۰۱/۷۷
ترشیو بوتیل مرکاپتان	۵/۲	۹۸/۶۳

۴-۲-۴ اعتبارسنجی روش آنالیز ترکیبات بودار کننده

برای اعتبار بخشی روش آنالیز ترکیبات بودار کننده میزان دقت، صحت، کمترین حد تعیین مقدار کمی و کمترین حد تشخیص محاسبه گردید. شکل ۴-۱۳ نمونه ای از منحنی استاندارد تهیه شده برای ترکیبات دی متیل سولفید، متیل اتیل سولفید، ترشیوبوتیل مرکاپتان را نشان می دهد.



شکل ۴-۱۳: منحنی استاندارد برای ترکیبات بودارکننده

بررسی‌ها نشان می‌دهد میانگین درصد بازیافت ترکیبات مدنظر از روی فیلتر برای ترکیب دی متیل سولفید $94/38 \pm 7/9$ و متیل اتیل سولفید $14/5 \pm 95/1$ و ترشیو بوتیل مرکاپتان به میزان $6/6 \pm 98/36$ می‌باشد (جدول ۶-۴). نتایج کارایی استخراج و درصد بازیافت به عنوان صحت قابل طرح است.

جدول ۶-۴ درصد بازیافت روش (میانگین $\pm$ انحراف معیار) برای ترکیبات بودارکننده

دی متیل سولفید (μg)	درصد بازیافت (سه بار تکرار)	متیل اتیل سولفید (μg)	درصد بازیافت (سه بار تکرار)	ترشیو بوتیل مرکاپتان (μg)	درصد بازیافت (سه بار تکرار)
۰/۱۱	$81/5 \pm 0/058$	۰/۶۷۳	$69/97 \pm 0/09$	۰/۱۶	$102/5 \pm 0/008$
۰/۷۴	$91/7 \pm 0/06$	۱/۶۸۴	$100 \pm 0/4$	۰/۶۴	$86/61 \pm 0/085$
۱/۳	$98/7 \pm 0/029$	۴/۲۱	$100 \pm 0/58$	۱/۶	$101/53 \pm 0/033$
۴	$99/8 \pm 0/008$	۸	$107/5 \pm 0/27$	۴	$100/7 \pm 0/025$
۸	$100/24 \pm 0/017$	۲۵/۲	$98/03 \pm 0/14$	۸	$100/4 \pm 0/45$

جدول ۶-۷ ضریب تغییرات درون روز را برای غلظت‌های استاندارد مختلف از ترکیبات بودارکننده‌ی مدنظر نشان می‌دهد.

جدول ۶-۷: ضریب تغییرات درون روز برای ترکیبات بودارکننده

دی متیل سولفید (μg) (سه بار تکرار)	درصد ضریب تغییرات	متیل اتیل سولفید (μg) (سه بار تکرار)	درصد ضریب تغییرات	ترشیو بوتیل مرکاپتان (μg) (سه بار تکرار)	درصد ضریب تغییرات
۰/۱۱	۱۰	۰/۶۷۳	۳/۳	۰/۱۶	۳/۰۴
۰/۷۴	۲/۰۷	۱/۶۸۴	۲/۷	۰/۶۴	۳/۷
۱/۳	۵/۷	۴/۲۱	۵/۶	۱/۶	۴/۷
۴	۷/۲	۸	۸/۴	۴	۷/۲
۸	۴/۶	۲۵/۲	۲/۳	۸	۲/۵

جدول ۴-۸ ضریب تغییرات برون روز برای غلظت‌های استاندارد مختلف از ترکیبات بودارکننده را نشان می‌دهد.

جدول ۴-۸: ضریب تغییرات برون روز برای ترکیبات بودارکننده

دی متیل سولفید (سه بار تکرار) (µg)	درصد ضریب تغییرات	متیل اتیل سولفید (سه بار تکرار) (µg)	درصد ضریب تغییرات	ترشیو بوتیل مرکاپتان (سه بار تکرار) (µg)	درصد ضریب تغییرات
۰/۱۱	۱۱/۷۶	۰/۶۷۳	۱۰/۶	۰/۱۶	۵/۵
۰/۷۴	۷/۵	۱/۶۸۴	۱۲/۲	۰/۶۴	۱/۹
۱/۳	۵/۳	۴/۲۱	۶/۹	۱/۶	۰/۴۶
۴	۹/۳	۸	۶/۳	۴	۵/۶
۸	۱/۲	۲۵/۲	۲/۹	۸	۲/۷

پایین ترین غلظت قابل تشخیص و پایین ترین غلظت قابل ارزیابی در آزمایشات تعیین ترکیبات بودار کننده، در جدول ۴-۹ مشخص شده است.

جدول ۴-۹: پایین ترین غلظت قابل تشخیص و پایین ترین غلظت قابل ارزیابی برای ترکیبات بودارکننده

ماده	پایین ترین مقدار قابل تشخیص (میکرو گرم در نمونه)	پایین ترین مقدار قابل ارزیابی (میکرو گرم در نمونه)
متیل اتیل سولفید	۵	۱۵
ترشیو بوتیل مرکاپتان	۰/۸۶	۲/۵۸
دی متیل سولفید	۴	۴/۳

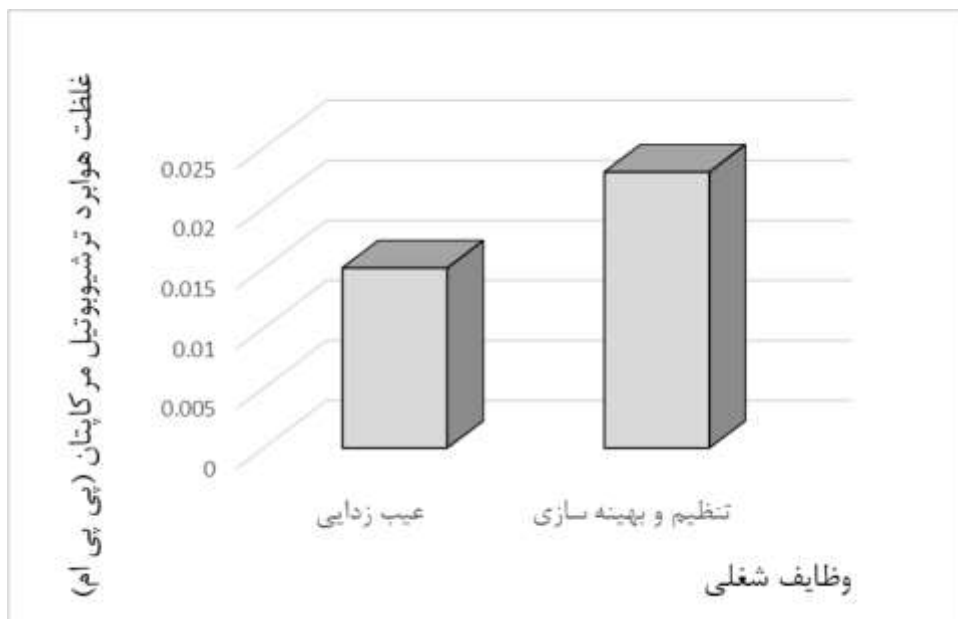
۳-۴ ارزیابی مواجهه تنفسی با ترکیبات بودارکننده گاز

مقدار متیل اتیل سولفید در نمونه‌های هوا برای تمامی نمونه‌های ارزیابی شده در وظایف فنی، پایین‌تر از حد تشخیص کمی مشاهده گردید. میانه‌ی میزان مواجهه‌ی تنفسی با ترشیو بوتیل مرکاپتان در پرسنل فنی ۰/۰۱ پی‌پی‌ام با حداقل میزان ۰/۰۰۵ پی‌پی‌ام و حداکثر مقدار ۰/۱۵ پی‌پی‌ام مشاهده شد. همچنین میانه‌ی مواجهه شغلی در هفته با ترشیو بوتیل مرکاپتان برای پرسنل فنی ۰/۰۰۸ پی‌پی‌ام و در محدوده‌ی ۰/۰۰۱ تا ۰/۰۸۶ پی‌پی‌ام مشاهده گردید. نتایج ارزیابی‌ها نشان داد در وظیفه‌ی بازرسی و سرکشی از ایستگاه‌ها مواجهه شغلی با ترکیبات بودارکننده وجود ندارد. میانگین میزان مواجهه‌ی شغلی پرسنل فنی برای فعالیت‌های مختلف در وظیفه‌ی عیب‌زدایی در جدول ۴-۱۰ مشخص شده است. نتایج آزمون آماری کروسکال-والیس نشان می‌دهد تفاوت معنی‌داری در میزان مواجهه‌ی هوابرد با ترشیو بوتیل مرکاپتان بین پرسنل با فعالیت‌های شغلی مختلف در وظیفه‌ی عیب‌زدایی وجود ندارد.

جدول ۴-۱۰ میزان مواجهه‌ی تنفسی در فعالیت مختلف از وظیفه‌ی عیب‌زدایی

فعالیت	میانگین $\pm$ انحراف معیار (پی‌پی‌ام)
تعویض المنت	$0/011 \pm 0/002$
نشت‌گیری	$0/0122 \pm 0/013$
تعویض فیلتر	$0/023 \pm 0/029$
p-value	۰/۸

شکل ۴-۱۴ میزان مواجهه‌ی تنفسی برای پرسنل شاغل در وظیفه‌ی عیب‌زدایی (۳۶ نفر) و تنظیم-بهینه سازی (۳۷ نفر) را مشخص ساخته است. نتایج ارزیابی‌ها با آزمون من-ویتنی نشان می‌دهد تفاوت معنی‌داری در میزان تماس هوابرد ترشیو بوتیل مرکاپتان برای فعالیت پرسنل در وظیفه‌ی عیب‌زدایی با وظیفه‌ی تنظیم و بهینه‌سازی وجود ندارد ($p=0/54$).



شکل ۴-۱۴ میزان تماس هوابرد با ترشیو بوتیل مرکاپتان در وظایف شغلی پرسنل فنی

با توجه به اینکه وظایف متعددی همچون عیب زدایی و تنظیم و بهینه سازی در روزهای مختلف به پرسنل فنی سپرده می شود تعیین مواجهه فردی در وظایف مختلف گویای تماس طولانی مدت پرسنل فنی با ترکیبات بودارکننده نمی باشد لذا برای تعیین میزان مواجهه تنفسی با ترکیبات بودارکننده میزان مواجهه در یک هفته معیار مناسب تری در نظر گرفته شد. توزیع میزان مواجهه تنفسی در هفته با ترشیو بوتیل مرکاپتان غیر نرمال مشخص شد. میزان میانه ی مواجهه شغلی هفتگی با ترشیو بوتیل مرکاپتان در پرسنل فنی ۰/۰۰۸ پی پی ام و در محدوده ی ۰/۰۰۱ تا ۰/۰۸۶ پی پی ام مشاهده گردید. بررسی ها نشان داد دو گروه شغلی برای پرسنل فنی با عناوین امدادگر (شامل پرسنل امداد و گازبان) و تعمیرات (شامل پرسنل تعمیر و ابزار دقیق) وجود دارد. میانه تماس هفتگی در پرسنل تعمیرات ۰/۰۰۳ (۰/۰۰۱-۰/۰۰۳) پی پی ام و در پرسنل امداد ۰/۰۰۴۳ (۰/۰۰۱-۰/۰۸۶) پی پی ام ارزیابی شد. آزمون من-وینتی نشان داد تفاوت معنی داری بین میزان تماس هفتگی با ترشیو بوتیل مرکاپتان در پرسنل تعمیرات نسبت به امدادگران وجود دارد ($p < 0.002$) بطوریکه تماس هفتگی پرسنل تعمیرات با ترشیو بوتیل مرکاپتان بیشتر از پرسنل امدادگر می باشد.

یکی دیگر از وظایف شغلی پرسنل فنی تزریق گاز می باشد که تزریق ترکیبات بودارکننده به گاز شهری یک تا دوبار در سال انجام می یابد و وظیفه ی روتینی برای پرسنل نمی باشد، نتایج ارزیابی میزان مواجهه تنفسی به هنگام تزریق بودارکننده ها به خط انتقال، جداگانه ارزیابی شد. نمونه برداری از ترکیبات بودارکننده به هنگام تزریق بودارکننده به گاز و حین استفاده از ماسک تنفسی انجام یافت. نتایج بررسی ها نشان داد در ۷ نمونه ی ارزیابی شده، میزان مواجهه تنفسی پرسنل در هنگام تزریق گاز 0.748 ± 0.417 پی پی ام با ترشیوبوتیل مرکاپتان و 37.2 ± 25.25 پی پی بی با متیل اتیل سولفید می باشد.

بررسی های به عمل آمده نشان داد در صنعت گاز استان چهار محال و بختیاری از ماسک تنفسی تمام صورت مدل A2B2E2K2 برای محافظت از مسیر تنفسی استفاده می گردد. در این مطالعه میزان مواجهه تنفسی بدون ماسک و با استفاده از ماسک در وظایف مختلف پرسنل فنی مقایسه گردید. نتایج بررسی ها نشان داد استفاده از ماسک تنفسی سبب گردیده است میزان مواجهه با ترکیب ترشیوبوتیل مرکاپتان در تمامی نمونه های تهیه شده در وظایف نشت گیری، تعویض المنت، تعویض فیلتر و تنظیم رگلاتور کمتر از حد قابل تشخیص روش باشد. در نمونه های تهیه شده به هنگام تزریق گاز با وجود استفاده از ماسک تنفسی مدل A2B2E2K2 مواجهه با ترشیوبوتیل مرکاپتان 0.748 ± 0.417 پی پی ام و مواجهه با متیل اتیل سولفید 37.2 ± 25.25 پی پی بی مشاهده شد.

فیلتر چهار حالت A2B2E2k2 برند اسپاسیانی^۱ مطابق با استاندارد EN148 ساخته شده است. این فیلتر جاذب گازها و بخارات آلی و دارای نقاط جوش بالای ۶۵ °C، گازها و بخارات غیر آلی، سولفور دی اکساید، هیدروژن کلرید، آمونیاک می باشد (۱۱۰). این فیلتر می تواند با ماسک های تمام صورت، TR82، TR2002 CL2، TR2002 CL3 و ماسک های نیم صورت ST85 و یا ماسک های مشابه مورد استفاده قرار گیرد. فیلتر ترکیبی چهار حالت A2B2E2k2 ساخت شرکت اسپاسیانی فعال در زمینه تولید ماسک، فیلتر و سیستم های تنفسی است که در سال ۱۸۹۳ شروع به فعالیت نموده و کلیه محصولات عرضه شده توسط این شرکت مورد تأثیر استاندارد اروپا (CE) می باشد.

^۱ Spasiani

فیلترها بر اساس ظرفیت جذبشان طبقه بندی می شوند که این طبقه بندی به صورت عددی بوده و در کنار حروف فیلتر نشان داده می شوند. این طبقه بندی شامل اعداد ۱ (کم) ، ۲ (متوسط) ، ۳ (زیاد) می باشد. فیلتر A2B2E2k2 دارای ۴ فیلتر جاذب بوده و با استفاده از یک برچسب نوع فیلترهای آن مشخص شده است. حرف A که با نماد قهوه ای بر روی برچسب مشخص شده، نشان دهنده این است که این فیلتر جاذب گازها و بخارات آلی با نقطه جوش بیش از ۶۵ °C می باشد. همچنین اندیس عدد ۲ در کنار این حرف به این منظور است که ظرفیت جذب آنها متوسط است. حرف B که با نماد رنگ خاکستری بر روی برچسب مشخص شده نشان دهنده این است که این فیلتر جاذب گازها و بخارات غیر آلی مانند (HCL-CL2-H2S) می باشد. اندیس عدد ۲ در کنار این حرف به این منظور است که ظرفیت جذب آن متوسط می باشد. حرف E و با اندیس ۲ ، با نماد رنگ زرد است که نشان دهنده ظرفیت جذب متوسط برای گازهای سولفور دی اکساید ، هیدروژن کلرید می باشد. K2 با نماد رنگ سبز نشان دهنده ظرفیت جذب متوسط در برابر آمونیاک می باشد. محدودیت استفاده از این فیلترها در مکان هایی است که غلظت اکسیژن کمتر از ۱۷٪ باشد و یا اینکه نوع گاز در محیط مشخص نباشد .

ویژگی های فنی فیلتر به شرح ذیل می باشد:

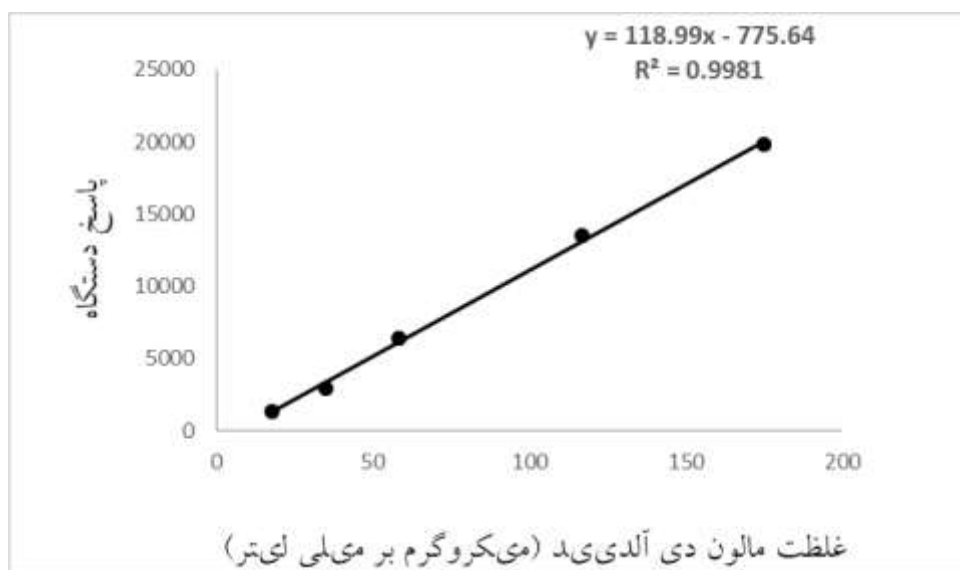
- جنس بدنه فیلتر : پلی پروپیلین
- فیلتر گازی دارای کلاس ۲ طبق استاندارد EN 14387:2004 + A1:2008
- نوع فیلتر ها: ذغال فعال و فیلتر کاغذی
- شرایط نگهداری : دما بین ۲۰- تا ۵۰ درجه ی سانتیگراد و در رطوبت $RH < 80\%$
- وزن: ۲۶۴ گرم
- قابل استفاده با : ماسک های تمام صورت TR2002 CL2 ، TR2002 CL3 ، TR82 :
و ماسک نیم صورت ST85 و یا ماسک های مشابه آن که دارای اتصال پیچی هستند.

۴-۴ تعیین شاخص های استرس اکسیداتیو

در این مطالعه جهت تعیین پراکسیداسیون لیپیدی، میزان مالون دی آلدئید در پلاسما ارزیابی شد. همچنین توانایی آنتی اکسیدانی پلاسما با ارزیابی توانایی پلاسما در احیای یون فریک ارزیابی گردید.

۴-۴-۱ اعتبارسنجی ارزیابی مالون دی آلدئید در پلاسما

شکل ۴-۱۵ منحنی استاندارد برای محلول هایی مالون دی آلدئید در پلاسما را نشان می دهد.



شکل ۴-۱۵: منحنی استاندارد مالون دی آلدئید در پلاسما

برای اعتبارسنجی روش اندازه گیری مالون دی آلدئید در پلاسما میزان دقت، صحت، کمترین حد تعیین کمی و کمترین حد تشخیص محاسبه گردید. جدول ۴-۱۱ ضریب تغییرات درون روز را برای غلظت های استاندارد مختلف از مالون دی آلدئید در پلاسما نشان می دهد.

جدول ۴-۱۱: درصد ضریب تغییرات درون روز مالون دی آلدیید

درصد ضریب تغییرات	غلظت میکروگرم بر میلی لیتر (سه بار تکرار)
۲/۹۸	۱۷/۵۲
۰/۷۶	۳۵/۰۴
۱/۴۷	۵۸/۴
۱/۰۳	۱۱۶/۸
۰/۰۸	۱۷۵/۲

جدول ۴-۱۲ نتایج ضریب تغییرات برون روز را برای غلظت های استاندارد مختلف از مالون دی آلدیید در پلاسما نشان می دهد. نتایج این مطالعه دقت مناسبی را برای آزمایشات انجام یافته مشخص ساخته است.

جدول ۴-۱۲: درصد ضریب تغییرات برون روز مالون دی آلدیید

درصد ضریب تغییرات	غلظت میکروگرم بر لیتر (سه بار تکرار)
۱/۵۱	۱۷/۵۲
۵/۲	۳۵/۰۴
۰/۵۲	۵۸/۴
۱/۰۷	۱۱۶/۸
۳/۲۴	۱۷۵/۲

جدول ۴-۱۳ درصد بازیافت را در غلظت های مختلف از مالون دی آلدیید در پلاسما نشان می دهد.

جدول ۴-۱۳: درصد بازیافت مالون دی آلدئید در پلاسما

غلظت (میکروگرم بر میلی لیتر)	درصد بازیافت
سه بار تکرار	میانگین $\pm$ انحراف استاندارد
۱۷/۵۲	$۹۳/۴۳ \pm ۲/۰۲۷$
۳۵/۰۴	$۹۵/۳۸ \pm ۵/۶۱$
۵۸/۴	$۱۰۰/۸۸ \pm ۱/۳۷$
۱۱۶/۸	$۱۰۱/۹۹ \pm ۰/۵۰$
۱۷۵/۲	$۹۸/۹۳ \pm ۰/۰۷۹$

پایین ترین غلظت قابل تشخیص مالون دی آلدئید در پلاسما با روش بررسی شده ۴/۶۷ میکروگرم بر میلی لیتر ارزیابی شد و پایین ترین غلظت مالون دی آلدئید در پلاسما با قابلیت تعیین مقدار در دقت و صحت قابل قبول ۱۵/۵ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین گردید.

۴-۴-۲ ارزیابی مالون دی آلدئید در پلاسما

توزیع داده‌های مالون دی آلدئید در پلاسما ی پرسنل فنی غیر نرمال تخمین زده شد. نتایج تست من ویتنی نشان می‌دهد تفاوت معنی‌داری در میزان مالون دی آلدئید پلاسما بین کارگران فنی و پرسنل اداری وجود دارد ($p=۰/۰۰۰۱$)، بطوریکه غلظت مالون دی آلدئید در افراد مواجهه‌یافته بیشتر از پرسنل اداری است (جدول ۴-۱۴).

جدول ۴-۱۴ غلظت مالون دی آلدئید در افراد مطالعه شده

پرسنل مطالعه شده پراکسیداسیون لیپیدی (میکرومولار)

میانۀ (حداقل-حداکثر)

پرسنل فنی	۸/۵۴ (۱۹/۱-۳۵/۰۰۲)
پرسنل اداری	۱/۱۱۶ (۳/۰-۹۴/۹)

میزان میانگین غلظت مالون دی آلدئید در پرسنل اداری (۱/۳ میکروگرم بر میلی لیتر) به عنوان حد پایه ی پراکسیداسیون لیپیدی در نظر گرفته شد. نتایج نشان می دهد ۸۶ درصد از پرسنل فنی دارای مالون دی آلدئیدی بالاتر از حد پایه می باشند. شانس داشتن پراکسیداسیون لیپیدی در گروه مواجهه یافته ۱۳/۹ برابر بیشتر از افراد مواجهه نیافته است (جدول ۴-۱۵).

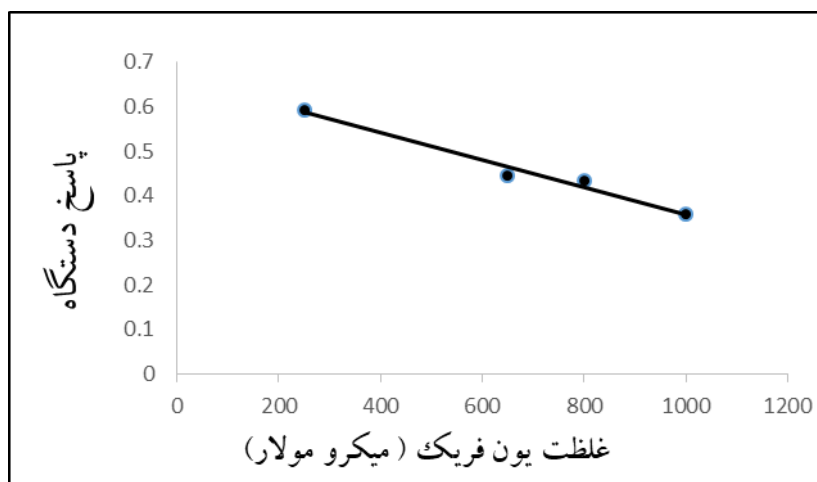
جدول ۴-۱۵ نسبت شانس پراکسیداسیون لیپیدی در بین پرسنل فنی و افراد مواجهه نیافته

نسبت شانس	ضریب رگرسیونی	خطای معیار	P-Value
OR			
گروه (مواجهه یافته و نیافته)	۱۳/۹	۰/۶	۰/۴
			<۰/۰۰۱

نتایج بررسی همبستگی پیرسون نشان داد که بین مواجهه با ترشیو بوتیل مرکاپتان در هفته و میزان غلظت مالون دی آلدئید ارتباط معنی داری وجود دارد ($r = ۰/۳$ و $p\text{-value} = ۰/۰۴$). با توجه به رگرسیون پایین در همبستگی بین غلظت مالون دی آلدئید و مواجهه تنفسی می توان گفت ریسک تولید مالون دی آلدئید در پرسنل فنی شرکت گاز وجود دارد. آزمون های آماری نشان می دهد سن ، سابقه ی کار و مصرف سیگار با میزان مالون دی آلدئید همبستگی معنی داری ندارد ($p\text{-value} > ۰/۰۴$). نتایج ارزیابی ها تفاوت معنی داری در میزان پراکسیداسیون لیپیدی بین وظیفه ی عیب زدایی با وظیفه ی تنظیم و بهینه سازی ($p = ۰/۱۴$) و همچنین فعالیت های شغلی مختلف وظیفه ی عیب زدایی نشان نمی دهد ($p = ۰/۵$).

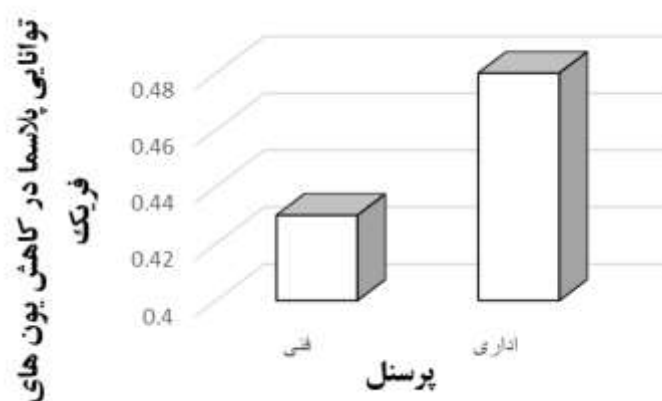
۴-۴-۳ ارزیابی ظرفیت تام آنتی اکسیدانی پلاسما

شکل ۴-۱۶ نمونه‌ای از منحنی استاندارد مورد استفاده جهت تعیین ظرفیت تام آنتی اکسیدان‌های پلاسما را نشان می‌دهد.



شکل ۴-۱۶ منحنی استاندارد ظرفیت تام آنتی اکسیدان‌های پلاسما

میانگین توانایی پلاسما برای احیای یون‌های فریک در پرسنل فنی 0.43 ± 0.05 میکرو مولار تعیین شد. آزمون تی مستقل نشان داد میزان توانایی پلاسما برای احیای یون‌های فریک در پرسنل فنی اختلاف معنی داری ($P < 0.001$) با افراد مواجهه نیافته دارد (شکل ۴-۱۷)، بطوریکه میزان توانایی پلاسما برای احیای یون‌های فریک در پرسنل فنی که با ترشیوبوتیل مرکاپتان تماس دارند کاهش معنی داری نشان داده است.



شکل ۴-۱۷ ظرفیت آنتی اکسیدان‌های تام پلاسما در افراد مطالعه شده

میانگین توانایی پلاسما در کاهش یون‌های فریک برای پرسنل اداری به میزان ۰/۴۸ میکرومولار تعیین شد که به عنوان مقیاسی برای ارزیابی تعداد افراد آسیب‌دیده در پرسنل فنی در نظر گرفته شد. بررسی‌ها نشان می‌دهد ۷۷/۵ درصد از پرسنل فنی دارای کاهش قدرت آنتی‌اکسیدانی بوده‌اند بطوریکه شانس کاهش توانایی آنتی‌اکسیدانی در گروه مواجهه یافته ۳ برابر بیشتر از افراد مواجهه‌نیافته است (جدول ۴-۱۶).

جدول ۴-۱۶ نسبت شانس توانایی پلاسما در کاهش یون‌های فریک در بین پرسنل فنی و افراد مواجهه نیافته

نسبت شانس	ضریب رگرسیونی	خطای معیار	P-Value
OR			
گروه (مواجهه یافته و نیافته)	۳/۰۰۳	۰/۹	۰/۳۶
			<۰/۰۰۲

نتایج آزمون همبستگی پیرسون نشان داد ارتباط معناداری بین پراکسیداسیون لیپیدی و میزان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما وجود دارد ($p < ۰/۰۰۰۱$, $r = - ۰/۵$). این همبستگی منفی نشان می‌دهد که با افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی و تولید مالون‌دی‌آلدئید در پلاسما، توان آنتی‌اکسیدانی پلاسما کاهش یافته است. کاهش قدرت آنتی‌اکسیدانی پلاسما با سن، سابقه‌ی کار و مصرف سیگار همبستگی معناداری ندارد ($p > ۰/۰۵$). همچنین تفاوت معنی‌داری در میزان FRAP بین فعالیت‌های شغلی مختلف وجود ندارد ($p > ۰/۰۵$).

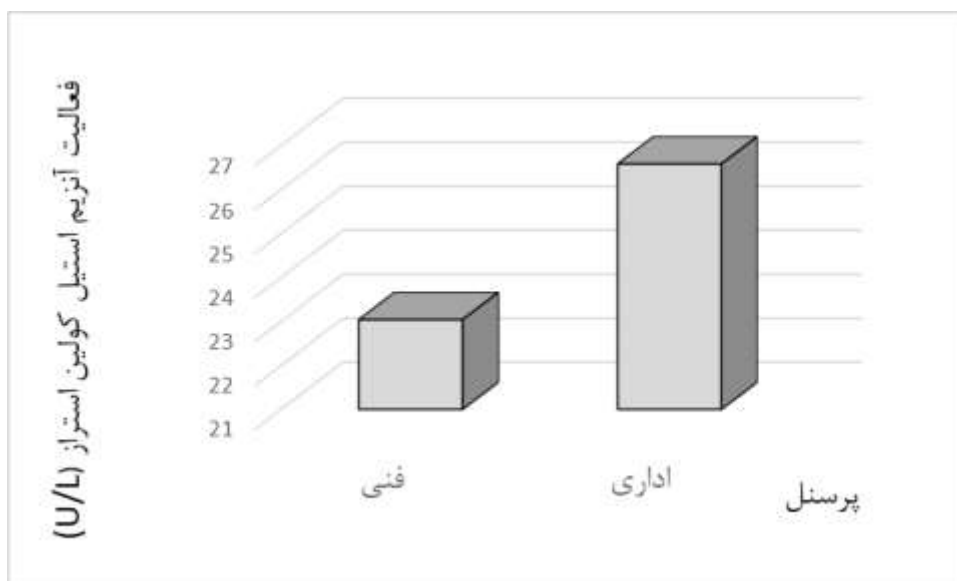
۴-۵ ارزیابی فعالیت کولینرژیک در خون

جهت تعیین فعالیت کولینرژیک میزان فعالیت آنزیم استیل کواکین استراز در خون ارزیابی شد.

۴-۵-۱ تعیین فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در خون

میزان فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در پرسنل فنی شرکت گاز ۲۳/۰۴ با حداقل مقدار ۹/۷۵ و حداکثر میزان ۶۹/۱۲ U/L مشاهده شد. همچنین در افراد مواجهه نیافته میزان فعالیت آنزیم استیل کولین استراز بین ۸/۸۶ تا ۱۳۵/۵۸ با میانه ۲۳/۵۸ U/L مشاهده شد. نتایج آزمون من ویتنی نشان داد (شکل ۴-۲۰)

فعالیت آنزیم استیل کولین استراز کاهش معنی داری در گروه مواجهه یافته با ترشیو بوتیل مرکاپتان نسبت به پرسنل اداری داشته است ($p < 0/02$).



شکل ۴-۱۸: فعالیت آنزیم استراز در افراد مطالعه شده

نتایج آزمون های آماری نشان می دهد سن، سابقه کار و مصرف سیگار با فعالیت آنزیم استیل کولین استراز همبستگی معنی داری ندارد ($p\text{-value} < 0/05$).

بر اساس استاندارد ACGIH و ایران، ۷۰ درصد فعالیت پایه ی آنزیم استیل کولین استراز به عنوان استاندارد مواجهه با ترکیبات کاهنده ی فعالیت کولینرژیک در نظر گرفته می شود. در این مطالعه میانگین فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در گروه مواجهه نیافته به عنوان فعالیت پایه در نظر گرفته شد و ۷۰ درصد این مقدار به عنوان استاندارد تعیین شد بطوریکه حدود پایه ی فعالیت آنزیم استیل کولین استراز $24/5 \text{ U/L}$ مشخص گردید. بررسی میزان فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در پرسنل فنی شرکت گاز نشان داد $58/7$ درصد از پرسنل دارای فعالیت استیل کولین استراز کمتر از حالت پایه می باشند.

جدول ۴-۱۷: رگرسیون لجستیک فعالیت آنزیم استیل کولین استراز

نسبت شانس	B رگرسیونی	خطای معیار SE	فاصله اطمینان	P-value
				٪۹۵
گروه‌ها	۲/۱	۰/۷۴۲	۰/۳۳۶	۴/۸۸۴
				۰/۰۲۷

آزمون آماری رگرسیون لجستیک مشخص ساخت میزان شانس (Odds Ratio-OR) بروز فعالیت استیل کولین استراز غیر نرمال در پرسنل فنی شرکت گاز ۲/۱ برابر بیشتر از پرسنل اداری است (جدول ۴-۲۰). از آنجاییکه پرسنل فنی شرکت گاز در وظایف شغلی از ماسک تنفسی استفاده نمی نمایند ایجاد فعالیت کولینرژیک در تماس با بودارکننده ها قابل بررسی است. نتایج آزمون آماری پیرسون نشان داد بین مواجهه روزانه با ترشیو بوتیل مرکاپتان و کاهش فعالیت آنزیم استیل کولین استراز رابطه معنی داری وجود دارد ($r = -0/4$ و $p\text{-value} = 0/026$). با توجه به مقادیر پایین رگرسیون ریسک کاهش فعالیت آنزیم استیل کولین استراز برای پرسنل فنی قابل پیش بینی است. سن، سابقه کار و مصرف سیگار با کاهش فعالیت آنزیم استیل کولین استراز همبستگی معنی داری نشان نمی دهد ($p\text{-value} > 0/05$). کاهش فعالیت آنزیم استیل کولین استراز بین وظیفه‌ی عیب زدایی و وظیفه‌ی تنظیم و بهینه سازی ($p = 0/14$) تفاوت معنی داری ندارد همچنین فعالیت آنزیم استیل کولین استراز با فعالیت های شغلی مختلف در وظیفه‌ی عیب زدایی تفاوتی نشان نمی دهد ($p = 0/3$).

فصل پنجم

بحث و نتیجه گیری

۵-۱ ارزیابی مواجهه تنفسی با ترکیبات بودارکننده

صنعت گاز یکی از مهمترین صنایع مطرح در جهان و ایران می باشد لذا مطالعه عوامل زیان آور در این صنعت یکی از مهمترین مسایل مهم در بین صنایع تولید کننده ی انرژی است (۱۱۳، ۱۱۴). از مهمترین ترکیبات شیمیایی این صنعت در ایران ترشیو بوتیل مرکاپتان می باشد که به عنوان ترکیب بودار کننده جهت تشخیص نشتی گاز مورد استفاده قرار می گیرد. در ارتباط با پیشگیری از عوامل زیان آور شیمیایی پایش و کنترل عوامل زیان آور در محیط کار یک مسیر بهداشتی مناسب برای مدیریت ریسک تماس با مواد شیمیایی محسوب می گردد (۱۱۵). استانداردهای حدود مجاز ارایه شده در ACGIH و حد استاندارد ارایه شده در ایران نشان می دهد که میزان خاصی برای مواجهه تنفسی با ترشیو بوتیل مرکاپتان یا ارزیابی بیولوژیک این ماده وجود ندارد (۱۱۶). همچنین بررسی مطالعات ، دیدگاه واضح و مشخصی در ارتباط با مواجهه طولانی مدت با این ترکیبات نشان نمی دهد.

توصیه سازمان های بین المللی در ارتباط با کنترل آلاینده ها در محیط کار، موضوع اندازه گیری نمونه های هوا به صورت کارآمد، در دسترس و با حساسیت بالا را مطرح می سازد. روش های ارائه شده از سوی سازمان NIOSH از متداول ترین روش هایی است که برای اندازه گیری ترکیبات مختلف به کار می رود، روش پیشنهاد شده توسط NIOSH 2542 استفاده از دکتور فوتو یونیزاسیون شعله ای را برای شناسایی مرکاپتان ها ارایه می نماید که به دلایل مختلف به عنوان یک روش روتین قابل طرح نمی باشد. در این

مطالعه با توجه به محدودیت این روش‌ها از یک روش بهینه شده توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی با آشکار ساز طیف سنج جرمی استفاده شد.

به کارگیری ستون خاص در دستگاه کروماتوگرافی گازی برای آنالیز ترکیبات از لحاظ اقتصادی به صرفه نمی‌باشد. در این مطالعه با کمک یک ستون نیمه قطبی جداسازی سه ترکیب متیل اتیل سولفید، دی متیل سولفید و ترشیو بوتیل مرکاپتان فراهم شد. HP-5 یک ستون شایع در دستگاه‌های کروماتوگرافی است که برای آنالیز ترکیبات متعددی قابل استفاده است. با توجه به اینکه این پروژه به سفارش صنعت انجام یافته است، بکارگیری یک ستون شایع مزیتی برای روش آنالیز محسوب می‌گردد که امکان راه اندازی این روش را در آزمایشگاه‌های کشور فراهم می‌سازد. کلس^۱ و همکاران نیز جهت آنالیز برخی ترکیبات بودار کننده با دستگاه کروماتوگرافی گازی از ستون HP-5 (با طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر) پوشیده از سیلیس استفاده نمودند (۱۱۱). همچنین در مطالعه مایونگ^۲ و همکاران با هدف تجزیه و تحلیل بودار کننده‌های مرکاپتانی در گاز نفتی و گاز طبیعی مایع شده از دستگاه کروماتوگرافی گازی با آشکارساز طیف سنج جرمی و ستون موین ultra-2 (پوشیده شده با فیل متیل سیلیکون ۵٪ با ۵۰ متر طول و ۰/۲ میلی متر قطر و ضخامت ۰/۳۳ میکرومتر) استفاده شد (۱۱۲). نتایج این مطالعه نشان داد که یونی با جرمی به اندازه جرم مولکولی ترکیبات بودارکننده به شکل مناسبی کمیت ترکیبات سولفیدی مدنظر را تعیین می نماید. انتخاب این یون، نتایج کاملاً اختصاصی در تعیین کمی ترکیبات مدنظر ایجاد می‌کند، چرا که این یون تنها توسط مولکول مدنظر ایجاد می‌گردد و مولکول‌های دیگر قادر به تولید این یون نمی‌باشند.

روش آنالیز پیشنهاد شده توسط NIOSH 2542 به کارگیری کروماتوگرافی گازی با دتکتور فوتوایونیزاسیون شعله‌ای است. با توجه به اینکه این دتکتور به عنوان یک دتکتور پر مصرف مطرح نمی‌باشد، استفاده از این روش به صرفه نیست و هزینه‌ی قابل توجهی نیاز دارد. در این مطالعه روش اعتبار بخشی شده بکارگیری کروماتوگرافی گازی با دتکتور جرمی را پیشنهاد نموده است. توجه به این نکته ضروری است که چون دتکتور جرمی قابل استفاده برای رنج وسیعی از ترکیبات شیمیایی است، با وجود اینکه کاربری دتکتور

Keles^۱Myung^۲

جرمی نیز گران است، ولی با استفاده از این دتکتور به عنوان یک شناساگر روتین برای مواد مختلف هزینه ها تا حد زیادی جبران می نماید. در سالهای اخیر روشهای مختلفی برای آنالیز ترکیبات بودار کننده پیشنهاد شده است. ایمانیشی^۱ استفاده از کروماتوگرافی گازی با آشکارساز لومینسانس گوگردی را برای آنالیز ترکیبات بودار کننده پیشنهاد نمودند (۱۱۳). بای^۲ به کارگیری کروماتوگرافی گازی با دتکتور ماورای بنفش در خلا را برای آنالیز ترکیبات سولفیدی استفاده کردند (۱۱۴). در تمامی این موارد شناساگرهای پیشنهاد شده به عنوان دتکتورهای شایع و پر مصرف قابل استفاده نمی باشند و بنابراین برای صنعت به صرفه نیستند. به کارگیری روش نمونه برداری بر اساس پیشنهاد NIOSH ۲۵۴۲ از مزیت های این مطالعه است. روش های بین المللی با اعتبار مناسبی قابل استفاده در آزمایشگاه های مختلف می باشند. در روش NIOSH ۲۵۴۲ به کارگیری جیوه استات بر روی فیلتر فایبر گلاس جهت جذب ترکیبات مرکپتان پیشنهاد شده است. نتایج این مطالعه نشان داد که جیوه استات با کارایی مناسبی ترکیبات دی سولفیدی را همچون ترکیبات مرکپتانی جذب می نماید و همچنین با به کارگیری اسید کلریدریک به میزان ۲۰٪ بیش از ۹۵ درصد از ترکیبات دی سولفیدی استخراج می گردد.

میزان ضرایب رگرسیون در روش بهینه شده، برای ترکیبات مختلف بالاتر از ۰/۹۹ گزارش گردید. این منحنی خطی در مقادیری بالاتر از ۰/۱ میکروگرم از آلاینده های مدنظر در هوا مطرح شد و با فرض نمونه گیری از هوا در مقادیر ۱۵۰ لیتر میزان بودارکننده ها در مقادیر پی پی بی امکانپذیر گردید. با توجه به اینکه حدود مجاز وزن یافته ی زمانی برای ترکیب بوتیل مرکپتان ۱/۸ پی پی ام می باشد، اگر فرض کنیم حدود مجاز ترکیبات مدنظر نزدیک به بوتیل مرکپتان می باشد، روش اعتبار بخشی شده امکان اندازه گیری ترکیبات ترشیو بوتیل مرکپتان، متیل اتیل سولفید و دی متیل سولفید را در مقادیری پایین تر از حدود مجاز فراهم نموده است. روش اعتبار بخشی شده با دقت قابل قبولی پیشنهاد شده است. درصد ضریب تغییرات درون روز و برون روز به دست آمده در روش کروماتوگرافی گازی با دتکتور جرمی در غلظت های مختلف از ترکیبات مدنظر کمتر از ۱۰ درصد گزارش شد که مقدار قابل قبول در روش های آنالیز دستگاهی است.

Imanishi^۱Bai^۲

کمترین حد تشخیص در روش NIOSH ۲۵۴۲ برای ترکیب بوتیل مرکاپتان ۷ میکروگرم در نمونه گزارش گردید. میزان این شاخص برای ترکیبات بودار کننده دی متیل سولفید، ترشیو بوتیل مرکاپتان واتیل متیل سولفید در روش اعتبار بخشی شده به ترتیب به میزان ۴، ۸۶/۰ و ۵ میکروگرم بر نمونه گزارش شد. مقایسه کمترین حد تشخیص روش اعتبار بخشی شده با دکتور جرمی و روش دکتور فوتیونیزاسیون شعله ای در NIOSH ۲۵۴۲، نشان می دهد که روش جرمی قادر به شناسایی ترکیبات بودار کننده گاز در مقادیر پایین تری از روش NIOSH ۲۵۴۲ می باشد. همچنین نتایج حاصل از این مطالعه در دامنه ی پایین تری از مطالعه میانگ و همکاران، میزان ترکیبات حاوی گوگرد را تشخیص داده است.

از مزیت های روش پیشنهادی نمونه برداری همزمان از سه ترکیب متیل اتیل سولفید، دی متیل سولفید و ترشیو بوتیل مرکاپتان است که به عنوان ترکیبات بودارکننده گاز در ایران استفاده می گردد. این نمونه برداری همزمان سه ترکیب بر روی یک فیلتر سبب کاهش هزینه ها می گردد. در روش ارایه شده استخراج نمونه ها از فیلتر با کمک اسید کلریدریک انجام یافت و سپس ترکیبات شیمیایی مدنظر با استخراج مایع-مایع وارد فاز آلی گردید. با توجه به حلالیت بالای ترکیبات حاوی گوگرد در دی کلرو اتان بازیافت روش پیشنهادی برای ترکیبات بررسی شده بالاتر از ۹۵ درصد گزارش شد. مقادیر قابل قبول درصد بازیافت نشان می دهد تکنیک پیشنهادی جهت استخراج ترکیبات گوگردار مناسب می باشد.

نتایج ارزیابی مواجهه ی تنفسی با متیل اتیل سولفید نشان داد به هنگام مواجهه با گاز خارج شده از خطوط انتقال درانجام وظایف روتین پرسنل فنی همچون نشت گیری، تعویض فیلتر و تنظیم رگلاتور میزان مواجهه پایین تر از کمترین حد تشخیص (۵ میکروگرم بر نمونه) می باشد. با توجه به اینکه ۲۰ درصد از غلظت بودار کننده ی گاز، ترکیب متیل اتیل سولفید بوده است می توان گفت مقدار متیل اتیل سولفید در لوله های انتقال دهنده به میزانی است که تماس با آن برای پرسنل فنی چندان قابل توجه نمی باشد. تماس با ترشیو بوتیل مرکاپتان در وظایف روتین پرسنل فنی از ۰/۰۰۵ تا ۰/۰۱۵ پی پی ام ارزیابی شد. حد آستانه شغلی برای این ترکیب در کشور مکزیک ۰/۵ و OSHA پی پی ام تعیین شده است. نتایج ارزیابی مواجهه تنفسی با ترشیو بوتیل مرکاپتان در تمامی نمونه ها پایین تر از حدود مجاز در کشور مکزیک می باشد.

پرسنل فنی دارای وظایف مختلفی می باشند که در دو دسته کلی عیب زدایی و تنظیم قرار داده شدند. نتایج ارزیابی ها نشان داد میزان تماس با ترشیو بوتیل مرکاپتان در فعالیت های تنظیم، همچون تنظیم رگلاتور

بیشترین مقدار و در وظیفه‌ی عیب‌زدایی همچون تعویض المنت کمترین میزان می‌باشد ولی آزمون‌های آماری ارزیابی معنی‌داری از این تفاوت‌ها مشخص نداشت. با توجه به اینکه در کلیه‌ی وظایف پرسنل فنی مواجهه با ترشیوبوتیل مرکاپتان نتیجه‌ی آزاد شدن این ترکیب از لوله‌های انتقال گاز می‌باشد و میزان ترکیبات بودارکننده در حد ثابتی در لوله‌های گاز نگه داشته می‌شود تفاوت چندانی در میزان مواجهه با این ترکیبات در وظایف مختلف پیش‌بینی نمی‌شود. علاوه بر این پرسنل شرکت گاز در وظایف مختلف شامل نشت‌گیری، تعویض فیلتر، تعویض المنت و تنظیم رگلاتور با باز کردن اتصالات در لوله‌های انتقال گاز، با ترکیبات بودار کننده مواجهه می‌یابند و بدلیل تشابه پروسه‌ی فعالیت آنان، عدم تفاوت آماری در میزان مواجهه با بودارکننده‌ها نتیجه‌ای قابل انتظار است.

تزریق ترکیبات ترشیوبوتیل مرکاپتان و متیل اتیل سولفید به گاز طبیعی از وظایف پرسنل فنی می‌باشد که یک تا دو بار در سال انجام می‌یابد. در این وظیفه ترکیبات ترشیوبوتیل مرکاپتان و متیل اتیل سولفید توسط پمپ تزریقی و با سیستم کنترل شده، به لوله‌های انتقال گاز انجام می‌یابد. میزان استاندارد غلظت تزریق مرکاپتان به گاز طبیعی ۱۰ تا ۲۰ میلی گرم بر مترمکعب می‌باشد. بررسی‌ها نشان می‌دهد میزان تماس روزانه با ترشیوبوتیل مرکاپتان از ۱/۰۶۰ تا ۴/۲۱۱ میلی گرم بر مترمکعب (۰/۲۸۸ تا ۱/۱۴۴ پی پی ام) تغییر یافته است. OSHA و کشور مکزیک حد مجاز به میزان ۰/۵ ppm را برای ترشیوبوتیل مرکاپتان تعیین کرده است. مواجهه تنفسی با ترشیوبوتیل مرکاپتان در تمامی نمونه‌های ارزیابی شده در فرآیند تزریق گاز بیشتر از حد مجاز می‌باشد. با توجه به اینکه فرآیند تزریق گاز، شغلی روتین برای پرسنل فنی نمی‌باشد با به کارگیری روش‌های کنترل مهندسی و تهویه مناسب (۱۲۰) به هنگام تزریق، می‌توان میزان تماس با بودارکننده‌ها را کاهش داد. به عنوان مثال توصیه می‌شود از ماسک‌های مجهز به کپسول‌های هوای فشرده استفاده شود یا اینکه به هنگام تزریق بودارکننده به گاز از هوارسانی از لوله‌های دمنده انجام یابد. همچنین با کنترل‌های مدیریتی همچون چرخشی نمودن (۱۲۱) وظیفه‌ی تزریق، می‌توان ریسک تماس تنفسی را کاهش داد. موسسه ملی ایمنی و بهداشت شغلی آمریکا ایجاد اثرات تحریکی در چشم، پوست، سردرد و تهوع برای مرکاپتان‌ها را تایید می‌نماید (۱۲۲)، بنابراین به هنگام تزریق گاز باید از تماس این ترکیبات با سطح خارجی بدن و مسیر تنفسی ممانعت شود.

نتایج بدست آمده نشان داد میزان مواجهه شغلی هفتگی با ترشیو بوتیل مرکاپتان در پرسنل تعمیرات به شکل معنی داری بالاتر از پرسنل امدادگر می باشد. بررسی وظایف سپرده شده در هفته به پرسنل فنی نشان می دهد وظایفی همچون نشت گیری و تعویض رگلاتور به پرسنل امدادگر سپرده شده است. علاوه بر این تعداد این وظایف در پرسنل امدادگر کمتر از پرسنل تعمیرات است بطوریکه پرسنل امدادگر آماده باش بوده و تنها چند روز در هفته وظایف فنی به آنها سپرده می شود بنابراین با توجه به شرح وظایف توضیح داده شده تماس کمتر با ترکیبات بودار کننده در پرسنل امدادگر منطقی می باشد. تماس روزانه با ترشیو بوتیل مرکاپتان در پرسنل فنی شرکت گاز در این مطالعه از ۰/۰۰۵ تا ۰/۰۱۵ پی پی ام ارزیابی شد. مطالعه ای جهت ارزیابی میزان ترشیو بوتیل مرکاپتان در مشاغل یافت نگردید ولی چند مطالعه میزان متیل مرکاپتان در صنعت را گزارش نموده اند. میزان تراکم متیل مرکاپتان در هوای تنفسی کارکنان کارخانجات تولیدکننده کاغذ در مطالعه ی کانگاس^۱ و همکاران در سال ۲۰۱۳ بین ۰ تا ۱۵ پی پی ام اندازه گیری شد (۱۱۷). لیو^۲ و همکاران در سال ۲۰۱۸ غلظت ترکیب متیل مرکاپتان را در یک شهرک صنعتی شامل صنایع مختلف شیمیایی همچون پتروشیمی، جوهر، آفت کش ها و ... اندازه گیری کردند، بیشترین غلظت اندازه گیری شده برای این ترکیب ۶/۰۶ میکروگرم بر مترمکعب مشاهده شد. لیو و همکاران در بین سال های ۲۰۱۴ و ۲۰۱۵ در یک منطقه دفن زباله در شهر پکن چین غلظت ترکیب متیل مرکاپتان را به عنوان اصلی ترین دلیل بوی ناخوشایند در اطراف این مناطق در محدوده ۴۴/۰۲-۱/۴۹ میکروگرم بر مترمکعب گزارش نمودند (۱۱۸).

نتایج این مطالعه نشان داد بکارگیری ماسک A2B2E2K2 برای فعالیت های روتین پرسنل فنی شرکت گاز وسیله ی حفاظت فردی مناسبی است ولی تماس با متیل اتیل سولفید و ترشیو بوتیل مرکاپتان با استفاده از این ماسک به هنگام تزریق گاز قابل تشخیص است و در مقادیر ۱/۰۶۰ تا ۴/۲۱۱ میلی گرم بر مترمکعب (۰/۲۸۸ تا ۱/۱۴۴ پی پی ام) از ترشیو بوتیل مرکاپتان تغییر می یابد.

۵-۲ ارزیابی میزان استرس اکسیداتیو در مواجهه تنفسی با ترکیبات بودارکننده

^۱ Kangas

^۲ Liu

استفاده از گاز طبیعی برای تامین سوخت و مصارف منزل، به عنوان یکی از مهمترین منابع انرژی در جهان مطرح می‌باشد. قسمت عمده و حدود ۹۸٪ از گاز طبیعی را متان تشکیل می‌دهد و ۲٪ درصد باقیمانده گازهایی همچون اتان، پروپان و بوتان می‌باشد (۱۲۳). بررسی مطالعات نشان می‌دهد آلکان‌های با تعداد کربن زیر ۵ سمیت سیستمیک ایجاد نمی‌نمایند (۱۲۴). اگر چه متان به عنوان ترکیب اصلی گاز طبیعی ریسکی بر سلامت انسان ایجاد نمی‌نماید اضافه کردن ترکیبات حاوی گوگرد به عنوان ماده‌ی بودارکننده ممکن است اثراتی بر سلامت انسان ایجاد نماید. مطالعه‌ای در ارتباط با اثر ترکیبات بودارکننده در مصارف خانگی یافت نگردید (۱۲۵). طرفی تاثیر ترکیبات بودارکننده در تماس‌های شغلی، کمتر مورد توجه قرار گرفته است.

امروزه تولید رادیکال‌های آزاد به عنوان یکی از عوامل خطر ساز برای بدن انسان شناخته شده است (۱۲۶)، افزایش رادیکال‌های آزاد منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو می‌گردد که ناشی از عدم تعادل در وضعیت اکسایش و احیای بدن است و نقش کلیدی در ایجاد سمیت بر بافت‌های بدن دارد (۱۲۷)، بطوریکه اتیولوژی بسیاری از بیماری‌ها به ایجاد رادیکال‌های آزاد نسبت داده می‌شود (۱۲۸). تماس با بسیاری از عوامل زیان‌آور (۱۲۹) و ترکیبات شیمیایی در صنایع مختلف (۱۳۰)، منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو در بدن می‌گردند، بعضی شواهد نشان می‌دهد ترکیبات گوگرددار در ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن و استرس اکسیداتیو نقش دارند (۱۳۱). از طرفی بعضی تحقیقات مشخص کرده اند که ترکیبات حاوی گوگرد اثر محافظتی در برابر استرس اکسیداتیو ایجاد می‌کنند (۱۳۲). به عنوان مثال هیدروژن سولفید را می‌توان مولکولی با رفتار دوگانه در مقابل اثر استرس اکسیداتیو در نظر گرفت که در غلظت‌های پایین فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی داشته و در غلظت‌های بالاتر تبدیل به ماده‌ای سمی می‌گردد که ایجاد استرس اکسیداتیو می‌نماید (۱۳۳).

پراکسیداسیون لیپیدی از مهمترین بیومارک‌هایی می‌باشد که در اثر استرس اکسیداتیو تولید می‌شود، همچنین مالون‌دی‌آلدئید بیومارکر شناخته شده‌ای برای بررسی این آسیب و تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد. پراکسیداسیون لیپیدی باعث آسیب غشایی و غیر فعال کردن آنزیم‌ها و افزایش نفوذپذیری بافت‌ها می‌شود. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد میزان پراکسیداسیون لیپیدی در کارگران مواجهه یافته با ترشیو بوتیل مرکاپتان نسبت به گروه کنترل افزایش داشته است که دلیل آن افزایش رادیکال‌های آزاد در پلاسمای پرسنل فنی

می باشد. عدم همبستگی بین سن، سابقه کار و مصرف سیگار با پراکسیداسیون لیپیدی این تئوری را تقویت می کند که افزایش تماس تنفسی با ترشیوبوتیل مرکاپتان ریسک افزایش تولید مالون دی آلدئید را بالا برده است. ضریب رگرسیون پایین بین مالون دی آلدئید و تماس هفتگی با ترشیوبوتیل مرکاپتان نشان می دهد عوامل متعددی مثل عادات زندگی، تغذیه و ... در میزان استرس اکسیداتیو موثر می باشد و با بکارگیری پیشنهاداتی می توان ریسک ایجاد آسیب در پرسنل فنی را کنترل نمود.

نتایج مطالعه نشان داد میزان ظرفیت تام آنتی اکسیدانی پلاسما در پرسنل فنی نسبت به افراد مواجهه نیافته به شکل معنی داری افزایش یافته است. این افزایش نشان می دهد بدن پرسنل فنی دارای مقادیری رادیکال آزاد شده و به همین دلیل بدن برای مقابله با استرس اکسیداتیو مکانیسم های دفاعی آنتی اکسیدانی را مصرف نموده که سبب کاهش توانایی احیای پلاسما شده است. همبستگی منفی بین پراکسیداسیون لیپیدی و ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما این قضیه را تایید می نماید که با ایجاد رادیکال آزاد، آسیب به لیپیدهای غشا افزایش یافته است و مکانیسم های دفاعی پلاسما برای اثر آنتی اکسیدانی کاهش یافته است.

جمع بندی نتایج مطالعه نشان داد مواجهه تنفسی با ترکیب ترشیوبوتیل مرکاپتان سبب افزایش ریسک ایجاد استرس اکسیداتیو می گردد. اصغریگی هرچقانی، نشان داد گاز خردل با ساختار مولکولی حاوی گوگرد می تواند منجر به اکسیداسیون پروتئین و چربی شده و در بافت ریه استرس اکسیداتیو (۱۳۴) ایجاد کند. در زمینه مطالعات سلولی، چاترجی^۱ نشان داد که تحت شرایط کشت، پرسولفید می تواند با نقش کاتالیزوری خود رادیکال سوپراکسید تولید کرده و استرس اکسیداتیو ایجاد نماید (۱۳۵) که نتایج این مطالعات با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارند.

سولفید هیدروژن یک ترکیب گوگرددار بوده که مطالعات بسیاری اثرات کاهنده آن را بر استرس اکسیداتیو نشان داده است. یونزاوا^۲ با بررسی نقش H_2S در سلول های اپیتلیوم مخاطی معده موش صحرایی نشان داد که افزودن NaHS به سلول های کشت، $H_2S / NaHS$ با تحریک مسیرهای کیناز، سلول های معده را در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می کند (۹۳). با توجه به نتایج مطالعه حاضر، پیشنهاد می شود که ترکیبات

^۱ Chatterji^۲ Yonezawa

مرکاپتان در دسته‌ی ترکیبات گوگردداری قرار بگیرند که می‌توانند ریسک ایجاد استرس اکسیداتیو را افزایش دهند.

با توجه به دخالت استرس اکسیداتیو در ایجاد بسیاری از بیماری‌ها باید میزان این فشارها را به حداقل رساند بنابراین استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدانت، یک مدیریت مناسب برای پیشگیری از بروز اثرات استرس اکسیداتیو می‌باشد (۱۳۶). یکی از مهمترین منابع برای تامین آنتی اکسیدانت‌ها مواد غذایی می‌باشند. با توجه به اثرات سمی آنتی اکسیدان‌های سنتزی، استفاده از مواد غذایی به عنوان آنتی اکسیدان اهمیت می‌یابد. جهت کنترل استرس اکسیداتیو معرفی آنتی اکسیدان‌های غذایی به شرح ذیل برای کاهش اثرات استرس اکسیداتیو پیشنهاد می‌شود.

- ✓ مصرف خوراکی‌های حاوی ویتامین C : مرکبات (۱۳۷)، فلفل سبز (۱۳۸)، کلم بروکلی (۱۳۹)، سبزیجات (۱۴۰)، توت فرنگی (۱۴۱)، گوجه فرنگی (۱۴۲).
- ✓ مصرف خوراکی‌های حاوی ویتامین E : آجیل (۱۴۳)، غلات کامل شامل گندم سبوس‌دار، برنج قهوه‌ای، ذرت و جوی دوسر (۱۴۴)، روغن زیتون (۱۴۲).
- ✓ مصرف خوراکی‌های حاوی سلنیم: ماهی (۱۴۵)، گوشت قرمز (۱۴۶)، تخم مرغ (۱۴۷)، حبوبات (۱۴۸)، مرغ (۱۴۹) و سیر (۱۵۰).
- ✓ مصرف خوراکی‌های حاوی کاروتن: هویج (۱۵۱)، کرفس (۱۵۲).
- ✓ مصرف خوراکی‌های حاوی ترکیبات فنولیک: سیب (۱۵۳)، پیاز (۱۵۴)، سویا (۱۵۵)، انگور (۱۵۶).
- ✓ مصرف خوراکی‌های حاوی ترکیبات فلاوونوئید: کشمش سیاه (۱۵۷)، دمنوش‌های گیاهی مثل عناب (۱۵۸)، آویشن (۱۵۹)، چای سبز (۱۶۰)، رزماری (۱۶۱)، بابونه (۱۶۲).

۵-۳ ارزیابی فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در مواجهه تنفسی با ترکیبات بودارکننده

ازچندین دهه قبل بررسی فعالیت آنزیمی بعنوان بیومارکر مناسب در پایش تماس با مواد شیمیایی مطرح می‌باشد و بررسی فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در ACGIH جهت پایش تماس با آفت کش‌های ارگانوفسفاته توصیه شده است (۱۶۳). ازطرفی تغییر در فعالیت آنزیم استیل کولین استراز برای مواجهه با ترکیبات سرب (۱۶۴)، فرمالدئید (۱۶۵) و پلی آروماتیک هیدروکربن (۱۶۶) مشاهده شده است. ترکیبات حاوی سولفور همچون سولفور موستارد (۱۶۷) و دی متیل سولفید (۱۶۸) کاهش فعالیت کولینرژیک را

نشان داده اند. با توجه به اینکه ترشیو بوتیل مرکاپتان یک ترکیب ارگانو سولفور و حاوی گوگرد می باشد در این مطالعه بررسی تغییر فعالیت آنزیم استیل کولین استراز مدنظر قرار گرفت.

نتایج این مطالعه نشان داد میزان فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در پرسنل فنی کاهش معنی داری نسبت به پرسنل اداری داشته است ($p=0/02$). میزان افزایش فعالیت کولینرژیک با سن، سابقه ی کار و مصرف سیگار همبستگی ندارد در حالیکه همبستگی معنی داری بین کاهش فعالیت آنزیم استیل کولین استراز و میزان تماس شغلی با ترشیو بوتیل مرکاپتان مشاهده گردید ($p=0/04$). همبستگی پایین بین میزان مواجهه با ترشیو بوتیل مرکاپتان و کاهش فعالیت آنزیم استیل کولین استراز نشان می دهد قطعیتی برای ایجاد فعالیت کولینرژیک وجود ندارد ولی ریسک ایجاد اثر بر فعالیت آنزیم استیل کولین استراز محتمل است بطوریکه شانس افزایش فعالیت کولینرژیک در پرسنل فنی ۲ برابر نسبت به پرسنل اداری ارزیابی شد. همچنین بیشترین میزان کاهش فعالیت آنزیم استیل کولین استراز ۵۵ درصد مشاهده گردید. نکته قابل توجه این می باشد که استفاده از ماسک تنفسی فقط در وظیفه ی تزریق گاز توسط پرسنل فنی به شکل روتین استفاده می گردد و در وظایف شغلی فنی استفاده از ماسک همیشگی نیست بنابراین بنظر می رسد مواجهه با ترشیو بوتیل مرکاپتان در مقادیر مشاهده شده در این مطالعه برای پرسنل فنی وجود دارد. نتایج این مطالعه در ارتباط با کاهش فعالیت کولینرژیک در مواجهه با ترشیو بوتیل مرکاپتان در راستای بسیاری از مطالعات دیگر است که نمونه هایی از آنها در زیر مشخص گردیده است.

لیونتی^۱ در یک مطالعه مروری در سال ۲۰۱۳ بیان نمودند که آنزیم استیل کولین استراز یک بیومارکر معتبر در پایش های زیست محیطی در طب می باشد (۱۶۹). Chang و همکاران در سال ۲۰۱۷ با هدف مقابله با استافیلوس اوریزا (آفت حبوبات) فعالیت آنزیم استیل کولین استراز را در مقابله با تعدادی از روغن های ضروری و همچنین آلایل دی سولفید و آلایل مرکاپتان بررسی کردند و نشان دادند که بالاترین میزان مهار آنزیم در مقابله با آلایل مرکاپتان به میزان $84/4 \pm 1/9\%$ بوده است در صورتی که برای آلایل دی سولفید این عدد $28/5 \pm 13\%$ اندازه گیری شد (۱۷۰). Kotb و همکاران در سال ۲۰۱۶ با هدف بررسی تاثیر سیر (حاوی بیش از ۱۰۰ ترکیب اورگانو سولفور) بر موش های صحرائی آلبینو مواجهه یافته با سم مالاتیون نشان دادند که موشهایی که ترکیب سیر را دریافت کرده بودند بطور قابل توجهی فعالیت آنزیم استیل کولین استراز آنها

کاهش یافته است (۱۷۱). در مطالعه دیگری Singh و همکاران بیان نمودند که ترکیب ارگانوسولفور آلکین مشتق شده از سیر فعالیت آنزیم استیل کولین استراز را تا ۸۰٪ کاهش می دهد (۱۷۲).

نتایج مطالعه اخیر نشان می دهد ریسک کاهش فعالیت استیل کولین استراز در مواجهه با ترکیبات بودار کننده گاز مشاهده می شود لذا با توجه به اینکه مشکلات فراوانی برای پایش مواجهه تنفسی با ترشیو بوتیل مرکاپتان وجود دارد ارزیابی دوره ای فعالیت کولینرژیک یک راه حل مناسب برای پایش بینی ایجاد ریسک در مواجهه تنفسی با ترکیبات بودار کننده می باشد لذا پیشنهاد می شود در آزمایشات سالیانه ارزیابی سلامت پرسنل ارزیابی فعالیت آنزیم استیل کولین استراز قرار داده شود. با توجه به بحث های انجام یافته موارد زیر برای مدیریت ریسک تماس با بودارکننده های گاز پیشنهاد می گردد:

۱. روش NIOSH ۲۵۴۲ در بکارگیری گازکروماتوگرافی با دتکتور فوتوایونیزاسیون شعله ای معایی همچون اثر خاموشی و ارتباط درجه دو با غلظت را داراست. این مشکلات در روش اعتبار بخشی شده کروماتوگرافی جرمی بر طرف شده است. روش ارایه شده در محدوده قابل قبولی برای اندازه گیری ترکیبات بودار کننده قابل استفاده است. اندازه گیری بررسی میزان ضریب تغییرات و درصد استخراج روش پیشنهاد شده نشان داد که روش کروماتوگرافی جرمی دارای دقت مناسب و در حد NIOSH ۲۵۴۲ می باشد. روش کروماتوگرافی جرمی با داشتن حدتعیین تشخیص و کمی پایین تر نسبت به روش NIOSH ۲۵۴۲ ارجح است. به طور کلی نتایج حاصل از اعتبار بخشی روش کروماتوگرافی جرمی در این پژوهش نشان داد که این روش برای اندازه گیری تراکم ترکیبات بودار کننده و ارزشیابی ریسک مواجهه شغلی کارگران مناسب و قابل اعتماد می باشد و می توان آن را با توجه به پارامترهای اعتبار بخشی مناسب، در دسترس بودن و حساسیت، به عنوان جایگزین مناسب برای روش ارائه شده از سوی NIOSH مورد استفاده قرار داد.

۲. میزان متیل اتیل سولفید در گاز شهری به اندازه ای است که مواجهه تنفسی قابل سنجش ایجاد نمی نماید.

۳. میزان تماس با ترشیو بوتیل مرکاپتان در وظایف شغلی عیب زدایی، تنظیم و بهینه سازی تفاوت معنی داری ندارد.

۴. ماسک A2B2E2k2 برای حذف ترکیبات بودارکننده در تمامی وظایف شغلی عیب زدایی، تنظیم و بهینه سازی کارآیی مناسبی داراست و بکارگیری این ماسک در تمامی وظایف روتین پرسنل فنی توصیه می شود.
۵. تماس با متیل اتیل سولفید و ترشیو بوتیل مرکاپتان در تزریق بودارکننده ها به گاز مقادیری قابل توجه تر از سایر وظایف فنی است.
۶. استفاده از تهویه موضعی به همراه ماسک A2B2E2k2 برای حذف ترکیبات بودارکننده در وظیفه تزریق بودارکننده به گاز ضروری است.
۷. توصیه می شود به هنگام تزریق بودارکننده ها به گاز از ماسک های مجهز به کپسول های هوای فشرده به جای ماسک فیلتردار استفاده شود یا اینکه به هنگام تزریق بودارکننده به گاز از هوارسانی با لوله های دمنده استفاده گردد.
۸. نتایج این مطالعه افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش ظرفیت آنتی اکسیدان های تام پلازما را در گروه های در معرض مواجهه با ترشیو بوتیل مرکاپتان، نسبت به پرسنل اداری تایید نمود که ایجاد استرس اکسیداتیو در اثر مواجهه تنفسی با ترکیبات بودارکننده را تایید می نماید. همبستگی مثبت بین مواجهه با ترشیو بوتیل مرکاپتان در هفته و میزان غلظت مالون دی آلدئید، به خوبی اهمیت کنترل مهندسی و مدیریتی شرایط محیط کار را در جهت کاهش مواجهه با این ترکیبات نشان می دهد.
۹. کاهش فعالیت آنزیم استیل کولین استراز، افزایش فعالیت کولینرژیک در پرسنل فنی شرکت گاز را تایید نموده است. همبستگی منفی بین فعالیت آنزیم استیل کولین استراز و میزان تماس شغلی با ترشیو بوتیل مرکاپتان نشان می دهد با افزایش میزان ترشیو بوتیل مرکاپتان میزان فعالیت آنزیم استیل کولین استراز کاهش می یابد. با توجه به نتایج بدست آمده علاوه بر پایش تماس تنفسی پایش سالیانه فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در پرسنل فنی شرکت گاز پیشنهاد می شود. اگر در فردی فعالیت آنزیم استیل کولین استراز کاهش بیش از ۷۰ درصد نشان دهد، پیشنهاد می شود یک دوره یک هفته وظایف فنی و تزریق بودارکننده ی گاز به فرد مذکور سپرده نشود تا پس از پایش مجدد فعالیت کولینرژیک در آن فرد وظایف شغلی به ایشان سپرده شود.

فهرست مراجع

1. G. Najafi, B. Ghobadia, R. Mamat, T. Yusaf, W. Azmi. "Solar energy in Iran: Current state and outlook". Renewable and Sustainable Energy Reviews. 49, 2015: PP 931-942.
2. H. Ki, S. Kim, K. Jun, Y. Yoon, H. Kim. "Desulfurization of odorant-containing gas: Removal of t-butylmercaptan on Cu/ZnO/Al₂O₃". International Journal of Hydrogen Energy. 32, 15 2007: PP 3603-3608.
3. K. S. Parrott. "Principles of natural gas odorization". 2004. [Accessible in https://asgmt.com/wp-content/uploads/pdf-docs/2004/1/C14.pdf](https://asgmt.com/wp-content/uploads/pdf-docs/2004/1/C14.pdf)
4. MS. Yousefzadegan, E. G. Kafrudi, A. M. Masoudi, P. Alimardani, S. Salehi, A. Saatchi. "Consequence analysis for probable accidents of odorizer tanks Installed in gas pressure reduction station". Petroleum & Coal. 58, 2 2016: PP 223-231.
5. G. Chen, W. J. Koros, C. W. Jones. "Hybrid Polymer/UiO-66 (Zr) and Polymer/NaY Fiber Sorbents for Mercaptan Removal from Natural Gas". ACS applied materials & interfaces. 8, 15 2016: PP 9700-9709.
6. D. Cole, L. Todd, S. Wing. "Concentrated swine feeding operations and public health: a review of occupational and community health effects". Environmental health perspectives. 108, 8 2000: PP 68-699.
7. F. Naderi, S. Pakseresht, A. Minabi, M. Bazmi, M. Tajerian, H. Bonyad. "Natural Gas Odorant Production from Sour Condensate-Increasing Added Value & Decreasing Environmental Problems". Accessible in https://scholar.google.com/scholar?hl=en&as_sdt=0%2C5&q=%22Natural+Gas+Odorant+Production+from+Sour+Condensate+Increasing+Added+Value+%26+Decreasing+Environmental+Problems.%22&btnG=
8. Z. Qiao, Q. Xu, A. K. Cheetham, J. Jiang. "High-Throughput Computational Screening of Metal-Organic Frameworks for Thiol Capture". The Journal of Physical Chemistry C. 121, 40 2017: PP 22208-22215.
9. B. M. Cortese, K. Leslie, T. W. Uhde. "Differential odor sensitivity in PTSD: Implications for treatment and future research". Journal of affective disorders. 179, 2015: PP 23-30.
10. I. N. Luginaah, S. M. Taylor, S. J. Elliott, J. D. Eyles. "Community reappraisal of the perceived health effects of a petroleum refinery". Social science & medicine. 55, 1 2002: PP 47-61.
11. S. T. Chin, Z. Y. Wu, P. D. Morrison, P. J. Marriott. "Observations on comprehensive two dimensional gas chromatography coupled with flame photometric detection for sulfur- and phosphorus-containing compounds". Analytical Methods. 2, 3 2010: PP 243-253.
12. A. Turpin, A. Couvert, A. Laplanche, A. Paillier. "Mass transfer and deodorization efficiency in a countercurrent spray tower for low superficial gas velocities". The Canadian Journal of Chemical Engineering. 87, 1 2009: 53-59.
13. L. C. Kelly, P. Rawson. "Detection and Identification of Sulfur Compounds in an Australian Jet Fuel". Defence Science and Technology Organisation. 2010. Accessible in

<https://www.semanticscholar.org/paper/Detection-and-Identification-of-Sulfur-Compounds-in-Kelly-Rawson/06c3367644d57ed89358965d02e00eb44642e64e#paper-header>

- 14.I. Lee ,H. Ubanyionwu.”Determination of sulfur contaminants in military jet fuels” .Fuel.87,3 2008:PP 312-318.
- 15.JM. Warren ,DR. Parkinson,J. Pawliszyn.” Assessment of thiol compounds from garlic by automated headspace derivatized in-needle-NTD-GC-MS and derivatized in-fiber-SPME-GC-MS”. Journal of agricultural and food chemistry.61,3 2013:PP 492-500.
16. R. Karthikeyan , SL. Hutchinson ,LE. Erickson.”Biodegradation of tertiary butyl mercaptan in water”. Journal of bioremediation and biodegradation.3,2012:PP 6-12.
- 17.RP. Adams.Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry.4nd ed. Allured publishing corporation,2007.
- 18.JT. Watson ,OD. Sparkman. Introduction to Gas chromatography/mass spectrometry. 4nd ed. Wiley Online Library,2013.
- 19.M. Newcomb ,AG. Glenn,MB. Manek.”Rate constants and Arrhenius functions for hydrogen atom transfer from tert-butyl thiol to primary alkyl radicals”. The Journal of Organic Chemistry 54,19 1989.4603-4606.
- 20.M.Valko ,C. Rhodes ,J. Moncol ,M. Izakovic ,M. Mazur.”Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer”. Chemico-biological interactions.160,1 2006:PP 1-40.
- 21.AJ. Trewin,BG Berry ,AY. Wei,LL. Bahr,TH Foster,AP Wojtovich.”Light-induced production by fluorescent proteins”.128,20 2018:PP 157-164.
- 22.JM. Gutteridge ,B. Halliwell.”Mini-Review: Oxidative stress, redox stress or redox success?”. Biochemical and biophysical research communications. 502,2 2018:PP 183-186.
- 23.Aldred S. “Oxidative and nitrative changes seen in lipoproteins following exercise”. Atherosclerosis.192,1 2007: PP 1-8.
- 24.S Ahmad.”Free redical injury and oxidative stress: a review. global journal for research analysis”. 9,6 2018: PP 50-51
- 25.AM. Pisoschi,A. Pop.”The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review”. European journal of medicinal chemistry.97, 2015:PP 55-74.
- 26.RS.Verma,A. Mehta,N. Srivastava.”Comparative studies on chlorpyrifos and methyl parathion induced oxidative stress in different parts of rat brain: Attenuation by antioxidant vitamins”. Pesticide biochemistry and physiology.95,3 2009:PP 152-158.
- 27.H. Sies.”On the history of oxidative stress: Concept and some aspects of current development”. Current Opinion in Toxicology.7, 2018:PP 122-126.
- 28.G.Tjalvin.”Health in the aftermath of a malodorous chemical explosion: Subjective health complaints and post-traumatic stress symptoms among workers”. 2018. Accessible in

<https://www.semanticscholar.org/paper/Health-in-the-aftermath-of-a-malodorous-chemical-Tjalvin/b55acc324fbb28b6b4315d752f36f847477af33b>

29.E. Birben,UM. Sahiner,C. Sackesen,S. Erzurum,O. Kalayci."Oxidative stress and antioxidant defense". World Allergy Organization Journal.5,1 2012;9-19.

30.PE. Helliker."Exposure assessment evaluation of s,s,s-tributyl phoshorotrithioate(DEF) as a toxic air contaminationt. California Environmental Protection Agency".Department of Pesticide Regulation. June 1999. Accessible in

[https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjpgaXqysvkAhXNK1AKHYt](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjpgaXqysvkAhXNK1AKHYtAgAQFjACegQIBRAC&url=http%3A%2F%2Fciteseerx.ist.psu.edu%2Fviewdoc%2Fdownload%3Fdoi%3D10.1.1.587.711%26rep%3Drep1%26type%3Dpdf&usg=AOvVaw0RouAA3q6-2VLDA7XOdJJs)

[AgAQFjACegQIBRAC&url=http%3A%2F%2Fciteseerx.ist.psu.edu%2Fviewdoc%2Fdownload%3Fdoi%3D10.1.1.587.711%26rep%3Drep1%26type%3Dpdf&usg=AOvVaw0RouAA3q6-2VLDA7XOdJJs](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiBqr_f4svkAhXDZVAKHVEaACIQFjAAegQIAxAC&url=http%3A%2F%2Fmembers.igu.org%2Fold%2FIGU%2520Events%2Ffigrc%2Ffigrc2011%2Ffigrc-2011-proceedings-and-presentations%2Fforal-presentations%2Fk.-which-innovations-will-improve-distribution-system-operation%2FOP_K_2_Francois%2520Cagnon_Paper.pdf&usg=AOvVaw0RMf-3cmZXVK5ssmJLx4Uo)

31. BE. Poling ,JM. Prausnitz, JP O'connell. The properties of gases and liquids. 4nd ed. Mcgraw-hill New York,2011.

32.F. Cagnon. "New methodologies to help natural gas odorization".International Gas Union Research Conference.2011. Accessible in

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiBqr_f4svkAhXDZVAKHVEaACIQFjAAegQIAxAC&url=http%3A%2F%2Fmembers.igu.org%2Fold%2FIGU%2520Events%2Ffigrc%2Ffigrc2011%2Ffigrc-2011-proceedings-and-presentations%2Fforal-presentations%2Fk.-which-innovations-will-improve-distribution-system-operation%2FOP_K_2_Francois%2520Cagnon_Paper.pdf&usg=AOvVaw0RMf-3cmZXVK5ssmJLx4Uo

33.HT. Kim,SM. Kim,KW. Jun,YS. Yoon, JH. Kim. "Desulfurization of odorant-containing gas: Removal of t-butylmercaptan on Cu/ZnO/Al₂O₃". International Journal of Hydrogen Energy.32,15 2007:PP 3603-3608.

34. J Krzyzanowski."Environmental pathways of potential impacts to human health from oil and gas development in northeast British Columbia. Canada". Environmental Reviews.20,2 2012:PP 122-134.

35.P. Jain,R. Kushwaha."Wireless gas sensor network for detection and monitoring of harmful gases in utility areas and industries". Sixth International Conference on Sensing Technology (ICST).2012. Accessible in

<https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/6461759>

36. IN. Luginaah, SM. Taylor,SJ. Elliott,JD Eyles JD."Community reappraisal of the perceived health effects of a petroleum refinery". Social science & medicine.55,1 2002:PP 47-61.

37. BM. Cortese,K. Leslie K,TW. Uhde."Differential odor sensitivity in PTSD: Implications for treatment and future research". Journal of affective disorders.179, 2015:PP 23-30.

- 38.Z. Qiao ,Q. Xu ,AK. Cheetham,J. Jiang.”High-Throughput Computational Screening of Metal–Organic Frameworks for Thiol Capture”. The Journal of Physical Chemistry C.121,40 2017: 22208-22215.
- 39.T. Daniel ,H. Tomas. Natural Gas Odorization. Intech open.2010.
- 40.G. Ljunggren,B. Norberg.”On the Effect and Toxicity of Dimethyl Sulfide, Dimethyl Disulfide and Methyl Mercaptan”. Acta Physiologica.1943:PP 248-255.
- 41.Iranian national standadization organization .INSO9101.1st revision.2013,
- 44.D. Tenkrat ,T. Hlincik ,O. Prokes. Natural gas odorization. Natural Gas: IntechOpen; 2010.
- 45.Welker, K., Williams, W., Minier, P. System and method for odorizing natural gas. Google Patents; 2018.
46. A. Sáez. “Industrial application of natural gas”.P Natural Gas Sciyo. 2010:PP 245-270.
47. J. Fink . Petroleum engineer's guide to oil field chemicals and fluids. 2nd ed, Gulf Professional Publishing,2015.
48. CM. Hudgins, P. Mehdizadeh, WM. Rosborough. Hydrogen Sulphide “Cracking of Carbon and Alloy Steels”. Corrosion.22, 8 1966:PP 238-251
49. SS. Schiffman , JM. Walker,P. Dalton ,TS. Lorig ,JH. Raymer , D. Shusterman.”Potential health effects of odor from animal operations, wastewater treatment, and recycling of byproducts”. Journal of Agromedicine.7,1 2000;PP 77-81.
- 50.B. Behbod BEM., Parker , EA. Jones EA,T. Bayleyegn, J. Guarisco J,M. Morrison.”Community health assessment following mercaptan spill: eight mile, Mobile County, Alabama, September 2012”. Journal of Public Health Management and Practice.20,6 2014:PP 632-639.
- 51.Mercaptan. NOsahGfn-B. National Institute for Occupational Safety and Health, US Department of Health. 1988.
- 52.Tertiary Butyl Mercaptan safety data sheet. Available from: 2019. http://wwwcpchemcom/msds/100000013356_SDS_US_ENPDF
- 53.Dimethyl sulfide,MSDS Number:100000013391,Version1.7,Chevron philips Chemical Company LP.
54. Methyl Ethyl Sulfide safety data sheet.2019.Available from: http://wwwcpchemcom/msds/100000013392_SDS_US_ENPDF .
- 55.Isopropyl Mercaptan safety data sheet. 2019. Available from: http://wwwcpchemcom/msds/100000068542_SDS_US_ENPDF.
- 56.n-Propyl Mercaptan safety data sheet. 2019. Available from: http://wwwcpchemcom/msds/100000013357_SDS_CN_ENPDF,
57. P. Patnaik. A comprehensive guide to the hazardous properties of chemical substances. 2nd ed, John Wiley & Sons, 2007.
58. CF. Poole, SK. Poole. Chromatography today. 5nd ed, Elsevier, 2012.
59. A. Bahrami. A Method of sampling and analysis of pollutants in air. 2nd ed, Fanavaran, 2005.

60. I. Ferrer, EM. Thurman, Liquid chromatography principles, Tools and application. 2nd ed, John Wiley & Sons, 2009.
61. L. Pires, RM. Quintiono, RM Miranda. "Fume emissions during gas metal arc welding". Toxicological and Environmental Chemistry. 88, 3 2006: PP 385-394.
62. AA. Malekiran, M. Fazilati, N. Igani, M. Baghinia, A. Taheri, M. Rezvannar. "The protective effect of antioxidant complement (Selvit) on oxidative stress and blood parameters in workers exposure to paint". Arak Med Univ J. 17, 82 2014: PP 84-91.
63. D. Tsikas. "Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges". Anal Biochem. 524 2017: PP 13-30.
64. M. Keshvari shad, A. Barkhordari, A. Ranjbar, A. Mehrparva. "The study of oxidative stress biomarkers in ceramic workers compared to a control group". Occup Med Q J. 7, 4 2015: PP 67-81.
65. V. Indhi, V. Gupta, K. Sharma, S. Bhatnagar, R. Kumari, N. Dhaka. "Potential applications of antioxidants-A review". J Pharm Res. 7, 9 2013: PP 828-835.
66. B. Poljsak, D. Šuput, I. Milisav. "Achieving the balance between ROS and antioxidants: When to use the synthetic antioxidants". Oxid Med Cell Longev. 2013, 2013: PP 1-12
67. NS. Dhalla, RM. Temsah, T. Netticadan. "Role of oxidative stress in cardiovascular diseases". J Hypertens. 18, 8 2000: PP 655-673.
68. T. Carin, M. Melissa, A. Amy. "Hydroxyl radical is produced via the Fenton reaction in submitochondrial particles under oxidative stress: implications for diseases associated with iron accumulation". Redox Report, 14, 3 2009: PP 102-108.
69. B. Giuseppina. "Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Products in Cancer Progression and Therapy". International Scholarly Research Network, 2012, 2012: PP 1-22.
70. R. Mirzaei, A. Allameh, A. B. Mortazavi, A. Khavanin, N. Kamalian. "Effects of Loud Noise on Oxidation and Lipid peroxidation Variations of Liver Tissue of Rabbit". Zahedan J Res Med Sci. 11, 2 2009: PP 11-7.
71. CU Rajeshwari, RI Shobha, B Andallu. "Oxidative stress and antioxidant effects of herbs and spices in diabetes". Annals of Phytomedicine, 2, 2 2013: PP 13-27.
72. H. Arab, S. Mahjoub, S. K. Hajian-Tilaki, M. Moghadasi. "The effect of green tea consumption on oxidative stress markers and cognitive function in patients with Alzheimer's disease: A prospective intervention study". Casp J Intern Med. 7, 3 2016: PP 188-194.
73. TL. Rosenberry. Acetylcholinesterase. Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology, 2nd ed, Wiley Online Library, 2018.
74. DK. Cartis, Casarett & Doull's Toxicology the Basic Science of Poisons. 7th ed, Medical publishing division. 2008.
75. DM. Maxwell. "Acetylcholinesterase inhibition: does it explain the toxicity of organophosphorus compounds?" Archives of toxicology. 80, 11 2006: PP 756-760.

76. GL. Ellman,D. Courtney ,V. Andres,M. Featherstone. "A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinestrace activity". Biochemical Pharmacology.7, 1961: PP 88-95.
77. R. Gras,J. Luong,V. Carter,L. Sieben, H. Cortes H."Practical method for the measurement of Alkyl mercaptans in natural gas by multi-dimensional gas chromatography, capillary flow technology, and flame ionization detection". Journal of Chromatography A .1216,14 2009:PP 2776-2282.
78. MJ. Hansen,AP Adamsen,A. Feilberg."Recovery of odorants from an olfactometer measured by proton-transfer-reaction mass spectrometry". Sensors.13, 6 2013:PP 7860-7871.
79. D. Keleş D,H. Taşkın,G. Baktemur,E. Kafkas,S. Büyükalaca ."Comparitive study on volatile aroma compounds of two different garlic types (Kastamonu and Chinese) using gas chromatography mass spectrometry (HS-GC/MS) technique". African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines,11,3 2014:PP 217-220.
80. H. Imanishi,T. Takahashi, The New Quantitative Analytical Method For Ultratrace Sulfur Compounds In Natural Gas. International Gas Union. 2014.
<https://pdfs.semanticscholar.org/cffb/6997275188f7e5053dff30bb2c819d4753c9.pdf>
81. L. Bai,J. Smuts,P. Walsh,H. Fan,Z. Hildenbrand,D. Wong."Permanent gas analysis using gas chromatography with vacuum ultraviolet detection".Journal of Chromatography A.1388, 2015: PP 244-250.
82. D. Papurello ,L. Tognana,A. Lanzini,F. Smeacetto,M. Santarelli,I. Belcari ."Proton transfer reaction mass spectrometry technique for the monitoring of volatile sulfur compounds in a fuel cell quality clean-up system". Fuel Processing Technology.130, 2015: PP 136-146.
- 83.N. Azlah,Z Shareefdeen,A. Elkamel."Predicting Dispersion and Pollutant Concentration of Dimethyl Sulfide (DMS) from a Biofilter Under Various Atmospheric Conditions". Emission Control Science and Technology.4,1 2018:PP 64-67.
84. Munday R. Determinaton of thiol compounds by automated headspace solid-phase microextraction with in-fiber derivatization. Flavour Fragr. J. 21,2006: PP 385–394 2006.
85. MS.Yousefzadegan,EG. Kafrudi, AM. Masoudi,P. Alimardani,S. Salehi,A. Saatchi . "Consequence analysis for probable accidents of odorizer tanks insitalled in gas pressure reduction stations", 2016. Petroleum & Coal.58,2 2016: PP 223-231.
86. MP. Phyu, J. Tangpong. Sensitivity of acetylcholinestrace to environmental pollutants.,2014 J Health Res.28,4 2014: PP 277-283.
87. E. Barron Thiol groups of biological importance. 1951. Adv Enzymol Relat Subj Biochem.11,1951:PP 261-266.
88. KM. Roy."Thiols and organic sulfides". Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry. 36, 2000: PP 690-658.

89. B. Calenic,D. Miricescu,M. Greabu, AV Kuznetsov, J Troppmair, V Ruzsanyi."Oxidative stress and volatile organic compounds: interplay in pulmonary, cardio-vascular, digestive tract systems and cancer". Open Chemistry.13,1 2015:PP 1020-1030.
90. JE. Casida ."Mode of action of pesticides, metabolism of organophosphorus insecticides in relation to their antiesterase activity, stability, and residual properties". Journal of Agricultural and Food Chemistry.28, 1958: PP 603-613.
91. S. Shadnia, E. Azizi ,R. Hosseini ,S. Khoei ,S. Fouladdel ,A. Pajoumand. "Evaluation of oxidative stress and genotoxicity in organophosphorus insecticide formulators". Human & experimental toxicology. 24,9 2005:PP 439-445.
92. T. Chatterji ,K. Keerthi,KS. Gates."Generation of reactive oxygen species by a persulfide (BnSSH)". Bioorganic & medicinal chemistry letters.15,17 2005:PP 3921-3924.
93. D. Yonezawa ,F. Sekiguchi ,M. Miyamoto ,E. Taniguchi, M. Honjo, TA. Masuko ."A protective role of hydrogen sulfide against oxidative stress in rat gastric mucosal epithelium" Toxicology.24,1 2007:PP 11-18.
94. M. Pohanka ,R. Stetina ,H. Svobodova ,B. Ruttkay-Nedecky ,M. Jilkova ,J. Sochor ."Sulfur mustard causes oxidative stress and depletion of antioxidants in muscles, livers, and kidneys of Wistar rats". Drug Chem Toxicol .36,3 2013:PP 270-276.
95. DH. Zald DH,JV. "Pardo. Emotion, olfaction, and the human amygdala: amygdala activation during aversive olfactory stimulation".Proceedings of the National Academy of Sciences.94, 8 1997: PP 4119-4129.
96. XL. Guan, PF. Wu, S. Wang , JJ. Zhang,ZC. Shen, H. Luo. "Dimethyl sulfide protects against oxidative stress and extends lifespan via a methionine sulfoxide reductase A- dependent catalytic mechanism".Aging cell.16, 2 2017:PP 226-236.
97. LY. Chen ,Q. Chen ,XJ. Zhu ,DS. Kong , L. Wu , JJ. Shao ." Diallyl trisulfide protects against ethanol-induced oxidative stress and apoptosis via a hydrogen sulfide-mediated mechanism". International immunopharmacology.36, 2016:PP 23-30.
98. A. Beigi Harchegani ,E. Tahmasbpour ,H. Borna ,A. Imamy ,M. Ghanei , A. Shahriary ."Free radical production and oxidative stress in lung tissue of patients exposed to sulfur mustard: An overview of cellular and molecular mechanisms". Chemical research in toxicology.31,4 2018:PP 211-222.
99. M. Negaresh , M. Farrokhnia ,N. Mehranbod. "Modeling and control of natural gas bypass odorizer". Journal of Natural Gas Science and Engineering. 50, 2018: PP 335-339.
- 100.A.Taheri ,EG. Babakhani ,J. Towfighi. "Methyl mercaptan removal from natural gas using MIL-53 (Al)". Journal of Natural Gas Science and Engineering. 38, 2017:PP 272-82.
101. T. Baluchnejadmojarad,Z. Kiasalari,S. Afshin-Majd,Z. Ghasemi,M Roghani."S-allyl cysteine ameliorates cognitive deficits in streptozotocin-diabetic rats via suppression of oxidative stress, inflammation, and acetylcholinesterase". European journal of pharmacology. 794, 2017: PP 69-76.

102. S. Kumar. "Dual inhibition of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes by allicin". Indian journal of pharmacology.47,4 2015: PP 444-446.
103. GP. Yang, S. Tsunogai, S. Watanabe . "Complexation of dimethylsulfide with mercuric ion in aqueous solutions". Journal of Oceanography.62,4 2006 : PP 473-480.
104. WH. Bullock, JS. Ignacio .A strategy for assessing and managing occupational exposure. . 4nd ed, AIHA. 2006.
105. F. Karatas, M. Karatepe , A. Baysar. Determination of free malondialdehyde in human serum by high-performance liquid chromatography". Analytical biochemistry.311,1 2002:76-79.
106. IF. Benzie, M. Devaki. The ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay for non-enzymatic antioxidant capacity: concepts, procedures, limitations and applications. Measurement of antioxidant activity & capacity: recent trends and applications.1nd ed, Wiley.2018.
107. Methyl mercaptan.EPA chemical profiles. Washington DUSEPA, Office of Toxic Substances.1999.
108. R. Hauser-Davis, R. Lopes, R. Ziulli."Inhibition of mullet (M. liza) brain acetylcholinesterase activity by in vitro polycyclic aromatic hydrocarbon exposure". Marine pollution bulletin.140, 2019: PP 30-34.
109. J. Strelitz, LS. Engel, MC. Keifer. "Blood acetylcholinestrse and butylcholinestrse as biomarkers of cholinestrse depression among pesticide handlers". Occup Environ Med.71,12 2014:PP 842-847.
110. JL. Burger, KM. Jeerage , TJ Bruno."Direct nuclear magnetic resonance observation of odorant binding to mouse odorant receptor MOR244-3". Analytical biochemistry.502, 2016:PP 64-72.
111. D. Keleş , H. Taşkın , G. Baktemur , E. Kafkas , S. Büyükalaca."Comparitive study on volatile aroma compounds of two different garlic types (Kastamonu and Chinese) using gas chromatography mass spectrometry (HS-GC/MS) technique". African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines. 11,3 2014:PP 217-220.
112. SW. Myung , S. Huh , J. Kim , Y. Kim, M. Kim . "Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of mercaptan odorants in liquefied petroleum gas and liquefied natural gas". Journal of Chromatography A.791,1 1997:PP 367-370.
113. AJ. Kidnay, WR. Parrish, DG. McCartney. Fundamentals of natural gas processing: CRC press; 2011.
114. S. Faramawy, T Zaki, A-E. Sakr. "Natural gas origin, composition, and processing: A review". Journal of Natural Gas Science and Engineering.34, 2016: PP 34-54.
115. M. Jahangiri, M. Parsarad . "Health risk assessment of harmful chemicals: case study in a petrochemical industry". Iran Occupational Health.7, 4 2010: PP 18-24.
116. NIOSH, Manual of Analytical Methods: US Department of Health and Human Services, Public Health Service, 1994.

- 117.J. Kangas,P. Jäppinen,H. Savolainen.”Exposure to hydrogen sulfide, mercaptans and sulfur dioxide in pulp industry”. American Industrial Hygiene Association Journal.45, 12 1984:PP 787-90.
118. M. Negaresh,M. Farrokhnia,N. Mehranbod.”Modeling and control of natural gas bypass odorizer”. Journal of Natural Gas Science and Engineering.50, 2018: PP 339-350.
- 119.J. Fang,X. Xu,L. Jiang,J. Qiao ,H. Zhou,K. Li.” Preliminary results of toxicity studies in rats following low-dose and short-term exposure to methyl mercaptan”. Toxicology Reports.6, 2019: PP 431-438.
120. RW. Helt,RR. Crawford. Ventilation Controller. Google Patents; 2019.
- 121.A. Soltanzadeh,D. Eskandari,A. Gholami,J. Malakuti .”Respiratory problems caused by occupational exposure to flour dust among flour mill workers in Razavi and South Khorasan provinces”. Occupational Medicine Quarterly Journal.4,1 2012:PP 73-80.
122. PM. Eller. NIOSH manual of analytical methods,method no. 2542: Diane Publishing; 1994.
123. JG. Speight. Handbook of Natural Gas Analysis: 1nd ed, Wiley Online Library, 2018.
- 124.WD. McCain. Properties of petroleum fluids: 12nd ed, PennWell Corporation; 2017.
- 125.MS. Shah,MS. Hossain,FY. Nipa,K. Pal,MR. Islam,MS. Afri. “Future Prospect Analysis of Liquefied Petroleum Gas (LPG) and Liquefied Natural Gas (LNG) in Bangladesh: Economic and Technological Case Studies”. Journal of Nature Science and Sustainable Technology.12,3 2018:PP 161-73.
- 126.R. Aversa,RV. Petrescu,A. Apicella,FL. Petrescu .”One can slow down the aging through antioxidants”. American Journal of Engineering and Applied Sciences.9,4 2016;9(4),PP 1112.1126.
- 127.B. Halliwell,JM. Gutteridge. Free radicals in biology and medicine: 5nd ed, Oxford University Press, USA; 2015.
- 128.AH. Bhat,KB. Dar,S. Anees, MA. Zargar,A. Masood ,MA. Sofi.” Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and neurodegenerative diseases; a mechanistic insight”. Biomedicine & Pharmacotherapy.74, 2015:PP 101-10.
- 129.A. Salama,R. Hegazy,A. Hassan.” Intranasal chromium induces acute brain and lung injuries in rats: Assessment of different potential hazardous effects of environmental and occupational exposure to chromium and introduction of a novel pharmacological and toxicological animal model”. PloS one. 11,22 2016:PP 1-20.
- 130.B. Fahmy,SA. Cormier.”Copper oxide nanoparticles induce oxidative stress and cytotoxicity in airway epithelial cells”. Toxicology In Vitro.23,7 2009:PP 1365-1371.
- 131.E. Isbilen,K. Kadayifcioglu,M. Yasar,U. Doldur. Sulphur-Free Gas Odorant. Google Patents; 2016.
- 132.DK. Mostafa, NM. Azhary,RA. Nasra.”The hydrogen sulfide releasing compounds ATB-346 and diallyl trisulfide attenuate streptozotocin-induced cognitive impairment, neuroinflammation, and oxidative stress in rats: involvement of asymmetric

- dimethylarginine". Canadian journal of physiology and pharmacology.94,7 2016:PP 699-708.
- 133.M. Greabu,A. Totan,D. Miricescu,R. Radulescu,J. Virlan,B. Calenic."Hydrogen sulfide, oxidative stress and periodontal diseases: a concise review". Antioxidants.5,1 2016 :PP 3-16.
134. A. Ranjba,P. Pasalar, M. Abdollahi."Induction of oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in organophosphorous pesticide manufacturing workers". Human & experimental toxicology.21,4 2002:PP 179-182.
- 135.T. Chatterji,K. Keerthi,KS. Gates."Generation of reactive oxygen species by a persulfide (BnSSH)". Bioorganic & medicinal chemistry letters. 2005;15(17):3921-4.
- 136.G. Sami, E. Khoshraftar,TH. Shayesteh,A. Ranjbar. "The effects of Chamomile tea on antioxidative biomarkers in operating room staff". J HerbMed Pharmacol. 4,3 2015:PP 98–101.
- 137.Z. Zou,W. Xi,Y. Hu,C. Nie,Z. Zhou."Antioxidant activity of Citrus fruits". Food chemistry.196, 2016: PP 885-896.
- 138.NF. Santos-Sánchez,R. Salas-Coronado,R. Valadez-Blanco,B. Hernández-Carlos ,PC. Guadarrama-Mendoza. "Natural antioxidant extracts as food preservatives". Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria. 16,4 2017:PP 361-370.
- 139.Q. Dong,Y. Jiang,Q. Wang ,M. Liu,N. Wang,H. He .Analysis on the polyphenols, flavonoids and antioxidant activities of broccoli. 2017 Global Conference on Mechanics and Civil Engineering (GCMCE 2017): Atlantis Press.2017.
- 140.BS. Yadav ,R. Yadav ,RB. Yadav,M. Garg."Antioxidant activity of various extracts of selected gourd vegetables". Journal of food science and technology. 53,4 2016:PP 1823-1833.
- 141.A. Basu,S. Morris,A. Nguyen,NM. Betts,D. Fu,TJ. Lyons."Effects of dietary strawberry supplementation on antioxidant biomarkers in obese adults with above optimal serum lipids". Journal of nutrition and metabolism. 2016,2016,1-9.
- 142.R. Pal,N. Hedau,L. Kant,A. Pattanayak."Research Article Functional quality and antioxidant properties of tomato genotypes for breeding better quality varieties". Electronic Journal of Plant Breeding.9,1 2018:PP 1-8.
- 143.A. Coates,A. Hill,S. Tan."Nuts and Cardiovascular Disease Prevention". Current atherosclerosis reports.20,10 2018:PP 48-57.
- 144.Y. Pang ,S. Ahmed,Y. Xu,T. Beta,Z. Zhu,Y. Shao."Bound phenolic compounds and antioxidant properties of whole grain and bran of white, red and black rice". Food chemistry.240, 2018:PP 212-221.
- 145.RM. Martínez-Álvarez,AE. Morales,A. Sanz."Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors". Reviews in Fish Biology and fisheries.15, 1 2005 :PP 75-88.
- 146.J. Russell,W. Sexten ,M. Kerley ,S. Hansen."Relationship between antioxidant capacity, oxidative stress, and feed efficiency in beef steers". Journal of animal science.94,7 2016:PP 2942-2953.

- 147.C. Nimalaratne,J. Wu.”Hen egg as an antioxidant food commodity: A review.”
Nutrients. 7,10 2015:PP 8274-8293.
- 148.RY. Gan,MF. Wang,WY. Lui ,K. Wu ,SH. Dai,ZQ. Sui. “Diversity in antioxidant capacity, phenolic contents, and flavonoid contents of 42 edible beans from China”. Cereal Chemistry. 94,2 2017:PP 291-297.
- 149.H. Zhang,J. Wu,X. Guo.”Effects of antimicrobial and antioxidant activities of spice extracts on raw chicken meat quality”. Food Science and Human Wellness.5,1 2016:PP 39-48.
- 150.S. Petropoulos,A. Fernandes,L. Barros,A. Ciric,M. Sokovic,IC. Ferreira.”Antimicrobial and antioxidant properties of various Greek garlic genotypes”. Food chemistry. 245, 2018:PP 7-12.
- 151.A. Adepoju-Bello,B. Oyawaluja,A. Chikaodili.”Investigation of the Antioxidant Activity and Quantification of the Amount of Heavy Metals and some Vitamins in Carrot”. Nigerian Journal of Pharmaceutical Research. 12,2 2018:PP 95-103.
- 152.A. Dellal ,F. Toumi-Benali,M. Dif,S. Bouazza,S. Brihou ,N. Mekhfi.”Anti-inflammatory, Analgesic and Antioxidant Activities of the Hydroalcoholic Extract from Celery (Apium graveolens) Leaves”. Phytothérapie.16, 2018:PP 237-244.
- 153.R. Bitsch, M. Netzel,G. Netzel ,K. Ruhlig, Dietrich H.”Bioavailability and bioactivity of characteristic phenolics from apple products”. Int J Biodegrad Bioremediat.108,2018:PP 1-10.
- 154.VM. Dakéné,A. Sérémé ,M. Koala,MK. Somda M,H. Sawadogo–Lingani ,AS. Traoré. Influence of agro-ecological areas on the antioxidant capacity of onion varieties grown in Burkina Faso. 5,2 2018:PP 73-78.
- 155.T. Wang,Y. Liu,X. Li,Q. Xu,Y. Feng,S. Yang.”Isoflavones from green vegetable soya beans and their antimicrobial and antioxidant activities”. Journal of the science of food and agriculture.98,5 2018:PP 2043-2047.
- 156.J. Samoticha,MJ. Jara-Palacios,JM. Hernández-Hierro,FJ. Heredia ,A Wojdyło.”Phenolic compounds and antioxidant activity of twelve grape cultivars measured by chemical and electrochemical methods”. European Food Research and Technology.244,11 2018:PP 1933-43.
- 157.A. Vakula,A. Tepić-Horecki,B. Pavlić,N. Prole,P. Božović,Z. Šumić Z.”Convective, vacuum and freeze drying of black seedless raisins: Physicochemical properties”. Journal on Processing and Energy in Agriculture.22,3 2018:PP 129-32.
- 158.A. Zaini ,B. Wirjatmadi,B. Purwanto.” Effect of jujube leaves brewed to malondialdehyde(MDA) level of wistar rats exposed psychological stress”. International Journal of Public Health and Clinical Sciences.5,6 2018:PP 284-93.
- 159.S. Wisam,T. Nahla ,N. Tariq. Antioxidant activities of thyme extracts. “Pakistan Journal of Nutrition”.17,1 2018:PP 46-50.
- 160.S Jain ,H. Popli ,G. Aggarwal,M. Gupta.”Green Tea-An Antioxidant Mystic Herb”. PharmaTutor.6,7 2018:PP 23-31.

- 161.G. Nieto , G. Ros ,J. Castillo.”Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A Review”. *Medicines*.5,3 2018: 98-111.
- 162.B. Al-Dabbagh,IA. Elhaty ,M. Elhaw ,C. Murali , A. Mansoori,B. Awad B. “Antioxidant and anticancer activities of chamomile (*Matricaria recutita* L.)”. *BMC research notes*.12,1 2019: 3.
- 163.CJ. Pemberton CJ,AM. Richards,MG Nicholls ,TG.Yandle. *Biomarkers*. Google Patents; 2018.
- 164.VK. Gupta ,R. Pal ,NJ. Siddiqi,B. Sharma.”Acetylcholinesterase from human erythrocytes as a surrogate biomarker of lead induced neurotoxicity”. *Enzyme research*. 2015,2015:1-7.
- 165.R. Zendehdel,Z. Fazli,M. Mazinani.”Neurotoxicity effect of formaldehyde on occupational exposure and influence of individual susceptibility to some metabolism parameters”. *Environmental monitoring and assessment*. 188,11 2016:648-669.
- 166.R. Hauser-Davis,R. Lopes,R. Ziolli.”Inhibition of mullet (*M. liza*) brain acetylcholinesterase activity by in vitro polycyclic aromatic hydrocarbon exposure”. *Marine pollution bulletin*.140, 2019:PP 30-34.
- 167.LB. Joseph,GM. Composto,RM. Perez,H-D. Kim,RP. Casillas ,ND. Heindel.”Sulfur mustard induced mast cell degranulation in mouse skin is inhibited by a novel anti-inflammatory and anticholinergic bifunctional prodrug”. *Toxicology letters*.293, 2018:PP 77-81.
- 168.D. Feuerbach,M. Frederiksen,K. Hurth ,BL. Roy. Substituted quinuclidines as alpha 7-nicotinic acetylcholine receptor activity modulators. *Google Patents*; 2017.
- 169.MG. Lionetto, R. Caricato,A. Calisi,ME Giordano,T. Schettino.”Acetylcholinesterase as a biomarker in environmental and occupational medicine: new insights and future perspectives”. *BioMed research international*. 2013,2013:PP 1-8.
- 170.T. Baluchnejadmojarad,Z. Kiasalari,S. Afshin-Majd,Z. Ghasemi ,M. Roghani .”S-allyl cysteine ameliorates cognitive deficits in streptozotocin-diabetic rats via suppression of oxidative stress, inflammation, and acetylcholinesterase”. *European journal of pharmacology*.794, 2017:PP 69-76.
- 171.S. Kumar.”Dual inhibition of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes by allicin”. *Indian journal of pharmacology*. 74,4 2015: PP 444.-446.
- 172.V. Singh,D. Singh.”Enzyme inhibition by allicin, the molluscicidal agent of *Allium sativum* L.(garlic)”. *Phytotherapy Research*.5,10 1996 :PP 6383-6386.

پیوست ۱

فرم اطلاعات دموگرافیکی کارگران

نام و نام خانوادگی:

سن :

میزان تحصیلات:

بی سواد	سیکل	دیپلم	لیسانس	بالا تر
---------	------	-------	--------	---------

شغل / مشاغل :

سابقه کار (سال) : مدت زمان کار در روز (ساعت) :

آیا در ارتباط با شغل مورد نظر، آموزش فنی و حرفه ای دیده اید؟

بلی	خیر
-----	-----

در صورت مثبت بودن جواب سؤال قبل، تعداد ماه دوره آموزشی را قید نمایید: ماه
آدرس محل زندگی:

۱. در طول روز چه مدت زمانی (چند ساعت) بطور فعال در پست خود اشتغال دارید؟
.....

۲. چند روز در هفته کار می‌کنید؟
.....

۳. آیا بار کاری (حجم کاری) شما در روزهای مختلف هفته متفاوت می‌باشد؟

بلی	خیر
-----	-----

۴. سابقه کاری خود را در شغل فعلی تان ذکر نمایید. (ماه یا سال)
.....

۵. آیا سابقه بیماری اختلال سیستم عصبی دارید؟

بلی	خیر
-----	-----

۶. آیا در هنگام کار از ماسک تنفسی استفاده می کنید؟ در صورتیکه پاسخ شما بلی است نوع ماسک دهانی مورد استفاده را مشخص نمایید.

بلی	خیر
-----	-----

۷. نوع ماسک مورد استفاده تان کدام است؟

☐ ماسک تنفسی معمولی	☐ ماسک تنفسی گاز و بخار
--	--

۸. آیا شغل دیگری دارید؟ در صورتیکه پاسخ شما بلی است نام شغل خود را در سطر توضیحات بنویسید.

بلی	خیر
-----	-----

توضیحات.....

۹. آیا در محیط کار بیش از یک وظیفه شغلی دارید؟ در صورت مثبت بودن پاسخ خود، عنوان فعالیت های شغلی خویش را در قسمت توضیحات ذکر نمایید.

بلی	خیر
-----	-----

توضیحات.....

۱۰. آیا در مجاورت زندگی شما پمپ بنزین وجود دارد؟

بلی	خیر
-----	-----

۱۱. آیا بیماری های زمینه ای چشم (مانند گلوکوم، کاتاراکت و ...) دارید؟ در صورتیکه پاسخ شما بلی است نوع بیماری خود را در قسمت توضیحات ذکر نمایید.

بلی	خیر
-----	-----

توضیحات.....

۱۲. آیا بیماری دیابت دارید؟

بلی	خیر
-----	-----

۱۳. آیا داروهای خاصی مصرف می نمایید. نوع داروی خود را در قسمت توضیحات ذکر نمایید.

بلی	خیر
-----	-----

توضیحات.....

۱۴. آیا سابقه فشارخون بالا دارید؟

بلی	خیر
-----	-----

۱۵. آیا سیگار مصرف میکنید؟

بلی	خیر
-----	-----

در صورت مثبت بودن پاسختان چند نخ در روز و به مدت چند
سال؟.....

۱۶. آیا الکل مصرف میکنید؟

بلی	خیر
-----	-----

در صورت مثبت بودن پاسختان چه مقدار در هفته و به مدت چند
سال؟.....

پیوست ۲

فرم ارزیابی فعالیت پرسنل در روز نمونه برداری

تنظیم و بهینه سازی تنظیم و تعویض رگلاتور	سرکشی بازدید	عیب زدایی			
		تعویض فیلتر	نشت گیری	تعویض المنت	تاریخ نمونه برداری نام و نام خانوادگی مدت زمان فعالیت در شغل

پیوست ۳

پرسشنامه سلامت عمومی (GHQ)

نام و نام خانوادگی

می خواهیم درباره کسالت و ناراحتی های پزشکی و اینکه سلامت عمومی شما در طی یکماه گذشته تا به امروز

چگونه بوده است اطلاعاتی بدست آوریم. لطفاً در تمامی سؤالات زیر پاسخی را که فکر می کنید با وضع شما بیشتر مطابقت دارد مشخص کنید. بخاطر داشته باشید که ما می خواهیم درباره ناراحتی های اخیر شما اطلاعاتی بدست آوریم، نه مشکلات و ناراحتی هایی که در گذشته داشته اید سعی کنید به تمامی سؤالات پاسخ دهید و جواب خود را در محل مربوط با علامت ضربدر مشخص نمایید.

باتشکر از همکاری شما.

- ۱- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز کاملاً احساس کرده اید که خوب و سالم هستید؟
- ۲- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز احساس کرده اید که به داروهای تقویتی نیاز دارید؟
- ۳- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز احساس ضعف و سستی کرده اید؟
- ۴- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز احساس کرده اید که بیمار هستید؟
- ۵- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز سر درد داشته اید؟
- ۶- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز احساس کرده اید که سرتان را محکم با چیزی مثل دستمال بسته اند یا اینکه فشاری به سرتان وارد می شود؟
- ۷- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز احساس کرده اید که بعضی وقتها بدنتان داغ و یا سرد است می شود؟
- ۸- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز اتفاق افتاده که بر اثر نگرانی دچار بی خوابی شده باشید؟
- ۹- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز شبها وسط خواب بیدار می شوید؟

- ۱۰- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز احساس کرده اید که دائماً تحت فشار هستید ؟
- ۱۱- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز عصبانی و بد خلق شده اید ؟
- ۱۲- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز بدون هیچ دلیل قانع کننده ای هراسان و یا وحشت زده شده اید ؟
- ۱۳- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز متوجه شده اید که انجام هر کاری از توانائی شما خارج است ؟
- ۱۴- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز احساس کرده اید که در تمامی مدت عصبی هستید و دلشوره دارید ؟
- ۱۵- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز توانسته اید خودتان را مشغول و سرگرم نگه دارید ؟
- ۱۶- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز برای انجام کارها بیش از گذشته وقت صرف کرده اید ؟
- ۱۷- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز بطور کلی احساس کرده اید که کارها را بخوبی انجام می دهید ؟
- ۱۸- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز از نحوه انجام کارهایتان احساس رضایت می کنید ؟
- ۱۹- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز احساس کرده اید که نقش مفیدی در انجام کارها به عهده دارید ؟
- ۲۰- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز توانائی تصمیم گیری درباره مسائل را داشته اید ؟
- ۲۱- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز قادر بوده اید از فعالیتهای روزمره زندگی لذت ببرید ؟
- ۲۲- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز فکر کرده اید که شخص بی ارزشی هستید ؟
- ۲۳- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز احساس کرده اید که زندگی کاملاً نا امید کننده است ؟
- ۲۴- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز احساس کرده اید که زندگی ارزش زنده بودن را ندارد ؟
- ۲۵- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز به این مسأله فکر کرده اید که ممکن است دست به خود کشی بزنید ؟
- ۲۶- آیا از یک ماه گذشته تا به امروز احساس کرده اید که چون اعصابتان خراب است نمی توانید کاری انجام دهید ؟

۲۷ - آیا از یک ماه گذشته تا به امروز به این نتیجه رسیده اید که ای کاش مرده بودید و کلاً از شر زندگی

خلاص می شدید؟

۲۸ - آیا از یک ماه گذشته تا به امروز این فکر به ذهنتان رسیده است که بخواهید به زندگیتان خاتمه دهید؟

پاسخنامه GHQ-28

نام خانوادگی..... سن جنسیت..... تحصیلات.....

۱	بیشتر از حد معمول	در حد معمول	کمتر از حد معمول	خیلی کمتر از حد معمول
۲	اصلاً	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۳	اصلاً	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۴	اصلاً	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۵	اصلاً	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۶	اصلاً	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۷	اصلاً	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۸	اصلاً	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۹	اصلاً	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۱۰	اصلاً	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۱۱	اصلاً	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۱۲	اصلاً	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۱۳	اصلاً	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۱۴	اصلاً	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۱۵	بیشتر از حد معمول	در حد معمول	کمتر از حد معمول	خیلی کمتر از حد معمول
۱۶	کمتر از حد معمول	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۱۷	بهر از حد معمول	در حد معمول	کمتر از حد معمول	خیلی کمتر از حد معمول
۱۸	بیشتر از حد معمول	در حد معمول	کمتر از حد معمول	خیلی کمتر از حد معمول
۱۹	بیشتر از حد معمول	در حد معمول	کمتر از حد معمول	خیلی کمتر از حد معمول
۲۰	بیشتر از حد معمول	در حد معمول	کمتر از حد معمول	خیلی کمتر از حد معمول
۲۱	بیشتر از حد معمول	در حد معمول	کمتر از حد معمول	خیلی کمتر از حد معمول
۲۲	اصلاً	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۲۳	اصلاً	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۲۴	اصلاً	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۲۵	اصلاً	فکر نمی کنم	به ذهنم خطور کرده	قطعاً بله
۲۶	اصلاً	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۲۷	اصلاً	در حد معمول	بیشتر از حد معمول	خیلی بیشتر از حد معمول
۲۸	اصلاً	فکر نمی کنم	به ذهنم خطور کرده	قطعاً بله

Abstract:

Application of odorants in natural gas industry facilitate the detection of gas leak. Occupational exposure assessment is one of the most important way for hygiene management. NIOSH 2542 methode was suggested gas chromatography with flame phtometry detectore (GC-FPD) for the assessment of occupational exposure to mercaptane. One of the purpose of this study is development of a method for airborne evaluation of dimethyl sulfide, ethyl methyl sulfide and tert-butyl mercaptane by gas chromatography-mass spectroscopy. The effect of thiols in oxygen species generation was reported in different studies. Moreover cholinergic effect was reported in some organophosphate compounds as the same as organophosphate. In this study health risk was evaluated in gas industry workers by assessment of cholinergic activity and oxidative stress.

Method validation of occupational exposure in gas odorants by gas chromatography-mass spectroscopy was performed by accuracy, precision, limit of detection and limit of quantification parameters. Technical workers (n=80) of gas industry was studied in this research. Age, work experience and smoking matched subjects in 80 administrative staffs was selected as unexposed workers. Malondialdehyde as lipid peroxidation and ferric reducing ability of plasma was evaluated as oxidative stress biomarkers. Cholinergic activity was evaluated by acetylcholine esterase activity with Elman method.

The results show coefficient of variation in inter- and intra-assay was obtained lower than 10 %. Detection qualitative limit of dimethyl sulfide, ethyl methylsulfide and tert-butyl mercaptan was evaluated 4, 5 and 0.86 µg/sample, respectively. Airborne exposure to tert-butyl mercaptane was evaluated 4.06 ppb between 0.2 to 21ppb. There is significant difference between the levels of malondialdehyde in technical workers and the personnel (p=0.0001) while in technical workers was higher than unexposed subjects. Positive Pearson correlation (p=0.04) was assessed between weekly TBM exposure and malondialdehyde level. Plasma ability for ferric ions reducing in technical personnel was significantly lower than in unexposed individuals (P<0.0001). Acetylcholine esterase activity in technical workers was significantly lower than unexposed group (p<0.02). The subjects by unimpaired cholinergic activity in exposed workers was 2.1 times of unexposed population.

Studied method by GC-MS as an alternative method of NIOSH2542 for the assessment of occupational exposure of odorant gas was suggested. Tert-butyl mercaptan has health risk in occupational exposure. Health care strategies should be designed to minimize toxicity effect of gas odorant.

Keywords:

Natural gas Odorant, Occupational exposure , Oxidative stress, Cholinergic activity

Report ID

Project title:

Risk assessment of occupational exposure to odorant additive compounds in the technical service workers of national Iranian gas company and developing strategies for prevention and control

Project number: 131163

Research unit: Shahid Beheshti University of Medical Science , Occupational health and safety

Project Manager

Dr.Rezvan Zendehtdel

Project advisor

Mostafa Mehrab,Reza gholami

Project collaborator

Ali Asghar Mosavi Mehraban

Project Supervisor

Dr. Masoud Rismanchian, Dr. Abbas Mirzaei

Start time of project: November 2018

End time of project: February 2020

Project Duration: 27 Months

Report Type: Final Report

This report has been followed by the National Iranian Gas Company in Research Proposal by the No. 131163 which was approved in November 2018.



Research and Technology management
Research, development and technology

Research project

Risk assessment of occupational exposure to odorant additive compounds in the technical service workers of national Iranian gas company and developing strategies for prevention and control

Research Unit

Shahid Beheshti University of Medical Science
Occupational Health and Safety

Project Manager

Dr. Rezvan Zendehtdel

Final report

January 2020