



نمونه‌برداری و تعیین مقدار کلروبنزن در هوا با روش میکرواستخراج فاز جامد-گاز کروماتوگرافی طیف بین جرمی

محمد جواد زارع سخویدی^۱، عبدالرحمان بهرامی^{۲*}، علیرضا غیاثوند^۳

تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۴/۱۸

تاریخ ویرایش: ۹۶/۰۱/۱۷

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۱/۲۶

چکیده

زمینه و هدف: کلروبنزن ماده‌ای شیمیایی است که در تولید حشره‌کش‌ها، علف‌کش‌ها و همچنین تولید لاستیک استفاده می‌شود و باعث عوارض نرولوژیکی و اثر بر مجاری تنفسی می‌گردد. در این پژوهش با استفاده از روش میکرواستخراج فاز جامد (SPME) مقدار کلروبنزن در هوای محیط کار نمونه‌برداری و شرایط بهینه‌ی تجزیه با گاز کروماتوگرافی-طیف بین جرمی تعیین گردید.

روش بررسی: نمونه‌برداری از غلظت‌های مشخص کلروبنزن در یک سیستم تولید اتمسفر دینامیک با روش میکرواستخراج فاز جامد انجام گرفت. پس از انتخاب نوع فیبرهای لازم، دما و زمان بازیافت بهینه در بخش تزریق تعیین شد و نتایج بدست آمده از SPME با روش شماره‌ی ۱۰۰۳، انستیتوی ملی ایمنی و بهداشت حرفه‌ای مقایسه گردید. به‌منظور تجزیه‌ی نمونه‌های تهیه‌شده از کلروبنزن با روش میکرواستخراج فاز جامد (SPME)، از دستگاه گاز کروماتوگرافی-طیف بین جرمی (GC-MS) استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد فیبر CAR/PDMS از قابلیت جذب بیشتری در مقایسه با سایر فیبرها برخوردار است. شرایط دمایی واجد در بخش تزریق دستگاه آنالیز در سه حالت دمایی ۲۰۰ تا ۲۸۰ بررسی گردید و تفاوتی در مقدار استخراج کلروبنزن در این شرایط وجود نداشت ($p > 0.05$). زمان تعادل برای حالت SPME خارج از سرپوش، ۳۰ دقیقه و برای شرایط داخل سرپوش زمان رسیدن به تعادل تا چندین ساعت ادامه یافت. تفاوت معناداری در نرخ نمونه‌برداری در دماها و سرعت‌های تعیین شده در این مطالعه وجود نداشت ($p > 0.05$). هرچند افزایش رطوبت نسبی باعث کاهش نرخ نمونه‌برداری در دامنه مورد بررسی گردید ($p > 0.05$).

نتیجه‌گیری: در این پژوهش مشخص گردید که روش SPME در سوزن می‌تواند به‌عنوان جایگزین مناسبی برای روش معمول NIOSH برای تعیین کلروبنزن در هوا مورد استفاده قرار گیرد. با استفاده از فیبر SPME به صورت در سرپوش می‌توان میانگین مواجهه‌ی وزنی-زمانی (TWA) در هوای محیط کار را به روش پسیو تعیین نمود.

کلیدواژه‌ها: روش میکرواستخراج فاز جامد، هوا، روش غیرفعال، کلروبنزن.

مقدمه

سلامت محیط و کار در وزارت بهداشت و درمان و آموزش پزشکی و نیز انجمن متخصصین بهداشت صنعتی آمریکا حد مجاز مواجهه‌ی شغلی ۱۰ ppm را برای متوسط زمان هشت ساعت مواجهه جهت کلروبنزن تعیین نموده‌اند [۴، ۵].

روش متداول نمونه‌برداری و تجزیه‌ی کلروبنزن بر اساس نمونه‌برداری با زغال فعال و استفاده از دی‌سولفیدکربن برای بازیافت آلاینده و تجزیه به روش گاز کروماتوگرافی است که در روش شماره ۱۰۰۳، انستیتوی ملی ایمنی و بهداشت حرفه‌ای [۶] ارائه شده است. روش مذکور، بر اساس استفاده از پمپ نمونه‌بردار

کلروبنزن حلالی بی‌رنگ، با نقطه‌ی جوش بالا و از گروه هیدروکربن‌های آروماتیک است که در بسیاری از صنایع و نیز آزمایشگاه‌ها کاربرد دارد. این ماده به‌طور گسترده‌ای در صنایع به‌عنوان ماده‌ی حد واسط در تولید حشره‌کش‌ها، علف‌کش‌ها و نیز تولید لاستیک و همچنین حلال کاربرد دارد [۱، ۲].

مواجهه با کلروبنزن، تأثیرات مخربی بر سیستم اعصاب مرکزی، مجاری تنفسی، سیستم هوشیاری و کبد دارد. هرچند پس از تماس با این ماده، فرد از راه ادرار و سیستم تنفسی، آن را دفع می‌نماید [۲، ۳]. مرکز

۱- استادیار، گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی یزد، یزد، ایران.

۲- (نویسنده مسئول) استاد، گروه بهداشت حرفه‌ای، قطب علمی آموزشی بهداشت حرفه‌ای و مرکز تحقیقات بهداشت و ایمنی شغلی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران. bahrami@umsha.ac.ir

۳- استاد، گروه شیمی تجزیه، دانشکده علوم، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران.

طولانی مدت از این ماده به منظور تعیین میانگین مواجهه‌ی وزنی زمانی و تجزیه با دستگاه گاز کروماتوگرافی - طیف بین جرمی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

الف. تهیه‌ی اتاقک استاندارد در آزمایشگاه: غلظت مشخص کلروبنزن در آزمایشگاه، در یک اتاقک تولید اتمسفر استاندارد دینامیک که بر اساس سایر مطالعات طراحی گردیده بود تهیه گردید [۲۳، ۲۲]. در این اتاقک با استفاده از پمپ، هوای عاری از آلاینده به درون محفظه نمونه برداری وارد گردید. کلروبنزن خالص، توسط پمپ سرنگ (دستگاه پمپ سرنگ مدل JMS SP-510 ساخت شرکت هیروشیمای ژاپن) با دبی مشخص به درون جریان هوای عاری از آلاینده تزریق گردید. مدت زمان تزریق آلاینده به درون جریان هوای عاری از آلاینده بسته به هدف اندازه‌گیری از ۱۵ دقیقه تا چندین ساعت تنظیم گردید. غلظت درون محفظه همواره با استفاده از پارامترهای نرخ تزریق سرنگ در دقیقه و دبی جریان هوای عاری از آلوده تنظیم گردید. برای بررسی تأثیر سرعت جریان هوا، محفظه نمونه برداری در سیستم تولید اتمسفر استاندارد در پنج سطح مقطع متفاوت ساخته شد عبور دبی ثابت هوا در هر کدام از سطح مقطع‌ها منجر به ایجاد سرعت جریان‌های مختلف هوا در هر کدام از مقاطع گردید. کنترل و تولید رطوبت در سیستم مذکور با استفاده از بطری گازشوی انجام شد. با ریختن آب داخل بطری گازشوی و عبور قسمتی از هوای ورودی (با تنظیم شیر ورودی) از روی آن رطوبت داخل اتاقک تنظیم گردید. سنسور رطوبت سنج جهت پایش مستمر رطوبت نسبی داخل اتاقک تعبیه گردید. با استفاده از یک لامپ التهابی و تولید حرارت، و همچنین تعبیه یک سیستم مبتنی بر ترموکوپل دمای داخل اتاقک تنظیم گردید. با توجه به شرایط معمول در محیط‌های کاری، در این مطالعه شرایط اتاقک برای دما در سه دامنه‌ی ۲۰ و ۲۵ و ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت نسبی در سه

فردی بوده که باید در طی مدت زمان کار به فرد متصل باشد. استفاده از پمپ در طول هشت ساعت کار، عامل مزاحمی برای فرایند طبیعی شغلی افراد بوده و علاوه بر ایجاد مشکلات برای کارگر، می‌تواند منجر به ارائه نتایج ناصحیحی نیز گردد. استفاده از حلال در زمان آماده‌سازی نمونه، در روش مرسوم انستیتو ملی ایمنی و بهداشت شغلی آمریکا نیز علاوه بر مشکلات زیست‌محیطی می‌تواند منجر به مواجهه آزمایشگر با ترکیب‌های شیمیایی گردد. کاهش حساسیت روش به علت استخراج با مقادیر اندک از محلول بازیافت نیز از معایب دیگر روش مذکور می‌باشد. [۶].

روش میکرواستخراج فاز جامد توسط پاولیزسین و همکاران در سال ۱۹۹۱ برای اولین بار ارائه گردید. این روش به دلیل حساسیت زیاد در اندازه‌گیری آلاینده‌های فرار در ماتریکس‌های مختلف به‌ویژه در اندازه‌گیری مواد آلاینده در آب کاربرد وسیع و گسترده یافته است [۷-۱۰]. مطالعاتی نیز در زمینه‌ی قابلیت کاربرد این روش در نمونه برداری و تجزیه‌ی ترکیب‌های بیپوش کننده، هیدروکربن‌های فرار، سموم ارگانوفسفات ۲- کلروفل و پرکلرواتیلن در هوا انجام شده است [۱۱-۲۳]. کاربرد نمونه بردارهای مبتنی بر میکرواستخراج فاز جامد برای ارزیابی مواجهه استنشاقی طولانی مدت در کارگران به علت عدم تداخل در فعالیت کاری کارگر، باعث راحتی کارگر در زمان نمونه برداری می‌گردد. تاکنون مطالعات متعددی با استفاده از SPME جهت تعیین کلروبنزن در ماتریس‌های مائی انجام شده است [۱۰]. به طور مثال Paschake و همکاران از فیبر متیل سیلوکسان-دی وینیل بنزن برای نمونه برداری از ترکیبات فرار و کلروبنزن از نمونه‌های آب استفاده نمودند در این تحقیق سرعت انتشار آلاینده رابطه مستقیمی با همزدن نمونه داشت [۸]. مطالعه‌ای تاکنون در زمینه کاربرد SPME برای ارزیابی طولانی مدت مواجهه با کلر بنزن در هوا گزارش نشده است. با توجه به اهمیت اندازه‌گیری کلروبنزن و انتشار آن در هوای محیط کار، در این مطالعه کاربرد روش میکرواستخراج فاز جامد، جهت نمونه برداری

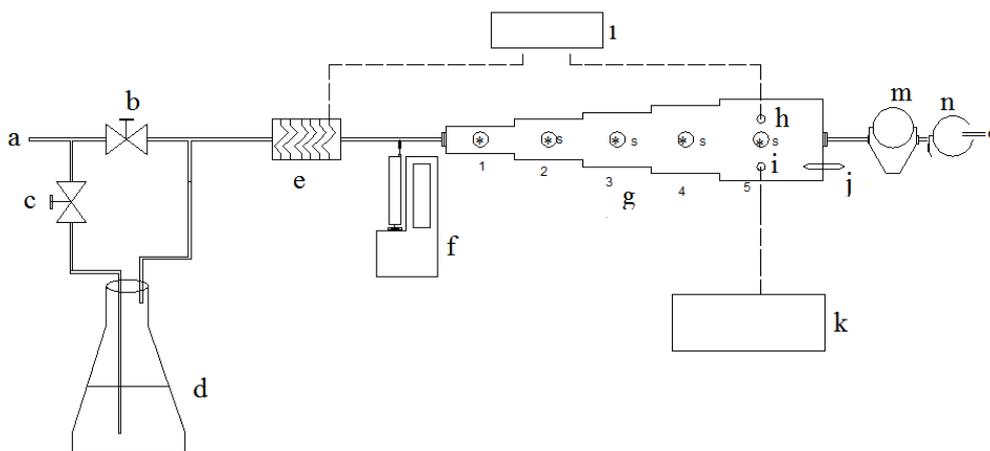
۱۰^۶: ضریب تبدیل
 MW: وزن مولکولی ماده‌ی شیمیایی برحسب گرم بر مول
 C: غلظت آلاینده در اتاقک برحسب پی پی ام
 ۶۰: ضریب تبدیل ساعت به دقیقه
 ۲۴/۴۵: حجم یک مول بخار در شرایط استاندارد ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و فشار ۱ اتمسفر

شرایط تجزیه و محاسبات: در این تحقیق از دستگاه گاز کروماتوگراف طیف‌بین جرمی (Varian 3800 GC-Saturn 2200) برای تجزیه‌ی آلاینده با روش میکرواستخراج فاز جامد استفاده گردید. به‌منظور جداسازی ترکیب‌ها از ستون موئینه VOCOL (60m×0.25 mm ID, 1.5µm) ساخت شرکت Supelco Bellefonte, PA, USA استفاده گردید. گاز حامل هلیوم با دبی یک میلی‌لیتر در دقیقه انتخاب گردید. برای جداسازی کلروبنزن، برنامه‌ریزی دمای اولیه ۸۰°C به مدت ۱ دقیقه، سپس افزایش با نرخ ۱۰°C/min تا دمای نهایی ۱۶۰°C در دستگاه تنظیم گردید. شدت منبع یونش ۷۰ الکترون‌ولت و دمای مسیر انتقال طیف‌سنج جرمی نیز ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد انتخاب گردید.

سطح ۳۰ و ۵۰ و ۸۰ درصد و سرعت در پنج سطح از ۰ تا ۵ متر بر ثانیه ایجاد گردید. در هر کدام از سطح مقطع‌های اتاقک، پورت نمونه‌برداری با SPME و همچنین زغال فعال قرار داده شد. پورت نمونه‌برداری با SPME با سیتوم آب‌بندی گردید. کلیه آزمایشات مربوط به شرایط بهینه‌ی استخراج و نمونه‌برداری بر روی نوع فیبر، روش نمونه‌برداری، دمای واجذب در بخش تزریق، زمان واجذب و تکرارپذیری آنالیز به‌منظور توسعه‌ی روش با SPME در اتاقک استاندارد انجام گردید. غلظت هوا در داخل اتاقک استاندارد به دو طریق تجربی (روش ۱۰۰۳ NIOSH) و تئوری تعیین گردید. در روش تئوری، غلظت آلاینده در اتاقک با استفاده از رابطه‌ی ذیل برآورد گردید [۲۲].

$$C = \frac{\rho \times 24.45 \times \text{InjectRatio} \times 10^6}{MW \times Q \times 60} \quad (1)$$

ρ : چگالی ماده‌ی شیمیایی برحسب گرم بر میلی‌لیتر
 Inject Ratio: نرخ تزریق دستگاه سرنگ پمپ برحسب میلی‌لیتر بر ساعت



شکل ۱- سیستم تست دینامیکی بر اساس روش تزریق با سرنگ پمپ

a: ورودی هوا b: شیرتنظیم ورود هوا بدون عبور از سیستم رطوبت زنی c: شیربای پاس عبور هوا از سیستم رطوبت زنی d: سیستم تولید رطوبت e: سیستم کویل گرمایشی f: پمپ تزریق سرنگ g: محفظه تولید اتمسفر و نمونه برداری h: پورت قرارگیری سنسور دما i: پورت قرارگیری سنسور رطوبت l: محل قرارگیری زغال فعال k: رطوبت سنج
 a: سیستم کنترل دما m: گازمترخشک کالیبره شده n: پمپ مکنده هوا o: به سمت هود. s: محل های نمونه برداری با SPME 1,2,3,4,5 : مقاطع با ابعاد مختلف اتاقک (اقتباس از منبع شماره ۲۲)

10 PEG 20 M on Chromosorb با ۱mm ID که با W100-120) انباشته شده است، برای جداسازی کلروبنزن استفاده گردید. نمونه‌های استاندارد کاربردی در دی‌سولفیدکربن تهیه و برای جداسازی کلروبنزن از برنامه‌ریزی با دمای اولیه‌ی ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه و سپس افزایش به میزان ۶ درجه‌ی سانتی‌گراد تا دمای ۱۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد استفاده گردید.

جهت انتخاب نوع فیبر از سه نوع فیبر:

PDM, 100 μm , (Poly Dimethyl siloxane);

(Poly Dimethyl siloxane carboxen) CAR/PDMS 75 μm ;

Poly Dimethyl – siloxane Divenyl PDMS /DVB 65 μm

ساخت شرکت سپلکو (SUPELCO) استفاده گردید. فیبرهای استفاده‌شونده برای ایجاد شرایط مناسب از نظر جذب آلاینده، در شرایط مناسب دمایی ۲۵۰ تا ۳۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه با توجه به توصیه‌ی شرکت سازنده در بخش تزریق گاز کروماتوگرافی قرار داده شدند تا هرگونه آلاینده‌ی جذب‌شده بر آن‌ها طی فرایند ساخت، حمل و نقل و نگهداری حذف گردد. علاوه بر این، استفاده از فرایند آماده‌سازی در فیبرها باعث حذف آلاینده‌های سنگین وزن باقی‌مانده در مرحله‌ی ساخت از روی فیبر می‌گردد.

در این مطالعه ۱۴۰ نمونه SPME و ۳۰ نمونه با روش NIOSH-۱۰۰۳ تهیه و تجزیه گردید. در هر مرحله آزمایش حداقل پنج نمونه تهیه شد و در صورت احتمال هر نوع خطا نمونه‌برداری تکرار گردید.

اعتبار سازی روش: دقت اندازه‌گیری‌ها با استفاده از دو معیار تکرارپذیری بین فیبر و تکرارپذیری تک‌فیبر انجام گرفت و برای بیان دقت آنالیز از شاخص انحراف معیار نسبی استفاده گردید. برای تعیین تکرارپذیری تک‌فیبر و تکرارپذیری بین فیبر از ۶ اندازه‌گیری در موقعیت‌های کاملاً یکسان استفاده گردید.

نمونه‌های استاندارد کاربردی مربوط به روش ریز استخراج فاز جامد در دامنه ۰/۵ تا ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ در ۱ بوتانول تهیه گردید. با تزریق نمونه‌های کاربردی به دستگاه آنالیز، منحنی کالیبراسیون تهیه شد که با تزریق فیبر نمونه به دستگاه و مقایسه‌ی مساحت پیک با منحنی کالیبراسیون غلظت جذب‌شده در فیبر تعیین گردید.

برای محاسبه‌ی مقدار کلروبنزن در هوا با روش SPME از قانون اول فیکس (معادله ۲) استفاده گردید [۲۴].

معادله‌ی ۲:

$$C = \frac{n.L}{Dg.A.t} \quad \text{یا} \quad n = \frac{Dg.A}{L} . C . t$$

C: غلظت کلروبنزن در هوا برحسب نانوگرم در سانتی‌متر مکعب

n: مقدار غلظت کلروبنزن در فیبر برحسب نانوگرم (محاسبه از طریق منحنی کالیبراسیون)

L: طول فیبر برحسب سانتی‌متر

A: سطح مقطع فیبر برحسب سانتی‌متر مربع

t: زمان نمونه‌برداری برحسب دقیقه

Dg: ضریب انتشار کلروبنزن در هوا برحسب سانتی‌متر مربع در دقیقه. ضریب انتشار بر این اساس برابر با $0.735 \text{ cm}^2/\text{s}$ از رابطه‌ی FSG تعیین گردید [۲۵].

حاصل ضرب نرخ انتشار در سطح مقطع انتشار بر طول مسیر انتشار (نرخ نمونه‌برداری) برای کلرو بنزن در شرایط تئوری تعیین گردید. واحد نرخ نمونه‌برداری در نمونه‌بردارهای غیرفعال، حجم بر زمان (واحد دبی) می‌باشد. این مقدار در شرایط استاندارد برای کلروبنزن برابر با $0.76 \text{ cm}^3/\text{s}$ تعیین گردید. نرخ نمونه‌برداری در شرایط واقعی به دما و سرعت جریان هوا و رطوبت وابسته است.

به منظور استخراج نمونه‌های تهیه‌شده با زغال فعال مطابق روش NIOSH-۱۰۰۳ از دی‌سولفیدکربن استفاده گردید [۶]. از دستگاه گاز کروماتوگراف با آشکارساز شعله‌ای یونی مجهز به ستون $1.5\text{m} \times 4$

به‌منظور تعیین صحت روش نمونه‌برداری هم‌زمان با روش NIOSH-1003 و روش SPME نمونه‌برداری و آنالیز در محدوده ۰/۵ تا ۵۰ قسمت در میلیون انجام گرفت و میزان همبستگی بین داده‌های دو روش تعیین گردید. حد تشخیص در این مطالعه، بر اساس کمترین مقدار نمونه‌ای که سیگنال آن در کروماتوگرام سه‌برابر خط پایه (نویز) مشخص و حد تشخیص کمی بر اساس ده‌برابر سیگنال خط پایه تعیین شده است.

آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS-16 انجام پذیرفت. بررسی تفاوت آماری نتایج با استفاده از آزمون ANOVA انجام گردید. شکل‌ها و نمودارها با نرم‌افزار اکسل شرکت مایکروسافت تهیه گردید.

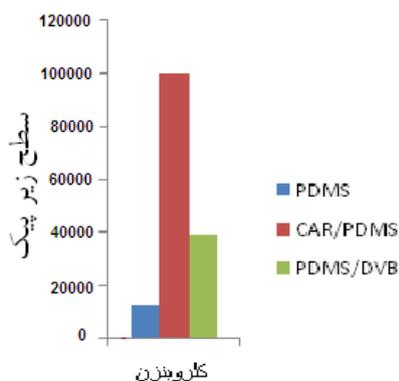
یافته‌ها

نتایج مربوط به نمونه‌برداری با فیبرهای مختلف در روش میکرواستخراج فاز جامد در غلظت ۱۰ ppm، برابر حد مجاز کلروبنزن در هوا، در شکل شماره ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که فیبر CAR/PDMS، مساحتی بیشتر از سایر فیبرها در نمونه‌برداری از کلروبنزن دارد. شرایط دمایی واجذب در بخش تزریق دستگاه گازکروماتوگرافی و در سه حالت دمایی ۲۰۰ و ۲۴۰ و ۲۸۰ ارزیابی گردید. میانگین مساحت پیک کلروبنزن در غلظت ۱۰ ppm در زمان‌های واجذب ۰/۵ و ۱ و ۲ دقیقه، برابر با ۵۵۸۰۸

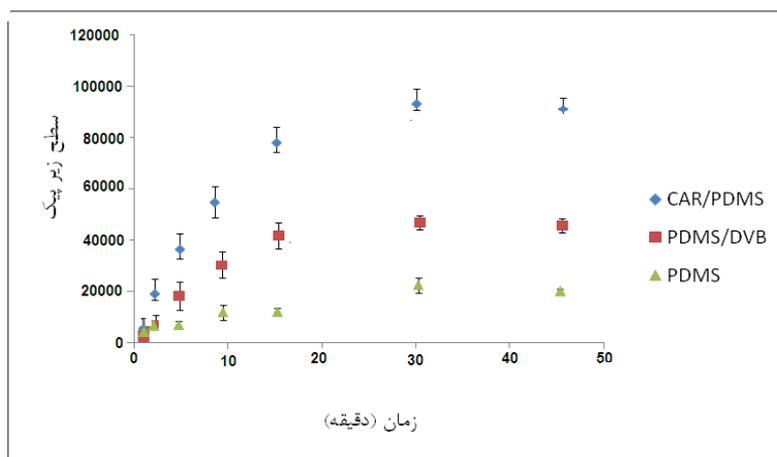
و ۵۵۴۳۸ و ۵۵۷۹۷ تعیین گردید که تفاوت معناداری بین آن‌ها دیده نمی‌شود ($p=0.43$). همچنین میانگین مساحت پیک در غلظت ۱۰ ppm در دماهای واجذب ۲۰۰ و ۲۴۰ و ۲۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد برابر با ۵۲۳۰۸ و ۵۵۱۱۶ و ۵۳۹۵۶ بود که در این بخش نیز تفاوت معناداری مشاهده نگردید ($p=0.26$).

نمونه‌های تهیه‌شده از لحاظ میزان باقی‌مانده‌ی مواد روی فیبر پس از واجذب (Carry over) نیز بررسی گردیدند. نتایج نشان داد که در شرایط واجذب به مدت ۲ دقیقه و دمای ۲۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد، پدیده‌ی ماندگاری وجود ندارد.

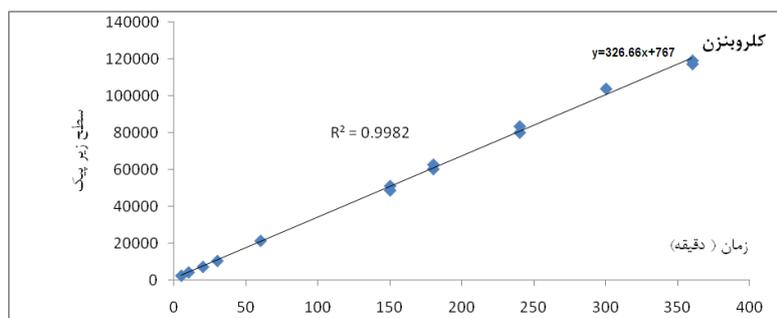
در نمونه‌برداری با روش میکرواستخراج فاز جامد از دو حالت در موقعیتی که سوزن SPME خارج از سرپوش باشد (Exposed) و در موقعیتی که داخل سرپوش قرار داشته باشد (Retracted)، برای انجام تحقیق و بررسی جذب کلروبنزن استفاده گردید. در صورت خارج‌بودن SPME از سرپوش، زمان رسیدن به تعادل، سی دقیقه تخمین زده شد (شکل شماره ۳). در هنگام قرار داشتن SPME داخل سرپوش، مدت‌زمان استخراج طولانی‌تر و زمان رسیدن به تعادل نیز بسیار طولانی بود و امکان تهیه‌ی نمونه‌های هشت ساعت و محاسبه‌ی میانگین مواجهه‌ی وزنی هشت‌ساعته (TWA) با آن وجود داشت (شکل شماره ۴).



شکل ۲- کارایی فیبرهای مورد مطالعه در جذب کلروبنزن در شرایط نمونه‌برداری غیرفعال و با شرایط مدت نمونه‌برداری ۵ دقیقه و دمای داخل اتاقک استاندارد نمونه‌برداری ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و غلظت ۱۰ ppm.



شکل ۳- پروفایل جذب کلروبنزن بر فیبرهای مطالعه شده در حالت سوزن خارج غلاف.



شکل ۴- پروفایل جذب کلروبنزن با فیبر CAR/PDMS 75 μm در حالت سوزن داخل غلاف.

نمونه برداری کاهش یافته و مقادیر اندازه گیری شده در سه سطح رطوبت با هم تفاوت معنی داری داشتند ($p < 0.05$). اندازه گیری و نرخ نمونه برداری در سرعت های مختلف نشان داد که در دامنه صفر تا ۰/۵ سانتی متر بر ثانیه، جریان هوا تأثیری بر نرخ نمونه برداری ندارد (جدول شماره ۱).

تأثیر زمان نگهداری بر میزان بازیافت کلروبنزن در شرایط مختلف نگهداری از لحاظ دما و مدت زمان نگهداری بررسی گردید. برای بررسی تأثیر مدت زمان نگهداری، سه حالت مختلف شامل نگهداری در دمای معمولی آزمایشگاه در دامنه ۱۸ تا ۲۱ درجه سانتی گراد و بدون سرپوش، نگهداری در دمای یخچال با سرپوش در دمای ۴ درجه سانتی گراد و نگهداری در یخچال بدون سرپوش بررسی شد (شکل شماره ۵). نتایج مربوط به نگهداری نمونه در مقایسه با روش

مقدار نرخ نمونه برداری کلروبنزن در شرایط استاندارد برابر با $0.076 \text{ cm}^3/\text{s}$ است و از آنجا که مؤلفه های محیطی همچون دما و رطوبت و سرعت هوا ممکن است بر نرخ نمونه برداری از کلروبنزن در شرایط نمونه برداری با روش میکرواستخراج فاز جامد داخل اتاقک استاندارد تأثیر بگذارد، مؤلفه های فوق بررسی گردید. در این شرایط بررسی سوزن داخل سرپوش و غلظت داخل اتاقک ده قسمت در میلیون بود و دما در دامنه ۱۰ درجه سانتی گراد (از ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی گراد در سه سطح)، رطوبت نسبی در سه سطح ۳۰ و ۵۰ و ۸۰ درصد و سرعت در اتاقک استاندارد از ۰ تا ۵ درصد متر بر ثانیه نمونه برداری شد و در هر بار نرخ نمونه برداری تعیین گردید. نتایج نشان داد که بر نرخ نمونه برداری ترکیب های بررسی شونده تأثیر چندانی ندارد (جدول شماره ۱). همچنین با افزایش رطوبت نرخ

جدول ۱- تأثیر دما و سرعت جریان هوا و رطوبت نسبی بر نرخ نمونه‌برداری (cm³/s) با روش میکرواستخراج فاز جامد (فیبر CAR/PDMS)

مؤلفه‌های محیطی	میانگین* cm ³ /s	انحراف معیار	حداکثر	حداقل
دما	۷,۵۴	۰,۶۰۵	۸,۲۱	۷,۰۲
درجه‌ی سانتی‌گراد	۷,۱۰	۰,۴۰۹	۷,۴۵	۶,۶۶
۱۵n=	۷,۸۱	۰,۵۲۱	۸,۲۹	۷,۲۵
رطوبت	۶,۹۴	۰,۵۲۵	۷,۳۶	۶,۳۹
(درصد)	۶,۰۷	۰,۲۷۴	۶,۳۰	۵,۷۷
۱۵n=	۵,۱۷	۰,۲۳۵	۵,۴۰	۴,۹۳
سرعت جریان هوا	۶,۳۵	۰,۲۲۹	۶,۵۲	۶,۰۹
برحسب	۷,۰۷	۰,۵۲۹	۷,۶۱	۶,۵۵
m/s	۷,۰۸	۰,۴۱۰	۷,۴۶	۶,۶۷
۲۵n=	۷,۲۸	۰,۴۲۳	۷,۶۱	۶,۸۱
	۷,۵۰	۰,۵۱۸	۷,۹۵	۶,۹۳

*مقدار نرخ نمونه‌برداری در شرایط استاندارد برابر با ۰/۰۰۷۶ cm³/s است و برای سهولت داده‌های به‌دست‌آمده در در ۱۰۰۰ ضرب شده است.

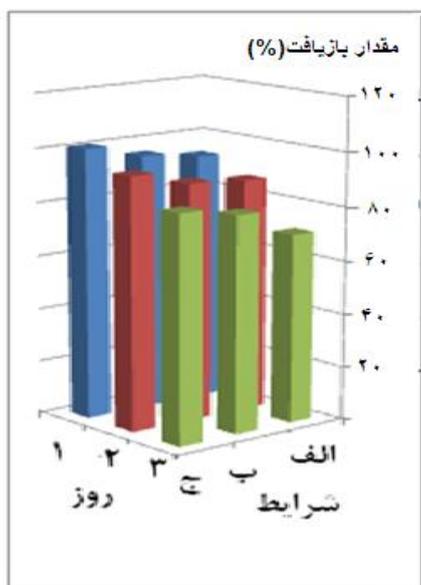
بوده است. تفاوت معناداری بین داده‌ی به‌دست‌آمده از دو روش مشاهده نگردید (p= ۰/۵۴).

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که با استفاده از فیبر

جاذب سطح نشان داد که نمونه‌های تهیه‌شده از کلروبنزن را به مدت چهار روز در یخچال و در ظرف سرپوش‌دار می‌توان نگهداری نمود. کاهش مدت‌زمان نگهداری از معایب روش ارائه‌شده برای نمونه‌برداری از کلروبنزن است، درحالی‌که نمونه‌های تهیه‌شده با روش جاذب سطحی بر اساس روش شماره‌ی ۱۰۰۳، NIOSH تا مدت سی روز در دمای اتاق امکان نگهداری دارند. برای بررسی تکرارپذیری بین فیبر از پنج فیبر CAR/PDMS در چهار هفته‌ی متوالی استفاده گردید. نمونه‌برداری از کلروبنزن با استفاده از این فیبرها در شرایط کاملاً یکسان صورت پذیرفت. مقدار انحراف معیار نسبی (RSD) تکرارپذیری بین فیبرها به‌صورت هفتگی برابر با ۱۲/۴ درصد و تکرارپذیری تک‌فیبر ۶/۱ درصد تعیین گردید و حد تشخیص آن در هوا ۶/۵ ppb و حد تشخیص کمی برابر با ۱۰/۱۲ ppb تعیین گردید.

برای تعیین صحت نتایج به‌دست‌آمده از روش میکرواستخراج فاز جامد، نمونه‌برداری هم‌زمان با استفاده از SPME و لوله‌ی زغال فعال مطابق روش NIOSH 1003 انجام گرفت. از ده نمونه‌ی تهیه‌شده به روش SPME و NIOSH در غلظت‌های ppm ۰/۵ تا ۲۰، ضریب همبستگی به‌دست‌آمده برابر با ۰/۹۸ عرض از مبدأ ۰/۰۹ و مقدار خطای استاندارد برابر ۰/۹۴



شکل ۵- میزان نسبی بازیافت، کلروبنزن از روی فیبر CAR/PDMS در زمان‌ها و شرایط مختلف نگهداری (محور عمودی بیانگر میزان درصد بازیافت است). الف. دمای محیط بدون سیتوم؛ ب. دمای محیط با سیتوم؛ ج. یخچال با سیتوم.

فیبر برای نمونه‌برداری بیرون باشد، زمان رسیدن تعادل فیبر CAR/PDMS با آلاینده سریع است و برای نمونه‌برداری در محیط کار که کارگر به مدت هشت ساعت مواجهه‌ی شغلی دارد، روش مناسبی نمی‌باشد؛ بنابراین، به نظر می‌رسد استفاده از شرایط نمونه‌برداری با فیبر در غلاف (Retracted condition) که زمان رسیدن به تعادل، در آن طولانی است برای تعیین مقادیر مواجهه طولانی‌مدت در طول شیفت مناسب تر باشد. علاوه بر این در شرایطی که فیبر SPME در غلاف است و کل اجزا داخل قاب نمونه بردار قرار دارد، به‌علت کوچکی اندازه نمونه‌برداری هیچ‌گونه مزاحمتی برای شاغلان ایجاد نمی‌نماید و باعث از بین رفتن تمرکز کارکنان شاغل نمی‌شود؛ درحالی‌که در روش‌های فعال مبتنی بر استفاده از پمپ نمونه‌برداری فردی، به‌دلیل اتصال پمپ به کارگر، فرد شاغل پس از چند ساعت احساس خستگی می‌کند؛ از این رو برای افرادی که بر اساس تمرکز فراوان عمل می‌نمایند (همچون جراحان)، روش SPME جایگزین مناسبی است.

نتایج پژوهش‌های دیگر محققان، در اندازه‌گیری ترکیب‌های بیهوشی، اپی کلروهیدرین، پرکلرواتیلن والرالید، فورفورال و اتیلن اکساید و ترکیب‌های فرار با فیبر CAR/PDMS بیان‌کننده‌ی حساسیت زیاد این فیبر در مقایسه با سایر فیبرها است [۱۹-۲۲، ۲۸، ۲۹]. شیوه‌ی سوزن در غلاف در نمونه برداری با SPME، باعث کاهش سطح انتشار، افزایش مسیر انتشار و در نهایت کاهش نرخ انتشار می‌گردد. علاوه بر این استفاده از این شیوه باعث می‌گردد که تغییرات محیطی دما و سرعت جریان هوا تأثیر چندانی بر نرخ نمونه‌برداری نداشته باشند. هرچند نتایج نشان داد که حتی در شیوه سوزن در غلاف نیز رطوبت نسبی به صورت معنی‌داری بر روی نرخ انتشار و مقدار آلاینده بازیافت شده از روی فیبر تأثیر گذار است.

SPME در هر دو حالت در تماس (سوزن از غلاف بیرون باشد) و در شرایط فیبر در غلاف، مانند نمونه‌برداری غیرفعال عمل می‌نماید. هرچند در شرایط

CAR/PDMS در روش میکرواستخراج فاز جامد می‌توان از کلروبنزن در هوا نمونه‌برداری کرد. این روش حساسیت زیادی دارد و می‌توان آن را به افراد شاغل وصل نمود و نمونه‌های فردی تهیه کرد. نتایج نشان داد که فیبر CAR/PDMS برای نمونه‌برداری، بهتر از سایر فیبرها است.

ظرفیت زیاد جذب سطحی CAR/PDMS و حساسیت فراوان آن، به ساختار فیزیکی این ترکیب مرتبط است. CAR/PDMS، حفره‌هایی به اندازه‌ی ۶ تا ۵۰ آنگستروم داشته و ساختار آن متشکل از کربن متخلخل با سطح مقطع بسیار زیاد، (در حدود ۱۲۰۰ مترمربع بر گرم) و تلفیقی از ماکروپور، مزوپور و میکروپور است. قابلیت جذب سطحی در این جاذب بر اساس کربوکسن ۱۰۰۶ بوده و با برقراری پیوند غیرقطبی ضعیف با آلاینده جذب سطحی رخ می‌دهد [۹، ۲۶، ۲۷]. مطالعات مختلف از موفقیت این جاذب برای نمونه‌برداری ترکیب‌های فرار و نیمه‌فرار گزارش داده اند [۱۹-۲۳].

در این پژوهش با بررسی دما و زمان مناسب برای واجذب مشخص گردید که تمام آلاینده‌ها در دمای ۲۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه در بخش تزریق دستگاه گازکروماتوگرافی واجذب می‌شوند. پدیده‌ی ماندگاری آلاینده در طی آنالیزهای مکرر مشاهده نگردید که بیانگر قابلیت کارایی فیبرها برای آنالیزهای متعدد می‌باشد. در این مطالعه، دامنه‌ی دمایی ۲۰۰ تا ۲۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد (در سه سطح) و دامنه‌ی زمانی یک تا دو دقیقه (در سه سطح) برای بررسی انتخاب گردید [۲۰-۲۲]. نتایج بررسی نشان داد که در هیچ‌کدام از این زمان‌ها و دماها، تفاوت معناداری در میزان آنالیت استخراج شده وجود ندارد. مطالعه‌ی درخصوص کاربرد این روش برای اندازه‌گیری آمین‌ها در هوا نیز نشان داده است که در دمای ۲۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد اینجکتور، زمان تأثیر چندانی بر میزان بازیافت ندارد و زمان ۱۲۰ ثانیه برای تمام ترکیب‌ها مناسب است [۲۶].

نتایج این پژوهش نشان داد که در شرایطی که سوزن

بهداشت حرفه‌ای، نشان می‌دهد که روش SPME قابلیت نگهداری کمتری دارد؛ در مقایسه با روش NIOSH (نگهداری ۱ ماه) دارد [۶].

مزایای دیگر روش SPME بی‌نیازی از محلول شیمیایی در آماده‌سازی نمونه و قابلیت استفاده‌ی مجدد در زمان طولانی است، درحالی‌که در روش‌های فعال نمونه‌برداری همچون روش شماره‌ی ۱۰۰۳، انستیتوی ملی ایمنی و بهداشت حرفه‌ای به محلول شیمیایی همچون دی‌سولفیدکربن نیاز دارد که بر سلامتی کارکنان آزمایشگاه تأثیر می‌گذارد. از معایب روش SPME، احتمال شکستن فیبر در اثر برخورد‌های فیزیکی و وابستگی محاسبات در هوا به تعیین ضریب انتشار است که تابع دما و فشار است و مقدار آن در شرایط استاندارد (دمای ۲۵ و فشار یک اتمسفر) تعیین شده است، درحالی‌که شرایط محیط کار یکسان نیست و نمونه‌برداری با خطایی جزئی همراه است. از دیگر معایب روش ریز استخراج فاز جامد این است که امکان تزریق مجدد نمونه وجود ندارد، درحالی‌که در روش NIOSH-1003 امکان تزریق نمونه وجود دارد.

در این مطالعه سعی گردید فاکتورهای عمده موثر بر روی عملکرد SPME به‌عنوان یک نمونه بردار پسیو در یک سیستم دینامیک اتمسفر استاندارد در دامنه غلظتی گسترده مورد بررسی قرار گیرد. هرچند مطالعه محدودیت‌های متعددی را نیز دارا می‌باشد. فیبرهای مورد کاربرد در این مطالعه همگی از نوع فیبرهای تجاری شرکت Supelco بودند. مطالعات آینده بر روی فیبرهای غیر تجاری و با ساختار متفاوت می‌تواند نتایج بهتری را ارائه نماید. علاوه بر این بررسی داده‌های مرفو لوژیکی ساختار سطح (SEM) و نیز مشخصات ویژگی‌های فیزیکی پورزیتی BET مساحت سطح ویژه، حجم منافذ و قطر منافذ (فیبرهای جاذب) در مطالعات آینده می‌تواند به درک بهتری از نحوه عملکرد این فیبرها در نمونه‌برداری از ترکیبات فرار و همچنین نقاط ضعف موجود از قبیل نگهداشت پذیری نامناسب فیبرها منجر گردد.

در این پژوهش مشخص گردید که با روش

فیبر در غلاف، با افزایش مسیر انتشار و همچنین کاهش سطح موجود برای پدیده‌ی انتشار، بر اساس قانون اول انتشار فیک نرخ انتشار آنالیت کاهش یافته و بدون ایجاد اشباعیت در جاذب میتوان مدت طولانی تری را نمونه‌برداری نمود. افزایش حساسیت روش آنالیز در SPME به علت تزریق کل نمونه‌ی جمع‌شده بر فیبر نیز از دیگر مزایای این روش می‌باشد. این روش بر اساس بازیافت حرارتی عمل می‌نماید و جایگزین مقرون به صرفه تری برای دستگاه واجذب حرارتی (Thermal Desorption) به‌شمار می‌رود.

در این مطالعه مشخص گردید که افزایش رطوبت نسبی هوا به‌طور معناداری باعث کاهش نرخ نمونه‌برداری نمونه‌بردار SPME و در نتیجه کاهش جرم کلروبنزن نمونه‌برداری شده می‌گردد. هرچند جاذب CAR/PDMS به‌طور معمول، جاذبی آبگریز مطرح شده است؛ اما پژوهش‌های متعددی نشان داده است که مولکول‌های آب با کاهش سطوح جذبی در این جاذب باعث کاهش قابلیت جذب سطحی آن می‌گردند. همچنین ملکول‌های آب با ایجاد رقابت در سطوح فعال باعث کاهش نمونه‌برداری ترکیب‌های مدنظر می‌گردند [۳۰].

نتایج پژوهش حاضر در زمینه‌ی نگهداری پس از نمونه‌برداری کلرو بنزن در دماهای متفاوت و محل‌های مختلف نشان داد که این شیوه‌ی نمونه‌برداری در مقایسه با روش‌های مبتنی بر لوله‌های جاذب، نقاط ضعفی دارند. در این پژوهش مشخص شده است که پوشاندن نوک فیبر با سپتوم باعث ماندگاری کلرو بنزن می‌گردد. مدت زمان نگهداری نمونه در این شیوه در یخچال و دمای (۴°C+) را تا سه روز میتوان افزایش داد. به‌نظر می‌رسد که پوشاندن مسیر انتشار می‌تواند با جلوگیری از آلوده‌شدن فیبر باعث کاهش انتشار عوامل مزاحم و گاهی رقابت‌پذیر بر روی فیبر گردد و با ایجاد شرایط محیطی مناسب در محیط کوچک‌شده‌ی درون سرنگ باعث نگهداری بهتر آنالیت گردد. مقایسه‌ی نتایج نگهداشت پذیری روش میکرواستخراج فاز جامد با روش شماره‌ی ۱۰۰۳ انستیتوی ملی ایمنی و

9. Alonso A, Fernández-Torroba M, Tena M, Pons B. Development and validation of a solid-phase microextraction method for the analysis of volatile organic compounds in groundwater samples. *Chromatographia* 2003;75(5):369-78.

10. Ghasemi E, Sillanpää M. Optimization of headspace solid phase microextraction based on nano-structured ZnO combined with gas chromatography-mass spectrometry for preconcentration and determination of ultra-traces of chlorobenzenes in environmental samples. *Talanta* 2014;130:322-7.

11. Li K, Santilli A, Goldthorp M, Whiticar S, Lambert P, Fingas M. Solvent vapour monitoring in work space by solid phase micro extraction. *J Hazard Mater* 2001;83(1):83-91.

12. Attari SG, Bahrami A, Shahna FG, Heidari M. Solid-phase microextraction fiber development for sampling and analysis of volatile organohalogen compounds in air *J environ health sci eng* 2014;12(123):1-8.

13. Attari SG, Bahrami A, Shahna FG, Heidari M. Single-walled carbon nanotube/silica composite as a novel coating for solid-phase microextraction fiber based on sol-gel technology. *J Anal Chem* 2015;70(10):1192-8.

14. Tajik, Leila, et al. "Determination of BTEX in urine samples using cooling/heating-assisted headspace solid-phase microextraction." *Chemical Papers*(2017): 1-10. DOI: 10.1007/s11696-017-0176-x

15. Jalali, Mahdi, et al. "Oxidative stress biomarkers in exhaled breath of workers exposed to crystalline silica dust by SPME-GC-MS." *Journal of research in health sciences* 16.3 (2016): 153-161.

16. Baimatova N, Kenessov B, Koziel JA, Carlsen L, Bektassov M, Demyanenko OP. Simple and accurate quantification of BTEX in ambient air by SPME and GC-MS. *Talanta* 2016;1(154):46-52.

17. Heidari M, Bahrami A, Ghiasvand A, Emam MR, Shahna FG, Soltanian AR. Application of graphene nanoplatelets silica composite, prepared by sol-gel technology, as a novel sorbent in two microextraction techniques. *J Sep Sci* 2015;38(24):4225-32.

18. Heidari M, Bahrami A, Ghiasvand A, Emam MR, Shahna FG, Soltanian AR. Graphene packed needle trap device as a novel field sampler for determination of perchloroethylene in the air of dry cleaning establishments. *Talanta* 2015; 131:142-8.

19. Zare Sakhvidi MJ, Bahrami A, Ghiasvand A,

میکرواستخراج فاز جامد و استفاده از فیبر CAR/PDMS در شرایطی که داخل سرپوش قرار دارد، می‌توان از کلروبنزن در مدت زمان هشت ساعت کاری و بیشتر نمونه‌برداری نمود. روش غیرفعال انتشاری جایگزینی مناسب در نمونه‌برداری با زغال فعال است. نمونه‌برداری با این روش آسان است و تغییرهای دما و سرعت جریان هوای محیط کار بر آن تأثیر ندارد. حداکثر به مدت چهار روز می‌توان نمونه‌ها را در یخچال نگهداری نمود. حد تشخیص آن در هوا ۶/۵ ppb و حد تشخیص کمی برابر با ۱۰/۱۲ ppb است که نشان‌دهنده حساسیت زیاد روش ارائه شده است.

منابع

1. Ware GW. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* New York: springer verlag; 1989.

2. Bingham E, Cohn B. *Patty's Toxicology*. 6th ed: Wiley Publicity; 2013.

3. Hajimiragha H, Ewers U, Jansen-Rosseck R, Brockhaus A. Human exposure to volatile halogenated hydrocarbons from the general environment. *Int Arch Occ Env Hea* 1986;58(2):141-50.

4. ACGIH. TLVs and BEIs based on the documentation of the threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices. Cincinnati: ACGIH; 2015.

5. Centre of Environmental and occupational Health. *Occupational exposure limits*. editor. 4th ed. Hamedan: Centre of Excellence for Occupational Health; 2016 (Persian)

6. NIOSH. *NIOSH Manual of Analytical Methods: Hydrocarbons, Halogenated*, 2010 [4th: [www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/1003.pdf.]

7. Pan L, Chong JM, Pawliszyn J. Determination of amines in air and water using derivatization combined with solid-phase microextraction. *J Chromatogr A* 1997;773(1-2):249-60.

8. Paschke A. P, Popp Diffusion-based calibration for solid-phase microextraction of benzene, toluene, ethylbenzene, p-xylene and chlorobenzenes from aqueous samples. *J Chromatogr A* 2004;1025(1):11-6.



30. Chen Y, Pawliszyn J. Time-weighted average passive sampling with a solid-phase microextraction device. *Anal Chem* 2003;75(9):2004-10.

Mahjub H, Tuduri L. Application of SPME as a passive air sampler for inhalation exposure assessment: a case study on 2-Chlorophenol. *Iran Occup Health* 2012;10(2):35-43 (persian).

20. Zare Sakhvidi MJ, Bahrami A, Ghiasvand A, Mahjub H, Tuduri L. SPME-based air sampling method for inhalation exposure assessment studies: case study on perchlorethylene exposure in dry cleaning. *Environ Monit Assess* 2013;185:4933-41.

21. Zare Sakhvidi MJ, Bahrami A, Ghiasvand A, Mahjub H, Tuduri L. Field application of SPME as a novel tool for occupational exposure assessment with inhalational anesthetics. *Environ Monit Assess* 2011;184(11):6483-90.

22. Zare Sakhvidi MJ, Bahrami A, Afkhami A, Rafiei A. Development of diffusive solid phase microextraction method for sampling of epichlorohydrin in air. *Int J Environ An Ch* 2012;92(12):1365-77.

23. Zare Sakhvidi MJ, Bahrami A, Ghiasvand A, Mahjub H, Tuduri L. Determination of Inhalational Anesthetics in Field and Laboratory by SPME GC/MS. *Anal Lett* 2012;45(4):375-85.

24. Koziel J, Jia M, Pawliszyn J. Air sampling with porous solid-phase microextraction fibers. *Anal Chem* 2000;72(21):5178-86.

25. Fuller EN, Schettler PD, Giddings JC. New method for prediction of binary gas-phase diffusion coefficients. *Ind Eng Chem* 1966;58(5):18-27.

26. Namiesnik J, Jastrzebska A, Zygmunt B. Determination of volatile aliphatic amines in air by solid-phase microextraction coupled with gas chromatography with flame ionization detection. *J Chromatogr A* 2003;1016(1):1-9.

27. Mills GA, Walker V. Headspace solidphase microextraction procedures for gas chromatographic analysis of biological fluids and materials. *J Chromatogr A* 2000;902(1):267-87.

28. Tsai S, Kao KY. Diffusive sampling of airborne furfural by solid-phase microextraction device with on-fiber derivatization. *J Chromatogr A* 2006;1129(1):29-33.

29. Tsai SW, Chang TA. Time-weighted average sampling of airborne valeraldehyde by a solid-phase microextraction device. *J Chromatogr A* 2002;954(1):191-8.

Sampling and quantification of chlorobenzene in air by solid phase microextraction-gas chromatography mass spectrometry

Mohammad Javad Zare Sakhvidi¹, AbdoRahman Bahrami*², Alireza Ghiasvand³

Received: 2016/04/14

Revised: 2017/04/06

Accepted: 2017/07/09

Abstract

Background and aims: The chlorobenzene is an intermediate chemical used in the production of commodities such as herbicides, dyestuffs, and rubber industry. However, it may cause neurological complications and have effects on the respiratory tract. In this research solid phase micro extraction (SPME) was used for the sampling of chlorobenzene in air. The optimum conditions for analysis with Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) were determined

Methods: The sampling of chlorobenzene was done in a dynamic atmosphere generation system with SPME. A kind of fiber was selected and the optimum temperature and desorption time in injection port of GC were determined and results were compared with the NIOSH-1003 method. Samples were analyzed by GC-MS.

Results: Carboxen-Polydimethylsiloxane (CAR/PDMS) in retracted mode had high absorption compared to other fibers and was selected for sampling. Desorption temperature in the injector of GC were also optimized in three levels from 200 to 280 and no significant difference were observed for extraction of analyte from SPME ($p>0.05$). The equilibrium time at exposed condition in SPME was 30 minute but equilibrium time is extended for several hours in retracted mode. There were no significant differences between sampling rates at different temperatures and air velocities ($p>0.05$) but, the increase of relative humidity (RH) had a negative effect on sampling rates ($p<0.05$).

Conclusion: It is concluded that SPME in retracted mode is an alternative method for determination of chlorobenzene in air and could be applied as a passive method for the determination of the time weight average (TWA) of chlorobenzene in workplaces.

Keywords: SPME, Chlorobenzene, Air, Passive sampling.

1. Assistant Professor, Department of Occupational Health, School of Public Health, Yazd University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

2. (**Corresponding author**) Professor, Excellence center of Occupational Health, Centre of Research in Health Sciences, School of Public Health, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran. bahrami@umsha.ac.ir

3. Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Lorestan University, Khoramabad, Iran.