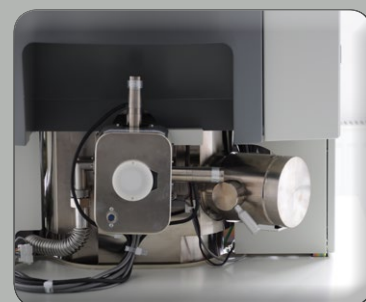


معرفی میکروسکوپ مقاومتی گسترده روبشی و برخی از کاربردهای آن



روش‌های آماده‌سازی و تصویربرداری از نمونه‌های زیستی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو



روش‌های کروماتوگرافی گازی به‌منظور تعیین باقیمانده سموم در مواد غذایی

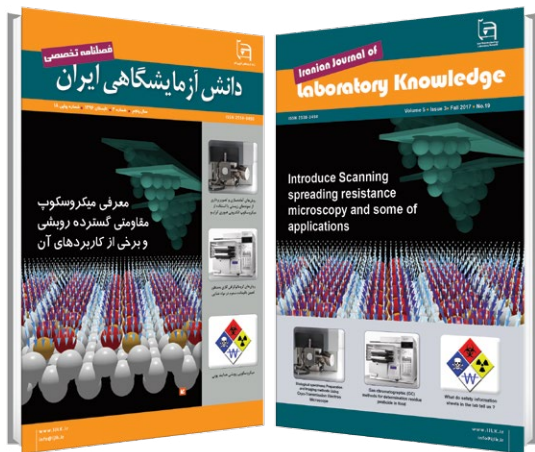


برگه‌های اطلاعات ایمنی در آزمایشگاه به ما چه می‌گویند؟

تعامل و هم‌افزایی مدیران مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی



ولادت حضرت محمد (ص) و امام صادق (ع) مبارک باد



فصلنامه تخصصی

دانش آزمایشگاهی ایران

سال پنجم ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۶ ■ شماره پیاپی ۱۹

ISSN 2538-3450

فهرست مطالب

اخبار

تعامل و هم‌افزایی مدیران مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی

۲ <

استاندارد



آزمون غیرمخرب پراش پرتو ایکس از مواد چند بلوری و آمورف

BS EN 13925-1:2003

۴ <



روش‌های آماده‌سازی و تصویربرداری از نمونه‌های زیستی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو

۵ <



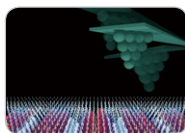
روش‌های کروماتوگرافی گازی به‌منظور تعیین باقیمانده سموم در مواد غذایی

۱۵ <



برگه‌های اطلاعات ایمنی در آزمایشگاه به ما چه می‌گویند؟

۲۱ <



معرفی میکروسکوپ مقاومتی گسترده روبشی و برخی از کاربردهای آن

۲۰ <

مقالات

صاحب امتیاز: شبکه آزمایشگاهی فناوری نانو

سرمدبیر: رضا اسدی فرد

مدیرمسئول: مجتبی نسب

مدیریت اجرایی: شبکه آزمایشگاهی فناوری نانو

دبیر مقالات: داود قزایلو

همکاران این شماره: فریبا علی، مژگان فلاحتی، مریم حسن‌زاده، ساناز شبیکه، خدیجه حاجی بابایی، اعظم حمله‌داری، خدیجه اشجعی، ندا رحمانی‌نسب، اعظم نارویی، مریم خسروی، مریم مغفوریان، مریم خراشادی‌زاده، صدیقه صادق‌حسینی

طراحی و صفحه‌آرایی: سیمین رفیع‌پور لنگرودی

ویراستاران: زینب زرینچه

نشانی: تهران، صندوق پستی ۳۴۴-۱۴۵۶۵

تلفن: ۰۲۱ ۶۳۱۰۳۴۵۳

پایگاه اینترنتی: www.IJLK.ir

پست الکترونیکی: info@ijlk.ir



شبکه آزمایشگاهی فناوری نانو

تامل و هم‌افزایی مدیران مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی



چهارمین نشست مدیران شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی ایران ۲۹ آبان ۹۶ در دانشگاه علم و صنعت برگزار شد.

فناوری‌های راهبردی ایران، ضمن تسلیت به مردم زلزله زده غرب کشور، از کمک‌های مردمی در قالب شبکه‌ای همگانی یاد کرد و گفت: «نیاز کشور، این شبکه‌های مردمی در کنار دولت است که امروزه در دنیا نیز شاهد آن هستیم. فعالیت شبکه آزمایشگاهی نیز در همین راستا نیازمند همت اعضا برای حل معضلات علمی و صنعتی کشور است».

در ادامه این نشست، نرم افزار جامع مدیریت اطلاعات آزمایشگاهی (LABLEAD) نیز توسط مدیر عامل شرکت مدیریت فناوری‌ها (DANAFIS) معرفی شد. این نرم‌افزار، برای رفع نیاز آزمایشگاه‌های کشور و با رعایت چارچوب استانداردهای تخصصی آزمایشگاه‌ها (ISO/IEC17025) به سفارش شبکه آزمایشگاهی از ابتدای سال ۱۳۹۱ به مراکز آزمایشگاهی در سراسر کشور عرضه شده که ویژگی‌های اختصاصی آن عملکرد بالا، عدم محدودیت تعداد کاربران، قابلیت تنظیم خودکار ایمیل و پیامک، صدور فاکتور و چاپ بارکد و اتصال به بارکد خوان است؛ این نرم‌افزار فرآیند-محور آزمایشگاهی، با کاربرد بومی و ساخت ایران است.

همچنین در این نشست، از برگزیدگان شبکه آزمایشگاهی در سال ۹۵ تقدیر شد؛ آزمایشگاه‌های برتر عبارتند از: رتبه اول، مرکز پژوهش متالورژی رازی؛ رتبه دوم، پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران؛ رتبه سوم، پژوهشگاه مواد و انرژی؛ رتبه چهارم، شرکت خدماتی آموزشی و تحقیقاتی مرجع خاتم؛ رتبه پنجم، مجتمع خدمات آزمایشگاهی دانشگاهی صنعتی شریف؛ رتبه ششم، مرکز تحقیقات فرآوری مواد معدنی ایران و رتبه هفتم، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران. همچنین از ۶ رابط برگزیده شبکه و ۲۰ رابط منتخب و ۲۰ کارشناس منتخب نیز در ادامه این نشست تقدیر و قدردانی شد.

در پایان این نشست نیز شرکت کنندگان از تجهیزات و آزمایشگاه‌های دانشگاه علم و صنعت بازدید کردند.

هم‌زمان با برگزاری چهارمین نشست مدیران شبکه آزمایشگاهی کشور در دانشگاه علم و صنعت ایران در تاریخ ۲۹ آبان ماه ۱۳۹۶ بیش از ۳۰۰ عضو این شبکه به بحث و تبادل نظر پرداختند. این نشست هرساله با هدف آشنایی بیشتر اعضا از توان آزمایشگاهی و تبیین اهداف و راهکارهای موجود در زمینه خدمات آزمایشگاهی برگزار می‌شود.

دکتر تورج محمدی، معاون پژوهش و فناوری دانشگاه علم و صنعت، در چهارمین نشست مدیران مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی، که در مجتمع امام خمینی (ره) این دانشگاه برگزار شد، ضمن خیرمقدم به میهمانان و اعضای شبکه آزمایشگاهی گفت: «بر اساس ارزیابی‌های داخلی و بین‌المللی، دانشگاه علم و صنعت ایران یکی از سه دانشگاه برتر فنی و مهندسی کشور بوده که بخشی از آن به دلیل دستاوردهای آزمایشگاهی است. حجم معاملات آزمایشگاه‌های این دانشگاه با بخش صنعت کشور، رشد صعودی داشته به طوری که درآمد حاصل از این تعاملات در سال ۹۴، بالغ بر ۱۰ میلیارد تومان و در سال ۹۵ در حدود ۱۸ میلیارد تومان و تا پایان شهریور ماه سال ۹۶، این میزان بالغ بر ۱۳ میلیارد تومان بوده است. با این وجود برای توسعه زیرساخت‌های کشور باید خدمات آزمایشگاهی در تمام سطح کشور گسترش یابد. همچنین ارائه خدمات علمی به همراه خدمات فنی و تحلیل داده به صنعت می‌تواند منجر به افزایش تعاملات آزمایشگاهی با صنعتگران شود».

وی در ادامه افزود: «امیدوارم تعاملات بین وزارت علوم تحقیقات و فناوری و معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری و دانشگاه‌ها افزایش یابد؛ زیرا نیازمند بهبود روزافزون زیرساخت‌ها و تأمین نیاز تحقیقاتی کشور هستیم و با همکاری بخش‌های مختلف می‌توانیم برای تعالی و رشد بیشتر تولید علم و فناوری تلاش کنیم».

در ادامه، دکتر رضا اسدی‌فرد، مدیر شبکه آزمایشگاهی

رابطین برگزیده ارزیابی سال ۱۳۹۵ شبکه

اسامی کارشناسان به ترتیب حروف الفبا	نام مرکز
محبوبه ابوالحسنی	شرکت تولیدی و تحقیقات صنعتی آسار کویر یزد
نوید احمدی نسب	پژوهشگاه مواد و انرژی
سعید اکبریان	مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه تهران
الهام بازاریار	مجتمع خدمات آزمایشگاهی دانشگاه صنعتی شریف
مریم خسروی	پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران
رویا خوش سفر	شرکت تحقیقات مواد معدنی کانساران بینالود
مریم رباط میلی	مؤسسه پژوهشی علوم و فناوری رنگ و پوشش
فاطمه رضایی	شرکت خدماتی، آموزشی و تحقیقاتی مرجع خانم تهران
روشنک ساده	مرکز پژوهش متالورژی رازی
فریبا سرو جهانی	سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران
محمد شاکری	دانشگاه دامغان
علی اکبر صالحی سرشت	پژوهشگاه صنعت نفت
محمد هادی کرباسی	مرکز تحقیقات فرآوری مواد معدنی ایران
مینا محبی مراد	پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران
سمانه منتظری	پژوهشگاه فناوری‌های نوین علوم زیستی جهاد دانشگاهی ابن سینا
اکبر مهدیلو	دانشگاه صنعتی امیرکبیر
محمد نگهداری	شرکت مهندسی مشاور آزمون فولاد
شهره هوشمند راد	دانشگاه اصفهان
مهین هوشیار صادقیان	دانشگاه فردوسی مشهد
مهران وحدانی	جهاد دانشگاه واحد صنعتی شریف



مراکز برتر ارزیابی سال ۱۳۹۵ شبکه

رتبه	نام مرکز
۱	مرکز پژوهش متالورژی رازی
۲	پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران
۳	پژوهشگاه مواد و انرژی
۴	شرکت خدماتی، آموزشی و تحقیقاتی مرجع خانم
۵	مجتمع خدمات آزمایشگاهی دانشگاه صنعتی شریف
۶	مرکز تحقیقات فرآوری مواد معدنی ایران
۷	پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران

کارشناسان برگزیده ارزیابی سال ۱۳۹۵ شبکه

اسامی رابطین به ترتیب حروف الفبا	نام مرکز
بهزاد ادیبی	پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری
مینا اسفندیاری	مرکز تحقیقات فناوری بن یاخته
فریبا اسماعیلی	مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
مرضیه اکبری	دانشگاه اصفهان
فریده باتقوا	پژوهشگاه آنالیزی کیمیاژی
شیرین جلی معین	مؤسسه پژوهشی علوم و فناوری رنگ و پوشش
سمیه جلیل زاده	پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران
نازلی دارخال	پژوهشگاه میراث فرهنگی و گردشگری
عباس دریانی	دانشگاه دامغان
مصطفی دستمردی	پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران
آزاده رضا	سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران
معصومه رضانی‌قرا	دانشگاه علم و صنعت ایران
افسانه زلکی نژاد	دانشگاه شهید چمران اهواز
بهارک سلطانی	دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
مهشید شفیع زاده	مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه تهران
صدیقه صادق حسنی	پژوهشگاه صنعت نفت
شمیم صمدیان	پردیس علوم دانشگاه تهران
سید احمد ظهیر میردامادی	پژوهشگاه مواد و انرژی
فریبا علی	دانشگاه صنعتی امیرکبیر
مرتی فاراب	پژوهشگاه فناوری‌های نوین علوم زیستی جهاد دانشگاهی ابن سینا
مهرداد محرمی	مرکز پژوهش متالورژی رازی
سمیرا میرجلیلی	شرکت تولیدی و تحقیقات صنعتی آسار کویر یزد
سیما میرزایی	جهاد دانشگاهی واحد صنعتی شریف
محمود نادری	مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور
علی نخستین	دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز
محمد همایونی	مرکز تحقیقات فرآوری مواد معدنی ایران



آزمون غیرمخرب پراش پرتو ایکس از مواد چند بلوری و آمورف

BS EN 13925-1:2003

بخش ۱: اصول عمومی

پراش پودری پرتو ایکس (XRPD) یک روش آزمون غیرمخرب قدرتمند (NDT) برای تعیین محدوده‌ای از ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی مواد محسوب می‌شود. این موارد شامل نوع و مقدار فازهای موجود، سلول واحد و ساختار بلورشناسی، بافت بلورشناسی، ماکروتنش، اندازه بلورک و میکروتنش، تابع توزیع شعاعی است. استاندارد اروپایی BS EN 13925-1:2003 جنبه‌های عمومی روش پراش پودری پرتو ایکس و کاربردهای آن را بیان می‌کند اما این استاندارد به صورت تفضیلی یا خاص به هر یک از حوزه‌های کاربرد با نوع تحلیل نمی‌پردازد. در این استاندارد با توجه به گسترده بودن کاربری پراش‌سنج‌های با هندسه براگ-برنتانو، با جرئیات بیشتری به این استاندارد نسبت به سایر پراش‌سنج‌ها توجه دارد.

در بخش ابتدایی این استاندارد اروپایی، اصطلاحاتی چون پودر، بلورک، نمونه آزمون، فاز و خط پراش تعریف می‌شود. سپس اصول عمومی پراش پودری پرتو ایکس، چگونگی تداخل سازنده بین پرتوهای پراکنده شده از اتم‌ها و شرط گزینشی براگ را توصیف می‌نماید. در پراش پودری پرتو ایکس، نمونه آزمون می‌تواند یک قطعه جامد مانند فلز، سرامیک، پلیمر، شیشه، فیلم نازک و یا حتی مایع باشد.

در این استاندارد، مشخصه‌های اصلی پروفایل از جمله موقعیت خط پراش، توصیف پروفایل پراش، FWHM و مطالب مرتبط با آن بررسی شده و در نهایت، با توضیح مختصری از کاربردهای الگوی پراش در تعیین خواص نمونه آزمون (آنالیز کیفی و کمی، برآورد کسر بلوری و آمورف، تعیین پارامترهای شبکه، تعیین ساختارهای بلوری، توصیف بافت، تعیین ماکروتنش، تعیین اندازه بلوری، کرنش شبکه و تابع توزیع شعاعی) و بررسی آن‌ها در شرایط آزمایشگاهی خاص پایان می‌گیرد.

مترجم

فریبا علی، مژگان فلاحتی، مریم حسن زاده

sohananotech@gmail.com

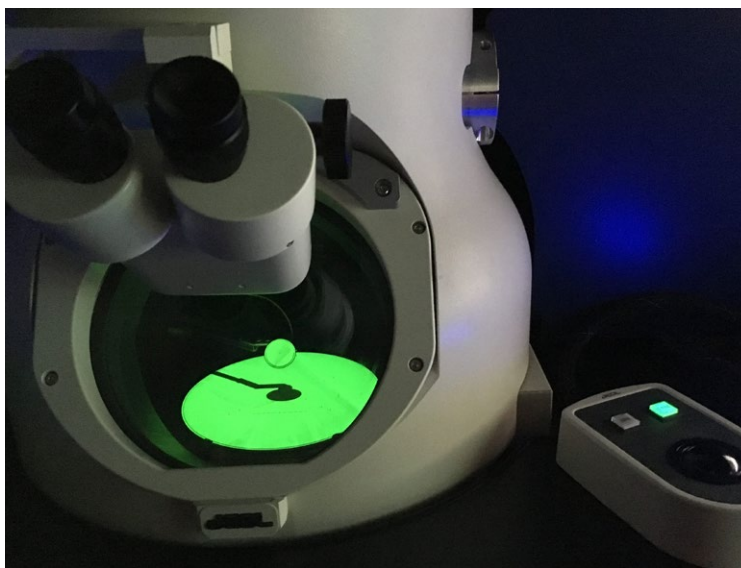
کارشناس ارشد فیزیک حالت جامد، دانشگاه صنعتی امیرکبیر و عضو کارگروه تخصصی پرتو ایکس
faliars@gmail.com

کارشناس ارشد فیزیک اتمی مولکولی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر و عضو کارگروه تخصصی پرتو ایکس
کارشناس ارشد فیزیک، دانشگاه سمنان و عضو کارگروه تخصصی پرتو ایکس

نویسندگان

ساناز شبیکه*

*researchers4u@yahoo.com



روش‌های آماده‌سازی و تصویربرداری از نمونه‌های زیستی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو

واژه‌های کلیدی

میکروسکوپ الکترونی
عبوری کرایو، انجماد با
اعمال فشار زیاد، انجماد
از طریق فرو بردن
سریع^۲.

چکیده

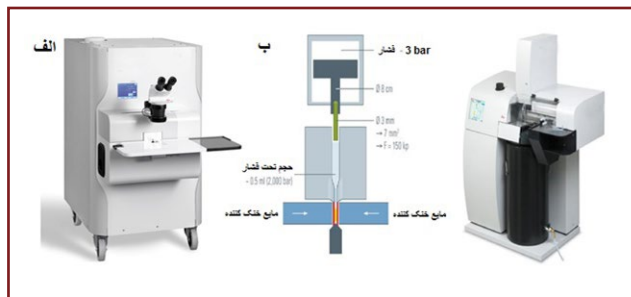
نخستین میکروسکوپ با منبع نور توسط زاکاریاس یانسن^۳ هلندی در دهه ۱۶۰۰ میلادی و نخستین میکروسکوپ الکترونی با منبع الکترون نیز حدود ۳۰۰ سال بعد توسط مکس نول^۴ و ارنست روسکا^۵ در دهه ۱۹۳۰ اختراع شد [۱]. به دلیل استفاده از منبع الکترون، فضای خلاء، لنزها و میدان‌های مغناطیسی مختلف میکروسکوپ الکترونی عبوری^۶ بزرگنمایی و رزولوشن بسیار بیشتری نسبت به میکروسکوپ معمولی ارائه می‌دهد. شکل‌گیری تصویر در میکروسکوپ‌های TEM مستلزم عبور الکترون‌های زیادی از نمونه است. به همین منظور ضخامت نمونه باید آنقدر کم باشد که الکترون‌ها قادر به عبور از آن باشند. برآورده شدن این امر به‌خصوص در زمینه‌ی آماده‌سازی نمونه‌های بافتی و سوسپانسیون زیستی برای مشاهده درون میکروسکوپ TEM از اهمیت بالایی برخوردار است. با توجه به پیشرفت‌های به وقوع پیوسته در حوزه‌های فناوری و پزشکی، مشکلات مربوط به روش‌های مرسوم آماده‌سازی نمونه‌های زیستی نظیر: آبیگری، نفوذدهی رزین پلاستیکی به جای آب درون بافت، حفظ ساختار درون سلولی آنها نزدیک به حالت زنده، طولانی بودن فرآیند آماده‌سازی، رنگ‌آمیزی منفی و غیره منجر شده‌است تا محققان حوزه زیست‌شناسی به دنبال روش‌هایی کارآمد برای آماده‌سازی و مشاهده‌ی نمونه‌های زیستی باشند. در دهه ۱۹۸۰ گروهی از پژوهشگران موفق به آماده‌سازی و تصویربرداری از یک نوع ویروس با روش انجماد درون میکروسکوپ TEM شدند. پس از مشاهده‌ی مزایای روش تصویربرداری در حالت انجماد، انگیزه‌ی اولیه برای طراحی میکروسکوپ الکترونی که دارای قابلیت نگهداری نمونه در دمای انجماد باشد در ذهن محققان این حوزه پدید آمد. این نوع میکروسکوپ‌ها با نام «میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو^۷» شناخته شده‌اند. منشأ کلمه CRYO یا CRYOS یونانی و به معنی «دمای انجماد» است. نمونه‌های زیستی برای مشاهده درون این نوع میکروسکوپ ابتدا سریع منجمد شده، و بیشتر آنها پس از طی کردن فرآیندی کوتاه بدون اعمال مرحله آبیگری آماده می‌شوند. در این مقاله، روش‌های آماده‌سازی نمونه‌های زیستی مختلف برای مشاهده و تصویربرداری درون میکروسکوپ Cryo-TEM به‌صورت کامل شرح داده شده‌است.

میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو نوعی از میکروسکوپ الکترونی عبوری مرسوم بوده که نمونه زیستی درون آن در دمای تبرید (معمولاً برابر با دمای نیتروژن مایع) بررسی می‌شود. لازم به ذکر است تا پیش از به‌وجود آمدن روش میکروسکوپ الکترونی کرایو، دو روش برتر و محبوب برای بررسی ساختار نمونه‌های زیستی در سطح مولکولی و اتمی با عناوین: بلور نگاری با استفاده از اشعه ایکس^۱ و طیف‌سنجی تشدید مغناطیسی هسته‌ای^{۱۰} در اختیار محققان بوده‌اند. به دلیل محدودیت ساختار این مقاله از شرح دو روش فوق خودداری می‌شود. چالش‌های موجود در هر یک از این دو روش و نیاز محققان برای به حداقل رساندن میزان تخریب نمونه‌های زیستی توسط اشعه الکترونی برای تشخیص بهتر، منجر به ابداع روش CRYO-TEM شد. مقدار الکترون‌های ساطع شده از تفنگ الکترونی میکروسکوپ TEM که برای تصویربرداری از نمونه عبور می‌کند به اندازه‌ای است که قادر به تخریب ساختارهای حساس آن است. علاوه بر این، خلاء بالای موجود در ستون میکروسکوپ الکترونی، محیط کاملاً نامناسبی را برای نمونه‌ی زیستی ایجاد می‌کند.

محققان برای غلبه بر چالش خلاء از روش رنگ‌آمیزی منفی استفاده کردند که تا حدودی موفقیت‌آمیز بود. به دلیل اعمال مرحله آبگیری و جایگزین نمودن آب درون نمونه با رزین پلاستیکی، نمونه‌های زیستی در صورت قرار گرفتن در معرض تابش مستقیم الکترون‌ها مستعد به تخریب هستند. آب دشمن شماره یک متخصصین حوزه آماده‌سازی نمونه‌های زیستی برای میکروسکوپ الکترونی محسوب می‌شود. در بیشتر مواقع حتی با تجربه‌ترین متخصصان آماده‌سازی نمونه‌های زیستی در مرحله آبگیری مقلوب این دشمن می‌شوند (بدین معنی که مولکول‌ها پس از خارج کردن آب از نمونه تخریب می‌شوند). محققان پس از تلاش‌های بی‌شمار به این نتیجه رسیدند که با خنک نگاه داشتن نمونه زیستی می‌توان بر این چالش غلبه نموده و این دشمن را به یک دوست مفید مبدل ساخت. به‌طور کلی هدف اصلی از بکارگیری روش کرایو، انجماد سریع نمونه‌های زیستی بدون از بین بردن یا جایگزینی مایع درون آنها است.

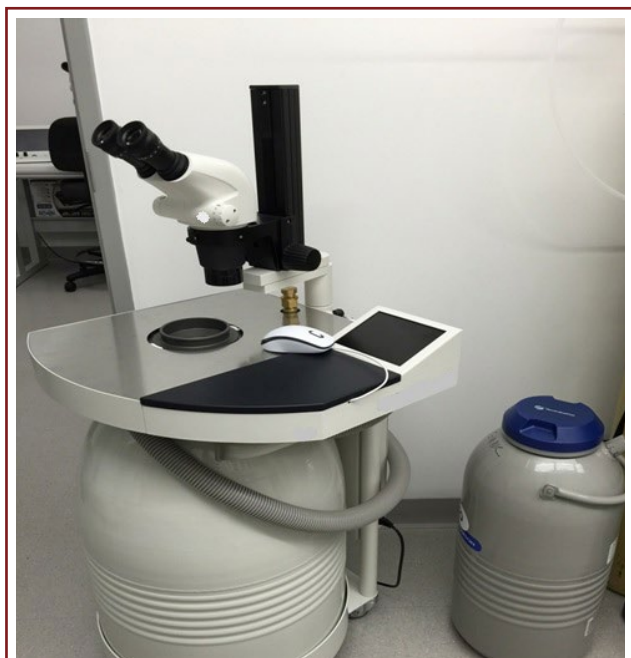
استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو به محققان کمک می‌کند که بدون استفاده از رنگ‌های در برگیرنده فلزات سنگین (نظیر: اورانیل استات، سترات سرب و غیره) کمپلکس‌های زیستی از قبیل: ویروس‌ها، ریبوزوم‌ها، میتوکندری‌ها، کانال‌های یونی و درشت مولکول‌های ۲۰۰ کیلو دالتونی یا بزرگتر ثابت نگاه داشته شده درون محیط یخ شیشه‌ای را مشاهده و تفسیر کنند. در صورت آماده‌سازی نمونه با کمک روش کرایو از مواردی نظیر: وقوع تغییرات فراساختاری، توزیع مجدد المان‌ها و شسته شدن مواد تشکیل دهنده‌ی نمونه جلوگیری به عمل می‌آید. به‌منظور حصول تصاویری باکیفیت و رزولوشن بالا از نمونه‌هایی که به‌طور سریع منجمد شده باید شرایط ذیل فراهم باشد: الف- کنترل و ثابت نگاه داشتن دمای انجماد نمونه در تمامی مراحل آماده‌سازی و تصویربرداری و ب- به حداقل رساندن ضخامت نمونه‌ی (۳۰۰-۱۰۰ nm) قرار گرفته شده روی گرید. بیشتر میکروسکوپ‌های الکترونی عبوری کرایو برای ارائه رزولوشن بالا، در برگیرنده ولتاژ ۳۰۰ کیلوولتی هستند. بنابراین، میانگین الکترون‌های ساطع شده با کمک منبع ۳۰۰ کیلوولتی پیش از پراکنده شدن، تنها از ۲۶۰ نانومتر از سلول عبور می‌کنند. به همین دلیل در پایان مراحل آماده‌سازی باید نمونه‌ای با ضخامت کمتر از ۵۰۰ نانومتر به‌دست آید. به‌طور معمول به‌منظور کمینه‌سازی تخریب نمونه‌های قرار گرفته تحت اشعه در هنگام تصویربرداری از حالت دوز پایین الکترون استفاده می‌شود (حدود دوز الکترون در این حالت برابر با $20-10 \text{ e}/\text{A}^2$ است). علی‌رغم مزایای قابل توجه روش میکروسکوپ الکترونی کرایو برای مشاهده‌ی درون سلول‌ها با رزولوشنی نزدیک به سطح اتمی، این روش دارای معایبی نیز بوده که در ادامه این مقاله به آنها پرداخته می‌شود. ساختار کلی این مقاله به شرح ذیل است. در بخش (۲)، دو روش محبوب: انجماد با اعمال فشار زیاد^{۱۱} و انجماد از طریق فرو بردن سریع^{۱۲} به ترتیب برای آماده‌سازی نمونه‌های زیستی در قالب بافت و مایع به‌طور کامل شرح داده می‌شود. در بخش (۳)، مزایا و معایب استفاده از روش میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو به‌صورت فهرست‌وار ارائه شده‌است. بخش (۴)، روش‌های تصویربرداری و پردازش نوین وابسته به میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو را به‌طور خلاصه شرح می‌دهد. در بخش (۵) نیز نتیجه‌گیری کلی از این مقاله ارائه شده‌است.

این فشار زیاد، جلوگیری از تشکیل شدن بلورهای یخی درون بافت است. اگر آب را به آهستگی خنک کنید مولکول‌های آب به‌منظور یافتن پیوند هیدروژنی جنبش پیدا کرده و یک بلور یخی بزرگ را تشکیل می‌دهد. شایان ذکر است که تراکم بلور یخی کمتر از آب در حالت مایع است. در این حالت حجم آب هم‌زمان با تشکیل بلورهای مذکور افزایش می‌یابد. در صورت وقوع این رویداد در هنگام انجماد یک بافت، سلول‌ها یکی پس از دیگری تخریب می‌شوند. البته اگر بافت مربوطه در معرض فشار زیاد قرار بگیرد، مولکول‌های آب جنبشی نداشته و بلورهای یخی نیز تشکیل نمی‌شوند.



شکل ۲: دو نمونه مختلف از دستگاه انجماد با اعمال فشار بسیار زیاد (HPF) [۲].

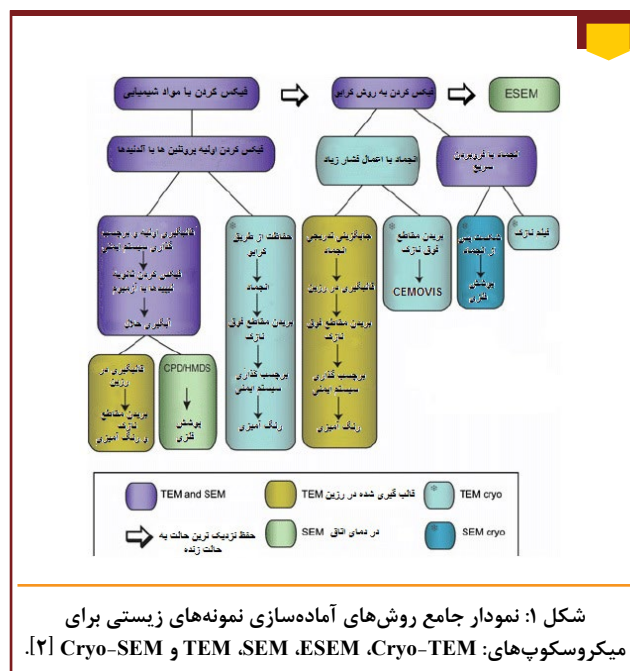
در عمل شاید چند میکروبلور یخی درون بافت ایجاد شود، اما به حدی نیستند که سلول‌ها را نابود کنند. در مرحله جایگزینی فرآیند انجماد (شکل (۳)) هنگامی که بلوک بافت در دمایی پایین‌تر از دمای فریزر نگهداری شده، می‌توان عملیات فیکس کردن^{۱۵}، آب‌گیری^{۱۶} و نفوذپذیری^{۱۷} با حلال بلوک مذکور را به تدریج در دماهای بالاتر (۲۰- درجه) انجام داد. در مرحله نهایی فرآیند آماده‌سازی یعنی قالب‌گیری در دمای پایین، عملیات تعبیه نمونه درون رزینی با قابلیت پخته شدن در دمای پایین صورت می‌پذیرد.



شکل ۳: نمونه‌ای از دستگاه جایگزینی تدریجی فرآیند انجماد [۳].

روش‌های آماده‌سازی نمونه‌های زیستی برای Cryo-TEM

به‌طور کلی، نمونه‌های زیستی را می‌توان به دو دسته: ۱- نمونه‌های بافت و ۲- نمونه‌های سوسپانسیون تقسیم نمود. با توجه به این که ضخامت نمونه‌ها در میکروسکوپ الکترونی کرایو نباید از ۵۰۰ نانومتر تجاوز کند، لذا پژوهشگران برای کنترل ضخامت نمونه‌های متعلق به هر یک از این دو دسته، از روش‌های موثری استفاده می‌کنند. به‌منظور آشنایی اجمالی با انواع روش‌های آماده‌سازی موجود برای نمونه‌های زیستی، شکل (۱) ارائه شده است [۲]. لازم به ذکر است در این مقاله دو روش متداول آماده‌سازی نمونه‌های زیستی در آزمایشگاه‌های معتبر جهان برای تصویربرداری درون میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو به‌صورت تفصیلی شرح داده می‌شوند.



روش انجماد با اعمال فشار زیاد برای آماده‌سازی نمونه‌های بافت زیستی

روش HPF بکار برده شده برای آماده‌سازی نمونه‌های بافت زیستی خود به دو شاخه تقسیم می‌شود. (۱) در روش نخست به‌منظور آماده‌سازی نمونه بافت برای میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو سه مرحله: انجماد به همراه اعمال فشار زیاد (شکل (۲))، جایگزینی تدریجی فرآیند انجماد^{۱۳} و قالب‌گیری در دمای پایین^{۱۴} به ترتیب برای حفظ بهینه ساختار کلی سلول‌ها باید با دقت اعمال شوند [۳]. ابتدا در مرحله انجماد با اعمال فشار زیاد، بافت‌ها یا سلول‌ها با آب داخلشان توسط اعمال فشار زیاد به‌طور سریع منجمد می‌شوند. بدین ترتیب که بلوک تهیه شده از بافت، درون فریزری با فشار بالا (پر فشار) قرار می‌گیرد، این دستگاه فشار بسیار زیادی را بر بلوک بافت اعمال نموده و خیلی سریع از طریق نیتروژن مایع، درون بافت مذکور را منجمد می‌کند. دلیل اعمال



شکل ۵: نمونه‌ای از دستگاه کرایو-اولترامیکروتوم همراه مخزن نیتروژن مایع (سمت چپ تصویر) و دستگاه GLASS KNIFE MAKER^{۲۱} (سمت راست تصویر) [۳].

چالش‌های بکارگیری کرایو الترامیکروتوم عبارتند از: چروک و پاره شدن برش‌ها، پدیدار شدن اثر چاقوی الماس و غیره. یکی دیگر از معایب برش‌دهی نمونه‌های بافت زیستی در حالت کرایو این است که در برخی مواقع (به‌خصوص هنگام کار با باکتری‌ها) این امکان وجود دارد که به‌عنوان مثال سلول‌هایی که در حالت طبیعی دایره‌ای شکل هستند، به دلیل اعمال فشار بیش از حد با چاقوی الماس در زمان برش‌برداری، حدود ۲۰ تا ۳۰ درصد به شکل بیضی در آیند.



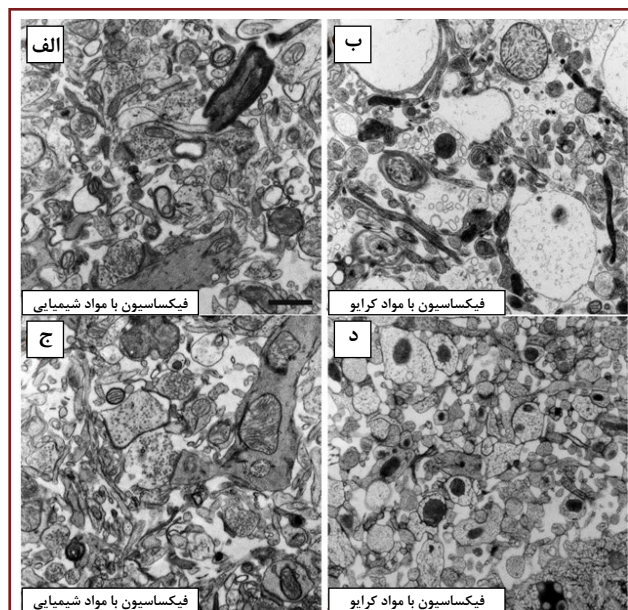
شکل ۶: ساختار ابزار جانبی نگهدارنده نمونه کرایو [۴].

□ روش انجماد از طریق فرو بردن برای نمونه‌های سوسپانسیون

در این روش (PF) به‌منظور فرو بردن سریع نمونه‌های سوسپانسیون درون اتان مایع از دستگاهی به نام فروبر کرایو^{۲۲} (شکل ۷) خودکار یا دستی استفاده شده که مراحل ذیل با استفاده از آن انجام می‌شود [۴].

کاربر پس از انتخاب بهترین گرید برای این روش (یعنی C-flat)، ابتدا یک قطره از نمونه‌ی سوسپانسیون را روی گرید مربوطه قرار می‌دهد (شکل ۸). در این دستگاه، گرید مذکور با پنسی که متصل به ستون متحرک (با حرکت به سمت بالا و پایین) است به‌طور معلق بالای مخزنی دو جداره قرار گرفته است.

در این صورت سلول‌ها در نزدیک‌ترین حالت به حالت زنده بودن حفظ می‌شوند. پس از نفوذدهی رزین می‌توان نمونه را در دمای اتاق برش داد و به روش معمول رنگ‌آمیزی و درون میکروسکوپ الکترونی عبوری معمولی مشاهده کرد. البته در این حالت به دلیل نفوذدهی رزین و اعمال رنگ‌هایی با فلزات سنگین، دیگر نمی‌توان مولکول‌های زیستی درشت را مشاهده نمود زیرا رنگ‌های مذکور، آنها را می‌پوشانند. (۲) اگر بتوان نمونه‌ای که در معرض انجماد سریع است را در همین شرایط دمای پایین به‌طور مستقیم درون میکروسکوپ الکترونی عبوری وارد ساخته و با حفظ دمای پایین از آن تصویربرداری کرد نتیجه‌ی بسیار مطلوب‌تری بدست خواهد آمد (در شکل ۴) تفاوت نتایج حاصل شده از بکارگیری روش HPF در مقایسه با روش فیکساسیون با مواد شیمیایی برای آماده‌سازی نمونه‌ی قشر خاکستری مغز موش نمایش داده شده است) [۵]. برای این منظور می‌توان فرآیند HPF را اعمال نموده و از اجرای دو مرحله بعدی صرف نظر کرد. بدین صورت که ابتدا مرحله انجماد سریع با فشار بالا روی بلوک بافت اعمال شده، سپس با استفاده از دستگاهی با نام کرایو-اولترامیکروتوم^{۱۸} (شکل ۵) به‌طور مستقیم از بلوک بافتی منجمد شده برش‌هایی با ضخامت کمتر از ۳۰۰ نانومتر تهیه می‌شود. در این هنگام روبان نهایی متشکل از چند برش نازک روی گرید منتقل می‌شود. در مرحله آخر نیز به راحتی گرید درون نگهدارنده نمونه کرایو^{۱۹} (شکل ۶) میکروسکوپ قرار گرفته و تصویرهای مورد نظر تهیه می‌شوند. لازم به ذکر است دمای نمونه در تمامی مراحل آماده‌سازی تا تصویربرداری با استفاده از دستگاهی به نام کنترل کننده هوشمند دما^{۲۰} کنترل می‌شود.



شکل ۴: تفاوت نتیجه‌ی حاصل شده از آماده‌سازی قشر خاکستری مغز موش با مواد شیمیایی و آماده‌سازی همان قشر خاکستری با روش HPF. همان‌طور که از نتایج مشهود است ساختار نمونه در روش HPF بسیار بهتر حفظ شده است (اشکال الف) و (ج) نشانگر بکارگیری مواد شیمیایی و اشکال (ب) و (د) نیز نشانگر اعمال روش HPF هستند) [۵].



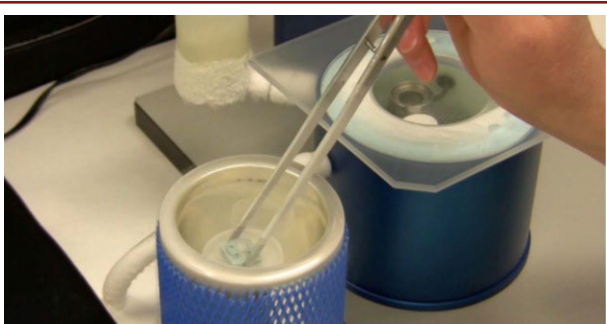
شکل ۱۰: نمای داخل محفظه جذب مقدار اضافی نمونه سوسپانسیون [۴].

سپس گرید حاوی نمونه سوسپانسیون به سرعت درون اتان یا پروپان مایع فرو برده می‌شود (شکل (۱۱)). همان‌طور که پیش‌تر نیز ذکر شد، مخزن مورد نظر دو جداره است، جداره بیرونی به‌منظور خنک نگاه داشتن دیواره محفظه داخلی با نیتروژن مایع و محفظه داخلی نیز با اتان مایع پر شده‌است. دمای اتان یا پروپان مایع حدود ۸۰ کلوین است. به‌طور معمول بدنه بیرونی این مخزن از جنس یونولیت است.



شکل ۱۱: نمای داخل محفظه پر شده از اتان مایع که اطرافش را نیتروژن مایع فرا گرفته است [۴].

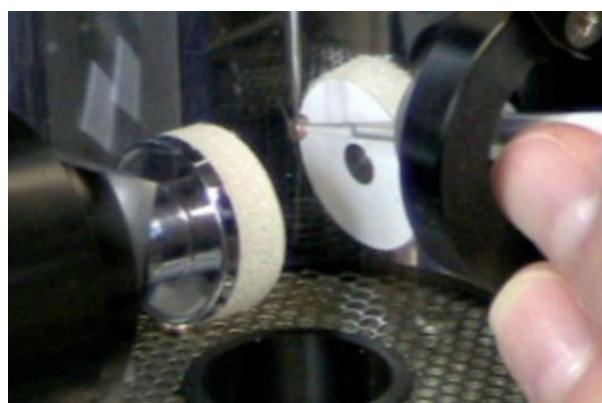
پس از طی شدن مراحل فوق، گرید حاوی نمونه سوسپانسیون برای قرار گرفتن درون نگهدارنده نمونه کرایو میکروسکوپ الکترونی عبوری با حفظ دمای انجام در مخزن حامل انتقال می‌یابد (شکل (۱۲)). در شکل‌های (۱۳) و (۱۴) به ترتیب تجهیزات جانبی مورد نیاز برای کار با نگهدارنده نمونه کرایو و چگونگی قرار گرفتن گرید حاوی نمونه درون این دستگاه نمایش داده شده‌است.



شکل ۱۲: انتقال گرید آماده شده به Cryo-Specimen Holder با مخزن حامل [۴].



شکل ۷: نمونه‌ای از دستگاه خودکار مورد استفاده برای عملیات PF نمونه‌های سوسپانسیون (دستگاه فروبر کرایو) [۴].



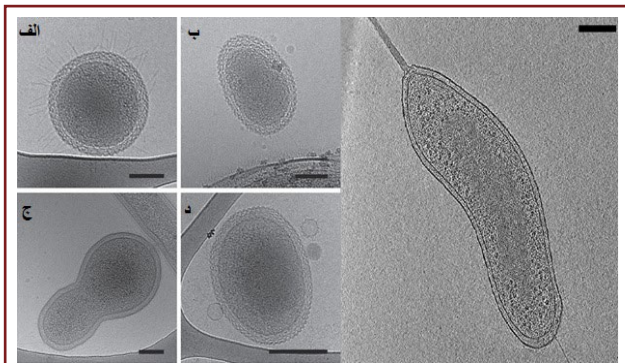
شکل ۸: مرحله قرار دادن نمونه سوسپانسیون روی گرید واقع در دستگاه فروبر کرایو [۴].

در مرحله بعد دستگاه با کاغذ فیلتر اضافی نمونه را از گرید خارج می‌کند (شکل (۹)). فضای داخل محفظه جذب مقدار اضافی نمونه سوسپانسیون در شکل (۱۰) نمایش داده شده‌است.



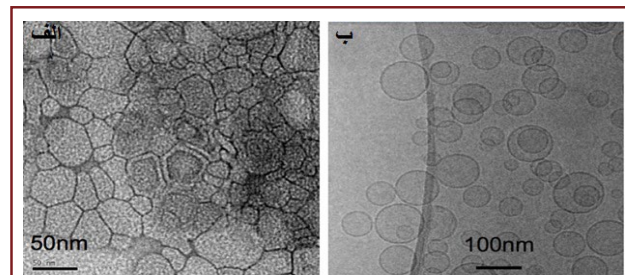
شکل ۹: مرحله جذب مقدار اضافی نمونه سوسپانسیون با کاغذ فیلتر درون محفظه [۴].

از زمان فرو بردن گرید درون اتان مایع تا زمان انتقال آن به میکروسکوپ الکترونی، جابجایی آن باید در دمای نیتروژن مایع انجام شود. سپس گرید درون Cryo-Specimen Holder قرار گرفته و تصویربرداری انجام می‌گیرد. همان‌طور که در شکل (۱۶) مشاهده می‌شود، در این روش، نمونه در بهترین حالت یعنی نزدیک به حالت زنده ثابت نگاه داشته شده‌است [۶ و ۷] به طوری که در برخی از مقالات نشان داده شده، اگر گرید آماده شده از طریق روش PF را پس از اتمام کار درون محیط کشت قرار داده بیشتر باکتری‌ها از حالت انجماد خارج و به رشد خود ادامه می‌دهند.



شکل ۱۶: نمونه‌هایی از باکتری‌های مختلف که آماده‌سازی آنها با روش PF انجام شده‌است. نوار مقیاس مربوط به چهار عکس (الف) تا (د) سمت چپ [۱۶] برابر با ۱۰۰nm و نوار مقیاس سلول کامل باکتری *Bdellobvrio bacteriovorus* cell (عکس تک سمت راست) نیز برابر با ۲۰۰nm است [۷].

استفاده از این روش برای پروتئین‌ها نیز امکان‌پذیر است. محققان در صورت استفاده از روش ذکر شده قادرند جزئیاتی را مشاهده کنند که در روش رنگ‌آمیزی منفی^{۲۴} به دلیل حضور فلزات سنگین محو شده یا تغییر کرده‌اند. در این روش به دلیل حفظ حالت اولیه و آب درون پروتئین‌ها می‌توان ساختار ثانویه و حتی ساختار اتمی پروتئین‌ها را نیز مشاهده نمود. البته هنوز نمی‌توان به صورت با کیفیت جزئیات یک پروتئین را به طور منحصر بفرد مشاهده و تفسیر کرد، زیرا تعداد الکترون‌های مورد نیاز برای انجام این فرآیند، پروتئین را نابود می‌کند. این روش برای نمونه‌هایی مناسب است که در حالت عادی ضخامتی نازک (کمتر از ۵۰۰ نانومتر) داشته که بتوان پس از فرو بردن درون اتان مایع آن را بدون اعمال هر گونه



شکل ۱۷: تصویربرداری از لیپوزوم‌ها با دو روش مختلف: (الف) لیپوزوم‌های رنگ شده با اورانیل استات ۲ درصد و (ب) لیپوزوم‌های آماده شده با روش PF. همان‌طور که مشاهده می‌شود، ساختار طبیعی با روش PF بهتر حفظ شده‌است [۸].



شکل ۱۳: تجهیزات جانبی مورد نیاز برای آماده‌سازی Cryo-Specimen Holder به منظور قرار گرفتن درون میکروسکوپ Cryo-TEM [۴].



شکل ۱۴: چگونگی قرار دادن گرید درون Cryo-Specimen Holder [۴].

اگر لایه‌ی تشکیل شده از نمونه‌ی سوسپانسیون روی گرید به اندازه‌ی کافی باریک باشد، آنگاه گرمای نمونه به سرعت به اتان مایع منتقل شده و نمونه‌ی مذکور درون محیط یخ شیشه‌ای و شفاف محصور می‌شود. همچنین اگر ضخامت لایه نمونه و سرعت فرو بردن آن در اتان مایع مناسب باشد، آنگاه مولکول‌های آب دیگر فرصت جنبش و تشکیل پیوند با هیدروژن را نداشته و در نتیجه بلورهای یخی بزرگ ایجاد نمی‌شوند. درون دمای اتان مایع انرژی جنبشی آنقدر سریع از نمونه خارج شده که مولکول‌های آب و دیگر مولکول‌ها هر کجا که هستند از حرکت باز می‌ایستند. پس از فرو بردن گرید درون اتان مایع و انجماد سریع نمونه، گرید مربوطه به دستگاهی به نام سیستم انتقال نمونه کرایو (با کنترل دمای نیتروژن مایع)^{۲۳} منتقل می‌شود. مدل مدرن دستگاه حامل و انتقال دهنده گرید در شکل (۱۵) نمایش داده شده‌است.



شکل ۱۵: ساختار دستگاه انتقال نمونه کرایو [۳].

اولترامیکروتوم کرایو اغلب چروک یا دارای ضخامت بیش از اندازه هستند؛

۳. نمونه همیشه باید در حدود دمای منفی ۱۹۶ درجه سلسیوس نگهداری شود؛

۴. رزولوشن پایین نسبت به روش‌های X-ray یا NMR (البته محققان با ابداع دوربین‌هایی با قابلیت آشکارسازی مستقیم^{۲۵} تا حدی بر این چالش فائق آمده‌اند)؛

۵. تجهیزات گران قیمت.

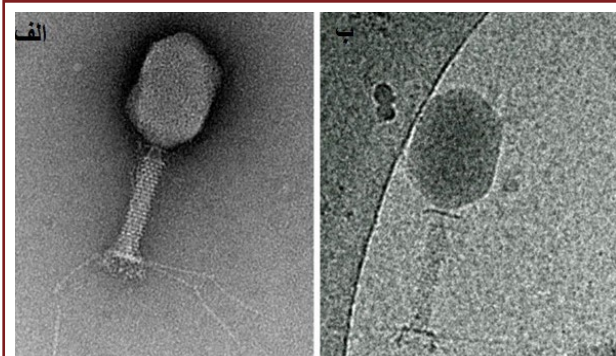
روش‌های تصویربرداری و پردازش نوین وابسته به میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو

از زمان ظهور میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو، محققان حوزه‌های مختلف زیست‌شناسی سعی نموده‌اند با استفاده از این دستگاه و نرم‌افزارهای مربوط، نیازمندی‌های خود به‌منظور مشاهده ساختارهای بسیار کوچک تشکیل دهنده نمونه‌های زیستی مد نظر را برآورده کند. به تازگی در این راستا چندین روش به‌صورت موفق و متداول میان جامعه پژوهشگران پدید آمده است. دانشمندان علوم زیستی با توجه به نیازهای تحقیقاتی خود قادر هستند از روش‌های ترکیبی تصویربرداری کرایو استفاده کنند. بررسی تخصصی روش‌های تصویربرداری و پردازش مذکور در قالب این مقاله نگنجیده، لذا به‌منظور آشنایی مقدماتی خواننده محترم با هر یک از روش‌های موجود در این قسمت، آنها به‌طور اجمالی معرفی شده‌اند. از مهمترین این روش‌ها می‌توان به روش‌های ذیل اشاره نمود:

■ برش‌نگاری الکترونی کرایو^{۲۶}

در حال حاضر از روش برش‌نگاری الکترونی کرایو به‌منظور آشکار نمودن ساختار سه‌بعدی اجزای درون سلولی یا سلول‌های کامل بسیار کوچک استفاده می‌شود. در این روش به‌منظور حفظ ساختار نمونه‌ها به نزدیک‌ترین حالت زنده‌ی خود، ابتدا آماده‌سازی آنها با یکی از فرآیندهای: HPF یا PF و سپس تصویربرداری نیز به واسطه قابلیت‌های مخصوص میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو انجام می‌گیرد. سپس گرید حاوی نمونه حول محور افقی بین زوایای +۷۰ و -۷۰- درجه حرکت داده شده و یک سری عکس‌های دوبعدی به ازای هر ۲ درجه حرکت از نمونه مذکور تهیه می‌شود. تصاویر دوبعدی حاصل شده با توجه به منشاء مشترک تراز می‌شوند. در نهایت با استفاده از روش بازافکنش و فرآیند تبدیل فوریه، تصویری سه‌بعدی از نمونه‌ی مذکور بدست می‌آید. البته در روش CET به دلیل محدودیت حرکت گرید از +۷۰ تا -۷۰- درجه، محققان برای بازسازی تصویر سه‌بعدی نهایی با مقداری فقدان داده روبرو هستند. در این روش باید ضخامت نمونه تا حد امکان کم باشد. به‌منظور کاهش قابل توجه فقدان داده در زمینه بازسازی تصویر سه‌بعدی نهایی برخی

مرحله دیگری درون میکروسکوپ الکترونی عبوری قرار داده و از آن تصویربرداری کرد. شکل‌های (۱۷) و (۱۸) برای درک هر چه بهتر تفاوت نتایج حاصل از دو روش PF و رنگ‌آمیزی منفی ارائه شده‌است [۸ و ۹].



شکل ۱۸: تصویربرداری از فازها با دو روش مختلف: (الف) فاز رنگ شده با اوراتیل استات ۲ درصد و (ب) فاز آماده شده با روش PF. همان‌طور که مشاهده می‌شود، ساختار طبیعی با روش PF بهتر حفظ شده‌است [۹].

مزایا و معایب میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو

مزایا و معایب بکارگیری روش آماده‌سازی و تصویربرداری کرایو برای نمونه‌های زیستی عبارتند از:

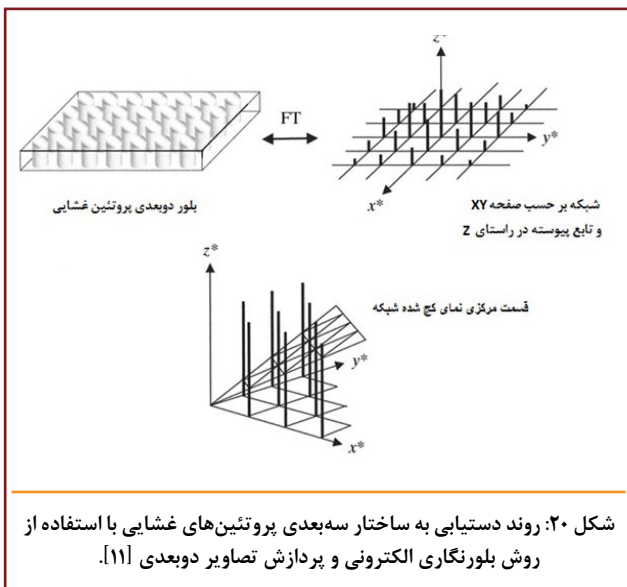
■ مزایا

۱. ساختار اولیه و طبیعی نمونه‌های زیستی حفظ می‌شود؛
۲. به دلیل استفاده از روش انجماد، ساختار نمونه‌ی زیستی در حلال میکروسکوپ مربوطه به خوبی حفظ می‌شود؛
۳. دیگر به اعمال رنگ‌هایی که دارای فلز سنگین و مواد شیمیایی اضافی که تا حدی ساختار اولیه و طبیعی نمونه را تخریب نموده نیازی نیست؛
۴. دمای پایین در طول فرآیند تصویربرداری به‌طور قابل توجهی مانع از تخریب نمونه توسط اشعه الکترونی می‌شود؛
۵. عدم نیاز به اجرای فرآیندهای زمان‌بر و سخت آماده‌سازی اولیه‌ی نمونه‌ی زیستی؛
۶. اندازه‌ی نمونه‌ی مورد نیاز بسیار کم است؛
۷. قابلیت تمایز آسان بین اسید نوکلئیک، پروتئین‌ها و لیپیدها.

■ معایب

۱. نسبت بسیار پایین سیگنال به نویز (درشت مولکول‌های زیستی به‌طور معمول از کربن، هیدروژن، اکسیژن و نیتروژن تشکیل شده‌اند. به همین دلیل الکترون بسیار کمی به چنین مولکول‌هایی جذب می‌شود. در نتیجه تصویری با کنتراست بسیار پایین از آنها با استفاده از میکروسکوپ Cryo-TEM به‌دست می‌آید)؛
۲. برش‌های تهیه شده از نمونه‌های بافت زیستی با استفاده از

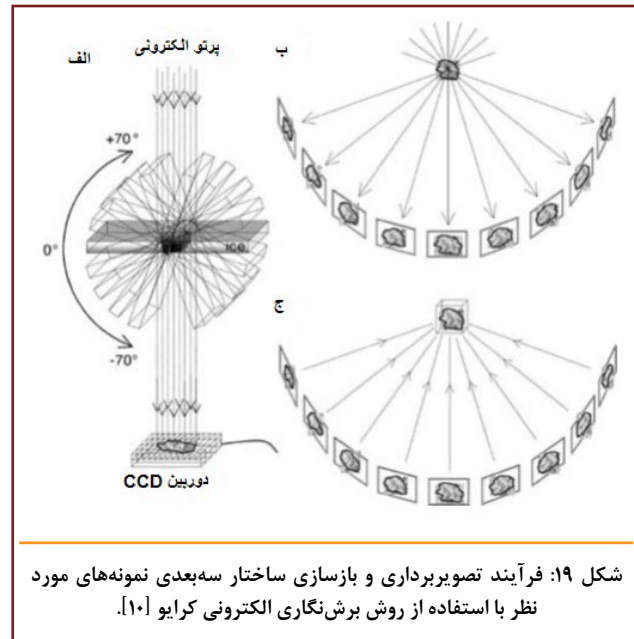
بهتری میان مولکول‌های پروتئین باید به اندازه کافی کم باشد. جمع‌آوری داده از بلورهای دوبعدی درون میکروسکوپ الکترونی کرایو به دو روش: تصویربرداری از نمونه در زوایای مختلف و الگوی پراش الکترونی انجام می‌گیرد. با وجودی که تبدیل‌های فوریه تصاویر تهیه شده حاوی دامنه و فاز ساختار نمونه بوده، اما برای تعیین دامنه‌های ساختار نمونه‌ی مورد نظر استفاده از الگوی پراش قابل اطمینان‌تر است (لازم به ذکر است الگوی پراش فاقد اطلاعات فاز است). در اینجا تصویربرداری با دوز پایینی از الکترون‌ها انجام می‌شود. با استفاده از بلورهای دوبعدی مرتب و منظم و میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو می‌توان به نقشه‌هایی سه‌بعدی با رزولوشن بهتر از (۳) آنگستروم دست پیدا کرد.



□ تحلیل تک ذره ۲۸

از ترکیب روش تحلیل تک ذره و میکروسکوپ الکترونی کرایو می‌توان بدون نیاز به تشکیل بلور، ساختار سه‌بعدی پروتئین‌ها (به‌خصوص پروتئین‌های محلول) و درشت مولکول‌ها را تعیین نمود. لازم به ذکر است که استفاده از این روش برای نمونه‌هایی با وزن مولکولی بالا امکان‌پذیر است. با توجه به پیشرفت‌های انجام گرفته در حوزه فناوری آشکارسازها و الگوریتم‌های نرم‌افزاری هم اکنون Cryo-TEMها قادرند اطلاعات ساختار سه‌بعدی مولکول‌های نمونه‌های غیربلوری زیستی را در حد رزولوشن اتمی تعیین کنند. در حال حاضر از این روش بیشتر برای تعیین ساختار پروتئین‌های محلول استفاده می‌شود. نمونه‌ی مورد استفاده برای روش تحلیل تک ذره باید متشکل از مولکول‌های جداگانه بسیار زیاد با ساختاری یکسان باشد. در این روش به دلیل نیاز به تصویربرداری در رزولوشن بسیار بالا (حدود ۲ آنگستروم) و همچنین پایین بودن کنتراست نمونه‌ی منجمد، لذا تصویربرداری باید با تنظیمات فوکوس پایین انجام شود (در شرایط فوکوس بالا جزئیات نمونه از بین می‌رود).

از ابزار مدرن نگهدارنده نمونه کرایو درون ستون میکروسکوپ الکترونی عبوری دارای قابلیت حرکت دادن نمونه حول دو محور هستند. البته به دلیل حرکت کردن نمونه حول دو محور، تعداد عکس‌های گرفته شده نیز دو برابر می‌شود. در نتیجه به قدرت پردازش بسیار بیشتری نیاز است. در شکل (۱۹) اصول دستیابی به تصویری سه‌بعدی از مجموعه تصاویر دوبعدی تهیه شده از یک نمونه با منشاء ای مشترک حول یک محور شرح داده شده است [۱۰].



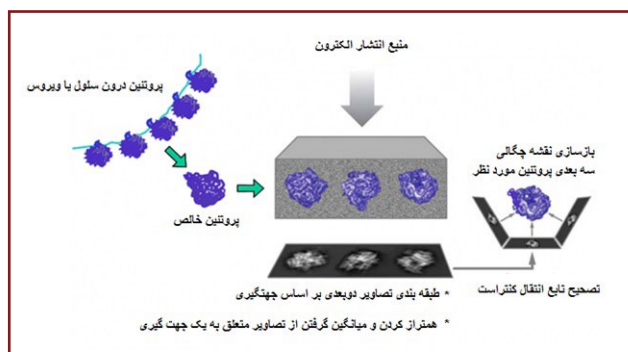
□ بلورنگاری الکترونی ۲۷

به‌منظور تحلیل ساختار دوبعدی آرایه‌های بلوری (به‌خصوص پروتئین‌های غشایی) از روش بلورنگاری الکترونی استفاده می‌شود. این آرایه‌ها بر خلاف نامشان دوبعدی نبوده، تنها به دلیل ضخامت بسیار باریکشان چنین شهرتی را پیدا کرده‌اند. با توجه به این نکته که بلورها برای بررسی در روش بلورنگاری با استفاده از اشعه ایکس باید از اندازه‌ی بزرگی برخوردار باشند، لذا تحلیل بلورهای بسیار کوچک پروتئین با این روش امکان‌پذیر نیست. روش NMR نیز به مقدار زیادی از نمونه برای ارائه نتایجی دقیق نیازمند بوده، که این امر روش مذکور را برای بررسی پروتئین‌هایی با مقدار بسیار کم نامناسب می‌سازد. در روش بلورنگاری الکترونی، بازسازی آرایه‌های بلوری دوبعدی مسطح با تصاویر تهیه شده از پروتئین‌های غشایی و لیبیدها انجام می‌پذیرد (شکل (۲۰)) [۱۱]. در این صورت، استفاده از روش‌های آماده‌سازی نمونه برای میکروسکوپ الکترونی کرایو کمک بسیار زیادی به بالا بردن دقت فرآیند بلورنگاری الکترونی نموده، زیرا ساختار پروتئین‌ها و لیبیدها در حالتی بسیار نزدیک به حالت زنده حفظ می‌شود. یکی از عوامل مهم در این روش، نسبت لیبید به پروتئین بوده که برای حصول پیوندهای

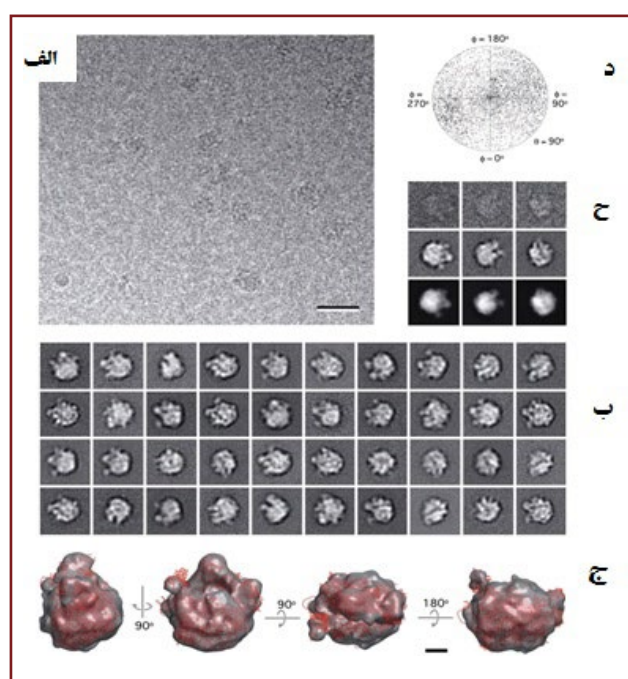
نتیجه‌گیری

محققان حوزه زیستی از ابتدای اختراع میکروسکوپ الکترونی عبوری برای ثابت نگاه داشتن ساختار کلی و همچنین رنگ-آمیزی نمونه‌های خود از مواد شیمیایی با قدرت و حساسیت بالا استفاده نموده‌اند. لازم به ذکر است، مواد شیمیایی بکار برده شده در فرآیند آماده‌سازی نمونه‌های زیستی هر یک تا حدی منجر به تخریب یا پوشانده شدن قسمتی از ساختارهای درون سلولی بسیار کوچک نمونه‌های مذکور می‌شوند. لذا پس از تحقیق‌های فراوان، پژوهشگران برای آشکار نمودن ساختار بدون تغییر درون سلولی نمونه‌ها در سطح مولکولی و اتمی به روشی به نام میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو دست پیدا کردند. در این روش، بیشتر نمونه‌های زیستی بدون نیاز به اعمال هر گونه مواد شیمیایی ابتدا در دمای بسیار پایین اتان مایع به سرعت منجمد شده و تا هنگام تصویربرداری نیز در این دمای پایین باقی می‌مانند. روش آماده‌سازی انجمادی مناسب با توجه به نوع نمونه‌های زیستی (بافت یا سوسپانسیون) انتخاب می‌شود. به دلیل عدم استفاده از مواد شیمیایی در روش کرایو می‌توان از نمونه‌ها در نزدیک‌ترین حالت به حالت زنده تصویربرداری کرد. البته این روش با توجه به مزایای فراوان دارای چالش‌هایی نیز بوده که در متن اصلی مقاله به آنها پرداخته شده‌است. البته محقق پیش از انتخاب روش میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو برای تصویربرداری از نمونه باید به دقت مزایا و معایب این روش را بررسی کند. در حوزه‌هایی که دستیابی به تصویری سه‌بعدی از کوچک‌ترین اجزای تشکیل دهنده نمونه زیستی از اهمیت بالایی برخوردار بوده می‌توان از میان روش‌های تصویربرداری وابسته به Cryo-TEM که در بخش (۴) این مقاله به‌طور اجمالی به پرکاربردترین آنها اشاره شد مناسب‌ترین فرآیند را انتخاب کرد. امید است کارشناسان فعال در حوزه آماده‌سازی نمونه‌های زیستی پس از مطالعه این مقاله با روش‌های جدید آشنا شده و محققان نیز راه حل‌هایی برای غلبه بر چالش‌های موجود در فرآیند آماده‌سازی و تصویربرداری از نمونه‌های زیستی در میکروسکوپ الکترونی عبوری کرایو ارائه دهند.

به دلیل ضخامت بسیار کم نمونه و همچنین تسهیل فرآیند بازسازی ساختار سه‌بعدی، در این روش تصاویر خطی تهیه شده از پتانسیل کولنی^{۲۹} مورد استفاده قرار می‌گیرند. سپس تصاویر تهیه شده با تابع انتقال کنتراست^{۳۰} (یک تابع سینوسی شبه تناوبی درون فضایی متقابل که تناوب آن به‌طور عمده به تنظیمات فوکوس پایین بستگی داشته) مدوله می‌شوند (شکل (۲۱)) [۱۲]. البته لازم به ذکر است، هر چه میزان فوکوس پایین‌تر باشد با وجودی که کنتراست بهتری برای تصاویری با رزولوشن پایین بدست آمده، اما کنتراست تصاویر با قدرت تفکیک بالا به شدت افت می‌کند. بنابراین این باید تا حدی فوکوس را پایین آورد که ذرات درون تصاویر با قدرت تفکیک پایین به خوبی قابل مشاهده و تفکیک پذیر باشند. بازسازی سه‌بعدی ساختار نمونه‌ی مورد نظر پس از پردازش دسته‌هایی حاوی تعداد بسیار زیادی تصاویر تهیه شده از تک ذره‌ها در زوایای مختلف انجام می‌پذیرد (شکل (۲۲)) [۱۳].



شکل ۲۱: فرآیند بازسازی تصویر سه‌بعدی نمونه پروتئینی از تصاویر دوبعدی با بکارگیری روش تحلیل تک ذره [۱۲].



شکل ۲۲: روند دستیابی به ساختار سه‌بعدی پروتئین تحت بررسی با استفاده از روش تحلیل تک ذره و حرکت نمونه حول دو محور [۱۳].

پی‌نوشت

۱. لیسانس الکترونیک، کارشناس آزمایشگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری دانشگاه شیراز، عضو کارگروه تخصصی میکروسکوپ الکترونی عبوری شبکه آزمایشگاهی
2. Plunge Freezing
3. Zacharias Janssen
4. Max Knoll
5. Ernst Ruska
6. Transmission Electron Microscope (TEM)
7. Cryo-Transmission electron microscope (Cryo-TEM)
8. High Pressure Freezing
9. X-RAY CRYSTALLOGRAPHY
10. NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE (NMR) SPECTROSCOPY
11. High Pressure Freezing (HPF)
12. Plunge Freezing (PF)
13. Freeze-Substitution
14. Low-Temperature Embedding
15. Fixation
16. Dehydration
17. Infiltration
18. Cryo-Ultramicrotome
۱۹. نگهدارنده نمونه کرایو ایزاری که به واسطه آن نمونه در دمای نیتروژن مایع درون ستون Cryo-TEM قرار می‌گیرد. Cryo-Specimen Holder
20. Smart Set Controller
۲۱. دستگاه مورد استفاده برای ساخت دقیق تیغه‌های شیشه‌ای اولترامیکروتوم
22. Cryo Plunger
23. Cryo-Transfer System
24. Negative Staining
25. Direct Detection CCD
26. Cryo-electron Tomography (CET)
27. electron crystallography
28. single particle analysis
29. Coulomb Potential
30. Contrast Transfer Function (CTF)

مراجع

- [۱] برگرفته از سایت Wikipedia.
- [2]. Toward native-state imaging in biological context in the electron microscope by Anne E. Weston, Hannah Armer, and Lucy M. Collinson.
- [۳] سایت شرکت Leica (www.leica-microsystems.com).
- [۴] سایت شرکت Gatan (www.gatan.com).
- [5]. Ultrastructural analysis of adult mouse neocortex comparing aldehyde perfusion with cryo fixation, by: Natalya Korogod et al.
- [6]. Diverse uncultivated ultra-small bacterial cells in groundwater, by: Brigit Luef, Kyle R. Frischkorn, and Jillian F. Banfield.
- [7]. En.wikipedia.org, Cryo-electron tomography
- [8]. Faculty.washington.edu/lw32/cryoem_home.php
- [9]. Is EM dead? , By: Graham Knott, Christel Genoud.
- [10]. Opening Windows into the Cell, by: Kanika Khanna
- [11]. Figure adapted from Amos et al. (1982). [Saibil, H. R. (2000). Acta Cryst. D56, 1215-1222. doi:10.1107/S0907444900010787].
- [12]. https://cns.fas.harvard.edu/CryoEM
- [13]. Monolayer purification: A rapid method for isolating protein complexes for single-particle electron microscopy, by: Deborah F. Kelly

نویسندگان

خدیجه حاجی بابایی^{۱*}
اعظم حمله‌داری^۲
خدیجه اشجعی^۳

*Kh.hajibabaei@gmail.com



واژه‌های کلیدی

باقیمانده سموم، آماده‌سازی نمونه، استخراج، ستون، آشکارسازها، مشتق‌سازی.

روش‌های کروماتوگرافی گازی به‌منظور تعیین باقیمانده سموم در مواد غذایی

چکیده

روش‌های کروماتوگرافی گازی به‌طور گسترده برای آنالیز مواد غذایی به کار می‌رود. از این روش برای شناسایی کیفی و کمی ترکیبات موجود در مواد غذایی، مواد طبیعی، افزودنی‌ها، آلاینده‌ها مانند آفت‌کش‌ها، آلودگی‌های محیطی، سموم طبیعی، داروهای دامپزشکی و مواد بسته‌بندی استفاده می‌شود. در این مقاله، روش تعیین باقیمانده سموم در مواد غذایی با دستگاه کروماتوگرافی گازی/طیف‌سنج جرمی از مرحله آماده‌سازی نمونه تا گزارش نهایی و شرح مختصر دستگاه مورد بحث قرار گرفته است.

آنالیز سموم در مقیاس خیلی کم در نمونه‌های محیطی و غذایی از مسائل اساسی برای یک شیمی‌دان تجزیه است. انتخاب یک روش استخراج و آنالیز دقیق و صحیح، موضوع مهمی است که می‌تواند در نتیجه نهایی بسیار تاثیرگذار باشد. اگر چه روش‌های قدیمی همچنان در آزمایشگاه‌های زیادی استفاده می‌شود، اما از آن‌جا که در بیشتر این روش‌ها نیاز به استفاده از حجم زیادی از حلال، صرف زمان و کار زیاد است، در سال‌های اخیر به سرعت در حال جایگزین شدن با روش‌های ساده‌تر و موثرتر هستند. انواع روش‌های کم کردن حلال برای نمونه‌های مایع و روش‌هایی نظیر استخراج سوکسله، استخراج با حلال شتاب یافته^۵، استخراج با حلال فوق بحرانی^۶ و استخراج با استفاده از ماکروویو^۷ از اولین روش‌هایی هستند که مورد استفاده قرار گرفتند [۱].

روش‌های متعددی در مقالات مطرح شده که به تغلیظ و آماده‌سازی نمونه مربوط می‌شود. این روش‌ها عبارتند از: استخراج مایع - مایع، استخراج فاز جامد و میکرو استخراج فاز جامد، استخراج با سیال فوق بحرانی، استخراج به همراه بیرون اندازی نمک^۸ و غیره. روش‌های استخراج مایع - مایع و بیرون‌اندازی با نمک به‌طور معمول نیاز به حجم زیادی حلال آلی دارند که سمی و گران قیمت هستند، ضمن آن‌که در نهایت حجم زیادی پسماند حلال‌های آلی باید دور ریخته شود. در کنار این روش‌ها، روش‌های دیگری نیز به کار می‌رود که هر یک مزایا و معایب خود را دارند. روش‌های استخراج با فاز جامد در بافت‌های مختلف برای ترکیبات خاص کاربرد دارند. روش‌های مستقیم استخراج با فاز جامد برای آنالیز آب و همچنین روش‌های غیرمستقیم برای داروها در سیالات بیولوژیکی استفاده می‌شود. روش فاز جامد گرچه روش بسیار قابل اعتمادی است و نیاز به حجم اندکی حلال دارد، اما فرآیند استخراج شامل مراحل متعدد آماده‌سازی اولیه ستون، عبور نمونه، شستشو با حلال و حذف عوامل مزاحم و در نهایت خارج ساختن آنالیت‌های جذب شده است. روش‌های دیگر میکرو استخراج و ویژگی‌های برخی از آن‌ها در ادامه بررسی می‌شود [۲].

آماده‌سازی نمونه: استخراج و تصفیه نمونه

استخراج روشی است که به منظور جداسازی آنالیت از بافت نمونه با استفاده از حلال مناسب مورد استفاده قرار می‌گیرد. استخراج باید به گونه‌ای انجام شود که در انتهای کار محلولی با بالاترین غلظت از آنالیت همراه با کمترین میزان آلودگی به عوامل تداخل‌کننده، به دست آید.

اصول آماده‌سازی نمونه‌ی مواد غذایی به منظور آنالیزی سموم:

در آنالیز نمونه‌های مواد غذایی با دو نوع بافت مواجه هستیم. یکی بافت‌های به نسبت ساده مانند آب، آب میوه و مشروبات الکلی و دیگر نوشیدنی‌ها و دیگری، بافت‌های پیچیده‌تر با منشاء گیاهی و حیوانی. بافت‌های غذایی، ترکیبات بسیار زیادی دارند که می‌توانند در طی مراحل مختلف شناسایی و تعیین آنالیت تداخل ایجاد کنند بنابراین لازم است قبل از تزریق به دستگاه با انواع روش‌های فیزیکی و شیمیایی جداسازی شوند. به‌طور معمول، تجزیه و تحلیل و غربالگری برای تعداد زیادی از آفت‌کش‌ها و آلاینده‌ها در نمونه‌های غذایی شامل حداقل سه گام اساسی است: جداسازی^۹، استخراج^{۱۰} و تصفیه^{۱۱}.

فرایند جداسازی روشی است که ترکیبی از ماده شیمیایی را به دو یا چند مخلوط متمایز تبدیل می‌کند که هر کدام ممکن است خود یک مخلوط جدید باشند و حداقل یکی از آن‌ها از یک یا چند جزء از بافت نمونه غنی شده‌است.

استخراج یک فرایند جداسازی است که از جداسازی یک ماده از بافت نمونه تشکیل شده‌است. در فرایند استخراج در حالت ایده‌آل تنها یک جزء (آنالیت) از بافت نمونه جدا می‌شود. اما در شرایط آزمایشگاهی برای نمونه‌های حقیقی محصول فرایند استخراج مخلوط از چند یا چندین جزء با ساختارهای نسبتاً مشابه است (ترکیبات هم‌استخراج^{۱۲}).

تصفیه، مرحله بعد از استخراج است. در این مرحله تلاش می‌شود تا ترکیبات هم‌استخراج از محصول مرحله استخراج جدا شوند و محلول نهایی دارای بیشترین غلظت از آنالیت مورد نظر و کمترین غلظت از ترکیبات مزاحم باشد [۳].

به‌طور معمول، نمونه‌های مواد غذایی به چهار دسته طبقه‌بندی می‌شوند:

- ۱- مواد غذایی با رطوبت بالا و چربی پایین (میوه‌ها و سبزیجات)،
 - ۲- مواد غذایی با رطوبت بالا و چربی بالا (گوشت و شیر)،
 - ۳- مواد غذایی با رطوبت پایین و چربی پایین (آرد)،
 - ۴- مواد غذایی با رطوبت پایین و چربی بالا (کره، روغن‌ها و غیره).
- هر یک از گروه‌های ذکر شده در این طبقه‌بندی شرایط مخصوص به خود را در فرآیندهای جداسازی، استخراج و تصفیه دارند که لازم است در هنگام انتخاب راه کار مناسب برای آماده‌سازی نمونه در نظر گرفته شود.

● استخراج نمونه

روش اولیه‌ی آماده‌سازی میوه‌ها و سبزیجات برای آنالیز

باقی‌مانده‌ی سموم، همگن‌سازی نمونه در آسیاب با سرعت بالا و سپس اضافه کردن یک حلال غیر قطبی که به‌طور معمول هگزان یا بنزن است. سپس استونیتریل به‌عنوان حلال استخراج‌کننده برای باقی‌مانده سموم ارگانوفسفره و ارگانوکلره استفاده می‌شود. این روش توسط میلز، انلی و گیتز در سال ۱۹۶۳ توسعه یافته است و اغلب به‌عنوان روش MGO^{۱۳} یا میلز معروف است. این روش برای آنالیز باقی‌مانده‌ی سموم در مواد گیاهی در طول ۲۰ سال گذشته مورد استفاده قرار گرفته و به‌عنوان روشی رسمی در بسیاری از کشورها به تصویب رسیده‌است. در نمونه‌هایی با رطوبت پایین‌تر، به یک نسبت ثابت آب و استونیتریل به نمونه اضافه می‌شود [۱].

انتخاب روش مناسب آنالیز به طبیعت و بافت نمونه بستگی دارد. علاوه‌بر روش میلز و دیگر روش‌های استخراج قدیمی‌تر، در سال‌های اخیر، روش‌های استخراج جدیدتری نیز معرفی شده‌است که از آن میان می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: میکرو استخراج تک قطره^{۱۴}، میکرو استخراج مایع غشای فیبر توخالی^{۱۵}، استخراج فاز جامد^{۱۶}، میکرو استخراج فاز جامد^{۱۷}، استخراج جذبی با میله چرخنده^{۱۸} و میکرو استخراج فیبر توخالی پوشش داده شده با پلیمر^{۱۹} [۲].

● استخراج مایع - مایع

استخراج مایع - مایع روشی کارآمد و آسان به‌منظور استخراج برای بافت‌های مایع است. در این روش حلال غیر قابل امتزاج، مانند هگزان، بنزن و اتیل استات برای استخراج سموم غیر قطبی و دی‌کلرومتان، کلروفرم-متانول، دی‌اتیل اتر یا حلال‌های قطبی دیگر به‌طور کلی برای سموم قطبی استفاده می‌شود. این روش اصولاً برای استخراج سموم غیر فرار و نیمه فرار استفاده می‌شود. در این روش، نمونه‌ی آب با حجم مناسبی از حلال آلی هم زده می‌شود و مهاجرت ترکیبات آلی از فاز آبی به فاز آلی اتفاق می‌افتد. بیشتر سدیم کلرید یا نمک مناسب دیگری برای جلوگیری از ایجاد کف در زمان استخراج و افزایش کارایی فرایند به مخلوط اضافه می‌شود. سرانجام، حلال آلی محتوی آنالیت تحت فشار کاهش یافته تغلیظ می‌شود. روش استخراج مایع - مایع، روش‌های مختلفی مانند استخراج مایع ناپیوسته، استخراج پیوسته و استخراج مایع - مایع مستقیم را شامل می‌شود [۲].

● روش حلال کاهش یافته

روش حلال کاهش یافته برای بیشتر ترکیبات آلی و سموم استفاده می‌شود. میکرو استخراج تک قطره، میکرو استخراج جریان یافته^{۲۰}، HMF-LPME و HFM^{۲۱} حفاظت شده از انواع روش‌های حلال کاهش یافته است که برای آنالیز سموم استفاده می‌شود. روش‌های استخراج مینیاتوری تمام معایب روش‌های استخراج مایع - مایع را برطرف کرده است. این روش‌ها به نسبت ارزان هستند و به مقدار کمی حلال نیاز دارند. ویژگی بارز این روش‌ها، امکان تزریق تمام حلال آلی استخراج شده، است که این امر باعث بهبود حد تشخیص می‌شود.

● ستون‌های پر شده

یکی از شرایط مهم برای انتخاب ستون به‌منظور آنالیز باقیمانده‌ی سموم، مقاومت حرارتی فاز ساکن است. بسیاری از فازهای ساکن، پلیمرهای سیلیکونی با استخلاف‌های متفاوت هستند. مجموعه‌ای از انواع فازهای ساکن در جدول (۱) نشان داده شده است. هنگامی که از ستون‌های پر شده استفاده می‌شود بهتر است از جنس شیشه با طول ۵/۱ تا ۳ متر و قطر داخلی ۳ تا ۶ میلی‌متر باشد. اگر چه این ستون‌ها برای جداسازی معرف‌هایی مانند بی‌فنیل‌های چند کلره مناسب نیستند.

جدول ۳: جدول ۱: فاز ساکن‌های معمول استفاده شده در آنالیز باقیمانده سموم

نام شیمیایی	نام فاز	استفاده معادل
۱۰۰ درصد متیل سیلیکون	OV-1	OV-101, SE-30, SP2100, DC200, DC-11, SF-96, SE-52
۹۵ درصد متیل سیلیکون، ۵٪ فنیل	OV-73	
۹۴ درصد متیل سیلیکون، ۵ درصد فنیل، ۱ درصد وینیل	SE-54	
۹۰ درصد متیل سیلیکون، ۱۰ درصد فنیل	OV-3	
۸۰ درصد متیل سیلیکون، ۲۰ درصد فنیل	OV-7	
۶۵ درصد متیل سیلیکون، ۳۵ درصد فنیل	OV-11	
۵۰ درصد متیل سیلیکون، ۵۰ درصد فنیل	OV-17	SP-2250
۵۰ درصد متیل سیلیکون، ۵۰ درصد تری-فلوروپروپیل	OV-210	QF-1, SP-2401
۷۵ درصد متیل سیلیکون، ۲۵ درصد سیانواتیل	OV-225	XE-60
۸۶ درصد متیل سیلیکون، ۱۴ درصد سیانوپروپیل فنیل	OV-1701	

● میکرو استخراج تک قطره

میکرو استخراج تک قطره، روش استخراج ساده‌ای است که در آن یک قطره به‌عنوان فاز استخراجی عمل می‌کند. حجم قطره به طور معمول ۰/۵ تا ۲/۵ میکرولیتر است. این روش، در حقیقت کوچک شده‌ی روش معمولی استخراج مایع - مایع است. آنالیت هدف با یک تک قطره نامحلول در آب (آلی) که از نوک میکرو سرنگ به درون نمونه غوطه‌ور شده است، از بافت نمونه استخراج می‌شود. پس از مدت زمانی معین از آغاز استخراج، میکرو قطره مجدد به درون سرنگ کشیده شده و برای آنالیز به دستگاه آنالیزکننده تزریق می‌شود. از مزایای این روش می‌توان به استخراج و تغلیظ هم‌زمان و حجم بسیار اندک حلال اشاره کرد. مهم‌ترین مشکل در این روش، عدم پایداری قطره در سر سرنگ است که به کنترل شرایط (دما، سرعت هم زدن و غیره) و کمی مهارت نیاز دارد. این روش برای تعیین مواد در مقیاس بسیار اندک مناسب است [۲].

● روش‌های بر پایه جاذب

از جمله روش‌های جدیدتر برای استخراج سموم، روش گیر انداختن آنالیت روی جاذب جامد، مانند استخراج فاز جامد، میکرو استخراج فاز جامد و استخراج جذبی با میله چرخنده و میکرو استخراج فیبر توخالی پوشش داده شده با پلیمر است. در این روش‌ها آنالیت با استفاده از یک جاذب که روی یک بستر مناسب تثبیت شده است، جذب شده و از بافت نمونه جدا می‌شود و در آخر بعد از حذف گونه‌های مزاحم، با یک حلال مناسب شسته می‌شود. انتخاب جاذب مناسب به‌گونه‌ای که بیشترین کارایی در جذب نمونه و حداقل جذب را برای گونه‌های مزاحم داشته باشد از عوامل بسیار تاثیرگذار در استخراج است. بسیاری از جاذب‌های SPE، SPME و SBSE به‌صورت تجاری در انواع سرنگ، کارتریج و دیسک، قابل دسترس هستند [۲].

● ستون مویینه

ستون‌های مویینه به دلیل مسیر باز جریان، ستون‌های لوله باز نیز نامیده می‌شوند. ستون مویینه مزیت‌های زیادی نسبت به ستون‌های پر شده دارد. برای مثال، ستون‌های مویینه دارای قدرت تفکیک بالاتر، زمان آنالیز کوتاه‌تر، تخریب کمتر و آلوده شدن کمتر ستون است. بسیاری از ترکیبات که در ستون پر شده با هم تداخل دارند را می‌توان به راحتی روی ستون مویینه کارآمدتر، از هم جدا کرد [۴].

● ستون مویینه سیلیکای جوش خورده

در مراحل اولیه‌ی استفاده از این روش، اولین ستون‌های مویینه به کار رفته از جنس مواد پلاستیکی (نایلون و تایگون) و فلز (آلومینیوم، نیکل، مس، طلا، و فولاد ضد زنگ) ساخته شده بودند. ستون‌های پلاستیکی دارای محدودیت دمایی‌اند. ستون‌های مویینه سخت

||| روش‌های اندازه‌گیری کمی

پس از استخراج و تغلیظ، محلول استخراج شده به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق می‌شود تا مقادیر آن در مقایسه با یک استاندارد تعیین مقدار شود. دستگاه کروماتوگرافی گازی دارای بخش‌های مختلفی است که در ادامه به اختصار شرح داده می‌شود.

||| ستون‌های کروماتوگرافی گازی

در دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی از دو نوع ستون استفاده می‌شود: ستون‌های پر شده^{۲۲} و ستون‌های مویینه^{۲۳}. اگر چه کارهای قابل ملاحظه‌ای در گذشته با ستون‌های پر شده صورت گرفته است، ولی به علت کاهش راندمان کروماتوگرافی و سختی اتصال آن‌ها به سیستم‌های جرمی، کاربردشان به شدت محدود شده است.

ضخامت پوشش داخلی ۰/۲۵ میکرومتر بوده و همچنین طول این ستون‌ها به صورت معمول ۱۵، ۳۰ و ۶۰ متر است. ثابت شده است که ستون‌های سیلیکای جوش خورده که دارای قطر داخلی ۰/۲ میلی‌متر تا ۰/۳۵ میلی‌متر و طول بین ۱۰ تا ۶۰ متر باشند به دلیل قابلیت جداسازی، طول عمر و خواص مکانیکی مطلوب، ستون‌های مناسبی برای تعیین سموم و آفت‌کش‌ها هستند [۱].

انتخاب آشکارساز برای اندازه‌گیری سموم با کروماتوگرافی گازی

آنالیز باقیمانده‌ی سموم بر حساسیت و انتخاب‌پذیری آشکارساز کروماتوگرافی گازی متکی است. باقیمانده‌ی سموم در مواد غذایی بسیار اندک است. اگر چه در فرایند آماده‌سازی مقدار ترکیبات هم‌استخراج تا حد زیادی کاهش می‌یابد اما با این وجود همچنان مقادیری از ترکیبات آلی از بافت نمونه در محلول نهایی وجود دارد. چهار آشکارساز متداول به‌منظور آنالیز باقیمانده سموم شامل: رایش الکترون^{۲۵}، نورسنج شعله‌ای^{۲۶}، یونیزاسیون شعله‌ای قلیایی^{۲۷}، گرمایونی نیتروژن - فسفر (^{۲۸}NPD) است [۱].

وقتی آفت‌کش‌ها شامل عناصر شیمیایی مختلف باشند از آشکارسازی که به هر یک از عناصر پاسخ بهتری بدهد، استفاده می‌شود. شناساگر رایش الکترون که توسط لاولاک (۱۹۶۰) و لاولاک و لیپسکی در سال ۱۹۶۱ معرفی شد، اولین آشکارساز انتخابی با حساسیت بالا برای ترکیبات هالوژنه است. در اواسط سال ۱۹۶۰ با اختراع آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای قلیایی و آشکارساز نورسنج شعله‌ای امکان تشخیص انتخابی سموم ارگانوفسفره و ترکیبات حاوی نیتروژن با حساسیت بالا فراهم شد. ترکیبی از قدرت جداسازی GC با آشکارسازهای حساس انتخابی، این روش را به ابزاری مهم برای

و انعطاف‌پذیر که از جنس فولاد ضد زنگ هستند به‌طور وسیع و گسترده در آنالیز مواد نفتی مورد استفاده قرار گرفتند. سطح فعال فلزی ستون‌های مویینه سبب شد که آنالیز ترکیبات قطبی و گونه‌های حساس کاتالیستی با این گونه ستون‌ها مطلوب نباشد. با گذشت زمان، با مطالعه و درک شیمی سطح شیشه، مویینه‌های ساخته شده از شیشه‌های بور سیلیکات و سودالیم محبوبیت زیادی پیدا کردند و جایگزین مویینه‌های فلزی شدند. جداسازی روی ستون‌های مویینه‌ی شیشه‌ای نسبت به مویینه‌ی فلزی بسیار بهتر است. یکی از معایب این ستون‌ها، شکنندگی آن‌ها است. مهمترین پیشرفت در زمینه ستون‌های مویینه مربوط به سال ۱۹۷۹ بود که شرکت هولت-پاکارد^{۲۴} اولین ستون مویینه از جنس سیلیکای جوش خورده را ارائه نمود. ستون‌های ساخته شده از سیلیکای جوش خورده دارای ویژگی انعطاف‌پذیری فولاد ضد زنگ بوده و از بی‌اثری سطح داخلی شیشه نیز برخوردار است. بدین ترتیب، سیلیکای جوش خورده به‌عنوان ماده انتخابی در تولید ستون‌های مویینه به سرعت جایگزین شیشه شد. ورود ستون‌های مویینه از جنس سیلیکای جوش خورده، تاثیر چشم‌گیری بر کروماتوگرافی گازی داشته است [۴].

● انتخاب ستون مویینه

همه ستون‌های مویینه که در بیشتر کارهای تحقیقاتی به‌منظور اندازه‌گیری باقیمانده‌ی سموم استفاده شدند شامل سیلیکون با استخلاف‌های مختلف هستند. تعدادی از ستون‌های عمومی استفاده شده در جدول (۲) نشان داده شده است [۱].

● طول ستون، قطر داخلی و ضخامت

ستون‌های سیلیسی در اندازه‌های مختلفی عرضه می‌شوند. به‌طور معمول قطر داخلی ستون ۰/۲، ۰/۲۵ و ۰/۳۲ میلی‌متر و

جدول ۲: انواع ستون مویینه

کارخانه سازنده	۱۰۰ درصد متیل	۵ درصد فنیل	۲۰ درصد فنیل	۳۵ درصد فنیل	۵۰ درصد فنیل	۱۴ درصد سیانوپروپیل
ohio valley	OV-1, OV-101	OV-73	OV-7	OV-II	OV-17	OV-1701
alltech	RSL-100, RSL-150	RSL-200			RSL-300	RSL-1701
chrompac	CPSIL5CB	CPSILRCB				CPSIL 19CB
H.P	HP-I, ULTRA-I	HP-2, ULTRA-2			HP-17	
J&W	DB-1	DB-5		DB-60B"	DB-17	DB-1701
Nordion	OV-I	SE-54			OV-17	OV-1701
Quadrex	007-1	007-2	007-7	007-11	007-17	007-1701
Restek	Rtx-1	Rtx-5	Rtx-20	Rtx-35	Rtx-17	Rtx-1701
SGE	BP-1	BP-5				
Supelco	SPB-1	SPB-5	SPB-20	SPB-35	SPB-2250, SP-2100	
Other names	SE-30, SE-33	SE-54, SE-52				

وقتی مولکولی با الکترونی که دارای انرژی خاص است بمباران شود الگوی شکست آن نشان‌دهنده ساختار مولکولی منحصر به فرد آن مولکول در یک طیف جرمی است که بیشتر به‌عنوان اثر انگشت از این ماده در نظر گرفته می‌شود.

● روش پایش

طیف‌سنج جرمی به‌عنوان آشکارساز، قادر به انجام آنالیز روی نمونه‌ها با دو روش است. در روش اسکن، آنالیز نمونه در تمام دامنه جرمی انتخاب شده، انجام می‌گیرد. طیف پس زمینه را می‌توان از طیف نمونه کم و طیف اصلاح را می‌توان برای مقایسه مستقیم با طیف جرمی در یک کتابخانه مورد استفاده قرار داد [۱].

● روش مانیتورینگ یون انتخابی

در مواردی که غلظت سموم خیلی کم، در محدوده پیکوگرم بر حسب میزان تزریق باشد، از روش مانیتورینگ یون انتخابی استفاده می‌شود که در آن جریان یونی جهت جرم انتخابی اعمال می‌شود. به‌منظور تایید لازم است که حداقل سه یون اندازه‌گیری شود. روش مانیتورینگ یون انتخابی برای تایید نتایج به دست آمده با دیگر آشکارسازهای انتخابی مناسب است [۱].

آنالیزهای تاییدی

تایید با استفاده از ستون‌های با قطبیت‌های مختلف

آنالیز تاییدی با استفاده از یک ستون با قطبیت متفاوت با ستون قبلی با روش مشابه انجام می‌شود. زمان بازداری یکسان از ترکیب شاهد و ترکیب ناشناخته در دو ستون موینه با قطبیت متفاوت به منزله‌ی شاهده‌ی قوی از یکسان بودن ترکیبات است [۱].

تایید به روش مشتق‌سازی

مشتق‌سازی شیمیایی و آنالیز آن با دستگاه کروماتوگرافی گازی/طیف‌سنج جرمی غالباً با بهبود پیک‌ها همراه بوده‌است. همچنین پایداری حرارتی و فراریت بیشتر ترکیبات مشتق‌سازی شده، می‌تواند باعث افزایش حساسیت و کاهش حد تشخیص شود. مشهورترین شکل مشتق‌سازی، جابه‌جایی اتم‌های هیدروژن فعال در مولکول (OH , -COOH , -NH_2 , NHR , -SH) با گروه تری‌متیل‌سیلیل است. همچنین واکنش دی‌آزومتان‌ها با اسیدهای کربوکسیلیک منجر به تشکیل متیل‌استرهای مربوطه شده و یا با فنل‌ها، متیل‌استرهای آروماتیک را بوجود می‌آورند. در این روش علاوه بر اینکه مشتق فرارتری بدست می‌آید، می‌تواند روشی برای اثبات وجود ترکیبات باشد. به مثالی از مشتق‌سازی چند نمونه سم برای نشان دادن روش مشتق‌سازی در شکل (۱) اشاره شده‌است [۱].

آنالیز باقی‌مانده‌ی آفت-کش‌ها تبدیل می‌کند [۴].

تشخیص و تعیین مقدار سموم متعدد با انواع روش‌های کروماتوگرافی گازی با آشکارسازهای ECD، NPD، FPD، اسپکترومتری جرمی ساده یا متوالی با آشکارسازهای یونش الکترونی و شیمیایی، روش پیگیری گزینش متوالی (GC/MS/MS) انجام شده‌است.

● آشکارساز ربایش الکترون

امروزه یکی از مشهورترین و شاید دومین آشکارساز در کروماتوگرافی گازی بعد از آشکارساز یونیزاسیون شعله، آشکارساز ربایش الکترون است. این آشکارساز از یک منبع رادیواکتیو با انتشار ذره‌ی بتا به‌عنوان منبع الکترون برای انجام یونیزاسیون بهره می‌برد. برخورد الکترون‌ها به جریان گاز حامل، جریان ثابتی را به وجود می‌آورد که حضور ترکیبی با قابلیت جذب الکترون (ترکیبات هالوژن‌دار) باعث کاهش آن و ظهور یک پیک منفی می‌شود [۱].

● آشکارساز نورسنج شعله‌ای

حساس‌ترین آشکارساز برای ترکیبات فسفردار و گوگرددار، آشکارساز نورسنج شعله‌ای است. FPD براساس لومینسانس شیمیایی تولید شده از عنصر خاص وقتی که در شعله هیدروژن می‌سوزد، است. اگر چه آشکارساز نورسنج شعله‌ای می‌تواند به ترکیباتی که دارای هالوژن، نیتروژن، قلع، کروم، سلنیوم، تلور و بور هستند نیز با تغییر شرایط شعله، قدرت پاسخگویی داشته باشد، ولی به‌صورت عمده برای مشاهده گونه‌های آلی گوگرددار و فسفردار که به‌طور معمول این آشکارساز برای آنها انتخابی هستند، استفاده می‌شود [۱].

● آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ی کلیایی

در سال ۱۹۶۴، کارمن و گایفرید نشان دادند که با اضافه کردن نمک سدیم به آشکارساز FID انتخاب‌پذیری این آشکارساز به ترکیبات فسفردار و هالوژن‌دار افزایش پیدا می‌کند. این آشکارساز برای مولکول‌های دارای نیتروژن و فسفر اختصاصی اما انتخابگری آن ضعیف است [۱].

● آشکارساز گرما یونی نیتروژن - فسفر

آشکارساز ترمویونی به آشکارساز نیتروژن - فسفر نیز مشهور است. اساس کار این آشکارساز به این صورت است که آند فلزی، یون‌های مثبت را وقتی در یک گاز گرم می‌شوند، منتشر می‌کند. به‌صورت معمول این نوع آشکارساز انتخابی بوده و برای ترکیباتی که دارای نیتروژن و فسفر هستند به کار می‌روند. این ترکیبات شامل مواد دارویی، سموم و آلاینده‌های زیست محیطی هستند [۱].

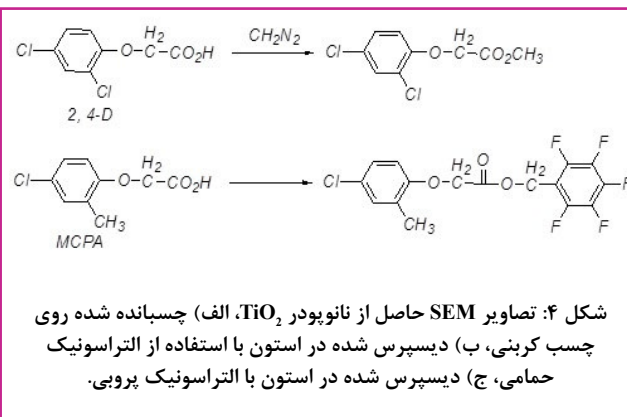
● آشکارساز طیف‌سنج جرمی

● جفت شدن کروماتوگرافی گازی با طیف‌سنج جرمی
دستگاه‌های GC-MS به دلیل انتخاب‌پذیری بالای ذاتی و حساسیت بسیار خوب، از ابزارهای قدرتمند موجود برای آنالیز باقیمانده آفت‌کش‌ها به‌شمار می‌روند.

پی‌نوشت

۱. دکتری شیمی آلی، آزمایشگاه هورتاش آپادانا، بخش تحقیقات و توسعه
۲. کارشناسی ارشد مواد غذایی، آزمایشگاه هورتاش آپادانا، بخش تحقیقات و توسعه
۳. دانشجوی کارشناسی ارشد تجزیه، پژوهشکده کمیازی
۴. عضو کارگروه تخصصی کروماتوگرافی شبکه آزمایشگاهی

5. Accelerated Solvent Extraction
6. Supercritical Fluid Extraction
7. Microwave Associated Extraction
8. Salting out
9. Separation
10. Extraction
11. Cleanup
12. Co-extract
13. Mills, Onley and Geither
14. Single-Drop Microextraction (SDME)
15. Hollow-fiber membrane liquid-phase microextraction (HFM-LPME)
16. Solid Phase Extraction (SPE)
17. Solid Phase Microextraction (SPME)
18. Stir-bar sorptive extraction (SBSE)
19. Polymer-coated hollow fiber microextraction (PC-HFME)
20. Continuous-flow microextraction (CFME)
21. Hollow fiber membrane
22. Packed column
23. Capillary column
24. Hewlett-Packard
25. Electron capture detector (ECD)
26. Flame photometric detector (FPD)
27. Alkali-flame ionization detector (AFID)
28. Nitrogen-phosphor detector
29. Mass Spectrometer (MS)
30. Selected Ion Monitoring (SIM)



نتیجه‌گیری

آفت‌کش‌ها به‌طور گسترده در تولید مواد غذایی استفاده می‌شوند. در آنالیز مواد غذایی برای اندازه‌گیری و شناسایی طیف وسیعی از سموم به‌خصوص سمومی که به مقدار خیلی کم در مواد غذایی وجود دارند، نیاز به روش‌های جداسازی است که در این مقاله به بررسی روش‌های آماده‌سازی نمونه شامل جداسازی، استخراج و تصفیه پرداختیم. پس از استخراج و پیش‌تغلیظ لازم است محلول استخراج شده به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شود تا مقادیر آن در مقایسه با یک استاندارد تعیین مقدار شود. دستگاه کروماتوگرافی گازی مورد استفاده دارای بخش‌های مختلفی است که به‌طور مختصر ویژگی‌هایی که باید بخش‌های مختلف دستگاه به منظور آنالیز باقیمانده سموم داشته باشد در این مقاله شرح داده شده‌است.

مراجع

- [1] Gordon M.H, Principles and applications of gas chromatography in food analysis. Book Ellis Horwood Series in Food Science and Technology, 1990.
- [2] Pawliszyn J, Handbook of Solid Phase Microextraction. University of Waterloo Waterloo, Ontario Canada, 2012.
- [3] Wilson, Ian D.; Adlard, Edward R.; Cooke, Michael; et al., eds. Encyclopedia of separation science. San Diego: Academic Press, 2000.
- [۴] ۱۳۹۵، رویکرد جدید در کروماتوگرافی گازی. کامران عشقی و پرویز سلیمانی دینانی

نویسندگان

ندا رحمانی نسب^{۱*}اعظم نارویی^۲

*nedarahmani61@yahoo.com

SAFETY
IN THE LAB

چکیده

هنگامی که با مواد شیمیایی مختلف کار می‌کنیم امکان بروز حوادث مختلف نظیر تماس پوستی، بلع، استنشام، آزاد یا ریخته شدن مواد در محیط و غیره وجود دارد. بنابراین بسیار مهم است که بدانیم در مقابله با این حوادث چگونه باید عمل نمود. اطلاعات لازم برای این منظور در برگه‌هایی بنام برگه‌های اطلاعات ایمنی^۴ یا همان SDS جمع‌آوری می‌شود که در موارد اضطراری می‌توان از آنها استفاده نمود. اثرات مزمن مواد شیمیایی شامل مواد شیمیایی و آلاینده‌های محیطی است که تماس با آنها معمولاً به مرور موجب اثرات زیان‌آور روی سلامتی انسان و موجودات زنده می‌شود و اثرات کالاهای خطرناک^۵ که شامل مواد شیمیایی، مواد رادیواکتیو و مواد عفونی است که موجب تهدید آبی و فوری سلامت و ایمنی افراد، تجهیزات و محیط می‌شوند.

برگه‌های اطلاعات
ایمنی در آزمایشگاه به
ما چه می‌گویند؟

واژه‌های کلیدی

سیستم‌های طبقه‌بندی مواد، SDS، GHS، برگه اطلاعات ایمنی مواد شیمیایی.

مقدمه

با توجه به برخورد و حساسیت سال‌های اخیر، دانشمندان و حتی مردم عادی نسبت به اهمیت اثرات مزمن مواد شیمیایی، سیستم‌های تقسیم‌بندی و طبقه‌بندی‌های ویژه‌ای به صورت بین‌المللی در نظر گرفته شده‌است. این سیستم‌ها اغلب کمک می‌کنند که ویژگی‌ها و خطرات اینگونه مواد سریعتر قابل تشخیص باشد. به‌منظور افزایش ایمنی، سیستم‌های طبقه‌بندی به خصوص برگه‌های اطلاعات ایمنی یا همان SDS، اطلاعاتی در اختیار مصرف‌کننده قرار می‌دهد که کاربر می‌تواند با آگاهی از ماهیت آبی ماده مزبور، آگاهی از خطرات و ضایعات ناشی از استفاده، جابجایی و انبارش نادرست، تماس پوستی، بلع، استنشام، ریختن مواد در محیط و غیره در امان باشد. در واقع اطلاعات مندرج در SDS هر ماده‌ای بیانگر این است که روش صحیح استفاده از آن باید چگونه باشد، در چه درجه حرارت و چه نوع محیطی باید نگهداری شود، در انبارش و جابجایی آن چه نکات ایمنی باید رعایت شود و در صورت بروز خطر روش مقابله با عوارض آن ماده چگونه خواهد بود.

سیستم‌های طبقه‌بندی مواد

سیستم‌های کدگذاری بین‌المللی در شناسایی مواد شیمیایی

با توجه به رشد صنعت و توسعه سطوح و ابعاد مختلف حمل و نقل، در جابجایی و حمل و نقل کالا نکته مهمی وجود دارد که باید به آن توجه نمود. همواره لازم است اطلاعات زیادی در مورد کالاهای خطرناک کسب شود، در واقع استفاده بی‌خطر از این مواد بدون برخورداری از سیستم مدیریت ایمنی مواد شیمیایی امکان‌پذیر نخواهد شد. این امر در مورد کالاهای خطرناک دارای اهمیت مضاعفی است؛ با توجه به این مقوله که استفاده ایمن از مواد بدون داشتن اطلاعات درباره خواص، اثرات و روش‌های کاربرد ایمن آنها امکان‌پذیر نیست، بنابراین اولین قدم شناسایی، طبقه‌بندی و آگاهی از خطرات و اثرات بالقوه این مواد است.

با توجه به اینکه تعداد مواد شیمیایی بسیار زیاد و از تنوع بالایی نیز برخوردار هستند، طبقه‌بندی آنها و به‌خصوص طبقه‌بندی خطرات آنها نیز گوناگون و وسیع است که در زیر به چند مورد از آن اشاره خواهد شد.

سیستم طبقه‌بندی UN یا UN Number کدگذاری عددی چهار رقمی است که برای شناسایی کالاهای خطرناک از سوی کمیته حمل و نقل کالاهای خطرناک ایالات متحده وضع شده است [۱].

عدد CAS یا CAS Number نیز یک سیستم کدگذاری عددی با فرمت xxx-xx-x است که برای شناسایی عناصر و ترکیبات شیمیایی مختلف توسط شاخه‌ای از انجمن شیمی آمریکا وضع شده است.

عدد IUPAC یا IUPAC Number نیز یک سیستم کدگذاری بین‌المللی برای شناسایی مواد شیمیایی است که به‌منظور ارائه روشی استاندارد و قابل درک برای شناسایی اطلاعات مولکولی مواد و آسان نمودن جستجوی این اطلاعات توسط اتحادیه بین‌المللی شیمی محض و کاربردی^۶ تدوین شده است [۲].

عدد RTECS یا RTECS Number سیستم ثبت اثرات سمی مواد شیمیایی^۷ با فرمت ABxxxxxxx است. این سیستم با استفاده از مطالعات سم‌شناسی موجود تدوین شده که برای دستیابی به اطلاعات سم‌شناسی در مورد ماده شیمیایی کمک می‌کند.

وجود سیستم‌های متعدد در طبقه‌بندی خطرات مواد شیمیایی مشکل‌ساز است و نه تنها در ایمنی شیمیایی و بررسی اثرات سلامت بلکه در فعالیت‌های صنعتی و تجاری نیز موجب سردرگمی می‌شود. به همین دلیل از اواخر سال ۲۰۰۲ سیستم جهانی ملل متحد طبقه‌بندی و برچسب گذاری مواد شیمیایی^۸ را معرفی کرده است.

در این سیستم برای رویارویی صحیح با خطرات، با توجه

به تجارت گسترده جهانی مواد شیمیایی و به‌منظور اطمینان از کاربرد ایمن مواد، تمامی مراحل از تولید تا استفاده، حمل و نقل و دفع مواد زائد ارتقاء یافته است [۳].

سیستم جهانی طبقه‌بندی مواد شیمیایی

در سال ۱۹۹۲، کنفرانس ملل متحد^۹ با عنوان محیط‌زیست و توسعه (کنفرانس Rio Earth) منجر به تصویب قطع‌نامه شماره (۲۱) شد و طی آن وظایف مختلفی برای کشورها به‌منظور دستیابی به توسعه پایدار تعیین و در بیش از ۱۵۰ کشور به کار گرفته شد [۳ و ۴].

همچنین از سوی کنفرانس UNCED لزوم ایجاد یک سیستم جهانی در طبقه‌بندی مواد شیمیایی مطرح و توصیه شد که در صورت امکان تا سال ۲۰۰۰ یک سیستم جهانی طبقه‌بندی و برچسب گذاری مواد شیمیایی شامل برگه‌های اطلاعات ایمنی و علائم قابل درک ارتقاء یافته و آماده بهره‌برداری شود.

در تحقق این هدف ملل متحد با کمک متخصصان متعدد از سازمان‌ها و کشورهای مختلف پس از یک دهه کار در اواخر سال ۲۰۰۲ موفق شد سازوکاری را برای هماهنگ نمودن معیارهای مربوط به طبقه‌بندی و برچسب گذاری مواد شیمیایی ارائه و آماده‌ی بهره‌برداری کند.

در سیستم GHS طبقه‌بندی مواد بر حسب نوع خطرات و راه‌های هماهنگ تبادل اطلاعات خطر شامل برچسب‌ها و برگه‌های اطلاعات ایمنی مواد^{۱۰} با فرمت یکسان در قالب SDS است که هدف این سیستم، اطمینان از در دسترس بودن اطلاعات در زمینه خطرات فیزیکی و اثرات سمی و زیست محیطی مواد به‌منظور ارتقاء سلامت انسان و محیط‌زیست است [۳].

طبقه‌بندی و برچسب گذاری مواد شیمیایی در سیستم GHS

در سیستم GHS طبقه‌بندی مواد بر مبنای خطرات فیزیکی، بهداشتی و محیطی بوده و روش‌های هماهنگ تبادل اطلاعات خطر در این سیستم برچسب گذاری^{۱۱} از طریق کلمات، سیگنال، عبارات خطر و پیکتوگرام‌های هشدار دهنده و نیز برگه‌های اطلاعات ایمنی با فرمت استاندارد است. این سیستم تقسیم‌بندی مختص مواد شیمیایی بوده و برخلاف سیستم UN کالاهای خطرناک مواد رادیواکتیو و مواد عفونت‌زا حذف شده است [۳].

برگه‌های اطلاعات ایمنی

بر طبق قوانین سازمان ایمنی و بهداشت حرفه‌ای آمریکا^{۱۲} [۱]، هر تولید کننده بعد از تولید یک محصول یا یک ماده‌ی شیمیایی خاص، موظف است دیگران را در جریان خطرات و

اما فرمت آنها در تعداد عناوین با یکدیگر متفاوت است. در شکل (۱) تشابه بین MSDS و SDS نشان داده شده است. بسته به نیاز و بسته به تشخیص کارشناسان ایمنی و بهداشت حرفه‌ای، ممکن است تعدادی از اجزای آن را کم یا زیاد کنند. کم یا زیاد کردن اجزای برگه‌ی اطلاعات ایمنی تا حدود زیادی بستگی به گروه هدفی که با آن کار می‌کنند و یا قرار است از آن استفاده کنند، دارد.



شکل ۱: تشابه بین MSDS و SDS [۷]

دلایل الزام آور استفاده از SDS

بیشتر مواد شیمیایی خطرات نهفته و بالقوه دارند

بیش از میلیون‌ها نوع ماده شیمیایی و ترکیب‌های خطرناک در صنعت وجود دارد که بیشتر این مواد تاثیر خود را در بلندمدت و در طول زمان می‌گذارند (ممکن است هیچ علامت و نشانه‌ای هم نداشته باشند). اگر سازمانی از خطرات مواد شیمیایی مطلع نباشد، بعید نیست که بعد از مدتی دچار بحرانی غیرقابل جبران شود. کوچک‌ترین سهل انگاری در روش‌های حمل و نقل، نگهداری، انبارداری و غیره می‌تواند خسارات جبران ناپذیری به بار آورد. برگه اطلاعات ایمنی اطلاعات پایه درباره مواد یا فرآورده‌های شیمیایی فراهم می‌کند و به‌طور کلی دارای اطلاعاتی پیرامون ویژگی‌ها، پتانسیل آسیب‌زایی مواد، چگونگی استفاده ایمن و برخورد در مواقع اضطراری است.

به‌عنوان مثال، برخی از مواد شیمیایی سرطان‌زا هستند و این سرطان‌زایی گاهی بعد از ده سال مواجهه با یک ماده شیمیایی نمود پیدا می‌کند. فرض کنید سازمانی بعد از ده سال متوجه شود تعداد زیادی از کارگران خط تولید خود دچار سرطان شغلی شده‌اند. بدیهی است که چنین اتفاق ناخوشایندی، علاوه بر خسارت‌های هنگفت مالی، می‌تواند وجهه ملی و حتی بین‌المللی سازمان را به چالش بکشد. برگه‌های اطلاعات ایمنی به‌عنوان بهترین منبع علمی در خصوص خطرات مواد شیمیایی در یک سازمان، می‌تواند خطراتی از این قبیل را قبل از وقوع گوشزد و حتی راه حل‌های مناسب پیشگیرانه و کنترلی مناسب را ذکر کند.

از این رو، برگه‌های اطلاعات ایمنی به‌عنوان منبع مهمی برای پیشگیری و کنترل خطرات، جزء لاینفک سیستم مدیریتی ایمنی و بهداشت است و به‌طور معمول از آن به‌عنوان نقطه

خواص آن ماده‌ی شیمیایی قرار دهد [۵]. به برگه‌هایی که اطلاعاتی در مورد خطرات بالقوه و روش ایمنی کار با مواد به ما می‌دهد، در اصطلاح «برگه‌ی اطلاعات ایمنی» می‌گویند. وجود برگه‌ی اطلاعات ایمنی در کنار مواد مورد نظر، اطلاعاتی را در اختیار مصرف کننده قرار می‌دهد که با آگاهی از آن، قادر خواهد بود از خطرات و ضایعات ناشی از استفاده‌ی همان مواد در امان باشد و همچنین با روش صحیح استفاده از آن مواد آشنا شود. در سیستم GHS این برگه‌ها به نام «برگه‌های اطلاعات ایمنی» نامیده شده و برای هماهنگ نمودن آنها یک فرمت استاندارد همراه با (۱۶) عنوان پیشنهاد شده است (جدول ۱) [۱ و ۵].

جدول ۱- مشخصات برگه اطلاعات ایمنی با ویرایش هماهنگ GHS

ردیف	عنوان
۱	مشخصات سازنده/ فروشنده
۲	مشخصات خطر
۳	اطلاعات ترکیب و اجزاء تشکیل دهنده
۴	کمک‌های اولیه
۵	اقدامات آتش‌نشانی
۶	اقدامات در شرایط اضطراری شامل ریخت و پاش‌های احتمالی
۷	نگهداری و انبارداری
۸	کنترل تماس و حفاظت فردی
۹	ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی
۱۰	پایداری و واکنش‌پذیری
۱۱	اطلاعات سم‌شناسی
۱۲	اطلاعات اکولوژیکی و زیست محیطی
۱۳	چگونگی دفع مواد زائد
۱۴	اطلاعات حمل و نقل
۱۵	اطلاعات مقرراتی شامل استانداردها
۱۶	دیگر اطلاعات لازم

در OSHA برای بخش‌های (۱۲) تا (۱۵) اجباری وجود ندارد زیرا زیر نظر مرجع ناظر در سازمان‌های دیگر قرار می‌گیرند [۳، ۵ و ۶].

معمولاً یک SDS حاوی اطلاعاتی نظیر ویژگی‌های ماده، سمیت، واکنش‌پذیر بودن و احتیاط‌های لازم در هنگام استفاده، به‌عنوان مثال جداسازی از مواد ناسازگار، روش‌های صحیح کار و جابه‌جایی ماده، کمک‌های اولیه و اقدامات اضطراری، سیستم‌های تهویه و وسایل حفاظت فردی لازم است.

در مجموع، برگه‌های اطلاعات ایمنی مواد شیمیایی (MSDS) و برگه‌های اطلاعات ایمنی (SDS) شبیه یکدیگرند

مراجع و انتشارات مرتبط با ایمنی مواد شیمیایی

برگه‌های اطلاعات ایمنی باید اطلاعات مرتبط با مواد را براساس مستندات منتشر شده توسط مراکز معتبر جهانی و براساس یافته‌ها و عوارض مشخص شده روی انسان‌ها و محیط و نتایج تحقیقات درج کند. برگه‌های اطلاعات ایمنی شرکت‌های مختلف ممکن است شبیه به هم نباشد، اما دارای یک سری اطلاعات پایه‌ای مشترک هستند.

مراجع و انتشارات بسیار زیادی در زمینه‌های مختلف عوامل شیمیایی وجود دارند که آشنایی و استفاده از آنها می‌تواند در کار ایمن با مواد شیمیایی مؤثر باشد. کارشناسان و مسئولین ایمنی و بهداشت محیط کار وظیفه دارند که با آیین‌نامه‌ها، دستورالعمل‌ها و استانداردهای ملی موجود در زمینه مواد شیمیایی و آلاینده‌های محیط کار آشنایی داشته و آنها را در راستای کار ایمن و مدیریت صحیح مواد شیمیایی بکار گیرند. علاوه بر این، آشنایی با مراجع علمی روز و منابع اطلاعاتی معتبر همواره می‌تواند به منظور بهبود مداوم ایمنی و بهداشت محیط کار راهگشا بوده و باید مد نظر قرار گیرد.

پایگاه‌های اینترنتی مختلفی نیز وجود دارند که می‌توانند در یافتن منابع اطلاعات مورد نیاز مرتبط با بهداشت حرفه‌ای و ایمنی مواد شیمیایی مفید باشند. لیست برخی از پایگاه‌های اینترنتی در جدول (۲) آمده است که این اطلاعات در کشورهای مختلف معمولاً سالانه به روز می‌شود.

جدول ۲- برخی از پایگاه‌های اینترنتی قابل استفاده در ایمنی مواد شیمیایی [۱۱]

گروه / سازمان	پایگاه اینترنتی - URLs
ACGIH	http://www.acgih.org
AIHA	http://www.aiha.org
ANSI	http://www.ansi.org
DOT	http://www.dot.gov
EPA	http://www.epa.org
ILO	http://www.ilo.org
IPCS	http://www.who.int/ipcs
ISO	http://www.iso.ch
NIOSH	http://www.cdc.gov/niosh
OSHA	http://www.osha.gov
NPCHSE ^{۱۵}	http://www.npchse.net/safety/MSDS.asp
INSHEM	www.inchem.org
SCOTTE	www.scotecatalog.com/msds.nsf/All

آغازین یک برنامه ایمنی و بهداشت در صنعت یاد می‌شود. در اهمیت برگه‌های اطلاعات ایمنی همین بس که سال ۲۰۱۴ از طرف سازمان جهانی کار^{۱۳} به نام سال «ایمنی و سلامت در استفاده از مواد شیمیایی در محیط کار^{۱۴} نام گذاری شده است. از این رو می‌توان گفت که سال ۲۰۱۴ از طرف ILO به‌طور غیرمستقیم سال برگه‌های اطلاعات ایمنی نامگذاری شده است. چون برگه‌های اطلاعات ایمنی سنگ بنای کنترل و پیشگیری خطرات مواد شیمیایی در صنعت است و نقطه آغازین برنامه کنترل مواد شیمیایی است، پس باید اطلاعات آن با دقت بسیار زیاد و حساسیت بسیار بالایی گردآوری و تدوین شود [۵] و [۸].

سیستم‌های مدیریتی تدوین برگه‌های اطلاعات ایمنی را الزام می‌داند

بیشتر سیستم‌های مدیریتی مانند ISO 14001 OHSAS 18001 و ISO 9001 الزام می‌کنند که سازمان برای شناسایی و کنترل خطرات، برنامه مدون داشته باشند. به‌عنوان مثال، در الزام ۴-۴-۶ استاندارد OHSAS 18001 با عنوان «کنترل عملیات» چنین آمده است که: «سازمان باید عملیات و فعالیت‌هایی را که وابسته به خطرهای شناخته شده بوده و نیازمند اقدامات کنترلی می‌باشند، مشخص کند». به‌طور قطع در هر مرحله از عملیات ممکن است سوالات اساسی مرتبط با افراد، مواد، تجهیزات و محیط در پیش رو داشته باشیم که به‌منظور کنترل عملیات باید پاسخ‌های مناسب و واقعی برای آنها داشت. در خصوص مواد، شناسایی مواد شیمیایی، تعیین محل‌های مناسب برای انبارش آنها، تدارک شرایط لازم برای انبارش بی‌خطر و ایمن مواد (کنترل دما، رطوبت، نور)، کنترل دسترسی به مواد شیمیایی خطرناک، نشانه‌گذاری مناسب روی مواد، تهیه و چگونگی دسترسی به برگه‌های اطلاعات ایمنی می‌تواند در کنترل عملیات به ما کمک کند. عدم وجود برگه‌ی اطلاعات ایمنی در سازمان ممکن است مشکلاتی را برای تمدید این گواهینامه‌ها به وجود آورد [۵] و [۸].

الزامات قانونی

در ایران متأسفانه هنوز الزام تعهدآور جدی برای لزوم استفاده از برگه‌های اطلاعات ایمنی برای تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان مواد شیمیایی وضع نشده است. این در حالی است که در حال حاضر گمرک بسیاری از کشورها اجازه واردات مواد شیمیایی بدون ذکر اطلاعات ایمنی ماده را نمی‌دهد [۸] و [۹]. در بین آیین‌نامه‌های مصوب مرکز تحقیقات و تعلیمات وزارت کار تنها یک بند در مورد الزام استفاده از برگه‌های اطلاعات ایمنی وجود دارد. در آیین‌نامه ایمنی در آزمایشگاه‌ها، فصل چهارم بند (۷۶) ذکر شده است که: «اطلاعات ایمنی مواد برای کلیه مواد شیمیایی باید در دسترس باشد» [۱۰].

مثالی از برگه اطلاعات ایمنی [۱۲]

SAFETY DATA SHEET	
۲- متوکسی اتیل استات (2-Methoxyethyl acetate)	
بخش ۱: هویت ماده	
۱.۱ شناسایی ماده	
نام ماده	۲- متوکسی اتیل استات (2-Methoxyethyl acetate)
نام مترادف لاتین	Methyl Cellosolve(R) Acetate; Ethylene Glycol Monomethyl Ether Acetate
نام مترادف فارسی	متیل سلوساوا استات؛ اتیلن گلیکول مونومتیل اتر استات
CAS No.	110-49-6
بخش ۲: خطرات شناسایی شده	
۱.۲ طبقه بندی	
این ماده براساس (2012 OSHA Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200)، به عنوان خطرناک تقسیم بندی شده است.	
سمیت حاد خوراکی: گروه ۴ سمیت حاد پوستی، گروه ۴ سمیت حاد تنفسی-بخارات، گروه ۴ سمیت تولید مثل، گروه 1A	
۲.۲ اجزای برجسته:	
نماد عبارت: خطر	
عبارات خطر: در صورت خوردن، مضر است. از طریق مواجهه پوستی، مضر است. تنفس این ماده، مضر است. ممکن است به باروری یا جنین آسیب برساند.	
	
عبارات احتیاطی:	
پیشگیری: پس از استفاده از ماده، صورت، دست‌ها و پوست در معرض را بشویید. در هنگام کار با ماده نخورید، نیاشامید و سیگار نکشید. دستورالعمل‌های خاص قبل از استفاده دریافت شوند. تا زمانی که همه احتیاطات ایمنی را نخوانده و نفهمیده‌اید از ماده استفاده نشود. از تنفس غبار، فیوم، گاز، میست، بخارات و اسپری خودداری شود. فقط در فضاهای باز یا دارای تهویه مناسب استفاده شود.	
واکنش: در صورت مواجهه یا وجود هر مسئله مهم، با پزشک تماس بگیرید.	
تنفس: در صورت تنفس ماده، مصدوم را به هوای تازه برده و برای تنفس در وضعیت استراحت قرار دهید.	
مواجهه پوستی: پوست با مقدار زیادی آب و صابون شسته شود. اگر احساس ناخوشی می‌کنید با پزشک یا مرکز مسمومین تماس بگیرید.	
لباس آلوده را قبل از استفاده مجدد بشویید.	
خوردن: در صورت خوردن ماده: اگر احساس ناخوشی می‌کنید با پزشک یا مرکز مسمومین تماس بگیرید. دهان را بشویید.	
انبار: به صورت قفل شده انبار شود.	
دفع: ظرف یا ماده در یک کارخانه دفع مواد زائد مورد تایید، دفع شود.	
خطراتی که به طریق دیگری تقسیم بندی نشده است (HNOC): شناخته نشده است.	
بخش ۳: اطلاعات در مورد ترکیب / اجزاء	
جزء	2-Methoxyethyl acetate
وزن %	98
CAS No	110-49-6
بخش ۴: اقدامات کمک‌های اولیه	
۱.۴ تشریح اقدامات کمک‌های اولیه	
در صورت مواجهه چشمی: فوراً چشم‌ها و نیز زیر پلک‌ها را حداقل به مدت ۱۵ دقیقه با مقدار زیادی آب بشویید.	
در صورت مواجهه پوستی: فوراً پوست را حداقل به مدت ۱۵ دقیقه با مقدار زیادی آب بشویید.	
در صورت تنفس: به هوای تازه بروید.	
در صورت خوردن: وادار به استفراغ نکنید.	
۲.۴ مهم‌ترین علائم و اثرات حاد و تاخیری: اطلاعاتی وجود ندارد.	
۳.۴ شاخص مراقبت پزشکی فوری و درمان‌های خاص مورد نیاز: درمان به صورت علامتی انجام شود.	

بخش ۵: روش‌های اطفاء حریق

ماده‌ی خاموش‌کننده‌ی مناسب: اسپری آب، دی اکسید کربن، شیمیایی خشک، فوم شیمیایی.

ماده‌ی خاموش‌کننده‌ی نامناسب: اطلاعاتی در دسترس نیست.

نقطه اشتعال: -

روش: اطلاعاتی در دسترس نیست.

دمای خود اشتعالی: 394 °C

محدوده‌ی انفجار:

حد بالا: 8.20%

حد پایین: 1.70%

حساسیت به ضربه مکانیکی: اطلاعاتی در دسترس نیست.

حساسیت به بار ساکن: اطلاعاتی در دسترس نیست.

خطرات خاص ناشی از ماده یا مخلوط: ماده و ظرف خالی را از گرما و منابع اشتعال دور نگهدارید.

محصولات خطرناک اشتعال: شناخته نشده است.

تجهیزات حفاظتی برای آتش‌نشانان:

استفاده از تجهیزات تنفسی خودتامین در عملیات اطفاء حریق (تاییدشده توسط MSHA/NIOSH یا معادل آن)، تجهیزات حفاظتی کامل.

NFPA سلامتی: ۲، قابلیت اشتعال: ۲، ناپایداری: ۱، خطرات فیزیکی: -

بخش ۶: اقدامات لازم در زمان نشت و ریزش تصادفی

احتیاط‌های فردی: تجهیزات حفاظت فردی پوشیده شود. تهویه‌ی کافی را برای محیط فراهم کنید.

احتیاط‌های محیطی: برای اطلاعات بیش‌تر محیطی، بخش ۱۲ را ببینید.

روش‌ها و وسایل برای رفع آلودگی و پاک‌سازی: اطلاعاتی وجود ندارد.

بخش ۷: حمل و انبار

حمل: تهویه‌ی کافی را برای محیط فراهم کنید.

انبار: ظروف را به‌صورت محکم بسته شده و در فضای سرد، خشک و دارای تهویه‌ی مناسب نگهداری کنید.

بخش ۸: کنترل‌های مواجهه/حفاظت فردی

حدود مجاز مورد نیاز در محیط کار براساس الزامات ایران (۱۳۹۱):

OEL-TWA=0.1 ppm

نمادها: BEI، پوست

شاخص: ۲- متوکسی استیک اسید در ادرار، زمان نمونه‌برداری: انتهای شیفت در آخر هفته، BEI= 1mg/g creatinine

کنترل‌های مهندسی: تهویه‌ی کافی را برای محیط به‌خصوص در فضاهای محصور فراهم کنید.

تجهیزات حفاظت فردی

حفاظت چشم/صورت: از عینک‌های حفاظتی مناسب یا گازل‌های ایمنی شیمیایی توضیح داده شده در الزامات حفاظت چشم و صورت OSHA در 29

CFR 1910.133 یا استاندارد اروپایی EN166 استفاده شود.

حفاظت پوست و بدن: برای جلوگیری از مواجهه پوستی از لباس و دستکش‌های حفاظتی مناسب استفاده شود.

حفاظت تنفسی: از ریسپراتورهای مناسب توضیح داده شده در الزامات OSHA در 29 CFR 1910.134 یا استاندارد اروپایی EN149 استفاده شود.

صورت تراکم بیش از حد مجاز ماده و بروز تحریک یا علائم، از ریسپراتورهای NIOSH/MSHA یا استاندارد اروپایی EN149 استفاده شود.

روش‌های بهداشتی: مطابق با قوانین و روش‌های ایمنی و بهداشتی مناسب از ماده استفاده شود.

توجه: در زمینه انتخاب و استفاده از وسایل حفاظت فردی، رعایت کلیه موارد مندرج در "آیین‌نامه وسایل حفاظت فردی" مصوب ۱۳۹۰/۳/۲۱ شورای عالی

حفاظت فنی و بهداشت کار ایران، الزامی است.

بخش ۹: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی

حالت فیزیکی	مایع
رنگ	شفاف
بو	آروماتیک
حد آستانه‌ی بو	اطلاعاتی وجود ندارد.
pH	-
نقطه‌ی ذوب	-65 °C

-	نقطه‌ی جوش
-	نقطه‌ی اشتعال
مشخص نشده است.	قابلیت اشتعال (جامد، گاز)
394 °C	دمای خود اشتعالی
مشخص نشده است.	دمای تجزیه
حد بالا: 8.20% حد پایین: 1.70%	حد بالا/پایین اشتعال یا حد قابل انفجار
2 mmHg	فشار بخار
4.1	دانسیته‌ی بخار
1.0090	دانسیته‌ی نسبی
قابل حل در آب	حلالیت
کاربردی ندارد.	نسبت تبخیر
مشخص نشده است.	نسبت توزیع ان اکتانول / آب
مشخص نشده است.	ویسکوزیته
C5H10O3	فرمول مولکولی
118.13	وزن مولکولی

بخش ۱۰: پایداری و واکنش پذیری

خطر واکنش پذیری: براساس اطلاعات موجود، موردی شناخته نشده است.

پایداری: در شرایط معمول، پایدار است.

شرایط اجتناب: مواد ناسازگار.

مواد ناسازگار: عوامل اکسیدکننده قوی.

محصولات خطرناک حاصل از تجزیه: در شرایط معمول موردی وجود ندارد.

پلیمریزاسیون خطرناک: اتفاق نمی‌افتد.

واکنش‌های خطرناک: تحت شرایط معمول، موردی وجود ندارد.

بخش ۱۱: اطلاعات سم‌شناسی

سمیت حاد:

اطلاعات ماده:

2900 mg/kg	LD50	خوراکی، رت
3930 mg/kg		
5250 µL /kg	LD50	پوستی، خرگوش
5214 mg/kg		

محصولات تشدیدکننده سم‌شناسی: اطلاعاتی وجود ندارد.

اثرات تاخیری و فوری مانند اثرات مزمن مواجهه‌ی کوتاه و بلند مدت:

تحریکی: اطلاعاتی وجود ندارد.

حساسیت: اطلاعاتی وجود ندارد.

سرطان‌زایی: توسط IARC, NTP, ACGIH, OSHA, به‌عنوان سرطان‌زا فهرست نشده است.

اثرات جهش‌زایی: اطلاعاتی در دسترس نیست.

اثرات تکاملی: اطلاعاتی در دسترس نیست.

سمیت ارگان هدف خاص - یک بار مواجهه: شناخته نشده است.

سمیت ارگان هدف خاص - مواجهه‌ی تکراری: شناخته نشده است.

خطر آسیب‌رسانی: اطلاعاتی در دسترس نیست.

علائم/اثرات حاد و تاخیری: اطلاعاتی در دسترس نیست.

اطلاعات در مورد اختلال غدد درون ریز: اطلاعاتی در دسترس نیست.

سایر اثرات زیان‌آور: خصوصیات سم‌شناسی این ماده به‌طور کامل بررسی نشده است.

بخش ۱۲: اطلاعات زیست محیطی

۱.۱۲ سمیت محیطی: در زهکش‌ها تخلیه نشود.

۲.۱۲ مقاومت و تجزیه‌پذیری: اطلاعاتی وجود ندارد.

۳.۱۲ احتمال تجمع زیستی: اطلاعاتی در دسترس نیست.	
۴.۱۲ نفوذ: اطلاعاتی وجود ندارد.	
بخش ۱۳: ملاحظات دفع	
روش‌های دفع مواد زائد: تولید کنندگان مواد زائد شیمیایی باید مشخص نمایند که آیا ماده شیمیایی به‌عنوان زباله خطرناک است یا خیر. بایستی الزامات قانونی مربوط به دفع مواد زائد خطرناک در نظر گرفته شوند. "برای اطلاع از کلیه ضوابط و قوانین دفع مواد در کشور به قانون مدیریت پسماندها مصوبه ۱۳۸۳ مجلس شورای اسلامی و آیین‌نامه اجرایی قانون مدیریت پسماندها مصوبه ۱۳۸۴ هیات دولت مراجعه شود."	
بخش ۱۴: اطلاعات حمل و نقل	
DOT UN-No UN1189 Proper Shipping Name ETHYLENE GLYCOL MONOMETHYL ETHER ACETATE Hazard Class 3 Packing Group III	
TDG UN-No UN1189 Proper Shipping Name ETHYLENE GLYCOL MONOMETHYL ETHER ACETATE Hazard Class 3 Packing Group III	
IATA UN-No UN1189 Proper Shipping Name ETHYLENE GLYCOL MONOMETHYL ETHER ACETATE Hazard Class 3 Packing Group III	
IMDG/IMO UN-No UN1189 Proper Shipping Name ETHYLENE GLYCOL MONOMETHYL ETHER ACETATE Hazard Class 3 Packing Group III	
بخش ۱۵: سایر اطلاعات	
رتبه‌بندی خطر WHMIS: D1B: مواد سمی D2A: مواد خیلی سمی 	
بخش ۱۶: سایر اطلاعات	
تاریخ تهیه	پاییز ۱۳۹۵
به سفارش	معاونت پژوهش و فناوری وزارت علوم، تحقیقات و فناوری - شبکه آزمایشگاه‌های علمی ایران (شاعا)
تهیه‌کننده	دکتر محمدعلی اسداللهی و مهندس مهدی کمالی (اعضاء هیات علمی دانشگاه اصفهان) و دکتر محمدصادق علیانی (عضو هیات علمی وزارت علوم، تحقیقات و فناوری)
تاییدکننده	خانم مهندس شهلا طاهری (کارشناس ارشد بهداشت حرفه‌ای دانشگاه علوم پزشکی اصفهان)
کارشناس طرح	خانم مهندس هاجر عطاران
منابع و مآخذ	Fisher Scientific: 2015 کتاب حدود مجاز مواجهه‌ی شغلی با عوامل زیان آور در ایران (ویرایش ۱۳۹۱)
نکات مهم	۱- اطلاعات ارائه‌شده در این سند با هدف اطلاع‌رسانی و افزایش آگاهی عمومی نسبت به خطرات استفاده از مواد شیمیایی تهیه و در دسترس عموم قرار گرفته است. ۲- اطلاعات موجود در این سند براساس برگه‌های اطلاعات ایمنی ارائه‌شده توسط شرکت‌های معتبر تولیدکننده در دنیا است که منابع اصلی آن در قسمت منابع و مآخذ آورده شده و در مواردی براساس استانداردهای موجود در داخل کشور، بومی‌سازی شده است. ۳- در تهیه این سند تلاش شده تا این اطلاعات با نهایت دقت از زبان اصلی به زبان فارسی برگردانده شود. ۴- تهیه‌کنندگان و تاییدکنندگان این سند هیچ‌گونه مسئولیتی را در خصوص عواقب احتمالی ناشی از استفاده از این اطلاعات نمی‌پذیرند. بدیهی است در صورت هرگونه تغییر در اطلاعات علمی این سند، لازم است از نسخه اصلاح شده به روز آن استفاده شود.

برگه‌ی اطلاعات ایمنی حاضر، به سفارش شبکه آزمایشگاه‌های علمی ایران (شاعا) در قالب طرح پژوهشی توسط دانشگاه

اصفهان تهیه شده است و کلیه‌ی حقوق مادی و معنوی آن متعلق به این دو نهاد می‌باشد.

پی‌نوشت

۱. کارشناسی ارشد مهندسی مواد، پارک علم و فناوری استان همدان
۲. کارشناسی ارشد شیمی معدنی، سازمان زمین‌شناسی و اکتشافات معدنی کشور مرکز زاهدان
۳. عضو کارگروه تخصصی استاندارد و کالیبراسیون شبکه آزمایشگاهی
4. Safety Data Sheet (SDS)
5. Dangerous goods
6. International Union of Pure and Applied Chemistry
7. Registry of Effects of Chemical Substances
8. Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS)
9. UNCED
10. Material Safety Data Sheet (MSDS)
11. Labelling
12. Occupational Safety and Health Administration (OSHA)
13. International Labour Organization (ILO)
14. Safety and health in the use of chemical at work
۱۵. محصولات تولیدی شرکت ملی صنایع پتروشیمی

نتیجه‌گیری

با توجه به لزوم کاهش مخاطرات استفاده از مواد شیمیایی و ایجاد سیستم‌های طبقه‌بندی این مواد، سیستم جهانی طبقه‌بندی و برچسب گذاری مواد شیمیایی به منظور استفاده ایمن از مواد شیمیایی در تمامی مراحل قابل استفاده است. در این سیستم، طبقه‌بندی مواد بر مبنای خطرات فیزیکی، خطرات سلامتی و خطرات محیطی ناشی از آنها صورت گرفته و روش هماهنگ تبادل اطلاعات خطر در این سیستم از طریق برچسب گذاری و نیز برگه‌های اطلاعات ایمنی با فرمت استاندارد است.

SDS همان فرمت به روز شده‌ی MSDS است و تولید کنندگان در حال گذر از MSDS به SDS هستند. از دسامبر سال ۲۰۱۵ تمامی تولیدکنندگان موظف به استفاده از SDS با فرمت یکسان دارای (۱۶) ویژگی هستند که باید همه‌ی اطلاعات مندرج در بندهای برگه‌های اطلاعات ایمنی قابل اجرا، در دسترس و واضح باشند. برگه‌های اطلاعات ایمنی مواد، دارای اطلاعات فنی و پایه‌ای درباره مواد شیمیایی است که رعایت دقیق اطلاعات ذکر شده در برگه‌ها می‌تواند باعث جلوگیری از بروز خطر یا حادثه شود و محیطی امن و عاری از هر گونه خطر را برای کارگران و کارفرمایان ایجاد کند؛ لذا برای به حداقل رساندن خطرات ناشی از کالاهای خطرناک قبل از شروع به کار باید از در دسترس بودن کارت اطلاعات ایمنی، استفاده از کارگران آموزش دیده برای کار با کالاهای خطرناک و همچنین نصب کارت اطلاعات ایمنی مواد در تمام محل‌های نگهداری کالای خطرناک مطمئن بود.

مراجع

- [۱] مرکز سلامت محیط کار وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی، دستورالعمل جامع مواد شیمیایی خطرناک، ۱۳۹۳.
- [2] Who/iupac.1992.chemical safety matters. Cambridge university press, UK
- [3] UN, 2011. Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS), fourth revised edition
- [4] Winder, C., Azzi, R., and Wagner, D. 2005. The Development of the Globally Harmonized System (GHS) Chemicals. Journal of Hazardous Materials, A 125:29-44
- [5] <https://www.osha.gov/>
- [6] OSHA 29 CFR 1910.1200 - Hazard Communication
- [7] <http://academicdepartments.musc.edu>
- [8] http://www.unece.org/trans/danger/publi/ghs/implementation_e.html
- [9] Health and safety authority, for Hazardous Chemicals Information Sheet, 2015
- [۱۰] آیین‌نامه ایمنی در آزمایشگاه‌ها، شورای عالی حفاظت فنی، ۱۳۸۵
- [11] <http://www.ilpi.com/msds/>

[۱۲] آزمایشگاه‌های علمی ایران (شاعا) و دانشگاه اصفهان، ۱۳۹۶، (<https://shaa.msrt.ir>)

نویسندگان

مریم خسروی^۱مریم مغفوریان^۲مریم خراشادی زاده^۳صدیقه صادق حسنی^۴

*m2012.khosravi@gmail.com

معرفی میکروسکوپ مقاومتی گسترده روبشی و برخی از کاربردهای آن

چکیده

میکروسکوپ مقاومت گسترده روبشی یکی از روش‌های میکروسکوپی نیروی اتمی است که به‌طور گسترده برای شناسایی مواد نیمه‌هادی نظیر مواد سیلیکونی استفاده می‌شود. در این روش از پروب‌های سیلیکونی پوشش داده شده با الماس تجاری استفاده می‌شود و توان تفکیکی در محدوده ۱۰ تا ۲۰ نانومتر به‌دست می‌آید. میکروسکوپ مقاومت گسترش روبشی از حساسیت قابل توجهی برخوردار بوده و اندازه‌گیری کمی مقاومت موضعی با آن ممکن است، لذا استفاده از این روش در سال‌های اخیر افزایش یافته است. در این مقاله مروری، بر روش‌های اندازه‌گیری، کاربردهای میکروسکوپ مقاومت گسترده روبشی و اندازه‌گیری کمی به کمک آن پرداخته شده است.

واژه‌های کلیدی

میکروسکوپ مقاومتی گسترده روبشی، ترانزیستور اثر میدان، لیزرهای چاه کوانتومی، مقاومت گسترش یافته موضعی.

نیمه‌هادی‌ها^۸ مواد مهمی از گروه جامدات هستند که اکنون کاربردهای زیادی در حوزه‌های تحقیقاتی پیدا کرده‌اند، این مواد در ساخت قطعات الکترونیکی، سلول‌های خورشیدی، لیزرهای نیمه‌هادی، دیودهای نوری و سایر موارد به کار می‌روند. یکی از ویژگی‌های مهم نیمه‌هادی‌ها، تغییر خواص الکتریکی آنها از جمله تعداد و نوع حامل‌های جریان و تحرک آنها با افزودن ناخالصی‌ها است که بر حسب نوع حامل موجود (الکترون یا حفره) به نوع n و p تقسیم می‌شود. نوع نیمه‌هادی و همچنین خواص در پیوندگاه^۹ p-n باعث استفاده گسترده از نیمه‌هادی‌ها می‌شود. لذا امروزه بررسی این نیمه‌هادی‌ها، محل پیوندگاه و به خصوص میزان تغییرات مقاومت موضعی در این نواحی که تأثیر بسزایی در طراحی و ساخت قطعات الکترونیکی دارند، حایز اهمیت است.

پیشرفت فزاینده نانو فناوری در صنایع الکترونیک، باعث توسعه فناوری نیمه‌رساناها و انجام تحقیقات گسترده روی آنها شده است. امروزه کاهش ابعاد قطعات الکترونیکی به منظور کوچک کردن مدارات مجتمع بسیار مورد توجه است. برای ساخت و بررسی عملکرد آنها به تجهیزاتی با توان تفکیکی در محدوده نانومتر نیاز است. امروزه میکروسکوپ مقاومت گسترده روبشی به‌عنوان یکی از ابزارهای مناسب، در این بررسی‌ها مورد توجه و استفاده قرار گرفته است.

در مقاله فوق با توجه به اهمیت این میکروسکوپ، در ابتدا به معرفی آن و در ادامه به بررسی برخی از کاربردها و توانایی‌های میکروسکوپ مقاومت گسترده روبشی موضعی در اندازه‌گیری کمی و کیفی مقاومت موضعی در محدوده نانومتر پرداخته شده است. همچنین مقایسه برتری این روش میکروسکوپی در مقایسه با روش‌های شبیه‌سازی قطعات الکترونیکی و در نهایت به تأثیر کاهش شعاع پروب در افزایش توان تفکیک انجام شده است [۲۰].

مقاومت گسترده روبشی از رابطه زیر به دست می‌آید:

$$R = \rho / 4a$$

که در آن:

R = مقاومت اندازه‌گیری شده، ρ = مقاومت ویژه موضعی نمونه و a = شعاع تماس پروب است. قبل از اندازه‌گیری نمونه‌های مجهول باید پروب کالیبره شود، برای این کار، ابتدا منحنی‌های کالیبراسیون از نمونه‌هایی با مقاومت معین تهیه می‌شود که در این حالت یک رابطه تجربی غیرخطی به صورت $R = f(\rho)$ برای آنها مورد استفاده قرار می‌گیرد و پس از کالیبره کردن پروب‌ها، به اندازه‌گیری ساختار پیچیده نیمه‌هادی‌ها و تعیین مقاومت موضعی آنها پرداخته می‌شود [۳۰].

بررسی ترانزیستورهای اثر میدان^{۱۱}

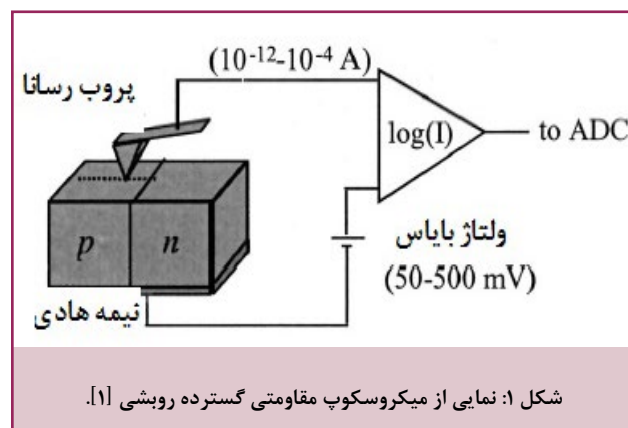
به‌طور کلی مدارهای مجتمع بر پایه فناوری ترانزیستورهای اثر میدانی را می‌توان بسیار کوچک‌تر و ساده‌تر از مدارهای مجتمع بر پایه ترانزیستورهای دو قطبی ساخت، همین ویژگی باعث بررسی ویژگی‌های این ترانزیستورها در ابعاد نانو، با بهره‌گیری از تجهیزات پیشرفته شده است.

با توجه به نقش بسزایی که این نوع از ترانزیستورها در ساخت مدارات مجتمع ایفا می‌کنند، در این قسمت به کمک میکروسکوپ SSRM، اثر کاهش ابعاد آنها، به خصوص در محدوده نانو بررسی شده و نتایج حاصل از آن با نتایج حاصل از روش‌های شبیه‌سازی شده با نرم‌افزارهای مرسوم در الکترونیک مورد بررسی قرار گرفته است.

در ساخت این ترانزیستورها از نیمه‌هادی‌های نوع n و p

میکروسکوپ مقاومتی گسترده روبشی

میکروسکوپ مقاومتی گسترده روبشی^۸ یکی از اعضای مهم خانواده میکروسکوپ پروبی روبشی محسوب می‌شود. اساس کار این میکروسکوپ، نظیر میکروسکوپ نیروی اتمی بوده و در حالت کاری تماسی از یک پروب سیلیکونی با پوشش الماسی آلیپده^۹ برای روبش سطح نمونه استفاده می‌شود. در این روش با توجه به مقدار نیروی لازم (تقریباً ۲ تا ۱۰۰ میکرونیوتن) میکروسکوپ در حالت کاری تماسی تنظیم شده و یک ولتاژ (dc) بین پروب و نمونه اعمال می‌شود (شکل (۱)). در روش فوق، هم‌زمان با تصویر توپوگرافی، تصویر تغییرات مقاومت گسترش یافته موضعی^{۱۰} از سطح نمونه تهیه می‌شود. در این روش با توجه به قدرت تفکیک بالا (در حد شعاع پروب به‌طور معمول ۱۰ تا ۱۵ نانونیوتن) می‌توان نقشه‌های مقاومت گسترش یافته را با توان تفکیک بالا و در محدوده‌ی نانومتر تهیه کرد. امروزه این روش برای بررسی سطح نیمه‌هادی‌ها کاربرد گسترده‌ای پیدا کرده و بسیار با اهمیت است که در ادامه به بررسی برخی از این کاربردها پرداخته شده است.



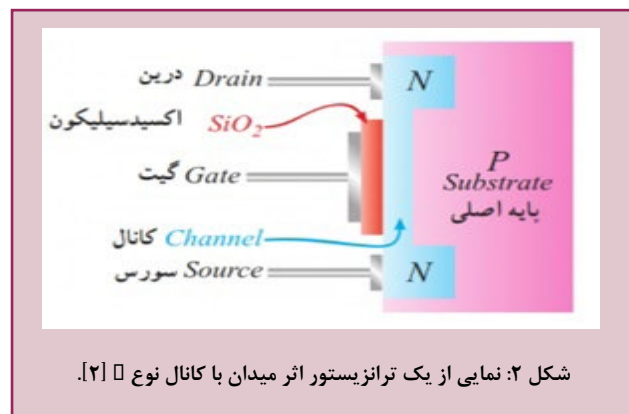
اعمال ولتاژ بین درین و سورس منجر به برقراری جریان در داخل کانال شده و با افزایش آن مقدار جریان افزایش می‌یابد تا به یک مقدار ثابت برسد و بعد از آن، افزایش ولتاژ اثر محسوسی روی جریان نخواهد داشت. لذا در این نوع ترانزیستورها ایجاد کانال مناسب بین دو پایه درین و سورس بسیار حایز اهمیت است و ویژگی‌های کانال ایجاد شده روی خواص ترانزیستور بسیار تأثیرگذار است. بررسی‌ها نشان می‌دهد، هر چه کانال کوتاه‌تر، مقاومت موضعی کمتر و جریان بیشتر می‌شود. بر حسب نوع کاربرد، تحقیقات زیادی روی ویژگی‌های کانال‌های ایجاد شده انجام می‌شود که میکروسکوپ SSRM تأثیر بسزایی در این تحقیقات ایفا نموده است. به‌طور کلی، یک ترانزیستور هنگامی کوچک در نظر گرفته می‌شود که طول کانال آن قابل قیاس با ابعاد ناحیه تخلیه پایه‌های درین و سورس باشد، هنگامی که طول کانال برای افزایش سرعت اجرای عملیات در ترانزیستور را کاهش می‌دهیم با کاهش ابعاد ترانزیستور و افزایش تعداد آنها روی یک برد الکترونیکی، اغلب پدیده‌ای مرسوم به اثرات کانال کوتاه ظاهر می‌شود که در اثر آن، برخی از پدیده‌های فیزیکی نامطلوب ایجاد می‌شود.

در کانال کوتاه محدودیت‌هایی بر وضعیت رانش الکترون تحمیل می‌شود و تنظیم و تغییرات اعمالی بر ولتاژ راه‌اندازی که لازمه‌ی کنترل بهینه کانال است، در اثر کوتاه شدن کانال از وضعیت قبلی خارج می‌شود. اثر نامطلوب دیگر، اثر یونیزاسیون در نتیجه برخورد است که به دلیل سرعت بالای الکترون در حضور میدان الکتریکی، منجر به تولید زوج الکترون-حفره به واسطه پدیده یونیزاسیون برخوردی می‌شود. به زبان ساده‌تر، برخورد الکترون‌های پر انرژی به اتم‌های سیلیسیم مسیر و یونیزه کردن آنها است. تمام این عوامل بر ولتاژ آستانه تحریک ترانزیستور، میزان جریان و مقاومت موضعی آن بسیار مؤثر است.

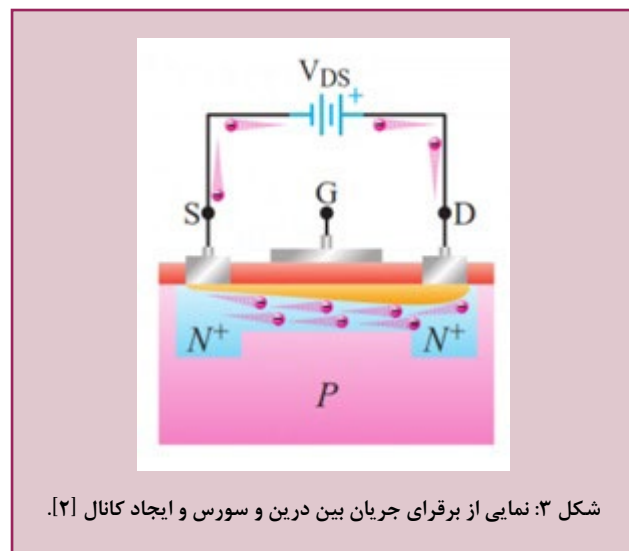
بنابراین، امروزه بررسی ولتاژ آستانه ترانزیستور و اصلاح آن با در نظر گرفتن اثرات کانال کوتاه به‌عنوان یکی از موارد بسیار مهمی است که در تحقیقات این حوزه باید در نظر گرفته شود. در بررسی‌های انجام شده مشاهده شده‌است که میزان بار تخلیه در ساختار (ناحیه زیر گیت)، وابسته به میدان الکتریکی ایجاد شده با استفاده از گیت است. در حالی که بار تخلیه شده در نزدیکی نواحی سورس و درین، ناشی از پیوندهای اتصال p-n است. بنابراین مقدار باری که ولتاژ گیت در ناحیه بالک^{۱۵} فراهم می‌کند بسیار تأثیرگذار بر مقدار واقعی ولتاژ آستانه به خصوص در ابعاد کوچک است. همان‌گونه که مطرح شد، میدان الکتریکی در ناحیه کانال که در زیر گیت قرار دارد، با گیت تأمین می‌شود و انتظار بر آن است که تمام بار القا شده ناشی از این میدان و در نهایت ولتاژ آستانه را فقط گیت تأمین کند، ولی بررسی‌های انجام شده نشان داد که در ترانزیستورهای با کانال کوتاه، برخی از خطوط شارژ تولید شده با الکترودهای سورس و درین روی بارهای القایی درون کانال اثر گذاشته و ولتاژ گیت مورد نیاز برای رسیدن به ولتاژ آستانه تحت تأثیر آنها کاهش می‌یابد [۲].

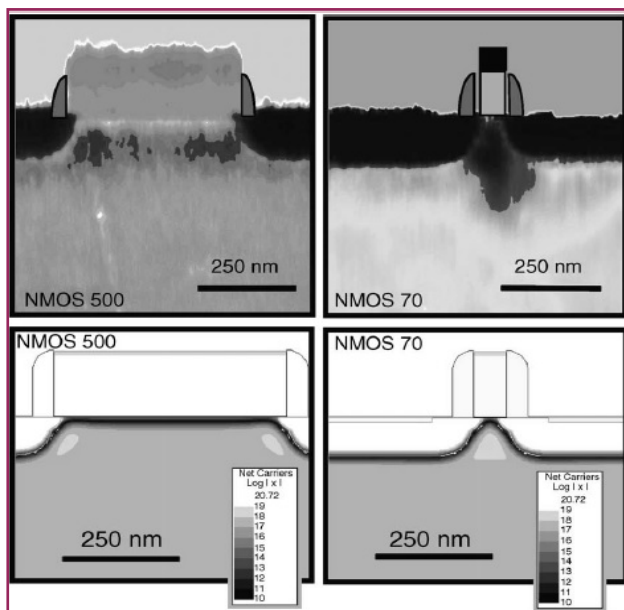
استفاده می‌شود، یک نیمه‌هادی خالص حاوی تعداد مساوی از حامل‌های بار (الکترون‌ها و حفره‌ها) است. در بیشتر کاربردها موادی مورد نیاز است که دارای مقدار بیشتری از یک نوع حامل بار باشند و بنابراین با وارد کردن ناخالصی‌های مناسب می‌توان نیمه‌هادی نوع n یا p را تهیه کرد. در اینجا استفاده از روشی قوی که به کمک آن بتوان به‌صورت موضعی مقاومت‌های موجود در این گونه ساختارهای نیمه‌هادی را اندازه‌گیری کند (به خصوص در پیوندگاه p-n) حایز اهمیت است.

در این ترانزیستورها لایه‌ای از فلز و اکسید فلز روی لایه‌های نیمه‌هادی نوع n و p قرار می‌گیرد، این ترانزیستور شامل پایه‌های گیت^{۱۲}، درین^{۱۳} و سورس^{۱۴} است. در این ترانزیستورها گیت با لایه‌ای از اکسید سیلیکون (SiO_2) از کانال مجزا شده‌است (شکل (۲)).



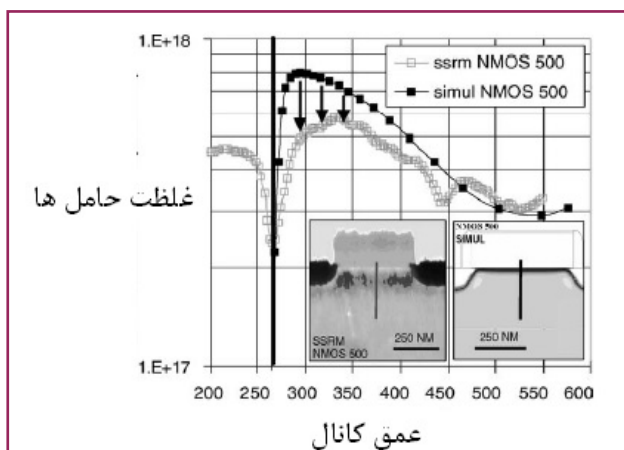
در این نوع ترانزیستورها پایه‌های درین و سورس از نوع نیمه‌هادی n است، به‌منظور برقراری جریان بین این دو پایه باید ولتاژ کافی اعمال شود تا الکترون‌ها بتوانند در اثر میدان الکتریکی ایجاد شده بین دو پایه جا به جا شوند. این جریان با اثر میدان الکتریکی ایجاد شده، باعث روشن شدن ترانزیستور می‌شود (شکل (۳)).





شکل ۵: تصاویر مقاومت گسترش روبشی با اندازه کانال ۷۰ و ۵۰۰ نانومتر (بالا) است و تصاویر حاصل از شبیه‌سازی با نرم‌افزار (پایین) [۴].

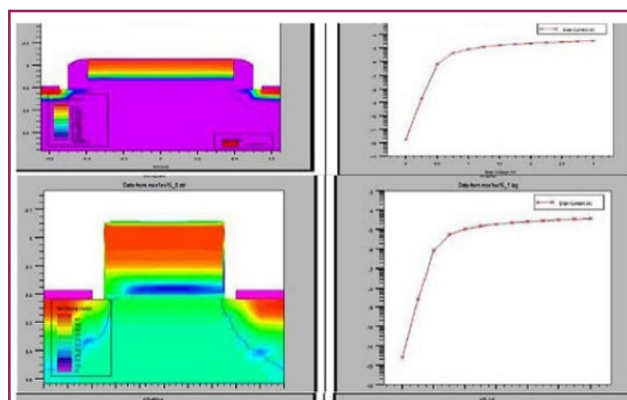
از طرف دیگر، با توجه به شکل (۶) در هر دو اندازه‌گیری میزان ولتاژ آستانه نیز از غلظت حامل‌ها در طول کانال تأثیر می‌گیرد. با توجه به قدرت SSRM در بررسی جزئیات و با توجه به دو منحنی حاصل مشاهده می‌شود که در اندازه‌گیری‌های میزان حامل‌ها در اتصالات p-n در پایه‌های درین و سورس و تأثیر مقدار آنها بر ولتاژ آستانه در حالت شبیه‌سازی در مقایسه با نتایج SSRM مقادیر گزارش شده فقط در طول کانال‌های با مقادیر زیاد نزدیکی دارد و با توجه به مقایسه نتایج حاصل از هر دو روش، امکان اعمال اصلاحاتی در راستای بهبود ولتاژ آستانه ایجاد می‌شود و از روی نمودارها می‌توان مشاهده نمود که بهترین نتایج که هر دو نتیجه را شامل می‌شود در کانال ۵۰۰ نانومتر است. در کانال‌های با طول کمتر از ۲۵۰ نانومتر روش‌های شبیه‌سازی قادر به گزارش نیستند.



شکل ۶: نمودارهای حاصل از شبیه‌سازی (نقاط تیره) و SSRM (نقاط کم رنگ) [۴].

رفتار کانال با استفاده از مدل‌های ریاضی و روش‌های شبیه‌سازی مطالعه شده و در مورد بررسی این اثرات بر ولتاژ آستانه، تحقیقات صورت گرفت. از آنجایی که بیشتر این شبیه‌سازی‌ها برای قطعات با ابعاد بزرگ است، مشاهده می‌شود که در ترانزیستورها با کانال کوتاه به علت کاهش خطی کارایی و اثر بر ولتاژ آستانه و اثرات حاصل از آن سریع‌تر به موقعیت نامطلوب اشباع جریان و افت بازدهی ترانزیستور خواهیم رسید.

همان‌گونه که از شکل‌ها و نمودارهای تصویر (۴) پیداست، با کوچک‌تر شدن ابعاد علاوه بر کاهش ولتاژ آستانه، شیب نمودار نیز تغییر کرده و باعث افزایش شدید جریان در زیر ولتاژ آستانه خواهد شد و این امر موجب افزایش بازدهی در ترانزیستورهای کوچک است [۲].

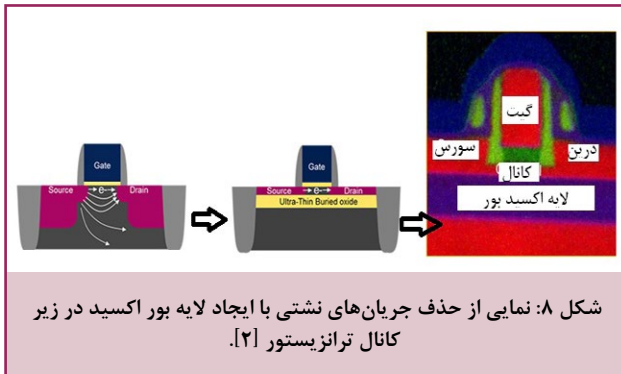


شکل ۴: نمایی از کاهش ابعاد ترانزیستور شبیه‌سازی شده با نرم‌افزار و اثرات آن بر منحنی‌های جریان-ولتاژ [۲].

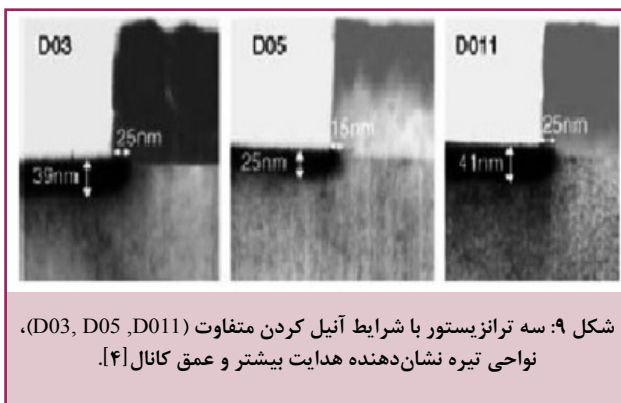
یکی دیگر از مشکلات شبیه‌سازی، بالا بودن حجم پردازش و نیاز به افزایش دقت محاسبات پیچیده و کاهش سرعت پردازش است و از طرف دیگر، نتایج حاصل از اندازه‌گیری نشان می‌دهد با ورود به مقیاس نانو دیگر نمی‌توان در محاسبات از رفتار و توصیف کلاسیک تبعیت کرد و برای کنترل موثر کانال به کمک ولتاژ آستانه، محدود نگه داشتن جریان و جلوگیری از نشتی آن باید به سراغ روش‌های قوی‌تر نظیر SSRM رفت [۴].

امروزه کالیبراسیون ترانزیستورهای با طول کانال در محدوده نانومتر بسیار مورد توجه است، در تحقیقی روی ترانزیستورها با کانال‌های در محدوده ۵۰ تا ۵۰۰ نانومتر به‌منظور کالیبراسیون اندازه‌گیری‌های تئوری و بالا بردن دقت اندازه‌گیری، از میکروسکوپ مقاومت روبشی استفاده شده است. همان‌گونه که در شکل (۵) مشاهده می‌شود، با کاهش اندازه گیت، میزان هدایت افزایش می‌یابد که در تصویر SSRM به‌صورت رنگ تیره دیده می‌شود. در تصاویر حاصل از شبیه‌سازی با نرم‌افزار مشاهده می‌شود که با کاهش اندازه کانال به علت عدم توانایی لازم در محاسبات ناحیه هدایت در کانالی با ابعاد ۷۰ نانومتر در مقایسه با SSRM دقت کمتری نشان داده شده است [۴].

یکی دیگر از روش‌های موثر بر کنترل کانال، جلوگیری از پراکندگی حامل‌ها در سطح و محدود نگه داشتن جریان‌های ناشی در مطالعه ترانزیستورها، ایجاد یک لایه از جنس بور اکسید با روش آنیل کردن^{۱۷}، است (شکل (۸)).



تصاویر مقاومت موضعی به‌دست آمده به کمک روش SSRM، برای سه حالت آنیل کردن (جدول (۲)) نشان داد که در مورد نمونه D5، شرایط بهینه است که علاوه بر کاهش عمق کانال به ۲۵ نانومتر، فاصله درین و گیت به مقدار ۱۵ نانومتر کاهش می‌یابد، بنابراین دارای کمترین جریان ناشی است (شکل (۹)) [۲ و ۴ و ۶].



جدول ۲: شرایط مختلف آنیل کردن [۴]

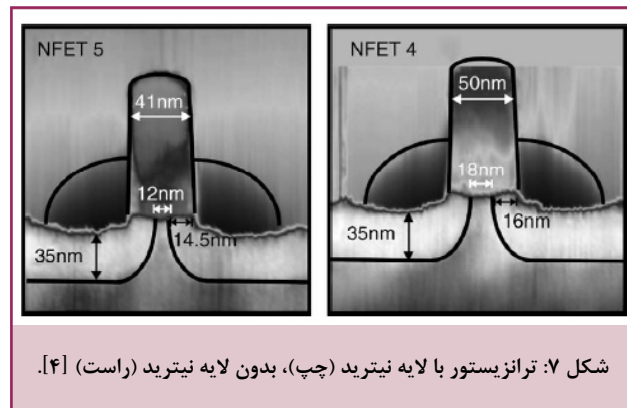
شرایط مختلف آنیل کردن	کدهای نمونه
در دمای ۱۱۰۰ کلوین	نمونه D03
در دمای ۶۵۰ سانتی‌گراد	نمونه D05
در دمای ۹۵۰ سانتی‌گراد	نمونه D011

بررسی لیزرهای چاه کوانتومی^{۱۸}

چاه‌های کوانتومی، ساختارهای نیمه‌هادی با ضخامت خیلی کم و دارای راندمان بازده انرژی بزرگتری هستند که می‌توان اثرات مکانیکی و کوانتومی آنها را رویت و کنترل کرد. این‌گونه لیزرها

در حقیقت از روی نتایج حاصل از SSRM می‌توان عواملی نظیر اثر دما، اثر درین بر کاهش پتانسیل، پراکندگی حامل‌ها در سطح، اثر کاهش سایز کانال، یونیزه شدن حامل‌ها در اثر اعمال میدان و اشباع شدن سرعت حامل‌ها در کانال را بررسی و با توجه به نتایج حاصل، اصلاحات لازم را در شبیه‌سازی‌ها و محاسبات اعمال نمود.

در تولید قطعات الکترونیک به‌منظور ساخت قطعاتی با پیوندهای عمیق و کاهش و محدود نگه داشتن جریان‌های ناشی، لایه‌ای از مواد را با روش لایه‌نشانی شیمیایی بر سطح نیمه‌هادی قرار می‌دهند. در مطالعه دیگری که روی ترانزیستورهای اثر میدان نوع n صورت گرفت، نتایج حاصل از روش SSRM با روش STM^{۱۶} با هم مقایسه شد. همان‌گونه که در شکل (۷) مشاهده می‌شود، در تصاویر مقاومت موضعی حاصل از روش SSRM در ترانزیستور با کانال ۴۰ نانومتر با لایه و بدون لایه در محل گیت، تغییرات ناحیه نفوذی (ناحیه بین گیت و درین که باعث ایجاد جریان ناشی می‌شود) در حد چند نانومتر است [۴].

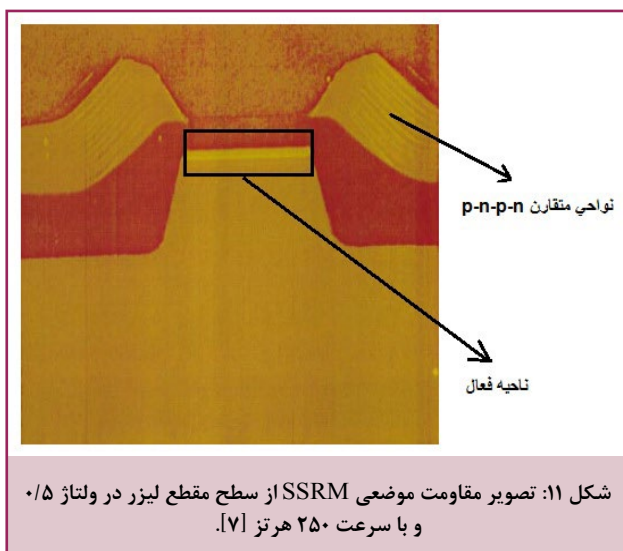


در ترانزیستور با پوشش نیتريدی اندازه گیت در حدود ۴۱ نانومتر و عمق کانال ۳۵ نانومتر است و فاصله بین گیت و درین که می‌تواند باعث ایجاد جریان ناشی شود، در حدود ۱۴/۵ نانومتر است. در مقایسه با نتایج به‌دست آمده، قبل از قرار دادن لایه که اندازه گیت در حدود ۵۰ نانومتر و فاصله بین گیت و درین، در حدود ۱۶ نانومتر است، می‌توان مشاهده نمود که در حدود چند نانومتر در ناحیه نفوذی اصلاح داشته‌ایم. در این مطالعه، ترانزیستور فوق با روش STM هم مورد بررسی قرار گرفت (جدول (۱))؛ در نتایج به‌دست آمده با استفاده از روش فوق، برای ترانزیستور با طول کانال ۴۰ نانومتر مشخص شد اندازه ناحیه نفوذی در مقایسه با روش SSRM، در حدود ۳ تا ۴ نانومتر تفاوت دارد و دقت اندازه‌گیری در روش STM پایین‌تر است.

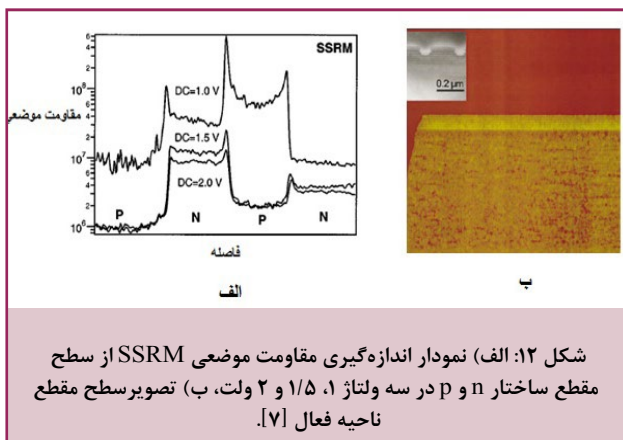
جدول ۱: مقایسه نتایج حاصل از دو روش SSRM و روش‌های موثر بر کنترل کانال برای دو ترانزیستور مختلف [۴].

طول ترانزیستور	طول ناحیه نفوذی با استفاده از روش SSRM	طول ناحیه نفوذی با استفاده از روش STM
۴۰ نانومتر	۱۴ نانومتر	۱۰ نانومتر

مورد بررسی قرار دادند، در نتایج حاصل از روش SSRM همان گونه که در تصویر (۱۱) مشاهده می‌کنیم، ناحیه فعال به صورت یک نوار باریک روشن در مرکز که لایه‌های آلیایده p و n در بالا و پایین آن را پوشانده و در قسمت‌های چپ و راست ناحیه فعال ساختارهای متقارن p-n-p-n دیده می‌شوند. قابل ذکر است در این روش در کنار تصاویر مقاومت موضعی، تصاویر توپوگرافی از سطح نمونه نیز تشکیل می‌شود [۷].



میزان مقاومت موضعی تأثیرگذار بر جریان اندازه‌گیری شده است و از غلظت حامل‌های موضعی تأثیر می‌گیرد. از طرفی، جریان نسبت معکوس با مقاومت دارد و متناسب با حامل‌های موضعی n است و از سویی دیگر، تحرک حامل‌ها در نزدیکی نقطه تماس، تأثیرگذار بر میزان مقاومت است، لذا به کمک روش SSRM علاوه بر آنالیز کیفی می‌توان اندازه‌گیری‌های کمی نیز انجام داد (شکل (۱۲)).

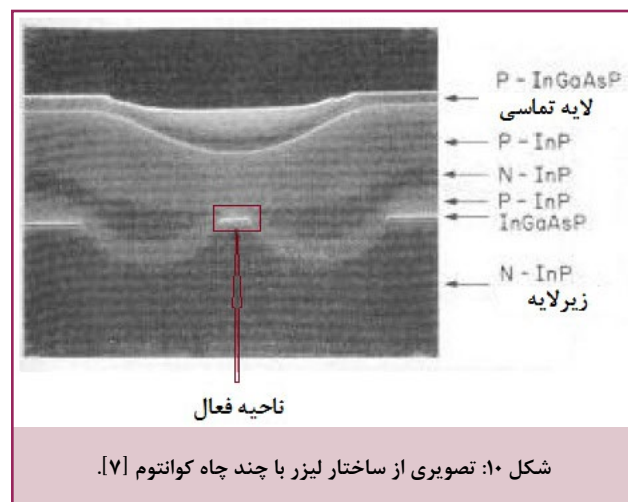


همان‌گونه که در نمودار مشاهده می‌شود، میزان تغییرات مقاومت در نواحی p-n-p-n در عرض ساختار لیزر نشان داده شده است، از روی نمودارها مشخص می‌شود، میزان مقاومت با افزایش ولتاژ بایاس کاهش می‌یابد، ولی در هر سه ولتاژ، در اتصالات p-n

بیشتر خواص ویژه خود را از حبس کردن حامل‌های بار (الکترون و حفره) در لایه‌های نیمه‌هادی می‌آورند. طول موج ساطع شده از لیزر چاه کوانتومی برخلاف دیگر لیزرها با باند شکاف مواد سازنده آنها تعیین و به پهنای چاه بستگی دارد. بنابراین، طول موج‌های بسیار کوچک‌تری را از لیزرهای متداول ایجاد می‌کنند و از آنجایی که بازدهی کوانتومی (نسبت فوتون تولیدی به الکترون تزریقی) غالباً به جذب نور توسط الکترون‌ها و حفره‌ها محدود می‌شوند، لذا بازدهی کوانتومی بالایی حاصل می‌شود.

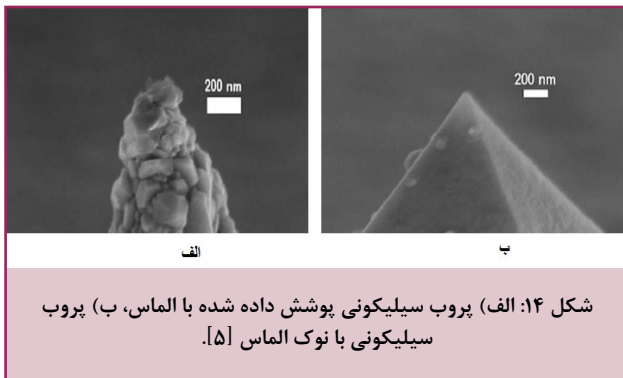
لیزرهای با چاه کوانتومی که دارای ناحیه فعال^{۱۹} با ابعاد کوچک هستند به خاطر مزیت‌های آنها نسبت به لیزرهای با ناحیه فعال بزرگ، بیشتر مورد توجه قرار دارند. یکی از اثرات واضح تغییر پهنای چاه، تأثیر بر مقدار طول موج لیزر است که سبب افزایش بهره بیشتر نسبت به لیزرهای معمولی و کاهش جریان آستانه می‌شود که سهم عمده‌ای از تلفات داخلی لیزر ناشی از جریان تزریقی به لیزر است، لیزرهای چاه کوانتومی که به جریان تزریقی کمتری نیاز دارند، بازدهی بیشتری داشته و توان بیشتری را تولید می‌کنند. امروزه هدف، طراحی و ساخت ناحیه فعال با ضخامت چندین برابر نازک‌تر است، با کاهش ضخامت، ناحیه‌ی فعال پخش‌شدگی انرژی کمتر است و حالت‌های موج مانند مربوط به الکترون‌ها و حفره‌های حبس شده در ناحیه فعال از حالت پیوسته به گسسته تغییر می‌کند.

یکی از لیزرهای پر کاربرد در این زمینه، لیزر دهن شده چندین چاه کوانتوم^{۲۰} است. در این نوع لیزر ناحیه‌ی فعال از هر طرف با چندین لایه با ضریب شکست کم احاطه می‌شود (به این دلیل به آنها لیزرهای دهن شده می‌گویند) (شکل (۱۰)).



در این نوع لیزر از زیرلایه ایندیم-فسفر^{۲۱}، به دلیل دارا بودن استحکام و مشخصات مناسب (خلوص بلوری و شیمیایی) استفاده می‌شود و روی آن ساختاری با ۳ تا چند لایه نازک از نیمه‌هادی‌های مرکب III-V رشد می‌دهند. این نوع از لیزرها دارای جریان آستانه پایین و بهره بالا هستند و میزان توزیع ناخالصی‌ها در مناطق فعال تأثیر بسزایی را در کارایی این نوع لیزرها دارد. سطح مقطعی^{۲۲} از این لیزر را با دو روش SSRM و میکروسکوپ ظرفیت خازنی روبشی^{۲۳}

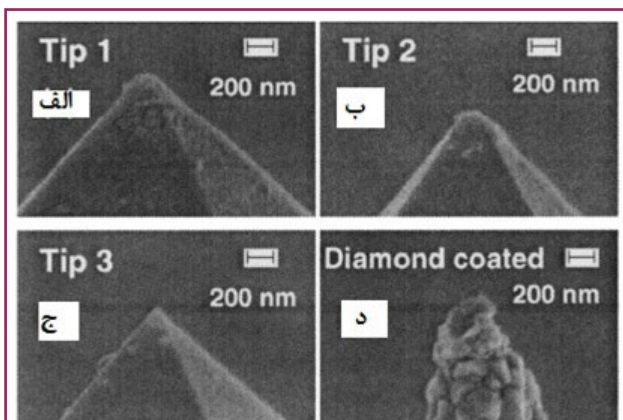
نقطه ذوب بالا است و رسانایی گرمایی و الکتریکی خوبی داشته و برای استفاده به عنوان پوشش پروب در روش SSRM مناسب است. در اتصالات p-n، به منظور شناسایی حامل‌های بار با صحت و حساسیت بالا، شعاع پروب بسیار اثرگذار است و تلاش‌های فراوانی برای کاهش شعاع نوک پروب در روش SSRM انجام شده است. پروب‌های معمول سیلیکونی پوشش داده شده با الماس، دارای شعاعی در حدود ۱۰ تا ۲۰ نانومتر هستند (شکل (۱۴-الف))، به منظور افزایش توان تفکیک، تلاش شده تا از پروب‌های تیرک‌های سیلیکونی با نوک الماس استفاده شود، در این حالت شعاع نوک به ۵ نانومتر کاهش پیدا می‌کند (شکل (۱۴-ب)).



شکل ۱۴: الف) پروب سیلیکونی پوشش داده شده با الماس، ب) پروب سیلیکونی با نوک الماس [۵].

قابل ذکر است هر چه شعاع نوک پروب کمتر باشد، میزان مقاومت موضعی بیشتری را اندازه‌گیری می‌کند، به منظور نشان دادن اثر اندازه شعاع بر میزان مقاومت، در تحقیقی از چهار پروب مختلف برای اندازه‌گیری مقدار مقاومت روی سطح پلاتین استفاده شد. یک پروب سیلیکونی با پوشش الماس و سه پروب سیلیکون با نوک الماس و با شعاع‌های مختلف بدین منظور استفاده شدند (شکل (۱۵)).

در نمودارهای جریان-ولتاژ حاصل از این اندازه‌گیری‌ها مشاهده شد که با افزایش ولتاژ و جریان، مقاومت بهینه ۱۰۰ کیلو اهم است، با به کارگیری پروب پوشش داده شده با الماس، میزان مقاومت حدود ۹ کیلو اهم و با به کار بردن تیزترین پروب با نوک الماس حدود ۹۷ کیلو اهم به دست می‌آید (شکل (۱۶)) [۵، ۸ و ۹].



شکل ۱۵: الف) ب) ج): پروب سیلیکون با نوک الماس و با شعاع‌های مختلف، د) پروب پوشش داده شده با الماس [۸].

افزایش مقاومت خواهیم داشت. این نواحی مربوط به ناحیه فعال هستند و با توجه به معادله (۱) انتظار می‌رود در ناحیه فعال هدایت پایین‌تری داشته باشیم.

(معادله ۱)

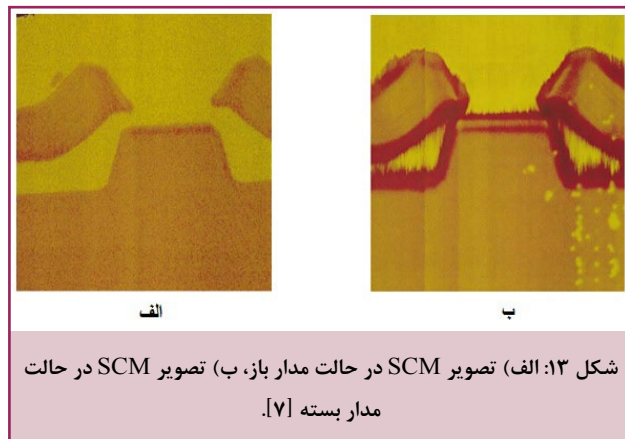
$$W = [2\epsilon_0\epsilon_r kT/q2 \text{Ln} ((NaNd)/ni^2) (1/Na + 1/Nd)]^{1/2}$$

که در آن:

W: عرض ناحیه فعال، ϵ_r : ضریب گذردهی زیرلایه، ϵ_0 : ضریب گذردهی فضای آزاد، q: بار الکتریکی، k: ثابت بولتزمن، T: دما، ni : غلظت حامل‌ها، Nd: غلظت حامل‌های دهنده در تقاطع p-n، Na : غلظت حامل‌های گیرنده در تقاطع p-n است.

با توجه به نمودار، مقدار عرض ناحیه فعال در تقاطع p-n حدود ۰/۰۷ میکرومتر به دست آمد که با مقدار محاسبه شده با رابطه (۱) که حدود ۰/۰۶۶ است هم‌خوانی دارد. بنابراین، با توجه به مقادیر حاصل از SSRM، امکان آنالیز کمی نیز وجود دارد.

هنگامی که همین نمونه با روش SCM بررسی شد، در تصاویر تهیه شده در دو حالت مدار باز خورد ۲۴ و مدار باز خورد بسته ۲۵ (شکل (۱۳)) مشاهده شد توان تفکیک در تصویر سطح مقطع ناحیه فعال نسبت به روش SSRM بسیار پایین‌تر است. علت کنتراست ضعیف‌تر این است که توان تفکیک روش SSRM وابسته به شعاع نوک پروب است، در حالی که در روش SCM بیشتر از توزیع جانبی ناحیه فعال نیمه‌هادی در زیر نقطه تماس پروب تأثیر می‌گیرد [۷ و ۱].



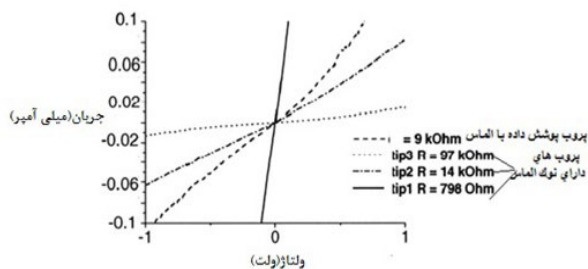
شکل ۱۳: الف) تصویر SCM در حالت مدار باز، ب) تصویر SCM در حالت مدار بسته [۷].

بررسی اثر شعاع پروب بر اندازه‌گیری مقاومت موضعی

در بیشتر کاربردها برای اندازه‌گیری مقاومت در روش SSRM، از پروب سیلیکونی با پوشش الماس استفاده می‌شود. الماس دارای خواص نیمه‌رسانایی قابل توجهی است و مقاومت الکتریکی آن به‌طور متوسط ۵۰ برابر نیمه‌رساناهای متداول است. الماس به دلیل نوع پیوندهای شیمیایی خاص، دارای سختی، مقاومت، چگالی و

نتیجه گیری

با توجه به میزان توانایی و قدرت روش SSRM به عنوان یکی از شاخه های مهم میکروسکوپ نیروی اتمی در اندازه گیری مقاومت موضعی در نیمه هادی ها، امروزه می توان به راحتی تحقیقات گسترده ای را در صنایع مختلف نیمه هادی ها و الکترونیک در حوزه نانومتر انجام داد.



شکل ۱۶: نمودار جریان-ولتاژ چهار پروب مختلف [۸].

پی نوشت

۱. کارشناس مهندسی برق الکترونیک، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، آزمایشگاه مرکزی
۲. کارشناس ارشد شیمی تجزیه، دانشگاه شهید بهشتی، آزمایشگاه جامع تحقیقاتی
۳. کارشناس ارشد فیزیک، دانشگاه بیرجند، گروه فیزیک
۴. کارشناس ارشد شیمی تجزیه، پژوهشگاه صنعت نفت، پژوهشکده کاتالیست
۵. عضو کارگروه تخصصی میکروسکوپ روبشی پیمایشی شبکه آزمایشگاهی

6. Semiconductors
7. Junction
8. Scanning spreading resistance microscopy (SSRM)
9. Doped
10. Local spreading resistances
11. Semiconductor field effect transistor
12. Gate (G)
13. Drain (D)
14. Source (S)
15. Balk
16. Scanning tunneling Microscope
17. Annealing
18. Quantum Well
19. Active band
20. Multi quantum well-buried hetero structure (MQWBH)
21. InP
22. Cross section
23. Scanning capacitance microscopy (SCM)
24. open loop
25. Closed loop

- [1] Scanning spreading resistance microscopy and spectroscopy for routine and quantitative two-dimensional carrier profiling P. Eyben, a) M. Xu, N. Duhayon, T. Clarysse, and S. Callewaert
- [2] www.explainthatstuff.com
- [3] Calibrated scanning spreading resistance microscopy profiling of carriers in III–V structures R. P. Lu, K. L. Kavanagh, St. J. Dixon-Warren, A. Kuhl, A. J. SpringThorpe, E. Griswold, G. Hillier, I. Calder, R. Arés, and R. Streater.
- [4] Scanning spreading resistance microscopy (SSRM) 2d carrier profiling for ultra-shallow junction characterization in deep-submicron technologies P. Eyben a, *, T. Janssens a, W. Vandervorst a,b.
- [5] Highly conductive diamond probes for scanning spreading resistance microscopy T. Hantschel, P. Niedermann, T. Trenkler, and W. Vandervorst.
- [6] Analysis of the two-dimensional-dopant profile in a 90 nm complementary metal–oxide–semiconductor technology using scanning spreading resistance microscopy P. Eyben, D. Alvarez, M. Jurczak, R. Rooyackers, A. De Keersgieter, E. Augendre, and W. Vandervorst.
- [7] Two-dimensional profiling of carriers in a buried hetero structure multi-quantum-well laser: Calibrated scanning spreading resistance microscopy and scanning capacitance microscopy D. Ban, E. H. Sargent, St. J. Dixon-Warren, T. Grevatt, G. Knight, G. Pakulski, A. J. SpringThorpe, R. Streater, and J. K. White.
- [8] Sub-5-nm-spatial resolution in scanning spreading resistance microscopy using full diamond tips D. Álvarez, J. Hartwich, M. Fouchier, P. Eyben, and W. Vandervorst.
- [9] Fabrication and characterization of full diamond tips for scanning spreading-resistance microscopy D. _ Alvarez a,b,c,*, M. Fouchier c, J. Kretz a, J. Hartwich a,S. Schoemann b, W. Vandervorst c,d.

Introduce scanning spreading resistance microscopy and some of applications

Authors

M. Khosravi^{1,5*}
M. Maghfourian^{2,5}
M. Khorashadizadeh^{3,5}
Sedigheh Sadegh Hassani^{4,5}

* m2012.khosravi@gmail.com

1. BSc in Central Laboratory, Iran Polymer and petrochemical institute (IPPI)
2. MSc in Master in analytical chemistry, Shahid Beheshti University
3. Msc in Faculty of sciences physics department, Birjand university
4. MSc in analytical chemistry, Research institute of petroleum industry (RIPI)
5. Laboratory Network (INLN), SPM Experts work group

Abstract

Scanning spreading resistance microscopy is a kind of the atomic force microscopy (AFM), techniques which is widely used for the characterization of semiconducting materials such as silicon materials. In this technique, using commercial diamond coated silicon probe, the resolution is obtained in the range of to 10-20nm. Scanning spreading resistance microscopy (SSRM) has been demonstrated to have attractive sensitivity, and easy measuring quantification of local resistance. So, use of this technique during the recent years has been increased. In this article we present a number of measurement procedures, applications of the scanning spreading resistance and measuring quantification with using this technique.

Keywords

Scanning ion conductance microscopy, living cell, micro pipette probe, Electrophysiology

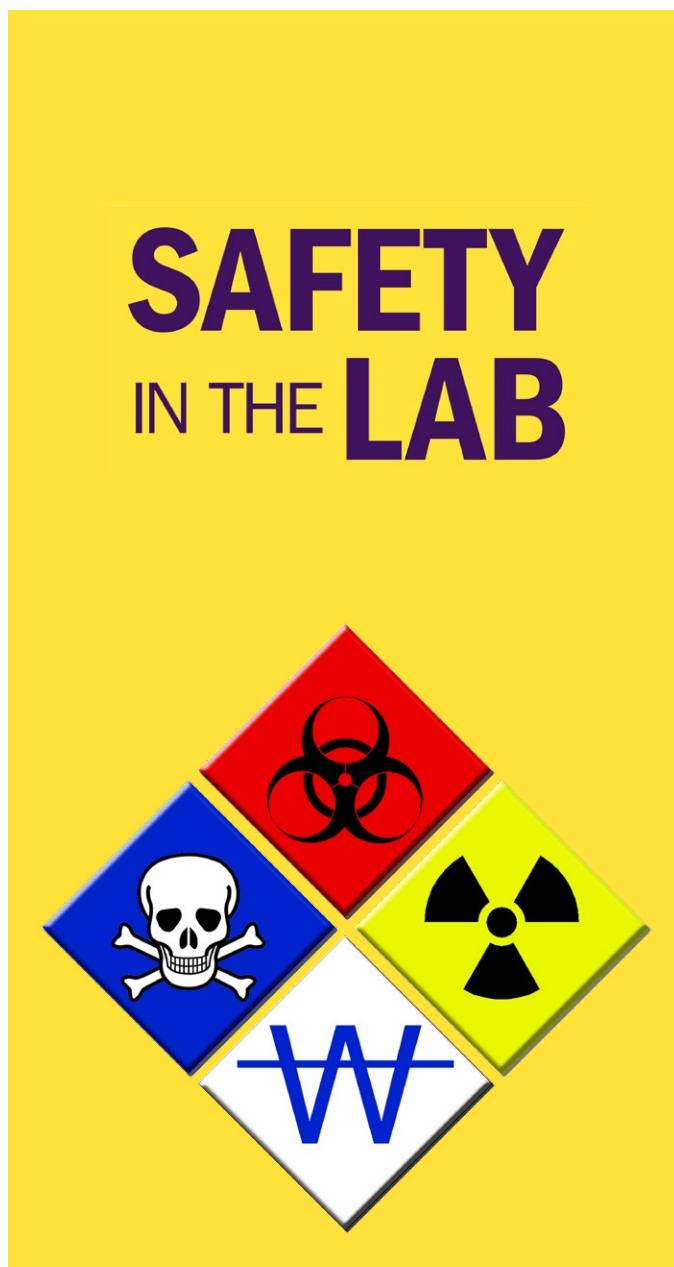
Author

Neda Rahmani-nasab^{1,3*}Azam Narouie^{2,3}

pedrammalaekheh@yahoo.com

1. Master of Materials Engineering (MSc Materials Engineering), Hamedan Science and Technology Park
2. Master of Inorganic Chemistry, Geological Survey of Iran, Zahedan Center
3. Laboratory Network (INLN), Standardized and Calibration Experts work group

What do lab's safety information sheets tell us ?



Abstract

In accordance with the international regulations, a safety data sheet (SDS) should be supplied with any hazardous chemical. Safety data sheets (SDSs) provide useful information on chemicals, describing the hazards the chemical presents, and giving information on handling, storage and emergency measures in case of an accident. Over the coming years, SDSs may include further information on safe handling, in the form of exposure scenarios. International regulations requires users of hazardous chemicals to follow the advice on risk management measures given in the exposure scenario, where provided.

Keywords

Material classification systems, Globally Harmonized System, Safety Data Sheet, safety information sheets in the lab.

Authors

Khadijeh Hajibabaei^{1,4*}Azam Hamledari^{2,4}Khadijeh Ashejeei^{3,4}

* Kh.hajibabaei@gmail.com

1. Ph.D. Organic chemistry, Laboratory Hourtash, Research and development
2. M.Sc. Food science, Laboratory Hourtash, Research and development
3. M.Sc student, Analytical chemistry, Kimiazi analysis research
4. Laboratory Network (INLN), chromatography Experts work group

Gas chromatographic (GC) methods for determination residue pesticide in food

Abstract

Gas chromatography (GC) is used widely in applications involving food analysis. Typical applications pertain to the quantitative and/or qualitative analysis of food composition, natural products, food additives, flavor and aroma components, a variety of transformation products, and contaminants, such as pesticides, fumigants, environmental pollutants, natural toxins, veterinary drugs, and packaging materials. The aim of this article is to give a brief overview of the uses of GC/MS in food analysis from sample preparation to final report and GC/MS instrument.



Keywords

Residue pesticide, Sample preparation, Extraction, Column, Detectors, Derivation.

Authors

SANAZ SHOBIKEH

researchers4u@yahoo.com

B.Sc. of Electronic Engineering, SHIRAZ
University Transmission Electron Microscope
Laboratory Specialist

Member of Laboratory Network (INLN), TEM
Experts Workgroup

Biological specimens Preparation and Imaging methods Using Cryo-Transmission Electron Microscope



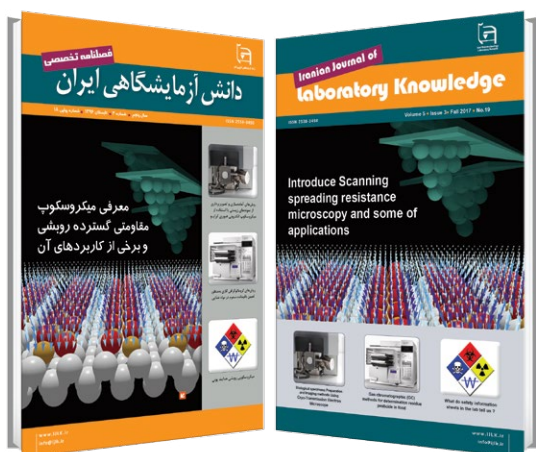
Keywords

Cryo-transmission electron microscope;
High Pressure Freezing; Plunge Freezing.



Abstract

In 16th century, Zacharias Janssen invented the first optical microscope that its operation was based on visible light and a number of lenses. Since then scientists and doctors used this kind of microscope to view their small scale biological samples at 10 to 1000x magnifications. Soon biology scholars noticed the magnification limits of this device doesn't allow them to view smaller organelles reside in a single cell. After so many experiments, researchers established that acquiring higher magnifications with visible light source is not possible. So about 300 years later in 1930s, two German engineers Max Knoll and Ernst Ruska tested the idea of using electrons instead of light for a microscope and they called their invention 'Transmission Electron Microscope (TEM)'. A TEM compared to an optical microscope provide a much higher magnification and resolution. The reason for this is that almost every TEM equipped with: a source of electrons (called 'Electron Gun'), different apertures, lenses, magnetic fields and etc. Image formations in TEMs depend on large amount of electrons passing through a very thin specimen (here thickness plays an important role in final TEM image quality). Choosing the right thickness for specimens (specially: biological tissues and suspensions) will result in images with much better quality and resolution. With respect to recent developments in fields of nanotechnology and medicine, researchers are continuously looking for new ways to keep internal structures of a cell as close as possible to its native state without using harmful chemicals for procedures such as: dehydration, solvent and resin infiltration, positive and negative staining, and etc. in 1980s, a group of scientists and researchers successfully prepared a virus in frozen hydrated state for imaging under a TEM. This ground breaking experiment gave researchers the idea of designing TEMs capable of preserving frozen state of specimens under electron beam. These types of microscopes are called 'Cryo-Transmission Electron Microscope (Cryo-TEM)'. Cryo is a Greek word that means 'icy cold'. After going through a short preparation procedure (omitting dehydration) Most of the biological specimens are ready to be imaged inside Cryo-TEM. In this article, available methods for preparing and imaging of different biological specimens inside Cryo-TEM are presented in detail.



Iranian Journal of

laboratory Knowledge

Volume 5 ■ Issue 3 ■ Fall 2017 ■ No.19

ISSN 2538-3450

**Concessionaire: Iran Nanotechnology
Laboratory Network**

Managing Editor: Reza Asadifard

Editor in Chief: Mojtaba Nasab

**Executive Management: Iran Nanotechnology
laboratory network (INLN)**

Article Editor: Davoud Gharailou

Authors:

M. Khosravi, M. Maghfourian
M. Khorashadizadeh, Sedigeh Sadegh
Hassani, Neda Rahmani-nasab, Azam Narouie,
Khadijeh Hajibabaei, Azam Hamledari,
Khadijeh Ashejeei, Sanaz Shobikeh

Designer : Simin Rafipour Langroudi

Editor: Zeinab Zarincheh

Iran, Tehran, Po.Box: 14565-344

www.IJLK.ir

Email : info@ijlk.ir

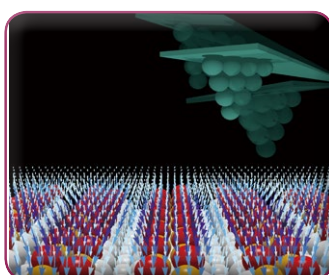


**Iran Nanotechnology
Laboratory Network**

Contents

**Introduce Scanning
spreading resistance
microscopy and some of
applications**

39 <

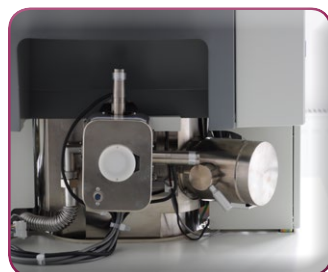


**What do safety informa-
tion sheets in the lab tell
us ?**

>40

**Gas chromatographic (GC)
methods for determination
residue pesticide in food**

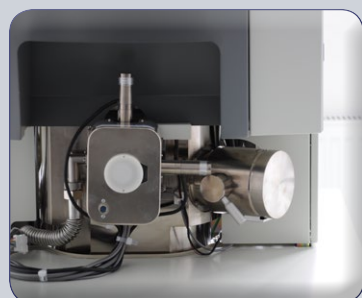
41 <



**Biological specimens
Preparation and Imaging
methods Using
Cryo-Transmission Electron
Microscope**

>42

Introduce Scanning spreading resistance microscopy and some of applications



Biological specimens Preparation
and Imaging methods Using
Cryo-Transmission Electron
Microscope



Gas chromatographic (GC)
methods for determination residue
pesticide in food



What do safety information
sheets in the lab tell us ?