

ترکیب دو روش میکرواستخراج برای پیش تغلیظ و استخراج مقادیر کم مس و اندازه‌گیری با طیف‌سنجی جذب شعله‌ای

مریم رضیئی

استادیار شیمی تجزیه دانشکده شیمی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

دریافت: اسفند ۱۴۰۱ پذیرش: تیر ۱۴۰۲

doi 10.30495/JACR.2023.1980122.2103

چکیده

در این پژوهش، روش میکرواستخراج نامیزه به کمک امواج فراصوت برپایه انجماد قطره آلی شناور همراه با دستگاه جذب اتمی شعله‌ای برای استخراج، پیش تغلیظ و اندازه‌گیری مس در نمونه‌های آبی متفاوت به کار گرفته شد. کاتیون مس با لیگاند در شرایط مناسب تشکیل کمپلکس داد و از فاز آبی به فاز آلی استخراج‌کننده که با میکروسرنگ به محلول آبی تزریق شده بود، منتقل شد. به کمک امواج فراصوت، قطره‌های بسیار ریز حلال استخراج‌کننده در فاز آبی پراکنده و محلول ابری نامیزه تشکیل شد. کاربرد گریزانه و حمام یخ در این روش منجر به انجماد میکروقطره حلال آلی از سطح محلول آبی شد که پس از جمع‌آوری، با اتانول به‌عنوان حامل به دستگاه جذب اتمی برای اندازه‌گیری وارد شد. عامل‌های موثر بر تشکیل کمپلکس مس و استخراج بررسی و شرایط بهینه گزارش شد. ارقام شایستگی در روش پیشنهادی ارزشیابی شد که نتیجه‌های قابل قبول و بهتری از گزارش‌های پیشین داشت. کارایی روش استخراجی به‌طور موفقیت‌آمیزی در نمونه‌های متفاوت آبی، تایید شد.

واژه‌های کلیدی: میکرو استخراج، اندازه‌گیری مس، پیش تغلیظ، طیف‌سنجی جذب اتمی شعله‌ای، نمونه‌های آب.

مقدمه

مراحل نسخه‌برداری DNA و RNA، مس نقش دارد. ترکیب‌های مس برای مراقبت از گیاهان (بیماری گیاهان)، قارچ‌کش (ضد عفونی کننده استخراج) و همچنین، به‌عنوان ماده نگه‌دارنده در صنعت چرم به کار برده می‌شود. مقدار مجاز تعیین شده مس برای خانم‌ها و آقایان

مس، از عناصر اصلی برای سوخت‌وساز موجودات زنده است [۱ و ۲]. بسیاری از آنزیم‌های موجودات زنده، از این فلز استفاده شده است [۳]. برای نمونه در فوتوسنتز، سوخت‌وساز ترکیب‌های نیتروژن دار و در

میکرو از حلال استخراج کننده غیرقابل امتزاج با آب بدون استفاده از حلال پخش کننده با نامیزه سازی با امواج فراصوت درون نمونه آبی پخش می شود. نتیجه این عمل استخراج آنالیت با بازدهی بالا و سریع است. پس از انتقال آنالیت، فاز آبی و آلی با گریزان از یکدیگر جدا می شوند. روش میکرواستخراج نامیزه سازی با امواج فراصوت به عنوان یک استخراج ساده و پیش تغلیظ برای ترکیبها در نمونه های آبی به کار گرفته شده است [۱۶]. حلال آلی مورد استفاده در این روش، چگالی بیشتری از آب دارد. برای مثال، کلروفرم، کربن تتراکلرید، تتراکلرو اتیلن، دی کلرومتان و تری کلرواتان که همگی آن ها بسیار سمی هستند. روش دیگر، میکرو استخراج با میکروقطره آلی منجمد شده شناور است که در سال ۲۰۰۷ معرفی شد [۱۷]. در این روش میکروقطره آلی با چگالی کمتر از آب، سمیت کمتر و نقطه ذوب نزدیک دمای اتاق (در گستره ۱۰ تا ۳۰ درجه سلسیوس) بر سطح محلول نمونه که در حال هم زدن است، به صورت شناور قرار می گیرد. پس از زمان لازم برای انتقال آنالیت از فاز آبی نمونه به فاز آلی، ظرف نمونه داخل حمام یخ قرار می گیرد و میکروقطره آلی منجمد شده، به میکرولوله منتقل می شود. سپس، در دمای اتاق ذوب و به دستگاه مورد استفاده وارد می شود. این روش برای استخراج ترکیب های آلی و یون های فلزی از فاز آبی به کار گرفته می شود. زمان استخراج، در این روش طولانی است. پژوهش حاضر، ترکیبی از دو روش میکرواستخراج به کار گرفته شد تا نقص های این دو روش حذف و مزایای آن ها در کنار هم استفاده شوند. امواج فراصوت، انتقال جرم بین دو فاز آلی و آبی غیرقابل امتزاج را سرعت و زمان استخراج را کاهش می دهد.

متفاوت است. از طرف دیگر، غلظت بالای ترکیب های مس، خطرهای جدی برای موجودات زنده، به ویژه برای ماهی ها و گیاهان دارد. در انسان ها غلظت بالای این عنصر موجب بیماری و حتی مقادیر بیشتر آن موجب مرگ می شود [۴]. برای حفظ سلامتی انسان ها و محیط زیست، لازم است که مقادیرهای مس در محیط زیست، به ویژه آب آشامیدنی، آب دریا و ... اندازه گیری و مقدار آن واپایش شود. بسیاری از روش های تجزیه ای شامل طیفسنجی نشری پلاسمای جفت شده القایی^۱ [۵]، روش های طیف نورسنجی [۶]، سوانگاری مایع با کارایی بالا [۷]، روشی از اسپکتروفلورومتری [۸] و طیفسنجی جذب شعله ای [۹] و ...، برای اندازه گیری مس در نمونه های متفاوت به کار برده شده است. با وجود حساسیت بالای روش های یاد شده برای اندازه گیری، کم بودن غلظت مس و اثر تداخل یون های دیگر موجب مشکل های زیادی در اندازه گیری ها شده است. بنابراین، مرحله پیش تغلیظ و حذف تداخل گر ها پیش از اندازه گیری لازم است. روش های پیش تغلیظ شامل استخراج فاز جامد تجزیه ای [۱۰]، استخراج مایع-مایع [۱۱] هم رسوبی [۱۲] و تشکیل نقطه ابری [۱۳] گزارش شده اند. روش های تجزیه موجب مصرف مقادیر زیاد نمونه و حلال های آلی که سمی و برای محیط زیست زیان آور است، می شود. در سال های اخیر، روش های میکرواستخراج با کاهش مصرف حلال آلی، بر این مشکل ها چیره شده است. افزون بر آن، پیش تغلیظ و استخراج در یک مرحله انجام می شود [۱۴]. این روش ها سریع تر و ساده تر است. روش میکرو استخراج نامیزه^۲ با امواج فراصوت در سال ۲۰۰۸ توسط ریگوریو^۳ معرفی شد [۱۵]. در این روش، حجم

1. Inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES)

2. Emulsion

3. Regueiro

برای از بین بردن محلول ابری و جمع‌شدن قطره حلال استخراج‌کننده بر سطح نمونه آبی، دستگاه گریزانه (IEK مدل HN-S) به‌کارگرفته شد. در تمامی مراحل استخراج از شیشه‌های ته مخروطی ویژه دستگاه گریزانه و برای تزریق حلال آلی به داخل محلول نمونه، یک میکروسرنگ هامیلتون ۱۰۰ میکرولیتری به‌کارگرفته شد.

روش^۱ USAEME-SFO

در این روش ۵۰ میلی‌لیتر محلول آبی نمونه با قدرت یونی ۵ درصد (W/V) سدیم کلرید که حاوی 10^{-4} M از مس بود به شیشه‌های ته مخروطی ویژه دستگاه گریزانه منتقل، سپس برای تنظیم pH به آن ۲/۵ میلی‌لیتر استات بافر افزوده شد. پس از آن، ۲ میلی‌لیتر محلول لیگاند به غلظت ۰/۰۵ مولار افزوده و ۳۵ میکرو-لیتر حلال آلی ۱-آندوکانول (حلال استخراج‌کننده) با میکروسرنگ به درون محلول آبی تزریق و درون حمام فراصوت قرار داده شد. در طول زمان فراصوت (۷ دقیقه)، محلول کدر و حلال ۱-آندوکانول در محلول آبی پخش و نامیزه تشکیل شد. در پایان محلول نامیزه به‌دست‌آمده به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ rpm گریزانه شد تا دو فاز به‌طور کامل از هم جدا و قطرات معلق ۱-آندوکانول در سطح محلول شناور شدند. سپس، محلول داخل حمام آب و یخ به مدت ۵ دقیقه نگه‌داشته شد تا حلال آلی استخراج‌کننده منجمد و به‌راحتی از سطح آن با کمک قاشق ساخته‌شده شیشه‌ای جمع‌آوری شود. حلال منجمدشده به یک میکرولوله منتقل و در دمای اتاق ذوب شد. سپس، با ۱۵۰ میکرولیتر اتانول رقیق و به دستگاه جذب اتمی شعله‌ای معرفی شد.

در این پژوهش، مس در نمونه آبی با یک لیگاند که به نمونه آبی افزوده شده بود، به کمپلکس رنگی آب‌گریز تبدیل و به میکروقطره حلال آلی منتقل و پس از انجماد، جمع‌آوری و به میکرولوله منتقل شد. سپس با اتانول به-عنوان حمل‌کننده رقیق و به دستگاه جذب اتمی نشر شعله‌ای وارد شد.

بخش تجربی

مواد شیمیایی

مواد شیمیایی استفاده‌شده، با درجه خلوص تجزیه-ای از شرکت مرک تهیه شدند. محلول مس به غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، با انحلال مقدار مناسب مس نیترات در آب یون‌زدوده تهیه شد. محلول‌های لازم با رقیق‌سازی مقدار معینی از این محلول، روزانه در آب یون‌زدوده تهیه شدند. محلول ۸-هیدروکسی کینولین به غلظت ۰/۰۵ مولار در اتانول تهیه شد. همه محلول‌ها در دمای ۴ درجه سلسیوس و در تاریکی نگه‌داری شدند.

دستگاه‌ها

برای آنالیز نمونه‌ها از دستگاه جذب اتمی شعله‌ای (AA-240) Varian مجهز به تصحیح زمینه‌ای دوتریم و یک کامپیوتر پردازشگر به‌کارگرفته شد. هالو کاتد لامپ مس در ۴ میلی‌آمپر تنظیم و به‌عنوان منبع تابش به‌کار برده شد. طول موج تجزیه‌ای ۳۲۷/۴ نانومتر و پهنای شکاف ۰/۱ نانومتر به پیشنهاد کارخانه تنظیم شد. همه اندازه‌گیری‌های انجام‌شده در شعله هوا-استیلین با سرعت ۱۰ و ۷ لیتر بر دقیقه (به‌ترتیب) بود. pH متر (متروم مدل ۷۴۴) با یک الکتروود غشاء شیشه‌ای برای تنظیمات pH به‌کار برده شد. برای مرحله استخراج و تشکیل محلول ابری از حمام فراصوت (فرکانس kHz ۳۵ و ۳۲۰ ساخت آلمان) استفاده شد.

۵) حلال آلی سازگار با دستگاه تجزیه‌ای باشد. در دستگاه‌های سوانگاری پیک آن تداخلی با پیک آنالیت نداشته و در دستگاه جذب اتمی مشکلی برای شعله پیش نیاورد.

برپایه، مطالعه‌های انجام شده، حلال‌های آلی هگزادکان نرمال، ۱-دودکانول، ۲-دودکانول، ۱-آندکانول، نرمال هپتادکان، ۱-کلرواکتادکان، ۲-آندکانول و نرمال هگزادکان دارای شرایط ذکر شده هستند (جدول ۱).

جدول ۱ حلال‌های آلی انتخاب شده در روش USAEME-SFO برای استخراج کمپلکس مس

چگالی (g/cm ³)	نقطه جوش (°C)	نقطه ذوب (°C)	حلال آلی
۰٫۸۳	۲۲۸	۱۱-۱۳	۲-آندکانول
۰٫۷۷	۲۸۷	۱۸	نرمال هگزادکان
۰٫۸۳	۲۵۸-۲۶۵	۲۱-۲۴	۱-دو دکانول
۰٫۸۳	۱۰۴-۱۰۶	۱۷-۱۸	۲-دو دکانول
۰٫۸۳	۱۲۹-۱۳۱	۱۳-۱۵	۱-آندکانول
۰٫۷۸	۳۰۲	۲۲	نرمال هپتادکان
۰٫۸۶	۱۶۵-۱۶۶	۲۰-۲۳	۱-کلرواکتادکان

در آزمایش‌های انجام شده، ۱-آندکانول و ۱-دودکانول حلال‌های مناسبی برای استخراج بودند که ۱-آندکانول پیش‌تغلیظ بالاتری داشت و بیشترین جذب را در شرایط یکسان نشان داده بود (شکل ۱). حلال آلی ۲-آندکانول، پس از استخراج در مرحله گریزانه به خوبی از محلول آبی جدا نشده و جذب کمتری را نشان داد. نرمال هگزادکان و نرمال هپتادکان در مرحله فراصوت به خوبی در نمونه آبی پخش نشدند و نتوانستند محلول ابری را به وجود آورند که به احتمال به علت گران‌روی بیشتر این حلال‌ها است. در آزمایش‌های بعدی، ۱-آندکانول به‌عنوان حلال آلی

بهینه‌سازی و بررسی عامل‌های مؤثر بر USAEME-SFO بهینه‌سازی‌ها به صورت یک متغیر در زمان انجام شد. یعنی در هنگام مطالعه اثر هر عامل، سایر عامل‌ها در مقدارهای بهینه مربوط ثابت نگه داشته شدند. فاکتورهای متفاوتی از قبیل نوع و حجم حلال آلی استخراجی، قدرت یونی، pH محلول نمونه آبی، حجم محلول نمونه آبی، زمان فراصوت و گریزانه، غلظت لیگاند و اثر تداخل یون‌های دیگر که می‌تواند بر فرایند استخراج تأثیر بگذارند بررسی شد. در این روش، عامل غنی‌سازی و بازدهی استخراج از معادله‌های ۱ و ۲ به دست آمدند.

$$EF = (C_0/C_{aq}) \quad (1)$$

$$ER \% = EF \times (V_0/V_{aq}) \times 100 \quad (2)$$

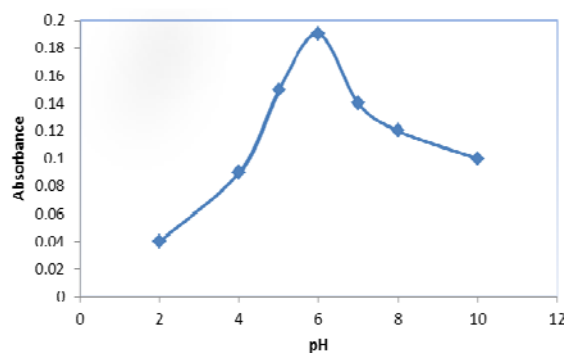
که در آن‌ها V و C ، حجم و غلظت و زیروندهای o و aq فاز آلی و فاز آبی را نشان می‌دهد. C_0 از نمودار واسنجی محلول‌های استاندارد به دست آمده است.

انتخاب حلال آلی

در روش استخراجی پیشنهاد شده، انتخاب حلال آلی مناسب یکی از مهم‌ترین مراحل برای USAEME-SFO است [۱۸]. به همین دلیل چند حلال آلی بررسی شد. حلال آلی مورد استفاده باید دارای شرایط زیر باشد:

- حلال آلی باید حلالیت بسیار کمی در آب داشته، فراریت پایین و نقطه جوش بالا داشته تا در زمان استخراج پایداری لازم را داشته باشد.
- چگالی کمتر از آب داشته تا پس از جداسازی فازها روی سطح آب قرار بگیرد.
- در طول فراصوت با محلول نمونه تشکیل یک محلول ابری تک فاز را بدهد.
- نقطه ذوب آن نزدیک دمای اتاق باشد (گستره ۱۰ تا ۳۰ درجه سلسیوس).

pH های بالا، امکان آب کافت کاتیون های مس وجود دارد. بنابراین، در مطالعه های بعدی pH برابر با ۶ در نظر گرفته شد.

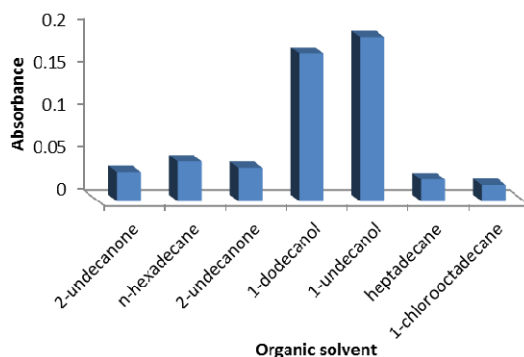


شکل ۲ اثر pH بر جذب

بررسی اثرات قدرت یونی

در روش های میکرواستخراج، مقدار استخراج آنالیت بنا به طبیعت آنالیت، با افزایش نمک، کاهش و یا افزایش می یابد [۶۱]. بسیاری از پژوهش ها نشان داده که افزایش نمک موجب افزایش بازدهی استخراج در روش های میکرواستخراج شده است [۲۰ و ۲۱]. اگرچه پژوهش دیگری، افزایش نمک را موجب کاهش بازدهی استخراج گزارش داده است [۲۲ تا ۲۴]. تاثیر مثبت نمک در استخراج به این واقعیت مربوط است که افزودن نمک موجب می شود تا تعداد زیادی از ملکول های آب درگیر آب پوشی یون های نمک شوند و لذا تعداد ملکول های آب در دسترس برای آب پوشی و حل کردن آنالیت قطبی کمتر می شود و بنابراین، حلالیت آنالیت در فاز آبی کاهش می یابد. اگرچه، با افزایش نمک، نفوذ آنالیت به فاز آلی سخت تر می شود [۲۵ و ۲۶]. این کاهش، به علت افزایش گرانروی محلول است. زیرا با افزایش گرانروی محلول، قطرات ریز حلال استخراجی نمی توانند به خوبی تشکیل شوند و در نتیجه بازده استخراج کاهش می یابد [۲۷]. از طرف دیگر، افزایش گرانروی محلول موجب افزایش جذب امواج فراصوت می شوند.

استخراج کننده در نظر گرفته شد. این حلال آلی، فشار بخار پایین داشته و قابلیت انحلال بسیار ناچیزی در آب دارد و به خوبی در زمان قرار گرفتن محلول در مقابل امواج فراصوت در آب پخش شده و به همین علت تماس بسیار بالایی با نمونه آبی داشته و از طرف دیگر، برای جداسازی دو فاز، که در دستگاه گریزان قرار می گیرد، به خوبی از فاز آبی جدا شده و به صورت قطره های بسیار کوچک در سطح نمونه آبی قرار می گیرد. افزون بر آن، به نسبت ارزان است.



شکل ۱ اثر حلال های آلی بر جذب

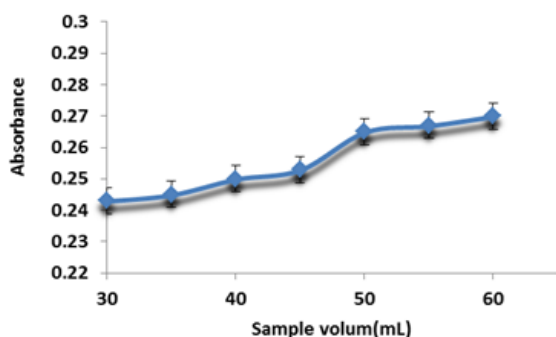
تنظیم pH محلول نمونه

جداسازی و پیش تغلیظ یون های فلزی به روش پیشنهاد شده، شامل تشکیل گونه آب گریز از یون فلزی است که بتواند به حجم بسیار کوچکی از فاز آلی منتقل شود [۱۹]. تشکیل گونه آب گریز از یون فلزی در محیط آبی به pH وابسته است. در این پژوهش، اثرهای pH بر تشکیل کمپلکس و استخراج در گستره ۲ تا ۱۰ بررسی شد (شکل ۲).

همان طور که در شکل نشان داده شده، در pH های پایین، روند کاهش در استخراج کمپلکس بین ۸- هیدروکسی کینولین و مس مشاهده شد که به علت رقابت بین یون های هیدروژن و عامل کمپلکس دهنده است. در

تغییرهای جذب با تغییر حجم محلول نمونه در گستره ۳۰ تا ۶۰ میلی‌لیتر بررسی شد (شکل ۳).

با توجه به شکل ۳، با افزایش حجم نمونه آبی در حجم ثابت حلال، مقدار جذب تا ۵۰ میلی‌لیتر افزایش یافت، ولی پس از آن، روند افزایش در جذب به کندی صورت گرفته است. به علت آنکه افزایش حجم نمونه آبی با کاهش بازدهی استخراج مواجه خواهد شد. بنابراین، حجم ۵۰ میلی‌لیتر را به عنوان حجم بهینه محلول آبی نمونه برای آزمایش‌های بعدی در نظر گرفته شد.



شکل ۳ اثر حجم محلول نمونه بر جذب

بررسی اثر زمان فراصوت و گریزانه

زمان استخراج با تاثیر بر تشکیل نامیزه، فرایند انتقال جرم و بازیابی آنالیت، اثر مهمی بر بازده استخراج می‌گذارد. به طور کلی زمان استخراج به گستره زمانی بین افزایش حلال استخراج‌کننده به محلول نمونه تا پایان کار دستگاه فراصوت گفته می‌شود. در این روش با دستگاه فراصوت حلال استخراج‌کننده در محلول نمونه که حاوی آنالیت است پراکنده می‌شود. بنابراین، نیازی به حلال پخش‌کننده نیست و دستگاه فراصوت نقش حلال پخش‌کننده را ایفا می‌کند. اثر زمان فراصوت، با در نظر گرفتن زمان‌های ۱ تا ۱۲ دقیقه بررسی شد. با افزایش زمان تا ۷ دقیقه، مقدار جذب افزایش یافت و

در نتیجه، میکروقطره حلال آلی نمی‌تواند در داخل محلول نمونه پخش شود بنابراین، نامیزه به خوبی تشکیل نشده و بازدهی استخراج کاهش می‌یابد [۲۸].

اثرات افزایش نمک بر بازدهی استخراج با افزایش سدیم کلرید در گستره ۰/۱ تا ۱۰ درصد (W/V) بررسی شد. برپایه، نتیجه‌های به دست آمده، با افزایش مقدار نمک، مقدار جذب تا ۵ درصد افزایش یافت و با افزایش بیشتر، کاهش در مقدار جذب مشاهده شد. علت آن را می‌توان به افزایش گرانروی محلول و در نتیجه آن کاهش انتقال جرم آنالیت به فاز آلی نسبت داد. برای دستیابی به کارایی بالای استخراج، سدیم کلرید به غلظت ۵ درصد (W/V) به محلول نمونه افزوده شد.

بررسی اثر حجم حلال آلی/استخراج‌کننده

بر پایه معادله‌ها در روش‌های استخراج مایع-مایع سرعت انتقال آنالیت به حلال آلی، به طور مستقیم متناسب با سطح تماس دو فاز مایع و به صورت معکوس متناسب با حجم حلال آلی است. این دو عامل با یکدیگر رقابت می‌کنند. از طرف دیگر، در روش USAEME، حجم حلال آلی در تشکیل نامیزه نقش بسیار مهمی دارد. بر این پایه، حجم ۱-آندکانول در گستره ۲۰ تا ۵۰ میکرولیتر، بررسی شد. با افزایش مقدار حلال آلی تا ۳۵ میکرولیتر، مقدار جذب افزایش یافت، پس از آن افزایش جذب به کندی صورت گرفت. در آزمایش‌های بعدی، برای دستیابی به عامل غنی‌سازی بیشتر، حجم ۳۵ میکرولیتر در نظر گرفته شد.

بررسی اثر حجم محلول نمونه

در روش‌های میکرواستخراج مایع-مایع، عامل غنی‌سازی با افزایش نسبت حجم محلول نمونه به حجم فاز آلی افزایش می‌یابد [۲۹]. از طرف دیگر، با این افزایش در زمان مشخص، کاهش در بازدهی استخراج به وجود می‌آید. در مطالعه بعدی در حجم ثابت ۳۵ میکرولیتر، ۱-آندکانول،

جدول ۲ نسبت غلظت یون‌های مس و

یون‌های دیگر

غلظت مس	غلظت یون‌های تداخل‌کننده
۱	۱
۱	۱۰
۱	۱۰۰

نتیجه‌ها به‌صورت زیر گزارش شده است:

یون‌هایی که در غلظت ۱۰۰ برابر مس هیچ تداخلی را در اندازه‌گیری مس ایجاد نکردند، در زیر آورده شده‌اند:

کاتیون‌ها: Cd^{+2} و Pb^{+2} , Cr^{+3} , Na^{+1} , K^{+1} , Ca^{+2} , Mg^{+2}
 آنیون‌ها: PO_4^{-3} , NO_3^- , Br^- , F^- , CH_3COO^- , $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$, Cl^- و SO_4^{-2}

یون‌هایی که در نسبت ۱:۱، مس هیچ تداخلی را در اندازه‌گیری مس ایجاد نکردند، در زیر آورده شده‌اند:

کاتیون‌ها: Ba^{+2} و Fe^{+3} , Mn^{+2}
 آنیون: CO_3^{-2}

یون‌های نیکل (II)، کبالت (II)، روی (II)، سرب (II)، جیوه (II) و آهن (II) در نسبت ۱:۱ تداخلی مشاهده نشد، ولی در نسبت ۱:۱۰ تداخل مشاهده شد. یون‌هایی که در غلظت ۱۰ برابر مس، هیچ تداخلی را در اندازه‌گیری مس ایجاد نکردند، یون‌های زیر بودند:

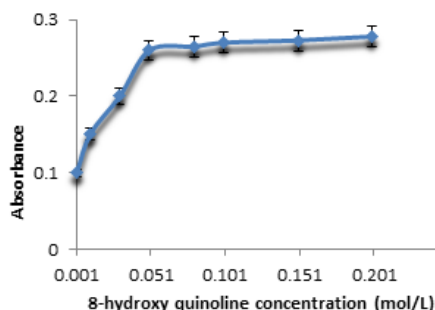
Li^+ و Fe^{+2} , Co^{+2}

نتیجه‌ها نشان داد که وجود یون‌های دیگر در اندازه‌گیری مس تغییرهای چندانی به‌وجود نمی‌آورد.

پس‌از آن، افزایش چندانی مشاهده نشد. بنابراین، در آزمایش‌های بعدی، زمان ۷ دقیقه در نظر گرفته شد. در طول زمان فراصوت، در اثر پخش حلال آلی در محلول نمونه، محلول به شکل ابری درآمد و برای جداسازی دو فاز آبی و آلی از یکدیگر، دستگاه گریزان به‌کار گرفته شد. اثر زمان گریزان بر جذب در گستره ۳ تا ۱۰ دقیقه بررسی شد. بیشینه جذب در ۵ دقیقه به‌دست آمد و پس از آن جذب افزایش چندانی نداشت. بنابراین، زمان ۵ دقیقه برای گریزان در آزمایش‌های بعدی در نظر گرفته شد.

بررسی اثر غلظت عامل کمپلکس‌دهنده

مطالعه بعدی، در شرایط بهینه به‌دست‌آمده، در گستره غلظتی ۰/۰۰۱ تا ۰/۲ مولار غلظت ۸-هیدروکسی کینولین در اتانول مقدار جذب بررسی شد که مقدار بهینه آن ۰/۰۵۰ مولار به‌دست آمد (شکل ۴).



شکل ۴ اثر غلظت محلول ۸-هیدروکسی کینولین بر جذب

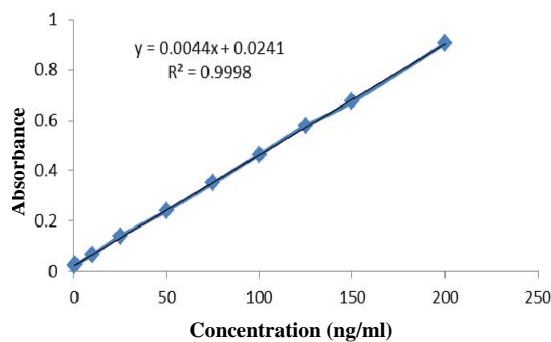
بررسی اثر یون‌های تداخل‌کننده

از آنجایی که در روش‌های پیش‌تغلیظ یون‌های فلزی، اثر یون‌های تداخل‌کننده مطرح است. اثر وجود یون‌های کاتیون و آنیون دیگر بر جذب مس در غلظت ثابتی از مس (۰/۵ $\mu\text{g/ml}$) در گستره متفاوتی از یون‌های دیگر بررسی شد (جدول ۲).

جذب خوانده شده از نمودار واسنجی رسم شده، تعیین غلظت شد. حاصل تقسیم غلظت آنالیت پس از استخراج به غلظت آن پیش از استخراج، عامل غنی‌سازی است که برابر با ۵۸۰ به دست آمد.

نمودار واسنجی

برای رسم نمودار واسنجی، محلول‌هایی در گستره نانوگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. استخراج در شرایط بهینه به دست آمده و نمودار رسم شد (شکل ۶).



شکل ۶ نمودار واسنجی مس استخراجی در شرایط بهینه

حد تشخیص

برای به دست آوردن حد تشخیص، لازم است انحراف استاندارد سیگنال شاهد S_b را محاسبه کرده و سه برابر مقدار به دست آمده را تقسیم بر شیب منحنی واسنجی (m) کرد. نتیجه این محاسبه، حد تشخیص است (معادله ۳).

$$LOD = 3S_b / m \quad (3)$$

حد تعیین

برای محاسبه حد تعیین، از معادله ۴ به کار گرفته شد.

$$LOQ = 10 LOD / 3 \quad (4)$$

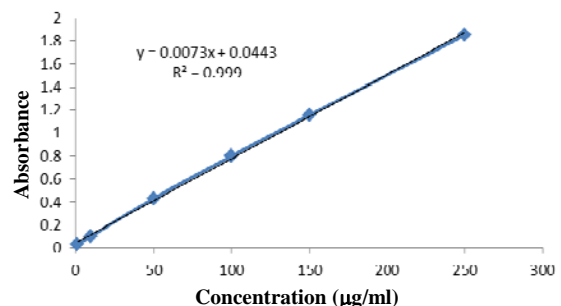
تکرارپذیری

ارزیابی روش پیشنهادشده

ارقام شایستگی برای هر روش تجزیه‌ای، امکان مقایسه کارایی روش‌های تجزیه‌ای متفاوت با یکدیگر و همچنین، ارزیابی میزان توانایی یک روش تجزیه‌ای را در کاربردهای ویژه فراهم می‌کند. پس از تعیین شرایط بهینه استخراج، برای ارزیابی روش پیشنهادی، در شرایط بهینه، عامل‌های تجزیه‌ای مانند رسم منحنی واسنجی، معادله درجه‌بندی، حد تشخیص کمی، حد تعیین، گستره دینامیک خطی، ضریب همبستگی، تکرارپذیری، تکرارپذیری و عامل غنی‌سازی کمی بررسی شد.

عامل غنی‌سازی

عامل پیش‌تغلیظ به صورت نسبت غلظت گونه در فاز پذیرنده آلی به غلظت گونه در فاز آبی دهنده تعریف می‌شود. برای این منظور، رسم منحنی درجه‌بندی اندازه-گیری مستقیم جذب محلول‌ها در گستره غلظتی پس از استخراج لازم است. محلول‌هایی در گستره ۱ تا $\mu\text{g/ml}$ ۲۵۰ (۱، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۵۰) از محلول استوک تهیه شد، جذب آن با دستگاه جذب اتمی نشر شعله‌ای خوانده، سپس جذب برحسب غلظت رسم شد (شکل ۵).



شکل ۵ نمودار واسنجی اندازه‌گیری مستقیم غلظت مس با دستگاه جذب اتمی نشر شعله‌ای

سپس، محلول مس به غلظت ۱۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر تهیه و استخراج در شرایط بهینه به دست آمده، انجام شد.

متوالی^۲ با ۶ اندازه‌گیری در ۶ روز متوالی در شرایط بهینه با غلظت ۵۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. نتیجه‌های به‌دست‌آمده برای تعیین ارقام شایستگی در جدول ۳ گزارش شده است.

مقدار تکرارپذیری سامانه، با اندازه‌گیری RSD% به‌دست آمد. مقادیر به‌دست‌آمده از مقدار انحراف استاندارد نسبی در یک روز کاری^۱ با ۶ اندازه‌گیری پی‌درپی در شرایط بهینه با غلظت ۵۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر و برای تکثیرپذیری انحراف استاندارد نسبی در چند روز کاری

جدول ۳ ارقام شایستگی روش استخراج پیشنهادی

معادله	R ²	LOD (ngmL ⁻¹)	LOQ (ngmL ⁻¹)	DLR (ngmL ⁻¹)	EF	RSD (در یک روز)	RSD (بین چند روز)
$Y = 0.004X + 0.24$	۰.۹۹۹	۰.۱۱۲	۰.۴۳	۰.۵-۲۰۰	۵۸۰	% ۳.۱	% ۵.۷

ساخته‌شده به‌کار برده شد. به این منظور کاتیون‌هایی که با مس در رقابت برای تشکیل کی‌لیت با عامل کمپلکس‌دهنده هستند، انتخاب شدند. نتایج در جدول ۵ آمده است. نتیجه‌ها به خوبی کارآرایی این روش را نشان می‌دهد.

نمونه‌های متفاوت از آب، با بافت‌های متفاوت شامل آب شیر (آب آزمایشگاه تحقیقات دانشکده شیمی واحد تهران شمال، آب دریا (آب دریای خزر)، آب چاه (مرکز تحقیقات دانشکده شیمی واحد تهران شمال)، آب رودخانه (لواسان، تهران) تهیه شد و برای تعیین مس در آن‌ها، استخراج با روش پیشنهادی تحت شرایط بهینه انجام پذیرفت. آزمایش‌های انجام‌شده روی نمونه‌ها حاکی از آن است که برخی نمونه‌ها دارای مس هستند. بنابراین، به‌منظور بررسی اثر نوع نمونه‌ها بر کارایی استخراج، غلظت‌های ۵ و ۱۰ ng ml⁻¹ از استاندارد مس به نمونه‌ها افزوده شد و سپس، استخراج از نمونه‌های آغشته‌شده به ترکیب‌های موردنظر، انجام پذیرفت. این آزمایش‌ها سه مرتبه تکرار و با حدود اطمینان ۹۵ درصد گزارش شد. نتیجه‌ها در جدول ۴ خلاصه شده است. برای به‌دست آوردن بازیابی نسبی از معادله ۵ استفاده شده است.

جدول ۴ اندازه‌گیری مس در نمونه‌های متفاوت آب

بازیابی (%)	مس به‌دست‌آمده* (ng ml ⁻¹)	مس افزوده‌شده (ng ml ⁻¹)	نمونه آب
-----	۱.۹ ± ۰.۳	-----	آب لوله کشی (تهران-ایران)
۹۸	۶.۸ ± ۰.۶	۵.۰	
۹۹	۱۱.۸ ± ۰.۲	۱۰.۰	
-----	۴.۵ ± ۰.۴	-----	آب چاه (مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد تهران شمال)
۱۰۰	۹.۵ ± ۰.۷	۵.۰	
۹۷	۱۴.۲ ± ۰.۲	۱۰.۰	
-----	۷.۵ ± ۰.۸	-----	آب دریا (دریای خزر)
۹۶	۱۲.۳ ± ۰.۴	۵.۰	
۹۷	۱۷.۲ ± ۰.۵	۱۰.۰	
-----	ND**	-----	رودخانه جاجرود (لواسان-ایران)
۱۰۶	۵.۳ ± ۰.۲	۵.۰	
۱۰۳	۱۰.۳ ± ۰.۲	۱۰.۰	

* Not detected

** Mean ± (Standard deviation), n = 3

$$RR = ((C_{\text{found}} - C_{\text{real}}) / C_{\text{added}}) \times 100 \quad (5)$$

که در آن C_{found}، C_{real} و C_{added} به ترتیب غلظت‌های مس در نمونه پیداشده در نمونه حقیقی، حقیقی و افزوده‌شده به نمونه حقیقی است. به‌منظور تایید دقت و صحت این پژوهش، روش افزایش استاندارد مس برای اندازه‌گیری مس در نمونه‌های

آلی استخراج کننده، زمان استخراج کوتاه و هزینه پایین برخوردار است و به تجهیزات پیچیده‌ای نیاز ندارد. با این روش می‌توان هم‌زمان از مزایای هر دو روش USAEME و SFO بهره جست. افزون‌بر آن، در این روش برای تشکیل محلول نامیزه ابری نیازی به حلال پخش کننده به کار برده شده در روش‌های میکرو استخراج نیست که همان مفهوم کاربرد شیمی سبز است که یکی از اهداف آن کاهش مصرف حلال آلی در آزمایش‌ها است. مطالعه انجام شده در مقایسه با کارهای گذشته دارای عامل پیش‌تغلیظ بالاتر، حد تشخیص پایین‌تر است و وجود یون‌های دیگر در اندازه‌گیری مس به این روش تداخلی ایجاد نمی‌کند. افزون‌بر آن، با پیش‌تغلیظ انجام شده، غلظت آنالیت به حدی می‌رسد تا قابل اندازه‌گیری با دستگاه جذب اتمی شعله‌ای باشد که در مقایسه با دستگاه جذب اتمی کوره‌ای در دسترس‌تر است، هزینه کمتری دارد و کارکردن با آن ساده‌تر است.

جدول ۵ اندازه‌گیری مس در نمونه‌های سنتزی

غلظت هر کاتیون* در نمونه‌های تهیه شده (ng/ml)	مس افزوده شده (ngml ⁻¹)	مس به دست آمده (ngml ⁻¹)**	بازیابی نسبی (%)
۱۰	۵	۴,۸ ± ۰,۲	۹۶
	۱۰	۹,۷ ± ۰,۷	۹۷
۴۰	۵	۵,۱ ± ۰,۱	۱۰۲
	۱۰	۹,۹ ± ۰,۱	۹۹

* کاتیون‌های مورد استفاده در نمونه‌ها: Cd²⁺ و Pb²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺, Co²⁺, Mn²⁺
** Mean ± (standard deviation) و n = 3

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، کارایی روش میکرواستخراج نامیزه به کمک امواج فراصوت برپایه انجماد قطره شناور برای پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری مس از نمونه‌های آبی بررسی شد. این روش ضمن سادگی، حساسیت بالا و دقت مطلوب، از مزایایی همچون مصرف کم حلال‌های

مراجع

- [1] Krupanidhi S, Sreekumar A, Sanjeevi CB. Copper & biological health. Indian Journal of Medical Research. 2008;128(4):448-61.
- [2] Banci L, Bertini I, Cantini F, Ciofi-Baffoni S. Cellular copper distribution: a mechanistic systems biology approach. Cellular and Molecular Life Sciences. 2010;67(15):2563-89. doi: 10.1007/s00018-010-0330-x
- [3] Tobiasz A, Walas S, Landowska L, Konefał-Góral J. Improvement of copper FAAS determination conditions via preconcentration procedure with the use of salicylaldehyde complex trapped in polymer matrix. Talanta. 2012;96:82-88. doi: 10.1016/j.talanta.2012.02.005
- [4] Tokman N. The use of slurry sampling for the determination of manganese and copper in various samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. Journal of Hazardous Materials. 2007;143:87-94. doi: 10.1016/j.jhazmat.2006.08.068
- [5] Luiz Silva E, Santos Roldan P, Fernanda Giné M. Simultaneous preconcentration of copper, zinc, cadmium, and nickel in water samples by cloud point extraction using 4-(2-pyridylazo)-resorcinol and their determination by inductively coupled plasma optic emission spectrometry. Journal of Hazardous Materials. 2009;171(1-3):1133-8. doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.06.127

- [6] Niazi A, Yazdanipour A. Simultaneous spectrophotometric determination of cobalt, copper and nickel using 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthol by chemometrics methods. *Chinese Chemical Letters*. 2008; 19(7):860864. doi: **10.1016/j.ccllet.2008.04.047**
- [7] Kaur V, Singh Aulakh J, Kumar Malik A. A new approach for simultaneous determination of Co(II), Ni(II), Cu(II) and Pd(II) using 2-thiophenylaldehyde-3-thiosemicarbazone as reagent by solid phase microextraction-high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*. 2007;603(1):44-50. doi: **10.1016/j.aca.2007.09.031**
- [8] Zeeb M, Ganjali M.R, Norouzi P, Kalaei M.R. Separation and preconcentration system based on microextraction with ionic liquid for determination of copper in water and food samples by stopped-flow injection spectrofluorimetry. *Food and Chemical Toxicology*. 2011;49(5):1086-1091. doi: **10.1016/j.fct.2011.01.017**
- [9] Tobiasz A, Walas S, Hernández AS, Mrowiec, H. Application of multiwall carbon nanotubes impregnated with 5-dodecylsalicylaldehyde for on-line copper preconcentration and determination in water samples by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*. 2012;96:89-95. doi: **10.1016/j.talanta.2011.12.008**
- [10] Qijun W, Jiaqi H, Hu M, Yu W. A paper-based microfluidic analytical device combined with home-made SPE column for the colorimetric determination of copper (II) ion. *Talanta*. 2019;204:518-524. doi: **10.1016/j.talanta.2019.06.006**
- [11] Alonso A, Almendral MJ, Curto Y, Porras MJ. Spectrophotometric Determination of Copper in Waste Water Using Liquid-Liquid Extraction in a Flow-Injection System. *Microchimica Acta*. 2003;143: 217-220. doi: **10.1007/s00604-003-0068-3**
- [12] Tokaloğlu Ş, Yıldız S. A comparative study on the preconcentration of some metal ions in water samples with Cu(II) and Ni(II) salicylaldehyde coprecipitants. *Microchim. Acta*. 2009;165:129-133. doi: **10.1007/s 00604-008-0110-6**
- [13] Gao Y, Wu P, Li W, Xuan Y, Hou X. Simultaneous and selective preconcentration of trace Cu and Ag by one-step displacement cloud point extraction for FAAS determination. *Talanta*. 2010;81:586-590. doi: **10.1016/j.talanta.2009.12.038**
- [14] Saber-Tehrani M, Aberoomand-Azar P, Raziee M. Hollow fiber-based liquid phase microextraction coupled with high-performance liquid chromatography for extraction and determination of vitamin D₃ in biological fluids. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2014;37:404-419. doi: **10.1080/10826076.2012.745144**
- [15] Regueiro J, Llompart M, Garcia-Jares C, Garcia-Monteagudo JC. Ultrasound-assisted emulsification-microextraction of emergent contaminants and pesticides in environmental waters. *Journal of Chromatography A*. 2008 ;1190:27-38. doi: **10.1016/j.chroma.2008.02.091**
- [16] Wu Q, Chang Q, Wu C, Rao H, Zeng X, Wang C, Wang Z. Ultrasound-assisted surfactant-enhanced emulsification microextraction for the determination of carbamate pesticides in water samples by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2010; 1217: 1773-1778. doi: **org/10.1016/j.chroma.2010.01.060**
- [17] Khalili Zanjani MR, Yamini Y, Shariati SH, Jonsson JA. A new liquid-phase microextraction method based on solidification of floating organic drop. *Analytica Chimica Acta*. 2007;585:286-293. doi: **10.1016/j.aca.2006.12.049**
- [18] Ebrahimzadeh H, Saharkhiz Z, Tavassoli M, Kamarei F, Asgharinezhad AA. Ultrasound-assisted emulsification microextraction based on solidification of floating organic droplet combined with HPLC-UV for the analysis of antidepressant drugs in biological samples.

- Journal of separation science. 2011; 34 (11):1275-1282. doi: [10.1002/jssc.201000919](https://doi.org/10.1002/jssc.201000919)
- [19] Dadfarnia SH, Haji Shabani AM, Kamranzadeh E. Separation/preconcentration and determination of cadmium ions by solidification of floating organic drop microextraction and FI-AAS. *Talanta*. 2009;79(4):1061-1065. doi: [org/10.1016/j.talanta.2009.02.004](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.02.004)
- [20] Faraji H. Advancements in overcoming challenges in dispersive liquid-liquid microextraction: An overview of advanced strategies. *Trends in Analytical Chemistry*. 2024;170:117429. doi: [org/10.1016/j.trac.2023.117429](https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117429)
- [21] Es'haghi Z, Ahmadi-Kalateh Khooni M, Heidari T. Determination of brilliant green from fish pond water using carbon nanotube assisted pseudo-stir bar solid/liquid microextraction combined with UV-Vis spectroscopy-diode array detection. *Spectrochimica Acta. Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2011;79:603-607. doi: [org/10.1016/j.saa.2011.03.042](https://doi.org/10.1016/j.saa.2011.03.042)
- [22] Shahi M, Javadi A, Afshar Mogaddamb M, Mirzaei H, Nemati M. Extraction of some antibiotics from propolis samples using homogenous liquid-liquid extraction coupled with deep eutectic solvent-based hollow fibre protected preconcentration. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 2020;102:6422-6423. doi: [org/10.1080/03067319.2020.1811261](https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1811261)
- [23] Esrafil A, Yamini Y, Shariati SH. Hollow fiber-based liquid phase microextraction combined with high-performance liquid chromatography for extraction and determination of some antidepressant drugs in biological fluids. *Analytica Chimica Acta*. 2007;604:127-133. doi: [org/10.1016/j.aca.2007.10.012](https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.10.012)
- [24] Sarfaraz-Yazdi A, Amiri AH, Es'haghi Z. BTEX determination in water matrices using HF-LPME with gas chromatography-flame ionization detector. *Chemosphere*. 2008; 71:671-676. doi: [org/10.1016/j.chemosphere.2007.10.073](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.10.073)
- [25] Lambropoulou DA, Albanis TA. Application of solvent microextraction in a single drop for the determination of new antifouling agents in waters. *Journal of Chromatography A*. 2004;1049,1-2:17-23. doi: [org/10.1016/j.chroma.2004.08.024](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.024)
- [26] Bagheri H, Saber A, Mousavi SR. Immersed solvent microextraction of phenol and chlorophenols from water samples followed by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2004;1046:27-33. doi: [org/10.1016/j.chroma.2004.06.062](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.06.062)
- [27] Farajzadeh MA, Bahram M, Mehr BG, Jönsson JA. Optimization of dispersive liquid-liquid microextraction of copper (II) by atomic absorption spectrometry as its oxinate chelate: Application to determination of copper in different water samples. *Talanta*. 2008;75:832-840. doi: [org/10.1016/j.talanta.2007.12.035](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.12.035)
- [28] Mohammadi SZ, Afzali D, Baghelani YM. Ligandless-dispersive liquid-liquid microextraction of trace amount of copper ions. *Analytica Chimica Acta*. 2009; 653:173-177. doi: [10.1016/j.aca.2009.09.010](https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.09.010)
- [29] Farajzadeh MA, Bahram M, Zorita S, Mehr BG. Optimization and application of homogeneous liquid-liquid extraction in preconcentration of copper (II) in a ternary solvent system. *Journal of Hazardous Materials*. 2008;161(2-3):1535-1543. doi: [org/10.1016/j.jhazmat.2008.05.041](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.05.041)

Combination of two liquid microextraction methods for extraction and determination of copper in water samples by using flame atomic absorption spectroscopy

M. Raziee

Assistant Prof. of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract: In this research, the method of emulsion micro-extraction with the help of ultrasonic waves based on the freezing of floating organic drop along with flame atomic absorption device was used to extract, pre-concentrate and measure copper in different water samples. The copper cation forms a complex with the ligand under suitable conditions and is transferred from the aqueous phase to the organic phase of the extractant which is injected into the aqueous solution with a microsyringe. With the help of ultrasonic waves, very fine droplets of extracting solvent are dispersed in the aqueous phase and a cloudy emulsion solution is formed. The use of centrifuge and ice bath in this method leads to the freezing of microdrops of organic solvent from the surface of the aqueous solution, which are collected and introduced to the atomic absorption device for measurement with ethanol as a carrier. Factors affecting copper complex formation and extraction were investigated and optimal conditions were reported. Analytical figures of merit were evaluated in the proposed method, and the results were acceptable and better than previous reports. The efficiency of the extraction method was successfully confirmed in different water samples.

Keywords: Microextraction, Copper determination, Preconcentration, Flame atomic absorption spectroscopy, water samples.