

اندازه‌گیری اسپکتروفتومتری تتریل پس از پیش تغلیظ به روش میکرواستخراج مایع - مایع پخشی

نازیلا قلی پور^{*}، مهدی رحیمی نصرآبادی^{*+}

دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

آرش لرکی

دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

چکیده: در این پژوهش برای اندازه‌گیری مقادیر کمی بسیار کم تتریل از روش میکرواستخراج مایع - مایع پخشی (DLLME) جفت شده با اسپکتروفتومتر UV-Vis میکرو حجمی استفاده شد. در این روش تتریل در محیط بازی تبدیل به شکل آنیونی شده و با کاتیون متیل تری اکلیل آمونیوم کلرید (آلیکوات ۳۳۶S) به درون فاز آلی کربن تراکلرید استخراج شد. در این روش نیازی به افزودن حلال پخشی نیست زیرا آلیکوات ۳۳۶S افزون بر ایجاد کاتیون همراه برای تشکیل زوج یون با شکل آنیونی تتریل، به عنوان یک پخش کننده برای تشکیل مخلوط ابری نیز نقش دارد. منحنی واسنجی در بازه غلظتی ۷۰۰-۱۰ ng/mL از تتریل خطی بوده و حد تشخیص روش برابر با ۲۱ ng/mL به دست آمد. از این روش برای اندازه‌گیری تتریل در نمونه‌های خاک و آب استفاده شد.

واژه‌های کلیدی: میکرواستخراج مایع - مایع پخشی، تتریل، آلیکوات ۳۳۶S، اسپکتروفتومتری

KEYWORDS: Dispersive liquid-liquid micro extraction; Tetryl; Aliquat 336; Spectrophotometry.

مقدمه

ناشی از آن‌ها آثار زیان‌بار و جبران‌ناپذیری بر سلامتی انسان و زیست بوم گیاهان و جانوران برجا گذاشته است. استخراج مواد نفتی از چاه‌های نفت آلودگی فراوانی را به هوا، خشکی و دریا تحمیل کرده است. گسترش ارتباطات و توسعه حمل‌ونقل نیز موجب آلودگی هرچه بیش‌تر محیط زیست و نشر بیش‌تر ترکیب‌های آلی سرطان‌زا و عنصرهای سنگین ناشی از سوختن سوخت‌های فسیلی شده است. بنابراین لزوم توسعه روش‌های حساس و دقیق برای اندازه‌گیری آلاینده‌های گوناگون بیش از پیش احساس می‌شود [۱-۶]. میکرواستخراج مایع - مایع پخشی یک فناوری تجزیه‌ای است

افزایش آلاینده‌های شیمیایی و آفت‌کش‌ها در محیط زیست مانند آب، خاک و هوا اثرهای مخرب جبران‌ناپذیری برجا گذاشته است. بنابراین اندازه‌گیری و تعیین اندازه آن‌ها در نمونه‌های زیست محیطی بسیار حیاتی است. اگرچه پیشرفت دانش‌های گوناگون و پیدایش فناوری‌های نوین کمک شایانی به بهبود کیفیت زندگی در عصر حاضر نموده است، با این وجود به جرأت می‌توان گفت که این پیشرفت‌ها فاجعه‌های زیست محیطی فراوانی نیز به دنبال داشته‌اند. با گذر از دنیای طبیعی به دنیای سنتزی، انواع ساخته‌های سنتزی جایگزین فرآورده‌های طبیعی شده‌اند، که استفاده و دفع زباله‌های

*عهدہ دار مکاتبات

+E-mail: rahiminasrabadi@gmail.com

بخش تجربی دستگاه‌ها و وسایل

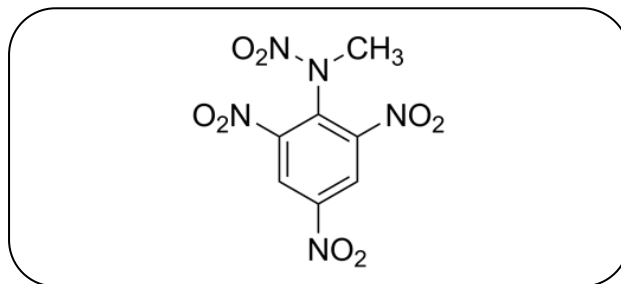
از اسپکتروفتومتر UV-Vis مدل HACH DR2800 ساخت کشور آلمان برای اندازه‌گیری جذب تتریل در یک طول موج معین با استفاده از میکروسول‌های کوارتزی با حجم ۳۵۰ میکرولیتر استفاده شد. برای تنظیم pH محلول‌ها از یک pH متر مدل pH720 شرکت WTW ساخت کشور آلمان استفاده شد. برای توزین از ترازوی دیجیتال Sartorius مدل CPA 2245 با دقت ۴ رقم اعشار ساخت کشور آلمان استفاده شد. برای جداسازی فازها از سانتریفیوژ Altich مدل Rotixa 50RS ساخت کشور آلمان استفاده شد.

مواد شیمیایی

همه مواد مورد استفاده در این پژوهش دارای خلوص تجزیه‌ای و فراورده‌ی کارخانه مرک آلمان بوده‌اند. تتریل از صنایع دفاعی تهیه شد. در همه مرحله‌ها برای تهیه محلول‌های مورد نیاز از آب مقطر دوبار تقطیر استفاده شده است.

روش کار

به منظور پیش تغلیظ تتریل به روش میکرو استخراج مایع-مایع پخشی، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از محلول تتریل ۱۰ mg/L به یک بالن حجم سنجی ۱۰ میلی‌لیتری منتقل شده و مقدار ۰/۳ میلی‌لیتر بافر تریس افزوده شد و با آب مقطر به حجم رسانده شد و محلول به‌دست آمده به یک لوله سانتریفیوژ با انتهای مخروطی شکل منتقل شد. پس از این مرحله ۱۸۰ میکرولیتر از مخلوط کربن تتراکلرید دارای آلکوات ۳۳۶ با غلظت (w/v) ۲/۵٪ به سرعت توسط میکروسرنج تزریق شده و به مدت ۳ ثانیه محلول هم زده شد که نتیجه آن تشکیل محلول ابری بود. سپس محلول به مدت ۶ دقیقه سانتریفیوژ (با دور ۴۰۰۰ rpm) شد. پس از سانتریفیوژ، دو فاز آلی و آبی جدا شده و فاز آبی توسط سرنج خارج شد و سپس فاز آلی دارای آنالیت توسط میکرو سرنج به میکروسول کوارتزی منتقل شده و جذب محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis در طول موج ثابت ۴۴۳ نانومتر اندازه‌گیری شد. محلول شاهد نیز به روش بالا ولی در غیاب تتریل تهیه شد.



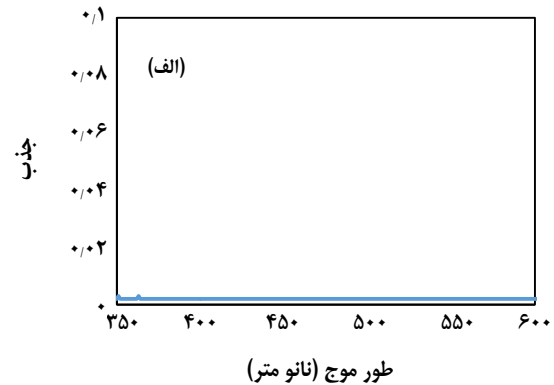
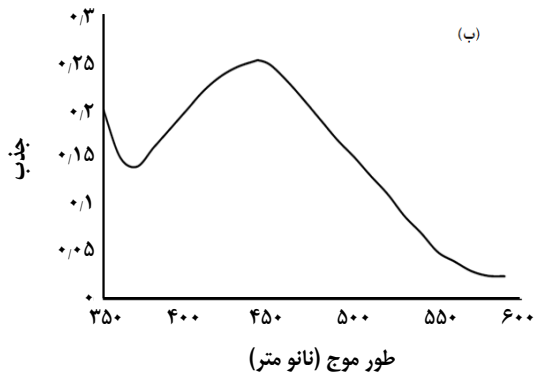
شکل ۱- ساختار شیمیایی تتریل.

که در سال ۲۰۰۶ میلادی توسط اسدی و همکاران ارایه شد [۷] و به سرعت مورد توجه پژوهشگران قرار گرفت و در میان شیمیدانان تجزیه محبوبيت زیادی پیدا کرد. روش DLLME شامل سه مرحله است: (I) تزریق سریع مخلوط مناسبی از دو حلال (یکی نقش حلال استخراج کننده و دیگری نقش حلال پخش کننده را بازی می‌کند) به درون محلول نمونه با استفاده از یک سرنج؛ (II) تشکیل محلول ابری شامل قطره‌های ریز حلال استخراج کننده که به طور کامل در فاز آبی پخش شده است و (III) سانتریفیوژ کردن، که موجب جمع‌آوری فاز استخراج کننده در انتهای لوله استخراج می‌شود [۸-۱۱]. روش DLLME یک فناوری میکرواستخراج ساده و سریع است و مشکل‌های ناشی از افتادن قطره در فناوری‌های مبتنی بر میکرو قطره‌ها در این روش وجود ندارد. از برتری‌های آن می‌توان گفت که حجم حلال استخراج کننده در این روش تنها چند میکرولیتر بوده و مساحت سطح بسیار زیادی بین قطره‌های ریز حلال استخراج کننده و محلول آبی نمونه ایجاد می‌شود، بنابراین سینتیک استخراج سریع بوده و در نتیجه حالت تعادل به سرعت به‌دست می‌آید. افزون بر این، فاکتور پیش‌تغلیظ بزرگی در این روش به دست می‌آید.

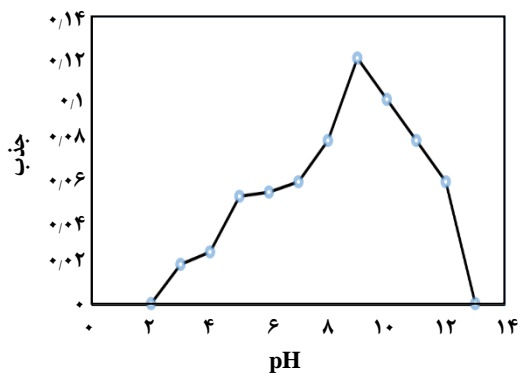
تتریل^(۱) یا ۲،۴،۶ تری نیتروفنیل متیل نیترامین^(۲) (شکل ۱) یک ترکیب منفجره حساس است که در ساخت خرج‌های منفجره یا چاشنی‌های انفجاری مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۶-۲۰]. اندازه‌گیری این ماده منفجره با یک روش ساده و ارزان از اولویت‌های مرکزهای نظامی می‌باشد، از این رو در پژوهش پیش رو ارایه یک روش اسپکتروفتومتری ساده در اندازه‌گیری تتریل در نمونه‌های گوناگون آب و خاک مدنظر می‌باشد. در این روش تتریل نخست در حلال استون حل شده و با رقیق سازی در محیط آبی بازی قابلیت استخراج به درون فاز آلی در حضور کاتیون به دست آمده از متیل‌تری‌اکتیل آمونیوم کلرید (آلیکوات ۳۳۶S) را خواهد داشت. برای اندازه‌گیری‌ها از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis استفاده شد.

(۱) Tetryl

(۲) 2,4,6-Trinitrophenylmethyl nitramine



شکل ۲ - (الف) طیف جذبی نمونه آب شهر شوش (ب) طیف جذبی UV-Vis فاز ته‌نشین شده تتریل پس از DLLME.



شکل ۳ - بررسی اثر pH محلول بر روی جذب تتریل. شرایط استخراج: حجم محلول آبی، ۱۰ mL؛ غلظت تتریل، ۱۰۰ ng/mL؛ حجم CCl_4 دارای آلکوات، ۲۰۰ μ L؛ زمان هم‌زدن، ۵ ثانیه؛ زمان سانتریفیوژ، ۵ دقیقه

متفاوت تهیه و مورد آنالیز قرار گرفت. نتیجه‌های این بررسی در شکل ۳، ارایه شده است. همان‌گونه که دیده می‌شود، بیش‌ترین جذب در $pH=9$ بوده و از این‌رو $pH=9$ به‌عنوان مقدار بهینه انتخاب شد. در این pH جفت الکترون نیتروژن آزاد بوده و می‌تواند برهمگنش بهتری با الیکوات داشته باشد و بنابراین انتقال به فاز استخراج‌کننده بهتر انجام شده و جذب بالاتری به دست می‌آید.

بررسی اثر حجم بافر تریس

برای تثبیت pH محلول‌ها از بافر تریس (۰٫۲ mol/L) با $pH=9$ استفاده شد و حجم آن به‌عنوان یک عامل متغیر مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور محلول‌های همانند دارای تتریل تهیه و دیگر مرحله‌ها همانند روش اشاره شده در بالا انجام شد. به این ترتیب که نخست کربن تتراکلرید دارای آلکوات ۳۳۶S

نتیجه‌ها و بحث

بررسی طیفی

به منظور افزایش حساسیت و گزینش‌پذیری و پیروی از قانون بیر - لامبرت باید جذب آنالیت در طول موجی که بیش‌ترین مقدار جذب را دارد، اندازه‌گیری شود. برای یافتن این طول موج مقادیر مختلفی از تتریل استاندارد تهیه و مورد آنالیز قرار گرفت. سپس طیف محلول‌ها نسبت به شاهد با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-Vis مورد بررسی قرار گرفت. طیف جذبی نمونه آب رودخانه قبل از پیش‌تغلیظ و همچنین طیف جذبی تتریل در فاز ته‌نشین شده در شکل ۲ دیده می‌شود که طول موج بیشینه آن برابر ۴۴۳ nm می‌باشد. بنابراین این طول موج به‌عنوان طول موج اندازه‌گیری جذب فاز استخراج شده در مطالعه‌های بعدی انتخاب شد.

بررسی پارامترها و بهینه‌سازی متغیرهای مؤثر بر اندازه‌گیری

به منظور پیدا کردن شرایط مناسب برای روش DLLME پیشنهادی، پارامترهای تجربی گوناگون مؤثر بر روش، با استفاده از محلول استاندارد تتریل مورد مطالعه قرار گرفته و بهینه شد. برای بهینه نمودن پارامترها از روش تغییر یک متغیر در زمان استفاده شده و بهینه‌سازی در غلظت ثابت ۱۰۰ ng/mL از تتریل انجام شد.

بررسی pH

اثر pH به‌عنوان یک عامل مؤثر بر جذب فاز رنگی ته‌نشین شده مورد مطالعه قرار گرفت. به همین منظور محلول‌های همانند دارای مقدارهای یکسان از محلول استاندارد تتریل با pH های

قرارگرفتند. نتیجه‌های به دست آمده از این مطالعه در جدول ۱ نشان می‌دهد که جذب فاز ته‌نشین شده برای کربن تتراکلرید بالاتر از دو حلال دیگر بوده و محلول ابری آن شکل پایدارتری دارد. بنابراین کربن تتراکلرید به عنوان حلال استخراج کننده انتخاب شد. علت این مسئله به حالیت بهتر کمپلکس تشکیل شده در این حلال مربوط می‌باشد.

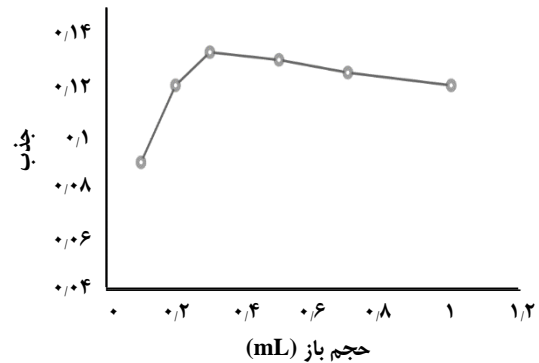
در مقایسه با روش DLLME مرسوم، افزودن آلیکوات ۳۳۶S سرعت تشکیل قطره‌های ریز حلال استخراج کننده در نمونه آبی را تشدید کرده و کارایی استخراج را بالا می‌برد [۲۱]. اگرچه، آلیکوات ۳۳۶S افزون بر تولید یون همراه با فرآورده‌ی رنگی، نقش عامل پخش کننده را بازی می‌کند، ولی تأثیر چندین حلال پخش کننده متداول مانند متانول، اتانول، استونیتریل و استون مورد بررسی قرار گرفت. از این رو آزمایش تکمیلی از طریق تزریق مخلوطی دارای CCl_4 ، آلیکوات ۳۳۶S و حلال‌های پخش کننده یاد شده انجام شد به نحوی که مقدار ثابتی از فاز ته‌نشین شده به دست آمد. نتیجه‌های به دست آمده نشان داد که کربن تتراکلرید اندکی در حلال پخش کننده حل شده و وارد فاز آبی می‌شود در نتیجه CCl_4 حل شده به خوبی ته‌نشین نشده و در نتیجه کارایی استخراج کاهش می‌یابد. سرانجام روش پیشنهادی تنها با تزریق حلال استخراج کننده (بدون حلال پخش کننده) دارای مقدار ثابت آلیکوات ۳۳۶S به درون محلول‌های آبی انجام شد. همچنین برخلاف حلال‌های پخش کننده معمولی، آلیکوات ۳۳۶S حجم کم‌تری از CCl_4 را درون محلول آبی حل کرده و حجم فاز ته‌نشین شده به تقریب برابر حجم CCl_4 تزریقی می‌باشد.

بررسی غلظت آلیکوات ۳۳۶S در کربن تتراکلرید (% w/v)

همان‌گونه که پیش‌تر یاد شد تزریق آلیکوات ۳۳۶S به همراه حلال استخراج کننده و بدون کمک حلال پخش کننده مرسوم، باعث ایجاد یک محلول پایدار ابری می‌شود. در نتیجه تعادل سریعی به دلیل تشکیل قطره‌های بسیار ریز حلال به دست می‌آید و مساحت سطح تماس بین حلال استخراج کننده و فاز آبی به طور فزاینده‌ای افزایش می‌یابد. بنابراین مطالعه مقدار آلیکوات ۳۳۶S بر روی استخراج تتریل خیلی مهم است زیرا افزون بر عامل پخش کننده بودن، کاتیون آن نیز نقش یون همراه برای تشکیل زوج یون با شکل آنیونی تتریل و افزایش کارایی استخراج را بازی می‌کند. برای این هدف، محلول‌هایی با مقدارهای متفاوت از آلیکوات ۳۳۶S تهیه شد، به طوری که غلظت آلیکوات ۳۳۶S در کربن تتراکلرید

جدول ۱- مقایسه حلال‌های استخراج کننده.

نوع حلال استخراج کننده	جذب نمونه نسبت به شاهد
کربن تتراکلرید	۰٫۱۳۳
کربن دی سولفید	۰٫۰۹۵
کلروفرم	۰٫۰۹۳

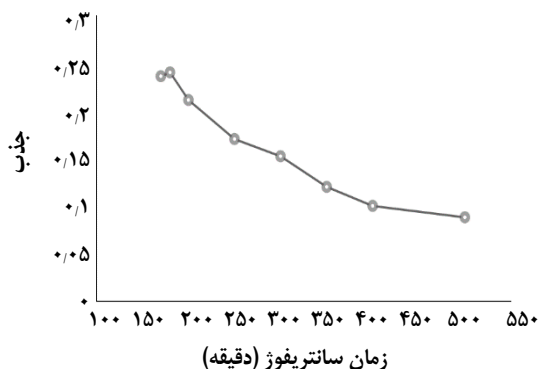


شکل ۴- بررسی اثر حجم بافر تریس با $\text{pH} = 9$. شرایط استخراج: حجم محلول آبی، ۱۰ mL؛ غلظت تتریل، ۱۰۰ ng/mL؛ حجم CCl_4 دارای آلیکوات، ۲۰۰ μL ؛ زمان هم‌زدن، ۵ ثانیه؛ زمان سانتریفیوژ، ۵ دقیقه.

به محلول تزریق و محلول ابری سانتریفیوژ شده و سپس جذب فاز ته‌نشین شده با استفاده از اسپکتروفتومتر UV-Vis ثبت شد. نتیجه‌های این مطالعه در شکل ۴ نشان داده شده است. همان‌گونه که دیده می‌شود در حجم‌های بافر بیش از ۰٫۳ میلی‌لیتر میزان جذب کاهش می‌یابد. بنابراین مقدار ۰٫۳ میلی‌لیتر به عنوان مقدار بهینه برای حجم بافر انتخاب شد. این رفتار به خاطر اثر نمک زنی می‌باشد که موجب کاهش حالیت آنالیت در فاز آبی می‌شود.

بررسی نوع حلال استخراج کننده و حلال پخش کننده

انتخاب حلال استخراجی مناسب پارامتری مهم در فرایند میکرو استخراج مایع - مایع پخشی است. این حلال باید دو شرط مهم داشته باشد: اول این که دانسیته بالایی نسبت به آب داشته باشد و دوم این که امتزاج پذیری کمی با محلول نمونه داشته باشد که بتواند استخراج با راندمان بالا را ایجاد کند. همچنین حلال ما باید توانایی ایجاد یک سامانه ابری پایدار در حضور یک حلال پخش کننده را داشته باشد. بنابراین کربن تتراکلرید، کربن دی‌سولفید و کلروفرم به عنوان حلال‌های استخراجی برای استخراج تتریل مورد استفاده



شکل ۶ - بررسی اثر حجم محلول تزریقی. شرایط استخراج: حجم محلول آبی، ۱۰ mL؛ غلظت تتریل، ۱۰۰ ng/mL؛ زمان هم‌زدن، ۵ ثانیه؛ زمان سانتریفیوژ، ۵ دقیقه.

غلظت گونه‌های استخراج شده در فاز ته‌نشین نسبت داد. پس برای به‌دست آوردن فاکتور تغلیظ بالا و حد تشخیص کم، ۱۸۰ میکرولیتر به عنوان مقدار بهینه انتخاب شد.

شرایط بهینه

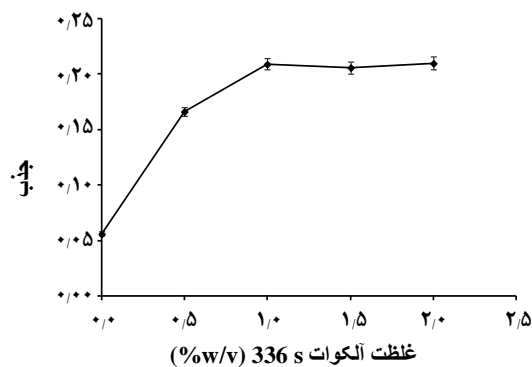
مناسب‌ترین شرایط که به عنوان شرایط بهینه در ادامه پژوهش برای اندازه‌گیری تتریل مورد استفاده قرار گرفت به شرح زیر می‌باشد:

- طول موج جذب بیشینه: ۴۴۳ nm
- pH محلول واکنش: ۹، حجم تریس با pH=۹: ۰.۳ mL
- حلال استخراج کننده: CCl₄
- حلال پخش کننده: نیاز نیست.
- حجم محلول دارای آلیکوات (۱٪ (w/v)) CCl₄: ۱۸۰ μL
- زمان سانتریفیوژ: ۵ دقیقه (۵۰۰۰ rpm)

منحنی واسنجی

بر اساس نتیجه‌های به‌دست آمده، بازه‌ی خطی غلظتی برای اندازه‌گیری تتریل به روش پیشنهادی از ۱۰ تا ۷۰۰ ng/mL با ضریب همبستگی رابر با ۰.۹۹۹۷ می‌باشد که بیانگر ارتباط خطی مناسب بین مقدارهای جذب و غلظت تتریل است می‌باشد. معادله خط آن در معادله‌ی ۱ آورده شده است. در این رابطه A جذب فاز ته‌نشین شده نسبت به شاهد و C غلظت محلول استاندارد تتریل بر حسب ng/mL می‌باشد.

$$A = 0,00022 C + 0,0011 \quad (1)$$



شکل ۵ - بررسی اثر غلظت آلیکوات در پیش تغلیظ تتریل. شرایط استخراج: حجم محلول آبی، ۱۰ mL؛ غلظت تتریل، ۱۰۰ ng/mL؛ حجم CCl₄ دارای آلیکوات، ۲۰۰ μL؛ زمان هم‌زدن، ۵ ثانیه؛ زمان سانتریفیوژ، ۵ دقیقه.

در بازه‌ی ۰.۱ تا ۲.۱ (w/v) % متغیر بود. سپس ۱۸۰ میکرولیتر از این محلول‌ها به یک سری محلول همانند تتریل تزریق شد و سپس مقدار جذب ثبت شد. نتیجه‌های این بررسی در شکل ۵ قابل دیدن است. همان‌گونه که مشخص است جذب تا غلظت ۱.۰ (w/v) % افزایش می‌یابد و پس از آن ثابت می‌ماند. بنابراین غلظت ۱.۰ (w/v) % از آلیکوات ۳۳۶s به عنوان مقدار بهینه انتخاب شد. همان‌گونه که گفته شد با افزایش مقدار الیکوات سطح تماس بین حلال استخراج کننده و فاز آبی افزایش می‌یابد و همچنین امکان تشکیل زوج یون رنگی بین کاتیون آلیکوات با فرم آنیونی تتریل افزایش می‌یابد که موجب افزایش تشکیل زوج یون و افزایش جذب محلول می‌شود.

بررسی اثر حجم محلول تزریقی

مقدار حلال استخراج کننده به طور مستقیم بر روی حجم فاز ته‌نشین شده تأثیر می‌گذارد و موجب تغییر چشمگیری در فاکتور تغلیظ می‌شود. به همین منظور به یک سری محلول با غلظت تتریل همانند، حجم‌های متفاوتی از حلال استخراج کننده دارای الیکوات در بازه‌ی ۵۰۰-۱۷۰ میکرولیتر تزریق شد. محلول ابری به دست آمده سانتریفیوژ و مقدار جذب فاز ته‌نشین شده ثبت شد که نتیجه‌های آن در شکل ۶ ارائه شده است. شایان ذکر است که با تزریق حجم‌های کم‌تر از ۱۸۰ میکرولیتر، حجم کمی از فاز آلی به دست می‌آمد به طوری که امکان قرائت جذب فاز ته‌نشین شده با اسپکتروفتومتر UV-Vis مجهز به میکروسول وجود نداشت. جذب فاز آلی با افزایش حجم کاهش می‌یابد که این امر را می‌توان به اثر رقت و کاهش

جدول ۲- بررسی اثر مزاحمت یون‌های گوناگون بر اندازه‌گیری تتریل.

گونه مورد بررسی	Tolerance Ratio [X]/[Tetryl]
Ca ²⁺ , PO ₄ ³⁻	۵۰۰
Hg ⁺² , F ⁻ , Br ⁻ , NO ₃ ⁻	۲۰۰
Ag ⁺ , Mg ²⁺ , Cu ²⁺ , Fe ³⁺ ,	۱۰۰
Zn ²⁺ , CO ₃ ²⁻	۵۰
I ⁻ , IO ₃ ⁻ , Ni ²⁺	۱۰

اندازه‌گیری تتریل در نمونه‌های حقیقی

در مرحله پایانی به منظور ارزیابی کارایی روش در نمونه‌های حقیقی، روش ارایه شده برای دو نمونه حقیقی آب و خاک مورد بررسی قرار گرفت. روش کار برای هر یک از نمونه‌های حقیقی به شکل زیر می‌باشد.

نمونه‌های آب

سه نمونه آب رودخانه دزفول و کرخه و آب شهر شوش پس از جمع‌آوری، از کاغذ صافی واتمن عبور داده شد تا ذره‌های معلق موجود در آن‌ها حذف شود. سپس اندازه‌گیری تتریل درون محلول‌های صاف شده به شرح زیر انجام شد.

به یک بالن حجم‌سنجی ۱۰ میلی‌لیتری، مقدار ۰/۳ میلی‌لیتر از محلول بافر تریس افزوده و سپس با محلول صاف شده از نمونه آب به حجم رسانده و به طور کامل هم‌زده شد. سپس محلول به دست آمده به یک لوله سانتیفریوژ شیشه‌ای با انتهای مخروطی انتقال داده شد و پس از آن با استفاده از یک میکرو سرنج، مقدار ۱۸۰ میکرولیتر از کربن تتراکلرید دارای آلکوات ۳۳۶S به محلول نمونه تزریق شد. مخلوط ابری به دست آمده سانتیفریوژ و فاز ته‌نشین شده با استفاده از یک میکروسرنج جمع‌آوری شد و درون میکروسول کوارتز جای داده شد و سرانجام جذب آن نسبت به محلول شاهد خوانده شد. با توجه به نتیجه‌های به‌دست آمده (جدول ۳) در هیچ کدام از نمونه‌های آب تتریل یافت نشد.

برای بررسی اثر بافت این نمونه‌ها، محلول‌هایی همانند محلول‌های بالا تهیه شد و مقدارهایی از محلول استاندارد تتریل به آن‌ها افزوده شد. به طوری که غلظت در حجم نهایی برابر ۱۰۰، ۱۵۰، و ۲۰۰ ng/mL شد. پس از انجام روش DLLME، جذب فاز ته‌نشین شده برای هر محلول اندازه‌گیری شد. پس از تعیین غلظت تتریل با استفاده از منحنی واسنجی، مقدارهای درصد بازیابی برای هر نمونه

برای محاسبه حد تشخیص، روش DLLME، بر روی ۷ محلول شاهد که در شرایط بهینه تهیه شده بودند انجام شد و جذب فاز ته‌نشین شده برای هر شاهد خوانده شد که انحراف استاندارد این نتیجه‌ها برابر 1.55×10^{-3} محاسبه شد که با جاگذاری آن و شیب منحنی واسنجی (۰/۰۰۲۲) در معادله (۲) حد تشخیص روش ارایه شده برابر ۲/۱ ng/mL به‌دست آمد.

$$LOD = \frac{3S_b}{m} \quad (2)$$

همچنین به منظور بررسی تکرارپذیری و تعیین انحراف استاندارد نسبی روش حاضر در اندازه‌گیری تتریل، محلول‌های با غلظت ۵۰ و ۴۰۰ ng/mL انتخاب شد. در شرایط بهینه ۱۰ محلول همانند از غلظت‌های یادشده تهیه و پس از انجام استخراج به روش DLLME، جذب فاز ته‌نشین شده برای هر نمونه خوانده شد و سپس با استفاده از معادله خط واسنجی (معادله (۱)) مقدارهای جذب به غلظت تبدیل شدند. برای محاسبه RSD برای هر دو غلظت از معادله (۳) استفاده شد. با توجه به نتیجه‌های به‌دست آمده، مقدار RSD برای دو غلظت ۵۰ و ۴۰۰ ng/mL به ترتیب برابر ۳/۵٪ و ۱/۵ محاسبه شد. افزون بر این فاکتور پیش تغلیظ برای روش DLLME پیشنهادی برابر ۵۵/۵ به‌دست آمد.

(۳)

$$RSD \% = \frac{S}{X} \times 100$$

بررسی اثر گونه‌های مزاحم

برای ارزیابی گزینش‌پذیری روش ارایه شده در اندازه‌گیری تتریل، بررسی مزاحمت احتمالی تعدادی از کاتیون‌ها و آنیون‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. به همین منظور به محلول‌هایی دارای ۱۰۰ ng/mL از تتریل، مقدارهای گوناگونی از یون‌های مزاحم احتمالی افزوده شد. سپس در شرایط بهینه، پیش تغلیظ نمونه‌های مورد نظر انجام شد و جذب فاز ته‌نشین شده در طول موج ۴۴۳ nm اندازه‌گیری شد. نتیجه‌های به دست آمده با نتیجه محلول همانند تتریل و بدون حضور یون‌های مزاحم مقایسه شد و در صورتی که یون مورد مطالعه بیش‌تر از ۵٪ ± خطا در اندازه‌گیری تتریل ایجاد کند، به عنوان گونه مزاحم در نظر گرفته می‌شود.

نتیجه‌های این بررسی در جدول ۲ ارایه شده است. همان‌گونه که از داده‌های این جدول بر می‌آید، روش موردنظر به دلیل نبود مزاحمت بسیاری از یون‌ها از گزینش‌پذیری خوبی برخوردار می‌باشد.

جدول ۳ - اندازه‌گیری تتریل در نمونه‌های آب.

نمونه	تتریل اضافه شده (ng/mL)	تتریل یافت شده ^a (ng/mL)	درصد بازیابی (%)
آب شهر شوش	۰	^b N.D	-
	۱۰۰	۱۰۴٫۰ ± ۵٫۰	۱۰۴٫۰
	۱۵۰	۱۴۱٫۰ ± ۵٫۰	۹۴٫۰
آب رودخانه دزفول	۲۰۰	۱۹۶٫۰ ± ۵٫۰	۹۸٫۵
	۰	N.D	-
	۱۰۰	۱۰۴٫۵ ± ۵٫۰	۱۰۴٫۵
	۱۵۰	۱۴۶٫۷ ± ۵٫۰	۹۷٫۸
آب رودخانه کرخه	۲۰۰	۱۹۵٫۳ ± ۵٫۰	۹۷٫۷
	۰	N.D	-
	۱۰۰	۱۰۳٫۸ ± ۵٫۰	۱۰۳٫۸
	۱۵۰	۱۵۱٫۰ ± ۵٫۰	۱۰۰٫۶
	۲۰۰	۲۰۳٫۰ ± ۵٫۰	۱۰۱٫۵

^a Mean ± standard deviation (n = 3); ^b Not detected

شیشه‌ای انتقال داده شد و تزریق کربن تتراکلرید دارای آلکوات ۳۳۶۵ صورت گرفت. مخلوط ابری به دست آمده سانتریفیوژ و فاز ته‌نشین شده جمع‌آوری و جذب آن‌ها خوانده شد. سپس با استفاده از معادله منحنی واسنجی (معادله (۱)) جذب به غلظت تبدیل شد. برای اطمینان از نتیجه به دست آمد، محلول بالا در حضور مقادیر مشخصی از محلول استاندارد تتریل (۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ ng/mL) دوباره تهیه و آزمایش تکمیلی مانند پیش تکرار شد و برای هر مرحله درصد بازیابی محاسبه شد. نتیجه‌های به دست آمده از این بررسی به همراه درصد‌های بازیابی در جدول ۴ نشان داده شده است.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش روش DLLME جفت شده با اسپکتروفتومتری UV-Vis میکروحجمی برای اندازه‌گیری تتریل در نمونه‌های گوناگون ارایه شده است. روش پیشنهاد شده برای اندازه‌گیری تتریل در نمونه‌های آب و خاک از مناطق گوناگون به کار رفت. نخست نمونه‌های آب و خاک مطابق با روش یادشده مورد آنالیز قرار گرفتند و هیچ کدام از آن‌ها محتوی تتریل نبودند. برای شناسایی

محاسبه شد. نتیجه‌های این مطالعه در جدول ۳ نشان داده شده است. همان‌گونه که از نتیجه‌های جدول دیده می‌شود برای نمونه‌های گوناگون آب مقادیر درصد بازیابی (در بازه‌ی ۹۴٫۰ تا ۱۰۴٫۵٪) قابل‌پذیرشی به دست آمد.

نمونه‌های خاک

سه نمونه خاک از زمین‌های خوزستان و جزیره سیری جمع‌آوری شد و پس از عبور الک با مش ۴۰ توده‌های بزرگ آن حذف شد و به منظور حذف رطوبت آن، به مدت یک ساعت در آون با دمای ۱۱۰ °C قرار داده شد. سپس در دمای اتاق سرد و مقدار ۱٫۰ گرم از این نمونه خاک به دقت وزن شد و پس از انتقال آن به یک لوله سانتریفیوژ ۳۰ میلی‌لیتری، مقدار ۲ میلی‌لیتر استون به آن افزوده شد. سپس این مخلوط به مدت زمان ۳۰ دقیقه هم زده شد. پس از گذشت این زمان محتویات لوله سانتریفیوژ و محلول آن صاف شد و محلول صاف شده در یک بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری با آب مقطر به حجم رسانده شد.

به یک بالن حجم‌سنجی ۱۰ میلی‌لیتری، مقدار ۰٫۳ میلی‌لیتر از محلول بافر تریس افزوده و سپس با محلول بالا به حجم رسانده و به طور کامل هم‌زده شد. سپس این محلول به یک لوله سانتریفیوژ

جدول ۴- اندازه‌گیری تتریل در نمونه‌های خاک.

نمونه	تتریل اضافه شده (ng/mL)	تتریل یافت شده ^a (ng/mL)	درصد بازیابی (%)
خاک شوش	۰	N.D. ^b	-
	۱۰۰	۹۵٫۵ ± ۵٫۰	۹۵٫۵
	۱۵۰	۱۴۶٫۵ ± ۵٫۰	۹۷٫۶
	۲۰۰	۱۹۷٫۳ ± ۵٫۰	۹۸٫۶
خاک دزفول	۰	N.D.	-
	۱۰۰	۹۶٫۸ ± ۵٫۰	۹۶٫۸
	۱۵۰	۱۴۶٫۲ ± ۵٫۰	۹۷٫۴
	۲۰۰	۱۹۵٫۰ ± ۵٫۰	۹۷٫۵
خاک جزیره سیری	۰	N.D.	-
	۱۰۰	۱۰۳٫۵ ± ۵٫۰	۱۰۳٫۵
	۱۵۰	۱۵۵٫۰ ± ۵٫۰	۱۰۳٫۳
	۲۰۰	۲۰۴٫۰ ± ۵٫۰	۱۰۲٫۵

^a Mean ± standard deviation (n = 3)^b Not detected

زیرا آلکوات ۳۳۶S (متیل‌تری‌اکتیل آمونیوم کلرید) افزون بر ایجاد کاتیون همراه برای تشکیل زوج یون با فرم آنیونی تتریل، به عنوان یک پخش‌کننده برای تشکیل محلول ابری نیز نقش دارد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱/۱۴ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱/۲۱

اثرهای بافت، نمونه‌های آب و خاک با غلظت‌های متفاوت از تتریل مورد آنالیز قرار گرفتند که نتیجه‌های مطالعه‌های انجام شده بر روی این نمونه‌ها نشان داد که مزاحمت جدی در نمونه‌های حقیقی وجود ندارد. افزون بر این سادگی و سرعت در عملیات، حجم کم نمونه، هزینه کم و فاکتور پیش‌تغلیظ بالا برخی از برتری‌های این روش پیشنهادی است. در این روش نیازی به افزودن حلال پخشی نیست

مراجع

- [1] Alloway B. J, Ayres D.C., "Chemical Principles of Environmental Pollution"; Chapman and Hall, (1997).
- [2] Mitra S., "Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry"; John Wiley & Sons Inc., New York, (2003).
- [3] Rosenfol J.M.d., Mohari Y.r, Hill R., Direct Solid-Phase Isolation and Oxidation of Prostaglandin E2 from Plasma and Quantitation by Gas Chromatography with Mass Spectrometric Detection in the Negative-Ion Chemical Ionization Mode, *Anal. Chem.* **63**: 1536- 1541 (1991).
- [4] Hennion M.C., Picho V.N, [Solid-Phase Extraction of Polar Organic Pollutants from Water](#), *Environ. Sci. Tech.* **28**: PP 576- 584 (1994).

- [5] Ridgway K., Lalljie S.P.D, Smith R., [Sample Preparation Techniques for the Determination of Trace Residues and Contaminants in Foods](#), *J. Chromatogr. A*, **1153**: 36- 53 (2007).
- [6] Jiang H., Hu B., Chen B., Zu W., [Hollow Fiber Liquid Phase Microextraction Combined with Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry for the Determination of Methylmercury in Human Hair and Sludge Samples](#), *Spectrochim. Acta, Part B*, **63**: 770-776 (2008).
- [7] Rezaee M., Assadi Y., Milani Hosseini M. R., Aghae E., Ahmadi F., Berijan S.i, [Determination of Organic Compounds in Water Using Dispersive Liquid-Liquid Microextraction](#), *J. Chromatogr. A*, **1116**: 1- 9 (2006).
- [8] Khalili Zanjani M.R., Yamini Y., Shariati S., Jonsson J.A., [A New Liquid-Phase Microextraction Method Based on Solidification of Floating Organic Drop](#), *Anal. Chim. Acta*, **585**: 286-293 (2007).
- [9] Dadfarnia S., Salmanzadeh A.M., Haji Shabani A.M., [A Novel Separation/Preconcentration System Based on Solidification of Floating Organic Drop Microextraction for Determination of Lead by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry](#), *Anal. Chim. Acta*, **633**: 163- 167 (2008).
- [10] Rahimi-Nasrabadi M., Zahedi M.M., Pourmortazav S.M., Heydari R., Rai H., Jazayeri J., Javidan A., [Simultaneous Determination of Carbazole-Based Explosives in Environmental Waters by Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Coupled to HPLC with UV-Vis Detection](#), *Microchimica Acta*, **177**: 145-152 (2012).
- [11] Zahed M.M., Rahimi-Nasrabadi M.i, Pourmortazav S.M., Fallah Koohbijari G.R., Shamsi J., Payravi M., [Emulsification-Based Dispersive Liquid Microextraction and HPLC Determination of Carbazole-Based Explosives](#), *Microchim Acta*, **179**: 57-64 (2012).
- [12] Zahedi M.M., Rahimi-Nasrabadi M., Rai, H., Pourmortazavi S.M., Banan A., [Emulsification Based Liquid Microextraction Prior to Flame Atomic Absorption Spectrometry for Sensitive Determination of Copper in Water Samples](#), *Current Analytical Chemistry*, **10**: 581-589 (2014).
- [13] Rahimi-Nasrabadi M, Zahedi MM, Pourmortazavi SM, Nazari Z, Banan A, Asghari A., [Emulsification Based Dispersive Liquid Microextraction Prior to Flame Atomic Absorption Spectrometry for the Sensitive Determination of Cd \(II\) in Water Samples](#), *Microchimica Acta*, **180**:973-979 (2013).
- [14] Anthemidis A.N., Ioannou K.I.G., [On-Line Sequential Injection Dispersive Liquid-Liquid Microextraction System for Flame Atomic Absorption Spectrometric Determination of Copper and Lead in Water Samples](#), *Talanta*, **79**: 86- 91 (2009).
- [15] Zhang P. P., Shi Z. G., Yu Q. W., Feng Y. Q., [A New Device for Magnetic Stirring-Assisted Dispersive Liquid-Liquid Microextraction of UV Filters in Environmental Water Samples](#), *Talanta*, **83**: 1711- 1715 (2011).
- [16] Salinas Y., Agostini A., Perez-Esteve E., Martinez-Manez R., Sancenon F., Marcos M.D., Soto J., Costero A.M., Gil S., Parrae M., Amoros P., [Fluorogenic Detection of Tetryl and TNT Explosives Using Nanoscopic-Capped Mesoporous Hybrid Materials](#), *J. Mater. Chem. A*, **1**: 3561- 3564 (2013).

- [17] Harvey S.D., Fellows R.J., Cataldo D.A., Bean R.M., [Analysis of the Explosive 2,4,6-trinitrophenylmethylnitramine \(tetryl\) in Bush Bean Plants](#), *J. Chromatogr.*, **630**: 167- 177 (1993).
- [18] Harvey S.D., Fellows R.J., R.J. Campbell R.J., Cataldo D.A., Determination of the Explosive Tetryl and its Transformation Products in Soil, *J. Chromatogr.*, **605**: 227- 240 (1992).
- [۱۹] رحیمی نصر آبادی، مهدی؛ فرج زاده، مهدی؛ ادیب زاده، کوروش؛ میکرواستخراج مایع پخشی جهت پیش تغلیظ داروی فنتانیل از ماتریکس آبی و اندازه گیری آن با استفاده از اسپکتروفوتومتر مری - فرابنفش، نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران، **۳۸(۴)**: ۱۷۱ تا ۱۸۰ (۱۳۹۸).
- [۲۰] کیخوائی، مسعود؛ رحمانی، ماشالله؛ مهرپور، مریم؛ اندازه گیری اسپکتروفوتومتری مقادیر بسیار ناچیز پالادیوم در نمونه‌های آبی با فناوری یک مرحله ای میکرواستخراج مایع - مایع پخشی در سرنگ، نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران، **۳۵(۳)**: ۸۷ تا ۹۷ (۱۳۹۵).
- [21] Larki A., Rahimi Nasrabadi M., Pourreza N., [UV-Vis Spectrophotometric Determination of Trinitrotoluene \(TNT\) with Trioctylmethylammonium Chloride as Ion Pair Assisted and Disperser Agent after Dispersive Liquid-Liquid Microextraction](#), *Forensic Science International*, **251**: 77-82 (2015).