

## اندازه‌گیری دیوران به روش میکرو استخراج شناورسازی کربن دی‌اکسید

بهرنگ هارونی برد شاهی<sup>۱</sup>، محمد آقامحمدی<sup>۲</sup> و رضوان شجاعی<sup>۱\*</sup>

۱- کارشناسی ارشد شیمی تجزیه، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، لرستان، ایران

۲- استادیار شیمی تجزیه، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، لرستان، ایران

دریافت: فروردین ۱۳۹۵، بازنگری: خرداد ۱۳۹۵، پذیرش: خرداد ۱۳۹۵

**چکیده:** شناورسازی کربن دی‌اکسید حل شده بعد از میکرو استخراج امولسیون‌سازی (DCF-EME) و اندازه‌گیری با دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) برای پیش تغلیظ و اندازه‌گیری علف‌کش دیوران در نمونه آب‌های سطحی در زمین‌های کشاورزی منطقه ونائی شهرستان بروجرد استفاده شد. روش DCF-EME بر اساس جداسازی ساده و سریع حلال آلی با چگالی کمتر از محلول آبی با افزودن محلول ۱ مولار HCl به محلول آبی نمونه اشیاع از  $\text{NaHCO}_3$  که حاوی آنالیت موردنظر بود صورت گرفت. حباب‌های کربن دی‌اکسید در محلول که تولید آن با امواج فراصوت نیز تشدید شده بود، باعث جمع شدن حلال استخراجی پخش شده، در سطح نمونه آبی در قسمت مویینه سل استخراجی طراحی شده، می‌شد. تحت شرایط بهینه، گستره خطی منحنی درجه‌بندی در گستره ۶ تا  $5000 \text{ ng.l}^{-1}$  با ضرایب تعیین  $(R^2)$  ۰٫۹۹۹ در دست آمد. حد تشخیص (LOD) و حد قابل‌اندازه‌گیری (LOQ) روش به ترتیب در گستره ۶ و  $20 \text{ ng.l}^{-1}$  و فاکتورهای پیش تغلیظ ۳۳۸ به دست آمد. کارایی روش پیشنهاد شده برای استخراج و تعیین دیوران در نمونه آب‌های سطحی مورد ارزیابی قرار گرفت.

**واژه‌های کلیدی:** دیوران، شناورسازی کربن دی‌اکسید حل شده، میکرو استخراج امولسیون‌سازی، دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا

### مقدمه

انسان از اهمیت قابل‌توجهی برخوردارند [۲]. بر این اساس تجزیه مقادیر کم آن‌ها در بسترهای متفاوت محیط‌زیست به‌ویژه نمونه‌های آب برای کنترل محیط‌زیست و سلامت لازم و ضروری است. علف‌کش دیوران یک ترکیب بلوری بی‌رنگ در شکل خالص خود، غیر یونی با حلالیت متوسط در آب، (۴۲ میلی‌گرم در یک لیتر در ۲۰ درجه سانتی‌گراد) است. این ترکیب از گروه اوره‌هاست که در مقدارهای اندک، به‌صورت علف‌کشی سیستمیک و خاک مصرف در بسیاری از گیاهان زراعی برای مهار بسیاری از علف‌های هرز پهن‌برگ به‌کار می‌رود و با نام تجاری

علف‌کش‌های ارگانوکلره (OCP) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های آلی پایدار با اثرات به‌شدت مضر در محیط‌زیست شناخته می‌شوند که به‌عنوان هورمون‌های مؤثر بر غدد درون‌ریز انسان عمل می‌کنند و در طولانی‌مدت مانع تولیدمثل و رشد می‌شوند [۱]. منشأ ورود این ترکیب‌ها به سامانه آبی از طریق فعالیت‌های کشاورزی و انتقال از طریق اتمسفر، لایروبی، نفوذ و فرسایش خاک به‌دست آمده است. این علف‌کش‌ها به دلیل تجمع زیستی در چرخه مواد غذایی و خطرات بی‌نهایت‌شان برای سلامت

کارمکس<sup>۱</sup> به فرمولاسیون WP80% در بازار عرضه می‌شود [۳]. این مشتق اوره علف‌کشی است که از طریق جلوگیری از تولید اکسیژن مانع انتقال الکترون در گیاهان و میکروارگانیسم‌های فتوسنتز کننده می‌شود [۴]. این ترکیب برای کنترل طیف گسترده‌ای از پهن‌برگ‌های سالانه و چندساله، علف‌های هرز چمنی و همچنین خزه استفاده می‌شود و در بسیاری از فراورده‌های کشاورزی مانند میوه، پنبه، نیشکر و مناطق غیر زراعی مانند جاده‌ها، مسیر باغ‌ها و خطوط ریلی استفاده می‌شود [۵]. مقدار دیوران در فراورده‌های کشاورزی مانند پنبه، نیشکر، یونجه و گندم ۱٫۸ کیلوگرم در یک هکتار است [۶]. این ترکیب در حال حاضر یک آلاینده فعال زیستی است که با توجه به استقامت بالای آن (یک ماه تا یک سال) در بسیاری از محیط‌های زیستی مانند خاک، رسوبات و آب یافت می‌شود [۷]. در خاک با توجه به نوسانات کم به‌جای اینکه در فاز گازی یا مایع یافت شود، در فاز جامد نمایان می‌شود. مطالعات صورت گرفته در مورد جذب دیوران نشان داد که مقدار این جذب نسبت به مواد آلی به‌طور مستقیم انجام می‌شود [۸]. طبق بررسی‌های انجام شده باقی‌مانده دیوران در خاک پس از ۱۳ سال از برنامه سالانه ۴٫۵ کیلوگرم در هکتار در یک سال گزارش شده است و نشان داد که غلظت باقی‌مانده با عمق کاهش می‌یابد و در مجموع پس از ۷۰ سانتی‌متر ناپدید می‌شود [۹]. با این حال این پدیده به نظر می‌رسد که به ساختار خاک بستگی دارد. در یک خاک آهکی، دیوران و متابولیت‌های آن می‌تواند در عمق بیش از ۵۰ سانتی‌متر در هشت روز یافت شود و جذب بستر شود [۱۰]. در یک بررسی مجموع اتلافات دیوران پس از ۱۲۵ روز در بالای ۱۰ سانتی‌متری خاک ظاهر شد. که نشان داد در یک خاک لوم<sup>۲</sup> بدون رسیدگی نیمه‌عمر دیوران در ۱۰ سانتی‌متر، ۸۱ روز بود. با این حال زمانی که این خاک برای ۱۲ سال با همان مقدار دیوران تحت بررسی قرار گرفت (۳ کیلوگرم در یک سال) نیمه‌عمر آن به ۳۷ روز کاهش یافت [۱۱]. علف‌کشی دیوران به نظر می‌رسد در خاک تخریب شود، اما باید در نظر داشت که این تخریب زنده یا غیرزنده می‌تواند باعث تجمع ترکیبات

مشتق شده بسیار سمی شود. اتلافات دیوران می‌تواند در هنگام شسته شدن به دلیل بارش ویژه به عامل اصلی آلودگی آب‌های زیرزمینی منجر شود [۱۲]. دیوران به‌عنوان یک عامل خطرناک توسط کمیسیون اروپا اعلام شد [۱۳]. همچنین با توجه به مطالعات مؤسسه زیست‌محیطی فرانسه در سال ۱۹۹۸ دیوران در ۲۸ درصد از نمونه آب رودخانه‌ها در حوضه سامانه ملی شناسایی شد. از آن‌جا که دیوران یک منبع بالقوه آلودگی آب‌و‌خاک به شمار می‌رود، این علف‌کش می‌تواند در بدن انسان به‌طور مستقیم و یا غیرمستقیم از طریق مواد غذایی و آب آشامیدنی و از طریق هوا پس از استفاده از آئروسل انباشته شود [۱۴]. به این صورت که توزیع و سمیت این علف‌کش از برهم‌کنش‌های این مواد با پروتئین‌های پلاسما به دست می‌آید [۱۵ و ۱۶]. آلومین سرم انسانی [HSA] فراوان‌ترین پروتئین در سرم خون است، که ۶۰ درصد پروتئین کل را فراهم می‌کند و حدود ۸۰ درصد از فشار اسمزی خون است که باعث به وجود آمدن این پدیده می‌شود. دیوران همچنین از طریق سامانه گوارشی و تنفسی جذب می‌شود. در انسان در عرض چند ساعت به‌وسیله هیدروکسیلی و -N دی آلکلی شدن متابولیزه شده و از طریق ادرار دفع می‌شود [۱۷]. همچنین طی بررسی‌های به‌عمل آمده پس از مصرف دیوران از ۹ ماه تا ۲ سال در موش‌ها و سگ‌ها مشاهده شد که بیشترین ذخیره‌سازی در کبد و کلیه اتفاق می‌افتد [۱۸]. همچنین در اثر قرار گرفتن در معرض دیوران برخی نشانه‌های افسردگی ناشی از سامانه عصبی مرکزی در بدن انسان، مشاهده شد اما اثرات سمی اصلی و مزمن مصرف دیوران از دست دادن وزن و ناهنجاری در خون، کبد و طحال است. در نتیجه اندازه‌گیری این سم بر روی مواد خوراکی و نمونه‌های زیست‌محیطی بسیار حائز اهمیت است. در سال‌های اخیر شیوه‌های متفاوتی برای میکرو استخراج با فاز مایع مانند میکرو استخراج پخشی مایع- مایع به‌وسیله‌ی آقای رضایی و همکارانش در سال ۲۰۰۶ گزارش شد [۱۹]. در این گزارش انواع روش‌های اصلاح شده ارائه شده که به دلیل زمان کم استخراج، سادگی و فاکتور پیش‌تغلیظ بالا مورد توجه

1. Karmex

2. Loam

تفکیک حباب جذبی وجود دارد. یکی از آن‌ها چسبیدن است که یک پیوند به نسبت قوی بین حباب گازی و قطره آلی تشکیل می‌شود و می‌تواند به‌سادگی با جریان‌های متلاطم شکسته شود. سازوکارهای بعدی در کپسول قرار دادن (احاطه کردن) است که یک پیوند قوی‌تر است و در زمانی که یک قطره حلال به‌طور کامل یک حباب گازی را احاطه می‌کند رخ می‌دهد. همچنین در کپسول قرار دادن با حباب‌های گازی کوچک‌تر رخ می‌دهد به این دلیل زمان تماس افزایش یافته و مساحت کل سطح افزایش می‌یابد. در این روش واکنش بین سدیم بی‌کربنات و کلریدریک اسید باعث تولید شدن گاز  $\text{CO}_2$  می‌شود که تشکیل این گاز در محلول با سدیم بی‌کربنات به‌عنوان یک معرف شناورسازی عمل می‌کند. در روش ابداعی گروه مولایی و همکارانش با تولید گاز  $\text{CO}_2$  می‌توان در کوتاه‌ترین زمان ممکن جداسازی را انجام داد و نیاز به دستگاه سانتریفیوژ را برطرف کرد. هدف از اجرای این طرح اندازه‌گیری علف‌کش دیوران با استفاده از روش میکرو استخراج فلوتاسیون کربن دی‌اکسید در نمونه آب‌های سطحی از زمین‌های کشاورزی منطقه ونایی شهرستان بروجرد و تجزیه با دستگاه HPLC است.

### بخش تجربی

دیوران و سدیم هیدروژن کربنات ( $\text{NaHCO}_3$ ) از کمپانی مرک<sup>۱</sup> آلمان تهیه شدند. حلال‌های استخراجی (حلال‌های سبک‌تر از آب): اکتانول، تولوئن، ۲-اکتانول، ۱-هپتانول، هگزان به‌عنوان حلال‌های استخراجی برای بهینه کردن نوع حلال مناسب مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین استاندارد دیوران در غلظت  $1000 \text{ mg.l}^{-1}$  به‌دست آمد. استونیتریل درجه HPLC خریداری شده از شرکت کلیدون تهیه شد.  $\text{HCl}$  (۳۶ درصد) برای ساخت اسید ۱ مولار برای تولید گاز  $\text{CO}_2$  در داخل ظرف استخراجی مورد استفاده قرار گرفت. معرف متیل قرمز برای تغییر رنگ و تعیین نقطه پایانی واکنش‌ها استفاده شد. ظرف میکرو استخراج (ظرف استخراجی دست‌ساز) که حجم آن ۱۱۰ میلی‌لیتر بوده و درب اسفنجی و

قرار گرفته است. یکی از روش‌های اصلاح شده کار خانم مولایی و همکارانش است که در سال ۲۰۱۵ انجام شد [۲۰]. در کار خانم مولایی و همکاران با استفاده از کلریدریک اسید افزوده شده به سل استخراجی و واکنش آن با سدیم هیدروژن کربنات در فراصوت گاز کربن دی‌اکسید تولید شده که این گاز باعث جدا شدن امولسیون پخش شده استخراجی به‌جای سانتریفیوژ است. در این پژوهش از طراحی مشابه روش خانم مولایی و همکارانش برای اندازه‌گیری سم دیوران در زمین‌های کشاورزی منطقه ونایی شهرستان بروجرد استفاده شد.

در سال ۲۰۱۰ تاوانداموگادزا<sup>۱</sup> و همکارانش یک الکتروود اصلاح شده کربن با نیکل هیدروکسو تترا آمینو فتالو سیانین را ساختند با فعالیت الکتروکاتالیستی برای اکسایش دیوران و پتانسیل اکسایش دیوران در سطح این الکتروود ۶۰ میلی ولت کمتر از فرم بدون پل  $\text{O-Ni-O}$  با سرعت کاتالیستی بهتر صورت گرفت [۲۱]. همچنین ابوالفضل صالح و همکارانش در سال ۲۰۱۴ از جمله پژوهشگرانی بودند که از طریق میکرو استخراج فاز مایع نگهداری شده با میکروکیف بر پایه‌ی حلال آلی با چگالی کمتر از آب دیوران را در نمونه آب دریای خلیج فارس اندازه‌گیری کردند [۲۲]. در سال ۲۰۱۵ برهم‌کنش دیوران با آلومین سرم انسانی از طریق فلوتورتابی و خاموش‌سازی دیوران توسط هویلوم چن<sup>۲</sup> و همکارانش مطالعه شد. در این پژوهش پیوند دیوران کاهش‌دهنده‌ی فرم ماریچ بتا در آلومین انسانی می‌شود [۲۳].

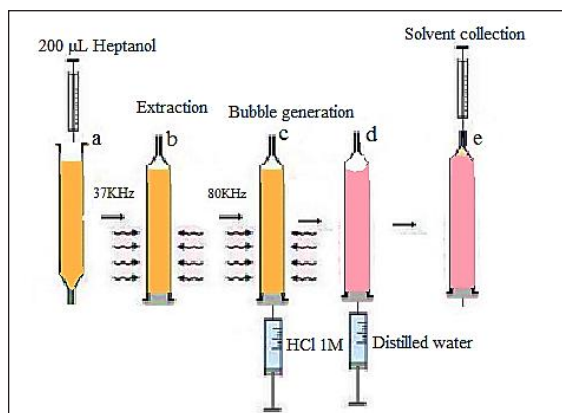
هدف از این پژوهش به‌کار بردن یک روش سریع و جدید به نام شناورسازی (حل کردن) کربن دی‌اکسید پس از میکرو استخراج امولسیون‌سازی (DCF-EME) برای پیش‌تغلیظ نمونه مجهول در فاز آبی و تجزیه با HPLC است. روندهای تفکیک جذب حباب (مانند هوای محلول با شناورسازی گازی) کاربردهای صنعتی مهمی دارند که شامل جداسازی پساب صنعتی مایع، پاک‌سازی آب، تفکیک آب-روغن و ضخیم‌سازی لجن فعال شده دارند. در اینجا دو سازوکار برای حباب گازی و پیوند قطره آلی در روندهای

1. Tawanda Mugadza

2. H. Chen

3. Merck

استوانه مدرج ۱۰۰ میلی‌لیتری دیگر ریخته و مقدار ۲۵ میکرولیتر از استاندارد دیوران با غلظت  $200 \text{ mg.l}^{-1}$  به داخل استوانه مدرج بالا افزوده شد. همچنین  $400 \mu\text{l}$  از معرف متیل قرمز (برای تغییر رنگ در نقطه پایانی واکنش) به استوانه مدرج ریخته شد. در ادامه مواد درون استوانه به ظرف استخراجی (طراحی شده توسط صالح) انتقال داده شد (شکل ۱-قسمت a). سپس ۲۰۰ میکرو لیتر حلال استخراجی با دانسیته کمتر از آب به این نمونه افزوده شد و ظرف استخراجی را به مدت ۵ دقیقه وارد حمام فراصوت با امواج قوی  $30 \text{ KHz}$  قرار داده (در دمای محیط) تا محلول داخل آن به طور کامل ابری شود (شکل ۱-قسمت b). پس از آن ۵ ml اسید  $\text{HCl}$  ۱ مولار را در داخل حمام فراصوت با امواج ضعیف  $80 \text{ KHz}$  به آرامی و طی چند مرحله، برای تولید گاز  $\text{CO}_2$  با سرنگ معمولی افزوده شد (شکل ۱-قسمت c). تغییر رنگ از زرد به ارغوانی نشان دهنده پایان واکنش و تولید گاز  $\text{CO}_2$  است که در این حالت استخراج انجام شده و دو فاز آبی و آلی در داخل ظرف استخراجی تشکیل شد. سپس در این حالت سرنگ افزودن اسید را خارج و با یک سرنگ دیگر حدود ۱۵ ml آب از قسمت زیرین ظرف استخراجی به آن افزوده شد تا فاز آلی تشکیل شده وارد قسمت موئینه ظرف استخراجی شود (شکل ۱-قسمت d) و در پایان روند استخراج فاز آلی جمع‌آوری شده را با سرنگ هاملتونی برداشته (شکل ۱-قسمت e) و در یک ویال مخصوص ریخته که در نهایت  $10 \mu\text{l}$  از فاز آلی استخراج شده برای تجزیه و شناسایی به دستگاه HPLC تزریق شد.



شکل ۱- سامانه استخراج به روش DCF-EME، با اجازه از مولایی و همکارانش [۲۰]

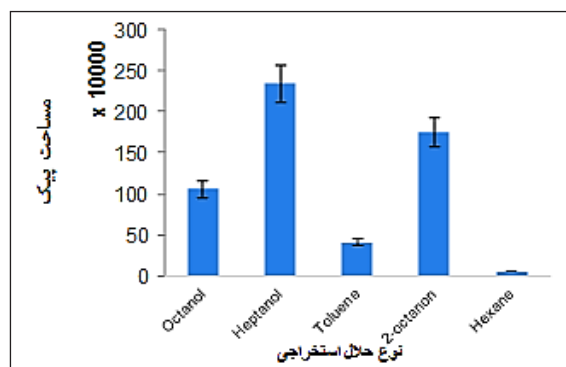
چوب‌پنبه‌ای و برای استخراج با استفاده از روش (DCF-EME)، ساخت شیشه‌گری دانشگاه تهران بوده این ظرف توسط صالح اختراع شده است.

تجزیه و تحلیل کروماتوگرافی بر روی یک سامانه HPLC، Perkin Elmer انجام شد. همه جداسازی‌ها با ستون  $\text{C}_{18}$  (۴,۶ mm × ۲۵۰ mm با اندازه ذرات ۳,۵ میکرومتر) Agilent انجام گرفت. فاز متحرک A شامل ۱۰ میلی‌مولار  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ، ۱۰ میلی‌مولار  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  و تری اتیل آمین  $0.3\%$  میلی‌مولار و فاز متحرک B استونیتریل بود. در این پروژه از برنامه ایزوکراتیک استفاده شد که فاز متحرک A،  $35\%$  و فاز متحرک B،  $65\%$  با فلوی  $1 \text{ ml/min}$  و طول موج انتخابی  $224 \text{ nm}$  انتخاب شد. همچنین، حمام فراصوت دارای مد فرکانس ۸۰ و ۳۷ کیلوهرتز برای امولسیون سازی استخراج با حلال آلی مورد استفاده قرار گرفت. تنظیم pH محلول نمونه در استخراج گونه‌های اسیدی و بازی از اهمیت بسزایی برخوردار است. در صورتی انتقال جرم با تنظیم pH نمونه افزایش می‌یابد که فرم خنثی گونه به مقدار زیادتری تولید شود. برای اطمینان از این که ۹۹ درصد از گونه‌های اسیدی به فرم خنثی هستند، pH باید حداقل ۲ واحد کوچک‌تر از  $\text{pK}_a$  و برای گونه‌های بازی، pH باید حداقل ۲ واحد از  $\text{pK}_a$  مربوط به اسید مزدوج آن ترکیب بزرگ‌تر باشد. از آنجایی که دیوران یک آمین است، خاصیت بازی دارد و برای این که ساختار آن خنثی باشد تا مقدار استخراج بالا رود، می‌بایست pH آن یک واحد بالاتر از  $\text{pK}_a$  اسید مزدوج آن باشد. به این منظور، در این پژوهش برای افزایش pH و افزایش بازده استخراج، سدیم هیدروژن کربنات (جوش شیرین) افزوده شد. سدیم هیدروژن کربنات افزون بر افزایش pH، در تولید گاز  $\text{CO}_2$  نیز نقش اساسی دارد.

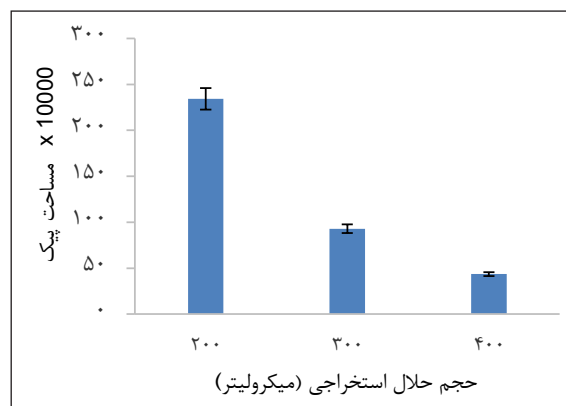
#### روش کار

نخست مقدار ۱ g از سدیم هیدروژن کربنات ( $\text{NaHCO}_3$ ) در مقداری آب مقطر حل و به حجم تقریبی ۱۰۰ رسانده شد. سپس در داخل حمام فراصوت قرار داده شده تا به خوبی حل شود. در ادامه مقدار ۸۰ ml از محلول ساخته شده را برداشته و به درون یک

مساحت پیک مربوط به ۲۰۰ میکرولیتر است. در حجم ۱۵۰ میکرولیتر، حجم حلال استخراجی جمع شده در قسمت بالای ظرف استخراج بسیار ناچیز بوده و غیرقابل جمع‌آوری و تزریق به دستگاه بود. در حجم‌های بالاتر از ۲۰۰ میکرولیتر کاهش در بازده استخراج مشاهده شد که به اثر رقت نسبت داد می‌شود. بنابراین، حجم ۲۰۰ میکرولیتر به‌عنوان حجم حلال استخراجی انتخاب شد و در آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۳).



شکل ۲ نمودار اثر نوع حلال استخراجی بر روی کارایی استخراج. شرایط: ۸۰ ml نمونه، ۴۰۰  $\mu$ l حلال استخراجی، تزریق ۵ ml از ۱ HCl مولار، زمان استخراج ۵ دقیقه، استخراج در دمای محیط



شکل ۳ نمودار اثر حجم حلال استخراجی بر روی کارایی استخراج. شرایط: ۸۰ ml نمونه، تزریق ۲۰۰  $\mu$ l هپتانول، تزریق ۵ ml از ۱ HCl مولار، زمان استخراج ۵ دقیقه و استخراج در دمای محیط

## نتیجه‌ها و بحث

در این روش کربن دی‌اکسید افزایش‌یافته در محلول با امواج فراصوت به‌عنوان جایگزینی برای روش سانتریفیوژ و سیلندر هوا یا نیتروژن برای جداسازی فازها استفاده شد. در طول این روند امواج فراصوت با فشار کم حباب‌های کوچکی در محلول ایجاد می‌کند که این حباب‌ها باعث انتقال حلال استخراجی در سطح نمونه می‌شوند. به‌طورمعمول کارایی استخراج به شرایط استخراج بستگی دارد. عامل‌های متفاوتی وجود دارد که بر پخش حلال آلی و استخراج در روش شناورسازی اثر می‌گذارند. نوع حلال آلی مورد استفاده، حجم حلال استخراجی، زمان فراصوت، قدرت یونی، دمای استخراج محلول نمونه از جمله فاکتورهای مؤثر روی این روش استخراجی هستند. تأثیر عوامل مذکور روی کارایی استخراج موردبررسی قرار گرفت. سطوح زیر پیک به‌عنوان پاسخ برای انجام بهینه‌سازی‌ها در نظر گرفته شد.

### بررسی اثر نوع حلال استخراجی

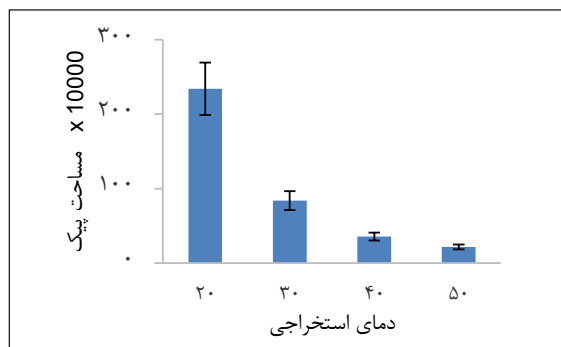
انتخاب یک حلال استخراجی مناسب یکی از عامل‌های مهم برای توسعه کارآمدی روش است. به همین دلیل حائز اهمیت است که در نخستین مرحله بهینه‌سازی نوع حلال مناسب جهت استخراج استفاده شود. در انتخاب حلال آلی همواره چندین عامل مهم موردتوجه قرار می‌گیرند. ۱- حلال موردنظر باید حلالیت به نسبت کمی در فاز آبی داشته باشد. ۲- تمایل قابل توجهی‌ای برای استخراج و انحلال آنالیت موردنظر را در خود داشته باشد ۳- با دستگاه تجزیه مورد استفاده سازگار باشد که به‌منظور بررسی اثر نوع حلال استخراجی در هر عملکرد از روش شناورسازی با کربن دی‌اکسید ۴ حلال (هپتانول، اکتانول، تولوئن، ۲-اکتانول و هگزان) مورد بررسی قرار گرفت که از میان حلال‌های واجد شرایط هپتانول به‌عنوان بهترین حلال استخراجی انتخاب شد (شکل ۲).

### بررسی اثر حجم حلال

به‌منظور بهینه اثر حجم حلال استخراجی، حجم هپتانول در گستره ۱۵۰ تا ۴۰۰ میکرولیتر موردبررسی قرار گرفت. بیشترین

## بررسی اثر دمای استخراج

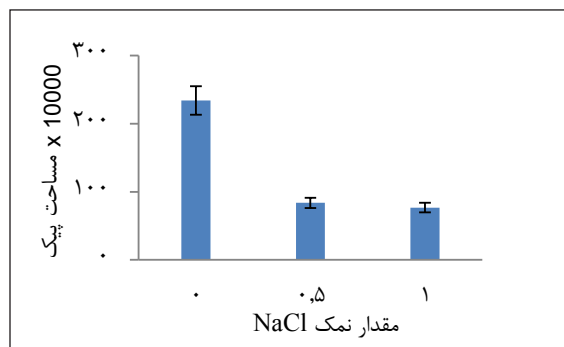
دما یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار در بازده واکنش‌های شیمیایی است. از این رو، لازم است که دمای استخراج بهینه شود. بنابراین، دمای واکنش در گستره ۲۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد بررسی شد که ۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌عنوان بهترین دمای بهینه انتخاب شد، زیرا دماهای بالاتر باعث کاهش بازده استخراج شد.



شکل ۴ نمودار اثر دمای استخراج بر روی کارایی استخراج. شرایط: ۸۰ ml از نمونه، تزریق ۲۰۰  $\mu$ l هپتانول، تزریق ۵ ml از ۱ HCl ۱ مولار و زمان استخراج ۵ دقیقه

## بررسی اثر افزودن نمک

تأثیر غلظت نمک در بازده استخراج شناورسازی اثر خوبی نداشت و غلظت‌های ۰، ۰،۵، ۱ درصد نمک NaCl مورد بررسی قرار گرفت. همان‌طور که مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت نمک مقدار استخراج کاهش یافت. بنابراین، استخراج بدون هرگونه افزودن نمک انجام شد.



شکل ۶ نمودار تأثیر نمک بر روی کارایی استخراج. شرایط: ۸۰ ml از نمونه، تزریق ۲۰۰  $\mu$ l هپتانول، تزریق ۵ ml از ۱ HCl ۱ مولار، استخراج در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و زمان استخراج ۵ دقیقه

خلاصه نتیجه بهینه‌سازی عامل‌های استخراج در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱ شرایط بهینه به‌دست آمده در مرحله استخراج دیوران

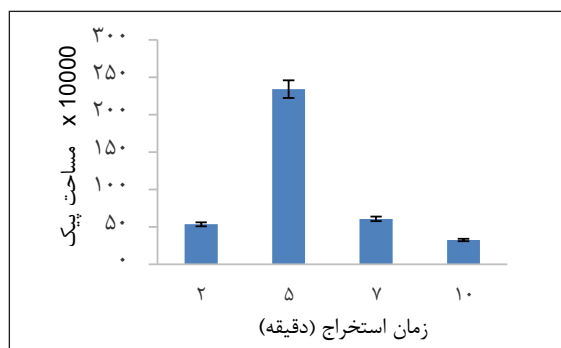
عوامل مؤثر بر استخراج	شرایط بهینه
حجم نمونه تزریقی	۱۰ $\mu$ l
قدرت یونی محلول	۰
حلال استخراجی	هپتانول
حجم حلال استخراجی	۲۰۰ $\mu$ l
زمان استخراج	۵ min
دمای استخراج	۲۰ °C

## ارزیابی روش

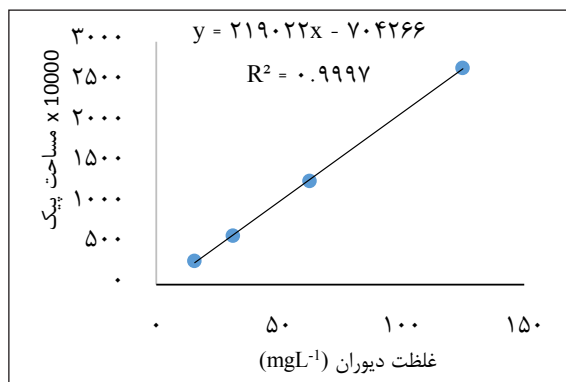
خطی بودن روش شناورسازی DCF-EME پیشنهاد شده برای تعیین دیوران در نمونه آب رسم منحنی درجه‌بندی در گستره غلظتی ۶ تا ۵۰۰۰  $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$  ارزیابی شد. نقاط منحنی درجه‌بندی

## بررسی اثر زمان استخراج

زمان استخراج یکی از عوامل اصلی است که اثر زیادی در بازده استخراج دارد. در این پژوهش زمان‌های بین ۲ تا ۷ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت که زمان ۵ دقیقه بهترین زمان برای استخراج انتخاب شد (شکل ۵).



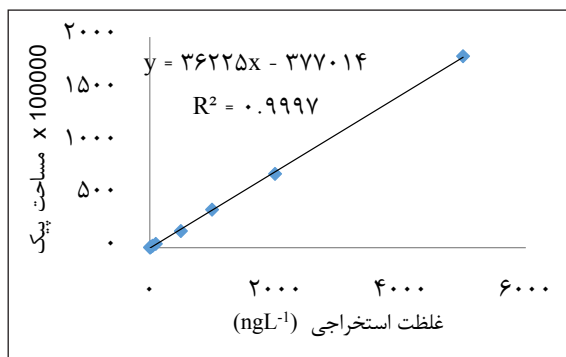
شکل ۵ نمودار اثر زمان استخراج بر روی کارایی استخراج. شرایط: ۸۰ ml از نمونه، تزریق ۲۰۰  $\mu$ l هپتانول، تزریق ۵ ml از ۱ HCl ۱ مولار، استخراج در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد



شکل ۷ منحنی درجه‌بندی مستقیم دیوران

منحنی درجه‌بندی استخراجی

منحنی درجه‌بندی استخراجی دیوران با غلظت‌های ۶، ۱۲، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۵۰۰۰ ng.l<sup>-1</sup> رسم و تجزیه با کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا انجام گرفت. منحنی درجه‌بندی با استفاده از سطح زیر پیک ترکیب در مقابل غلظت، برای ترکیب دیوران رسم شد.



شکل ۸ منحنی درجه‌بندی اندازه‌گیری دیوران در نمونه آب در شرایط بهینه استخراج با روش DCF-EME

بررسی نمونه حقیقی

مهم‌ترین هدف از اجرای این پژوهش اندازه‌گیری دیوران در نمونه آب‌های سطحی در زمین‌های کشاورزی منطقه ونائی شهرستان بروجرد بود. برای این منظور سه نمونه متفاوت از آب‌های سطحی آن منطقه تحت شرایط بهینه با روش DCF-EME

همبستگی به نسبت خوبی با ضرایب تعیین بزرگ‌تر از ۰/۹۹۹ را ارائه می‌کنند. شکل ۸ منحنی درجه‌بندی استخراجی به‌دست آمده برای اندازه‌گیری دیوران را در شرایط بهینه نشان می‌دهد. ارقام شایستگی روش پیشنهادی DCF-EME شامل گستره خطی و حد تشخیص (LOD)، حد قابل‌اندازه‌گیری (LOQ)، فاکتور پیش‌تغلیظ و راندمان استخراج برای اندازه‌گیری دیوران از ۸۰ ml نمونه آبی در شرایط بهینه با استفاده از روابط زیر به ترتیب موردبررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی‌ها در جدول ۲ به نمایش گذاشته شده است [۱۹].

$$LOD = \frac{3S_{y/x}}{m} \quad (1)$$

$$LOQ = \frac{10S_{y/x}}{m} \quad (2)$$

$$EF = \frac{C_{org}}{C_o} \quad (3)$$

$$R\% = \frac{C_{org} \times V_{org}}{C_o \times V_{aq}} \times 100 = EF \times \frac{V_{org}}{V_{aq}} \times 100 \quad (4)$$

C<sub>o</sub> غلظت اولیه آنالیت در نمونه، C<sub>org</sub> غلظت استخراج‌شده در فاز آلی، V<sub>aq</sub> حجم نمونه و V<sub>org</sub> فاز آلی استخراجی است.

جدول ۲ ارقام شایستگی برای تجزیه دیوران با استفاده از شناورسازی در نمونه آب در شرایط تجربی بهینه

LOD ng/l <sup>-1</sup>	LOQ ng/l <sup>-1</sup>	EF	R%	R <sup>2</sup>	گستره خطی ng.l <sup>-1</sup>
۶	۲۰	۳۳۸	۸۵	۰/۹۹۹	۶-۵۰۰۰

بررسی منحنی درجه‌بندی تزریق مستقیم

منحنی درجه‌بندی تزریق محلول استاندارد ترکیب دیوران با غلظت‌های ۱۵/۶، ۳۱/۲۵، ۶۲/۵ و ۱۲۵ mg.l<sup>-1</sup> رسم شد. سپس ۱۰ μl از هرکدام از این استانداردها به دستگاه HPLC در شرایط بهینه ذکر شده تزریق شد.



روش نوین، این است که زمان استخراج به حداقل زمان ممکن رسید، هم‌چنین نیازی به سانتیفریوژ نبود، از حلال با چگالی کمتر از ۱ g/ml استفاده شد، نیاز به استفاده از حلال پخشی وجود نداشت. هم‌چنین در این روش برای این که پیش تغلیظ زیاد شود حجم آب مصرفی ۸۰ میلی‌لیتر بود. در این بررسی تنها از فراصوت استفاده شد که دارای دو مد بود (مد ۳۷ و ۸۰) مد ۳۷ کیلوهرتز برای دیسپرس و مد ۸۰ کیلوهرتز برای استخراج به کار رفت. هم‌چنین از ظروف ویژه‌ای برای انجام مراحل امولسیون‌سازی و جمع‌آوری حلال آلی شناور در سطح نمونه استفاده شد. شرایط کاری بهینه، منجر به دستیابی بهترین حد تشخیص شد. کارایی روش پیشنهادی روی آب‌های سطحی مورد ارزیابی قرار گرفت. در نتیجه می‌توان گفت روش پیشنهادی افزودن بر سرعت بالای استخراج، حد تشخیص، دقت و کارایی مناسب، با به‌کارگیری حداقل مقدار حلال آلی، به سمت شیمی سبز در روش‌های تجزیه‌ای است گام برداشته است.

جدول ۴ مقایسه نتیجه‌های به‌دست آمده از روش پیشنهادی با نتیجه‌های به‌دست آمده از پژوهش صالح و همکارانش [۲۳]

Ref	Linearity (ng L <sup>-1</sup> )	زمان استخراج (min)	LOD (ng L <sup>-1</sup> )	LOQ (ng L <sup>-1</sup> )	PF <sup>a</sup>	Analyte
[۲۳]	۴۸-۵۰۰۰	۱۲۰	۴٫۸	۱۵٫۹	۱۵۰	دیوران
طرح حاضر	۶-۵۰۰۰	۵	۶	۲۰	۳۳۸	

a. پیش تغلیظ

مورد آزمایش قرار گرفت و مشخص شد که نمونه‌ها آلوده به دیوران بودند. غلظت دیوران در هر یک از آب‌های سطحی مورد بررسی در جدول ۳ آورده شده است. هم‌چنین مقادیر درصد بازیابی نسبی (RR%)<sup>۱</sup> و صحت (RE%)<sup>۲</sup> با استفاده از فرمول‌های ۵ و ۶ محاسبه شده است که در آن RR بازیافت نسبی و RE خطای نسبی تعریف می‌شوند [۱۹].

$$RR\% = \frac{C_{found} \times C_{real}}{C_{added}} \times 100 \quad (5)$$

$$RE\% = RR\% - 100 \quad (6)$$

مزیت روش استخراجی به کار گرفته شده بر نوین‌ترین روش‌های اندازه‌گیری دیوران که در سال ۲۰۱۴ توسط صالح [۲۳] انجام گرفت، زمان استخراج کم است که یکی از عامل‌های مهم در هر تجزیه به شمار می‌رود. در روش به کار گرفته شده زمان از ۱۲۰ دقیقه به ۵ دقیقه کاهش یافته است. ارقام شایستگی برای روش‌های اندازه‌گیری دیوران به کار گرفته شده توسط صالح و همکارانش و روش به کار گرفته شد در این پژوهش، در جدول ۴ ارایه شده است.

### نتیجه‌گیری

روش شناورسازی پیشنهاد شده در این پژوهش از لحاظ سادگی، دقت، صحت تجزیه‌ای، زمان کم آماده‌سازی نمونه و به حداقل رساندن مصرف حلال آلی بسیار حائز اهمیت است. از مهم‌ترین مزایای این

جدول ۳ نتیجه‌های مربوط به تعیین دیوران در آب‌های سطحی شهرستان بروجرد با استفاده از HPLC-DCF-EME

نمونه	دقت (RSD% n=3)	درصد بازیابی نسبی	صحت <sup>**</sup>	SD* ± غلظت به‌دست آمده (ng l <sup>-1</sup> )	دیوران افزوده شده (ng l <sup>-1</sup> )
آب ۱	۷٫۰۳	۱۰۸٫۹۰	+۷٫۸٫۹	۱۳۰٫۵۹ ± ۹٫۱۸	۰
	۷٫۵۸			۱۸۵٫۰۴ ± ۱۴٫۰۳	۵۰
آب ۲	۱۰٫۲۴	۹۱٫۱۰	-۷٫۸٫۹۰	۲۷٫۶۸ ± ۶٫۹۹	۰
	۸٫۷۲			۱۱۳٫۸۲ ± ۹٫۹۳	۵۰
آب ۳	۹٫۹۷	۱۰۹٫۶۶	+۷٫۹٫۶۶	۳۳٫۴۲ ± ۴٫۲۲	۰
	۱۰٫۳۲			۹۷٫۱۶ ± ۱۰٫۰۳	۵۰

\* SD: انحراف استاندارد

\*\* درصد خطای نسبی: صحت

1. RR: Relative recovery

2. RE: Relative error



- [1] Preziosi, P.; Pure Appl. Chem.70 (9), 1617-1631, 1998.
- [2] xu, H.Z.; Jia, N.; Ren, R.; environ. sci. magnag., 83-85, 30, 2005.
- [3] Gianessi, L.P.; 69(10), 1099-1105, 2013.
- [4] Wessels, J.; Van der Veen, R.; 19, 548-549, 1956.
- [5] Giacomazzi, S.; Cochet, N.; a review. Chemosphere., 56(11),1021-1032, 2004.
- [6] Louchart, X.; Voltz, M.; Andrieux, P. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series IIA-Earth and Planetary Science., 331(7), 475-481, 2000.
- [7] Fild, J.A.; Reed, R.L.; Sawyer, T.E.; Grippith, S.M.; wigington, P.; J. Qual., 32, 171-179, 2003.
- [8] Alva, A.; Singh, M.; 45(3), 365-374, 1990.
- [9] Tworkoski, T.J.; Welker, W.; vass, G.D.; technol, 14, 365-374, 1990
- [10]Goody, D.C.; Chilton, P.J.; Harrison, I.; Weed Technol., 14, 191-196, 2000.
- [11]Rouchaud, J.; Neus, R.; Bulcke, K.; Cools, K.; Eelen, H.; Dekkeres, T.; Arch. Environ. contam. toxicol., 39, 60-50, 2002.
- [12]Louchart, X.; Voltz, M.; Andrieux, P.; 331(7), 475-481, 2000.
- [13]Malato, S.; Balanco, J.; caceres, J.; fernandez-Alba, A.R.; Agueru, A.; Rodriguez, Today, 76, 209-220, 2002.
- [14]Tunc, S.; Duman, O.; Soyly, I.; Bozoglan, B.K.; 273, 36-43, 2014.
- [15]Tunc, S.; Duman, O.; Soyly, I.; Bozoglan, B.K.; 151, 22-28, 2014.
- [16]Wang, Y.P.; Zhang, G.W.; Wang, L.H.; Pestic, Biochem, phys.,108, 66-73, 2014.
- [17]Hayes, J.R.; pesticidied in man, Williams and wilkins, Baltimore, MD., 33, 141-175, 2003.
- [18]Hodge, H.C.; Downs, W.L.; Panner, B.; Smith, D.; Maynard, E.; Clayton, J.J.; Rhodes, R.; Food Cosm, Toxicol., 5, 513-19, 2000.
- [19]Rezaee, M.; Assadi, Y.; Milani-Hosseini M.R.; Aghaee, E.; Ahmadi, F.; Berijani, S.; J. Chromatogr., A 1116, 2006.
- [20]Molaei, S.; Saleh A.; Ghoulipour, V.; Seidi, S.; J. Chromatography A., 1388, 280-285, 2015.
- [21]Mugadza, T.; Nyokong, T.; Facile, Talanta., 81, 1373-1379, 2010.
- [22]Chen, H.; Rao, H.; Yang, J.; Qiao, Y.; Part B., 1532-4109, 2015.
- [23]Saleh, A.; Sheijooni-Fumani, N.; Molaei, S.; J. Chromatography A., 14, 1356, 32-37, 2014.

## Carbon dioxide flotation microextraction for determination of Diuron by HPLC

B. Haroni-Bardshahi<sup>1</sup>, M. Aghamohammadi<sup>2</sup> and R. Shojaee<sup>3,\*</sup>

1. MSc in Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, Young Researchers and Elite Club, Boroujerd Branch, Islamic Azad University, Lorestan, Iran
2. Assistant Prof. of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, Young Researchers and Elite Club, Boroujerd Branch, Islamic Azad University, Lorestan, Iran
3. MSc in Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, Young Researchers and Elite Club, Boroujerd Branch, Islamic Azad University, Lorestan, Iran

Received: April 2016, Revised: June 2016, Accepted: June 2016

**Abstract:** Dissolved carbon dioxide flotation after emulsification microextraction (DCF-EME) technique coupled with high-performance liquid chromatography. was applied for preconcentration and determination of Diuron in surface water samples. DCF-EME method is based on the rapid and simple phase separation of low density organic solvent from the aqueous phase via introducing HCl 2 M into the saturated NaHCO<sub>3</sub> sample solution containing analytes. In situ generation of carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) bubbles intensified by ultrasound radiation result in the collection of dispersed extraction solvent on the surface of aqueous sample in the capillary part of the designed extraction cell.

Under the optimal conditions, the calibration curves were linear in the range of 6 to 5000 ng.l<sup>-1</sup> with the correlation coefficients ( $R^2$ ) of 0.999 in water sample. The limits of detections (LOD) and limits of quantifications (LOQ) were 6 and 20, respectively. The preconcentration factor for the mentioned method was 338. The applicability of the proposed method was evaluated by the extraction and determination of the analytes in surface water samples.

**Keywords:** Diuron, Dissolved carbon dioxide flotation, Emulsification microextraction, High-performance liquid chromatography

\*Corresponding author Email: rezvan.bahar67@yahoo.com