اندازه‌گیری اسپکتروفتومتری مقادیر ناچیز ۲- متیل آزیریدین پس از جداسازی و پیش تغلیظ به روش میکرو استخراج مایع- مایع پخشی

علیرضا زارعی*[۱]، کبری مردی[۲]، حسین دهقانی[۳]، سهیلا چلاوی[۴]

تهران- دانشگاه صنعتی مالک اشتر

(تاریخ وصول: ۹۱/۰۳/۱۷، تاریخ پذیرش: ۹۱/۰۶/۱۴)

چکیده

۲- متیل آزیریدین (پروپیلن ایمین) از خانواده ترکیبات آزیریدین بوده که به‌طور عمده در تولید عوامل پیوندی بر پایه آزیریدین در بخش صنایع دفاعی مورد استفاده قرار می‌گیرد. علی‌رغم اهمیت آن، ماده‌ای با فراریت بالا و بسیار سمی بوده که به‌راحتی می‌تواند در هنگام تولید و استفاده وارد اتمسفر شده و باعث آلودگی محیط زیست گردد. انجمن بین‌المللی تحقیق بر روی سرطان (IARC) این ماده را به‌عنوان یک ماده سرطان‌زا در گروه 2B طبقه‌بندی کرده است. بنابراین با توجه به سمیت بالای این ماده و کاربردهای فراوان آن در صنایع دفاعی، اندازه‌گیری مقادیر ناچیز آن در نمونه‌های محیطی و پساب صنعتی مهم و ضروری می‌باشد. در این مقاله، یک روش جدید برای استخراج، پیش تغلیظ و اندازه‌گیری اسپکتروفتومتری ۲- متیل آزیریدین با استفاده از تکنیک میکرو استخراج مایع - مایع پخشی (DLLME) معرفی شده است. روش بر اساس مشتق‌سازی ۲- متیل آزیریدین با ۲،۱- نفتوکینون-۴- سولفونیک اسید (معرف فولین) و تشکیل محصول آب گریز با ضریب جذب مولی بالا می‌باشد که قابل استخراج و پیش تغلیظ با استفاده از تکنیک میکرو استخراج مایع - مایع پخشی خواهد بود. برخی از پارامترهای مهم در واکنش مشتق‌سازی و فرایند میکرو استخراج مورد مطالعه قرار گرفته و بهینه‌سازی گردید. تحت شرایط بهینه آزمایشگاهی، روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری ۲- متیل آزیریدین در گستره $ng\ mL^{-1}$ ۸۰۰-۱۰ خطی بوده و میزان حد تشخیص $ng\ mL^{-1}$ ۵ و تکرار پذیری روش (RSD) برای هفت اندازه‌گیری مکرر ۱/۹۲٪ به‌دست آمد. روش پیشنهاد شده برای اندازه‌گیری ۲- متیل آزیریدین در نمونه‌های آبی و پساب صنعتی به‌کار رفته و نتایج با مقادیر به‌دست آمده با روش استاندارد مطابقت نسبتاً خوبی دارد.

واژه‌های کلیدی: ۲- متیل آزیریدین، اندازه‌گیری اسپکتروفتومتری، میکرو استخراج مایع- مایع پخشی.

۱- مقدمه

پیشرانه‌های کامپوزیتی، دسته‌ای از پیشرانه‌های ناهمگن بوده که در آنها، اجزاء اکسیدکننده و سوخت فلزی در یک بایندر پلیمری توزیع شده‌اند [۲و۱]. اکسیدکننده‌ها شامل ترکیبات معدنی نظیر آمونیوم پرکلرات (AP) و سوخت‌های فلزی نظیر آلومینیوم و منیزیم می‌باشند. به‌منظور بهبود چسبندگی و اتصال میان بایندر و اکسیدکننده‌ها از ترکیباتی موسوم به "عوامل پیوندی"[۵] استفاده می‌شود، که درنتیجه آن خواص مکانیکی پیشرانه در مقابل کشش و تنش بهبود می‌یابد. عوامل پیوندی معمولاً در پیشرانه‌های بر پایه (HTPB) مورد استفاده قرار گرفته و میزان آن کمتر از ۰/۳ درصد می‌باشد که در طی عملیات تولید پیشرانه افزوده می‌شوند [۴و۳]. این ترکیبات با پرکلرات آمونیوم واکنش داده و تشکیل یک پوشش پلیمری بسیار نازک داده که

* E-mail: zarei1349@gmail.com

5- Bonding Agents

۱- دانشیار

۲و ۳و۴- کارشناس ارشد

Archive of SID

www.SID.ir

همانند یک اتصال‌دهنده میان (AP) و بایندر (HTPB) عمل می‌کند [۶و۵]. بیشترین عوامل پیوندی به‌کار رفته در پیشرانه‌های جامد کامپوزیتی می‌توان به تریس-۱- (۲- متیل آزیریدینیل) فسفین اکسید (MAPO)، تری مزو ایل ۱- (۲- اتیل) آزیریدین (HX-868)، تپانول[1] (HX-878) و آمیدهای آزیریدینی چند عامله نظیر HX-752, HX-874 and HX-877 اشاره نمود، که همگی از مشتقات آزیریدین می‌باشند و دارای پتانسیل بالایی برای افزایش خصوصیات مکانیکی پیشرانه می‌باشند.

۲- متیل آزیریدین (پروپیلن ایمین، C_3H_7N) ماده شیمیایی مهمی از خانواده آزیریدین بوده که کاربردهای فراوانی در صنایع غیر دفاعی هم‌چون کاربرد در صنایع کاغذسازی [۷]، لاستیک‌سازی [۷]، رزین [۸]، دارو [۸]، اصلاح‌کننده رزین‌های پوشاننده لاستیک خام برای تقویت چسبندگی، ماده لخته‌ساز در پالایش نفت خام دارد [۹]. اهمیت ۲- متیل آزیریدین در بخش صنایع دفاعی را می‌توان به خاطر استفاده گسترده آن به‌عنوان حد واسط در تولید عوامل پیوندی بر پایه آزیریدین اشاره نمود [۱۱و۱۰]. ۲- متیل آزیریدین بسیار سمی بوده و در اثر استنشاق در کوتاه مدت می‌تواند به چشم‌ها و تارهای تنفسی آسیب‌های جدی رسانده و موجب سردرد، گیجی، برونشیت، تنگی نفس و آماس ریه گردد. راه‌های اصلی ورود این ماده به بدن از طریق تنفس، خوردن و تماس پوستی می‌باشد. به‌علت فراریت بالا، تأثیر بالقوه آن می‌تواند در طی تولید، بسته‌بندی و یا استفاده از مواد بر پایه ۲- متیل آزیریدین اتفاق افتد. به‌همین منظور انجمن بین‌المللی تحقیق بر روی سرطان[2] (IARC) این ماده را به‌عنوان یک ماده سرطان‌زا در گروه 2B طبقه‌بندی کرده است [۱۲]. حد مجاز تماس[3] (PEL) و مقدار حد آستانه[4] (TLV) برای ۲- متیل آزیریدین $5/0\ mg\ m^{-3}$ گزارش شده است [۱۴و۱۳]. بنابراین با توجه به سمیت بالای این ماده و کاربردهای فراوان آن در صنایع دفاعی و غیر دفاعی تعیین مقادیر ناچیز آن در نمونه‌های محیطی و پساب صنعتی مهم و ضروری می‌باشد.

تاکنون تعداد محدودی از روش‌ها برای اندازه‌گیری آزیریدین و مشتقات آزیریدین ارائه شده‌اند که از جمله آن می‌توان به روش‌های تیتراسیون [۱۶و۱۵]،کروماتوگرافی گازی [۱۸و۱۷] و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا [۲۱-۱۹] اشاره نمود. مرسوم‌ترین روش برای اندازه‌گیری ۲- متیل آزیریدین که توسط انجمن بین‌المللی ایمنی و بهداشت حرفه‌ای[5] معرفی شده براساس مشتق‌سازی ۲- متیل آزیریدین با معرف فولین[6] و استخراج محصول با کلروفرم و به‌دنبال آن، اندازه‌گیری با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا[7] با آشکارساز (UV) در طول موج ۲۵۴ nm می‌باشد [۲۲]. این روش توانایی اندازه‌گیری ۲- متیل آزیریدین در محدوده غلظتی $0/25\text{-}3/0\ \mu g\ ml^{-1}$ را دارد. اما با توجه به سمیت قابل توجه ۲- متیل آزیریدین، توسعه تکنیک‌های جدید میکرو استخراج و روش‌های دستگاهی سریع و کم هزینه برای اندازه‌گیری مقادیر ناچیز ۲- متیل آزیریدین لازم و ضروری می‌باشد.

از بین روش‌های دستگاهی، روش‌های فوتومتری به دلیل سادگی و عدم پیچیدگی دستگاهی پاسخ سریع و سهولت کار با دستگاه به‌شدت مورد توجه محققین می‌باشد. این مزیت‌های دستگاه باعث شده است که از آن در اکثر صنایع و حتی آزمایشگاه‌های سیار[8] استفاده گردد.

در یک کار تجزیه‌ای، آماده‌سازی نمونه، تأثیر مستقیمی بر روی صحّت، دقت داده‌های تجزیه‌ای داشته و اغلب مرحله تعیین‌کننده‌ای در فرآیند تجزیه‌ای می‌باشد [۲۳]. هرچند که استخراج مایع- مایع[9] یک روش آماده‌سازی مرسوم در بسیاری از روش‌های تجزیه‌ای استاندارد است، اما این تکنیک زمان‌بر و خسته‌کننده می‌باشد و به‌علاوه از حجم زیادی از حلال‌های سمی استفاده می‌شود که برای سلامتی و محیط زیست بسیار خطرناک هستند. همچنین، استفاده از فرآیندهای چند مرحله‌ای استخراج هم منجر به از دست رفتن آنالیت می‌گردد [۲۴].

اخیراً یک روش میکرو استخراج مایع جدید مبنی بر کاربرد سیستم سه جزئی حلال به‌نام میکرو استخراج مایع- مایع پخشی[10] توسعه داده شده است [۲۹-۲۵]. در این روش یک مخلوط مناسب از حلال استخراج‌کننده به‌همراه حلال پخش‌کننده داخل محلول آبی حاوی آنالیت توسط یک سرنگ تزریق می‌گردد که در پی آن یک محلول کدر (ابری) تشکیل می‌گردد. با سانتریفیوژ محلول، قطرات ریز حلال استخراج‌کننده در انتهای لوله سانتریفیوژ مخروطی ته نشین می‌گردد. در این روش استخراجی، هر جزئی در محلول که با قطرات ریز حلال استخراج‌کننده برهمکنش نماید، از محلول اولیه داخل حجم کوچک از حلال استخراج‌کننده استخراج منتقل شده و به‌همراه حلال استخراج‌کننده ته‌نشین شده و از فاز آبی استخراج و پیش تغلیظ می‌گردد. از مزایای میکرو استخراج مایع- مایع پخشی می‌توان به- سادگی، سرعت بالا، حجم کم نمونه، هزینه پایین، درصد بازیابی مناسب و فاکتور غنی‌سازی بالای آن اشاره نمود.

در این کار تحقیقاتی، از تکنیک میکرو استخراج مایع- مایع پخشی به‌منظور استخراج و پیش تغلیظ مقادیر ناچیز ۲- متیل آزیریدین قبل از اندازه‌گیری آن به‌روش اسپکتروفتومتری استفاده شده است. برطبق جستجوی کتابخانه‌ای انجام شده، تاکنون هیچ روش جداسازی مبنی

1- Tepanol
2- International Agency For Research On Cancer (IARC)
3- Permissible Exposure Limit (PEL)
4- Threshold Limit Value (TLV)
5- Occupational Safety & Health Administration (OSHA)
6- Folin Reagent
7- High Performance Liquid Chromatography (HPCLC)
8- Portable Labratories
9- Liquid-Liquid Extraction (LLE)
10- Disersive Liquid Liquid Microextraction (DLLME)

Archive of SID

www.SID.ir

بر به‌کارگیری از تکنیک‌های میکرو استخراج برای ۲- متیل آزیریدین گزارش نشده است و مطالعه حاضر اولین گزارش اندازه‌گیری اسپکتروفتومتری ۲- متیل آزیریدین می‌باشد.

۲- بخش تجربی

۲-۱- دستگاه‌ها

اسپکتروفتومتر فرابنفش- مرئی UV-Vis مدل ۳۳۱۰ از شرکت هیتاچی (ژاپن) با سل‌های کوارتز ۱cm برای ثبت طیف‌های جذبی استفاده شد. همه اندازه‌گیری‌های طیفی با به‌کار بردن یک محلول شاهد به‌عنوان مرجع انجام شد. جهت تسریع در ته‌نشینی حلال استخراج کننده از دستگاه سانتریفیوژ مدل (EBA 20) استفاده شد.

۲-۲- مواد شیمیایی

در تمام آزمایش‌ها از آب مقطر دوبار تقطیر استفاده شد. ۲- متیل آزیریدین به‌روش ونکر[1] سنتز گردید [۳۰] و با روش تیتراسیون با استفاده از تیو سیانات استانداردسازی شد [۱۶]. محلول ۱۵/۰mM فولین با حل کردن ۰/۰۹۷۶ گرم از نمک سدیم ۱-۲- نفتوکینون-۴- سولفونیک اسید (مرک) در آب و رقیق‌سازی آن تا ۲۵mL در یک بالن ژوژه به‌دست آمد. به منظور تنظیم pH محلول بافر فسفات ۰/۰۵ مولار با حل کردن ۱/۹ گرم از سدیم فسفات دوازده آبه ($Na_3PO_4.12H_2O$) در آب و رقت آن ۱۰۰mL به‌دست آمد.

۲-۳- روش میکرواستخراج مایع- مایع پخشی

به‌منظور انجام میکرو استخراج مایع- مایع پخشی (شکل ۱)، حجم‌های مختلف از محلول استاندارد به‌طوری‌که غلظت نهایی ۲- متیل آزیریدین در حجم ۱۰ میلی لیتر در گستره ۸۰۰-۱۰ نانو گرم بر میلی‌لیتر باشد، به یک لوله سانتریفیوژ ۱۰ میلی‌لیتری منتقل و ۱۰۰ میکرولیتر محلول ۱۵/۰ میلی‌مولار فولین و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۵ مولار بافر فسفات به آن اضافه شد و سپس مخلوط فوق به‌منظور کامل شدن واکنش تکان داده شده و برای مدت ۳ دقیقه در دمای اتاق ساکن ماند. سپس ۰/۵ میلی لیتر از محلول سدیم کلرید ۱۰٪ به آن اضافه شده و با آب رقیق گردید. به‌دنبال آن ۵۰۰ میکرو لیتر حلال (شامل ۴۰۰ میکرولیتر متانول (حلال پخش‌کننده) و ۱۰۰ میکرولیتر کلروفرم (حلال استخراج‌کننده)) به‌سرعت توسط یک سرنگ ۲ میلی‌لیتری به داخل محلول تزریق گردید. در این حالت به‌علت پخش شدن قطرات ریز کلروفرم درون محلول آبی، سیستم به‌حالت ابری ظاهر می‌گردد و سپس این مخلوط به‌مدت دو دقیقه در سرعت چرخش ۳۵۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ گردید تا قطرات ریز کلروفرم ته‌نشین شوند. بعد از این فرآیند، فاز بالایی دور ریخته شده و فاز آلی باقیمانده با متانول به‌حجم ۴۰۰ میکرولیتر رقیق گردیده و میزان جذب آن در طول موج ۴۳۰ nm اندازه‌گیری شده و منحنی کالیبراسیون به‌دست آمد. مراحل انجام استخراج و اندازه‌گیری در شکل (۱) نشان داده شده است.

۲-۴ – آماده‌سازی نمونه پساب تولید ۲- متیل آزیریدین

به‌طورکلی در بخش صنایع دفاعی، به‌منظور تولید عوامل پیوندی بر پایه آزیریدین، ابتدا ۲- متیل آزیریدین به‌وسیله واکنش حلقه زایی، ۱- آمینو-۲- پروپانول برطبق فرآیند ونکر تهیه می‌گردد [۳۰]. در طی این فرآیند، پساب حاصل با دانسیته ۱/۵۰۷ gr/ml و به‌طور عمده حاوی سدیم هیدروکسید (۴۸٪) و ۱- آمینو-۲- پروپانول (w/w%) ۱/۵ و مقادیر ناچیز ۲- متیل آزیریدین می‌باشد. به‌منظور اندازه‌گیری ۲- متیل آزیریدین در پساب مذکور، ابتدا یک حجم ۵ mL از پساب، تقطیر گردیده و مقطره حاصل در محلول سود ۰/۰۱M جمع‌آوری گردیده و تا حجم ۱۰۰ mL در یک بالن ژوژه حجمی رقیق شد. آنگاه ۱/۰mL از محلول فوق برای اندازه‌گیری ۲- متیل آزیریدین با روش میکرو استخراج مایع- مایع پخشی مطابق با بخش ۲-۳ مورد آزمایش قرار گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مطالعه طیفی ۲- متیل آزیریدین پس از مشتق‌سازی

در مطالعه حاضر، به‌منظور مشتق‌سازی، از معرف ۱-۲- نفتوکینون-۴- سولفونیک اسید به‌علت واکنش ویژه آن برای ۲- متیل آزیریدین مطابق معادله (۱) استفاده گردید. علاوه بر این محصول این واکنش مشتق‌سازی دارای ضریب جذب مولی بالایی می‌باشد و می‌تواند در یک مرحله انجام پذیرد. طیف جذبی ۴- (۲- متیل آزیریدین)-۱-۲- نفتوکینون (محصول حاصل از مشتق‌سازی)، جذب بیشینه در طول موج ۴۳۰ nm را نشان می‌دهد (شکل ۲). محصول حاصل از مشتق‌سازی پس از تعادل در کلروفرم قابل استخراج می‌باشد. از این‌رو، روش میکرو استخراج مایع- مایع پخشی می‌تواند به‌عنوان یک روش موفق برای جداسازی و پیش تغلیظ ۲- متیل آزیریدین مورد توجه قرار گیرد.

۳-۲- بهینه‌سازی پارامترهای مؤثر

به‌منظور دست‌یابی به بالاترین حساسیت و کارایی در میکرو استخراج مایع- مایع پخشی ۲- متیل آزیریدین، تأثیر پارامترهای مؤثر بر این فرآیند بررسی شد و شرایط بهینه به‌دست آمد.

۳-۲-۱- اثر غلظت معرف مشتق‌ساز

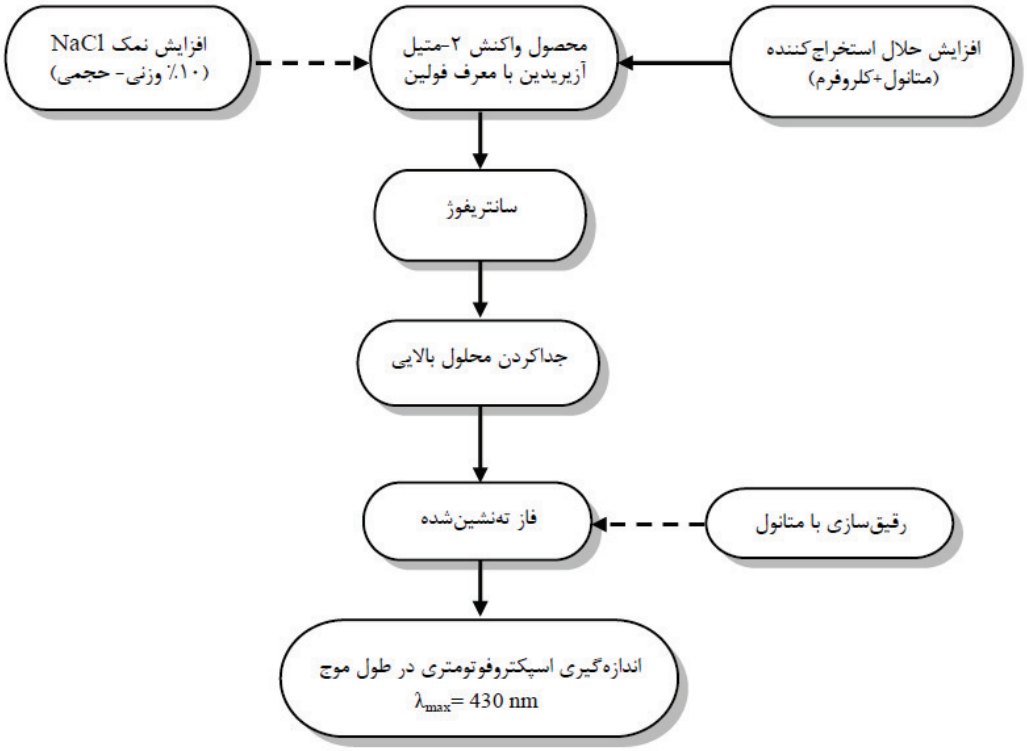
در کار حاضر، از ۱-۲- نفتوکینون-۴- سولفونیک اسید (معرف فولین) به‌عنوان عامل رنگ‌ساز و مشتق‌ساز برای افزایش حساسیت استفاده شد. اثر غلظت فولین به‌عنوان عامل مشتق‌ساز بر روی جذب سیستم

1- Winker Method

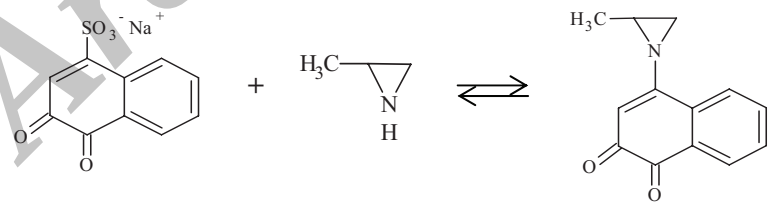
Archive of SID

www.SID.ir

در گستره غلظتی ۳۰۰-۱۰ میکرومولار بررسی شد. نتایج آشکار می‌کند (شکل ۳) که با افزایش غلظت معرف تا غلظت ۱۵۰ میکرومولار جذب افزایش یافته و در غلظت‌های بالاتر تقریباً ثابت می‌ماند، که به‌خاطر کافی بودن غلظت معرف برای مشتق‌سازی ۲- متیل آزیریدین می‌باشد. از این‌رو غلظت ۱۵۰ میکرومولار از معرف به‌عنوان غلظت بهینه در روش پیشنهاد شده به‌کار رفت.



شکل ۱- فلوچارت مراحل انجام میکرو استخراج مایع- مایع پخشی.

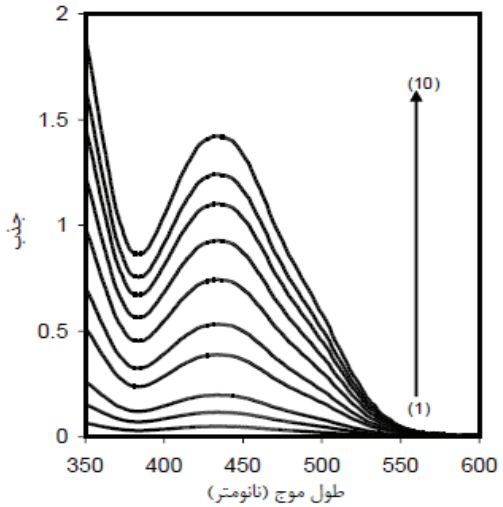


۴- (۲- متیل آزیریدین)- ۱-۲- نفتوکینون ۲- متیل آزیریدین معرف فولین

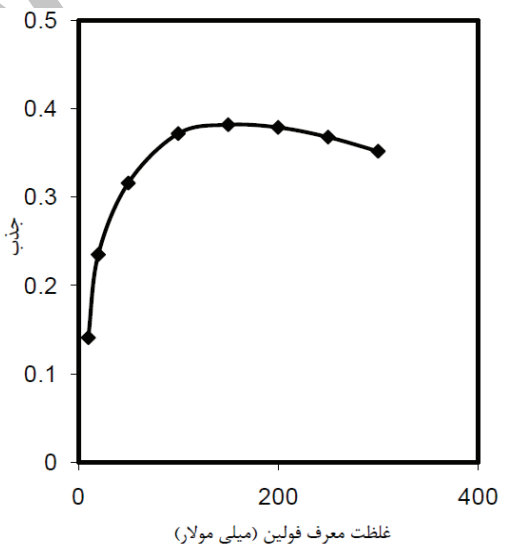
معادله (۱)- واکنش ۲- متیل آزیریدین با معرف فولین.

Archive

www.SID.ir



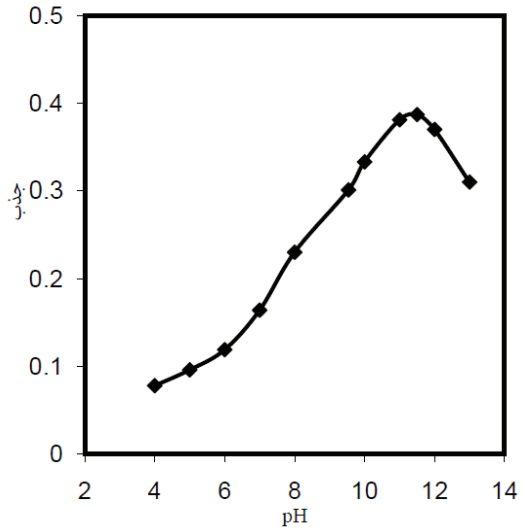
شکل۲- طیف جذبی محصول واکنش مشتق‌سازی ۲- متیل آزیریدین با معرف فولین بعد از میکرو استخراج مایع – مایع پخشی، شرایط واکنش و استخراج: ۲- متیل آزیریدین (۱) ۱۰، (۲) ۵۰، (۳) ۱۰۰، (۴) ۲۰۰، (۵) ۳۰۰، (۶) ۴۰۰، (۷) ۵۰۰، (۸) ۶۰۰، (۹) ۷۰۰، (۱۰) ۸۰۰ نانوگرم بر میلی لیتر، معرف فولین ۱۵۰ میکرو مولار و pH=۱۱/۷، متانول ۴۰۰ میکرولیتر، کلروفرم ۱۰۰ میکرولیتر و کلرید سدیم (w/v) ۰/۵٪.



شکل ۳- اثر غلظت فولین بر روی سیستم جذبی، شرایط واکنش و استخراج : ۲- متیل آزیریدین $ng\ mL^{-1}$ ۲۰۰ و pH=۱۱/۷، متانول ۴۰۰ میکرولیتر، کلروفرم ۱۰۰ میکرولیتر و کلرید سدیم (w/v) ۰/۵٪.

۳-۲-۲-اثر pH

واکنش مشتق‌سازی ۲- متیل آزیریدین با معرف فولین تحت کنترل pH انجام می‌پذیرد. از این رو pH محلول نمونه یکی از پارامترهای تأثیرگذار بر واکنش مشتق‌سازی و متعاقباً کارایی استخراج می‌باشد. از این رو تأثیرpH بر روی کارایی استخراج و متعاقباً جذب در گستره ۴/۰-۱۳/۰ مورد بررسی قرار گرفت. چنانچه در شکل (۴) مشاهده می‌شود، ماکزیمم جذب در pH های ۱۱ تا ۱۲ بوده که واکنش مشتق‌سازی بیشترین راندمان را داشته و در pH بالاتر شرایط برای مشتق‌سازی نامطلوب می‌گردد. . از این‌رو pH=۱۱/۷ به‌عنوان شرایط بهینه انتخاب گردید و pH با محلول سدیم فسفات ۰/۰۵ مولار تنظیم شد.



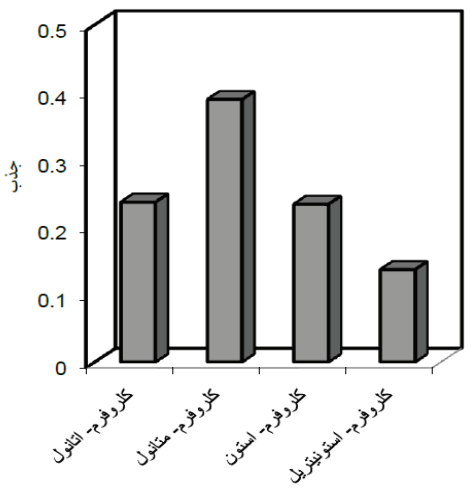
شکل ۴- تأثیر pH بر روی سیگنال تجزیه‌ای، شرایط واکنش و استخراج: ۲- متیل آزیریدین $ng\ mL^{-1}$ ۲۰۰، معرف فولین µM ۱۵۰، متانول ۴۰۰ میکرولیتر، کلروفرم ۱۰۰ میکرولیتر و کلرید سدیم (w/v) ۰/۵٪.

۳-۲-۳- انتخاب نوع حلال استخراج کننده و پخش کننده

نوع حلال استخراج‌کننده به‌کار رفته در میکرو استخراج مایع- مایع پخشی یکی از مهم‌ترین فاکتورهای تأثیرگذار بر روی کارایی استخراج می‌باشد. این حلال باید دانسیته بالاتری نسبت به آب و همچنین باید قابلیت استخراج ترکیبات مورد نظر را داشته باشد و همچنین حلالیت آن در آب پایین باشد. از این‌رو کلروفرم، دی کلرومتان، کربن تتراکلرید و ۱و۲- دی کلرو اتان مورد مطالعه قرار گرفتند. انتخاب حلال پخش‌کننده نیز به حلال‌هایی نظیر متانول، اتانول، استونیتریل و استون که امتزاج‌پذیر با آب هستند، محدود شد. در این بررسی ترکیب کلروفرم، دی کلرومتان، کربن تتراکلرید و ۱و۲- دی کلرو اتان (۱۰۰ میکرولیتر) به‌عنوان حلال استخراج کننده و متانول، اتانول، استونیتریل و استون (۴۰۰ میکرولیتر) به‌عنوان حلال پخش‌کننده مورد آزمایش قرار گرفتند. در مورد ترکیب کلروفرم با متانول یک سیستم دوفازی پایدار و سیگنال تجزیه‌ای بالایی فراهم آمد (شکل ۵). از این‌رو کلروفرم و متانول به‌ترتیب به‌عنوان حلال استخراج کننده و پخش‌کننده انتخاب شدند.

Archive of SID

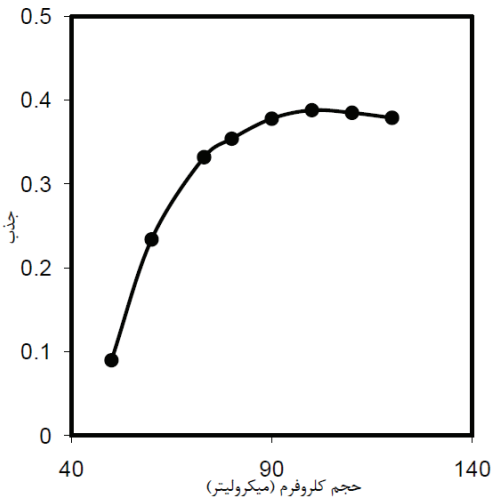
www.SID.ir



شکل ۵- تأثیر نوع حلال استخراج‌کننده و پخش‌کننده بر روی سیگنال تجزیه‌ای، شرایط واکنش و استخراج: ۲- متیل آزیریدین، ۲۰۰ ng mL^{-1}، معرف فولین، ۱۵۰µM، pH=۱۱/۷، کلرید سدیم (w/v) ۰/۵٪.

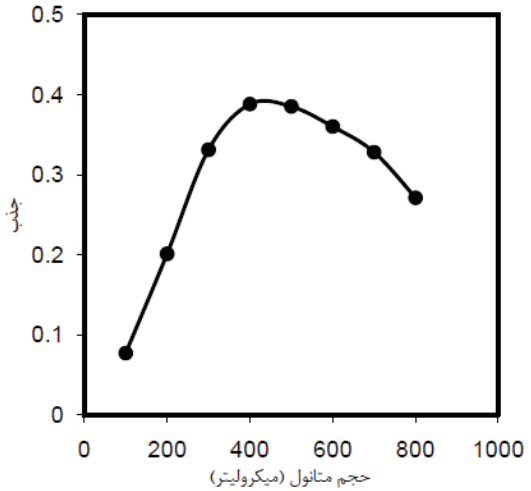
۳-۲-۴- انتخاب حجم حلال استخراج‌کننده و پخش‌کننده

اثر حجم حلال استخراج‌کننده بر روی سیگنال تجزیه‌ای نیز بررسی شد. برای این منظور بهینه‌سازی با حجم‌های مختلف از کلروفرم در گستره ۲۰۰-۲۰ میکرولیتر از کلروفرم به‌عنوان حلال استخراج‌کننده با ثابت نگه‌داشتن حجم متانول در ۴۰۰ میکرولیتر انجام شد. شکل (۶) نمایان می‌کند که مقدار جذب با افزایش حجم کلروفرم تا ۱۰۰ میکرولیتر افزایش می‌یابد و سپس با افزایش بیشتر حجم حلال تا ۲۰۰ میکرولیتر تقریباً ثابت می‌ماند، که به‌خاطر مناسب بودن تعداد تعادل‌های استخراج راندمان استخراج در این حجم حلال بوده، از این‌رو ۱۰۰ میکرولیتر از کلروفرم به‌عنوان حجم بهینه انتخاب شد.



شکل ۶- تأثیر حجم حلال استخراج‌کننده (کلروفرم) بر روی نتایج تجزیه‌ای بعد از میکرو استخراج مایع- مایع پخشی، شرایط واکنش و استخراج: ۲- متیل آزیریدین، ۲۰۰ng mL^{-1} نانوگرم بر میلی‌لیتر، معرف فولین ۱۵۰µM و pH=۱۱/۷، متانول ۴۰۰ میکرولیتر و کلرید سدیم (w/v) ۰/۵٪.

همچنین به‌منظور بررسی اثر حجم حلال پخش‌کننده بر روی کارایی استخراج محلول‌هایی با حجم‌های مختلف از متانول در گستره ۸۰۰-۲۰۰ میکرولیتر محتوی ۱۰۰ میکرولیتر کلروفرم با روش میکرو استخراج مایع- مایع پخشی مورد عمل قرار گرفتند. چنانچه در شکل (۷) مشاهده می‌شود، در حجم ۴۰۰ میکرولیتر از متانول جذب به بالاترین مقدار خود می‌رسد و سپس با افزایش بیشتر حجم متانول به‌تدریج کاهش می‌یابد. شاید این به‌دلیل حلالیت بیشتر حلال استخراج‌کننده در آب است که کارایی استخراج کاهش می‌یابد.



شکل ۷- تأثیر حجم حلال پخش‌کننده (متانول) بر روی کارایی استخراج، شرایط واکنش و استخراج: ۲- متیل آزیریدین، ۲۰۰ng mL^{-1}، معرف فولین ۱۵۰µM، pH=۱۱/۷، کلروفرم ۱۰۰ میکرولیتر و کلرید سدیم (w/v) ۰/۵٪.

۳-۲-۵- اثر افزایش نمک

عموماً حلالیت آنالیت و حلال استخراج‌کننده در فاز آبی معمولاً با افزایش قدرت یونی کاهش یافته و به درصد استخراج بهتر و بازده بیشتر منجر می‌شود، که اصطلاحاً در شیمی تجزیه به آن اخراج با نمک زنی[1] می‌گویند، که با افزایش نمک تعادل توزیع به‌گونه‌ای جابه‌جا شود که بیشتر آنالیت استخراج شود. در کار حاضر اثر افزایش نمک بر روی استخراج ۲- متیل آزیریدین مورد بررسی قرار گرفت، مشاهده می‌شود با افزایش نمک در گستره (w/v) ۲۰- ۵٪ کارایی استخراج و درصد بازیابی بهتر می‌گردد. از این رو غلظت (w/v) ۱۰٪ نمک کلرید سدیم به‌عنوان غلظت بهینه انتخاب گردید.

۳-۲-۶- کمیت‌های تجزیه‌ای

تحت شرایط بهینه برای اندازه‌گیری ۲- متیل آزیریدین، منحنی کالیبراسیون از رسم میزان جذب در مقابل غلظت به‌دست آمد و پارامترهای رگرسیون خطی، گستره غلظتی تبعیت از قانون بیر،

1- Salting out

Archive of SID

www.SID.ir

ضریب جذب مولی، حد تشخیص، فاکتور غنی‌سازی و درصد بازیابی در جدول (۱) خلاصه گردید. منحنی کالیبراسیون براساس قانون بیر در گستره غلظتی ۱۰-۸۰۰ ng mL^{-1} از ۲- متیل آزیریدین در طول موج ۴۳۰nm خطی می‌باشد. حد تشخیص (LOD) که عبارت است [۳۱] $C_L=3S_B/m$، که در آن C_L، S_B و m به‌ترتیب حد تشخیص، انحراف استاندارد شاهد و شیب منحنی کالیبراسیون می‌باشد، مقدار ۵ ng mL^{-1} محاسبه گردید.

جدول ۱- کمیت‌های اندازه‌گیری شده در اندازه‌گیری ۲-متیل آزیریدین.

رنگ محصول مشتق‌سازی شده	زرد
λ_{max} (nm)	۴۳۰
معادله منحنی کالیبراسیون (ng mL^{-1}) با میکرو استخراج مایع- مایع پخشی (n=۱۰)	A=۰/۰۰۱۸ C=۰/۰۲۸۹ و R^2=۰/۹۹۷۶
معادله منحنی کالیبراسیون (ng mL^{-1}) با استخراج مایع مایع (LLE)	A=۰/۰۰۰۰۸۳ C =۰/۰۰۸۸ و R^2=۰/۹۹۸
ضریب جذب مولی (Lit mol^{-1} cm^{-1})	۱/۰۰۴×۱۰^5 (۴/۷۸×۱۰^3)*
گستره خطی (ng mL^{-1})	۱۰-۸۰۰ (۵۰۰-۱۵۰۰۰) *
حد تشخیص (ng mL^{-1})	۰/۳ (۲۵۰)[a]
تکرارپذیری (R.S.D., %)	۱/۹۲
فاکتور غنی‌سازی (EF)	۲۳/۱۱
درصد بازیابی (R%)	۹۲/۴

* مقادیر داخل پرانتز براساس استخراج مایع- مایع معمولی به‌دست آمده‌اند.

فاکتور غنی‌سازی[1] (EF) به‌صورت نسبت غلظت آنالیت در فاز ته‌نشین شده (C_{sed}) و غلظت اولیه آنالیت (C_0) در فاز آبی تعریف می‌شود [۳۲و۳۳]:

$$EF= C_{sed}/ C_0 \qquad (۲)$$

درصد بازیابی[2] (R%) به‌صورت درصد کل آنالیتی که در فاز ته‌نشین شده استخراج می‌شود، تعریف می‌گردد:

$$R\%= EF\times(V_{sed}/V_{aq}) \times 100 \qquad (۳)$$

که R%، V_{sed} و V_{aq} به‌ترتیب درصد بازیابی استخراج، حجم فاز ته‌نشین شده (۴۰۰ میکرولیتر پس از رقیق‌سازی با متانول) و حجم نمونه آبی (۱۰ میلی لیتر) می‌باشد. به‌منظور بررسی فاکتور غنی‌سازی، سه استخراج مکرر در شرایط بهینه به‌وسیله محلول‌های آبی حاوی ۱۰۰ ng mL^{-1}، ۲- متیل آزیریدین انجام شد. فاکتور غنی‌سازی از نسبت غلظت نهایی آنالیت در فاز ته‌نشین شده (C_{sed}) به غلظت آنالیت در محلول اولیه (C_0) محاسبه می‌گردد. (C_{sed}) از منحنی کالیبراسیون فراهم شده توسط استخراج مایع- مایع معمول با ۵ mL کلروفرم محاسبه گردید. مطابق با معادله (۳و۲) فاکتور غنی‌سازی (EF) و درصد بازیابی (R%) به‌ترتیب برابر با ۲۳/۱۱ و ۹۲/۴۴٪ به‌دست آمد.

۳-۲-۷- بررسی اثر مزاحمت‌ها

به‌منظور بررسی گزینش‌پذیری روش پیشنهاد شده اثر مزاحمت گونه‌های گوناگون بر روی اندازه‌گیری ۱۰۰ ng mL^{-1} از ۲- متیل آزیریدین تحت شرایط بهینه بررسی شد. روش مطالعه بدین‌صورت بود که ابتدا مقدار مشخصی از ۲- متیل آزیریدین (۱۰۰ ng mL^{-1}) برداشته و میزان جذب پس از انجام کلیه مراحل استخراج قرائت گردید. سپس به‌طور مجزا همان مقدار نمونه به‌همراه مقادیر مشخص گونه مزاحم برداشته و مطابق بالا استخراج و میزان جذب اندازه‌گیری شد، با مقایسه مقادیر جذب به‌طوری که غلظتی از گونه اضافه شده که خطای نسبی بیشتر از ۵± درصد را ایجاد نماید، به‌عنوان حداکثر غلظت قابل تحمل گونه مزاحم درنظر گرفته شد. جدول (۲) نشان می‌دهد که اکثر گونه‌ها حتی در غلظت‌های ۱۰۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر مزاحمت جدی نداشتند. از این‌رو نتایج نشان‌دهنده گزینش‌پذیری خوب روش است.

جدول ۲- بررسی اثر مزاحمت گونه‌های دیگر بر روی اندازه‌گیری ۲- متیل آزیریدین.

گونه	نسبت تحمل (وزن گونه/ وزن ۲- متیل آزیریدین)
Na^+, K^+, NH_4^+, Ba^{2+}, As^{3+}, Co^{2+}, Sn^{4+}, Mn^{2+}, Zn^{2+}, Cd^{2+}, Ni^{2+}, Fe^{2+}, Ca^{2+}, CO_3^{2-}, PO_4^{3-}, SO_4^{2-}, NO_3^-, SCN^-, CN^-, Cl^-, Br^-, F^-	۲۰۰۰:۱
آمونیاک، تری متیل آمین، تریس-۱-(۲- متیل آزیریدیل) فسفین اکسید (MAPO)	۵۰۰:۱
متیل آمین، اتیل آمین، اتانول آمین، ۱- آمینو-۲- پروپانول	۵۰:۱

۳-۲-۸- کاربرد روش

روش پیشنهاد شده برای اندازه‌گیری ۲- متیل آزیریدین در نمونه آب‌های طبیعی به‌کار رفت. نمونه‌های آب مطابق با روش مذکور مورد آنالیز قرار گرفتند و هیچ‌کدام از آنها محتوی۲- متیل آزیریدین نبودند. برای شناسایی اثرات ماتریس، نمونه‌های آب با غلظت‌های مختلف از ۲- متیل آزیریدین آلوده شدند. جدول (۳) نتایج مطالعات انجام شده بر روی نمونه‌های آب را نشان می‌دهد. بازیابی‌های نزدیک به ۱۰۰ درصد نمایان می‌کند که مزاحمت جدی در نمونه‌های آب وجود ندارد.

1- Enrichment Factor (EF)
2- Recovery Percent (%R)

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- اندازه‌گیری ۲- متیل آزیریدین در نمونه‌های آب.

نمونه‌های آب	۲- متیل آزیریدین (نانوگرم بر میلی‌لیتر)		
	مقدار اضافه‌شده[1]	مقدار بدست آمده	بازیابی (٪)
آب آشامیدنی	۰/۰	–	–
	۲۰/۰	۱۹/۲	۹۶/۰
	۵۰/۰	۵۲/۸	۱۰۵/۶
	۲۰۰	۱۹۸	۹۹/۰
	۴۰۰	۳۹۷/۱	۹۹/۳
آب چاه	۰/۰	–	–
	۲۰/۰	۲۱/۰	۱۰۵
	۵۰/۰	۴۹/۶	۹۹/۲
	۲۰۰	۲۰۳/۵	۱۰۱/۸
	۴۰۰	۴۰۴/۷	۱۰۱/۲

به‌منظور صحت و اعتمادپذیری روش پیشنهاد شده، این روش برای اندازه‌گیری ۲- متیل آزیریدین در نمونه پساب تولیدی این ماده در مقیاس بنچ به‌کار رفت. این نمونه پیش‌تر مورد تقطیر قرار گرفته و مطابق با گستره خطی روش (بخش ۲-۴) رقیق گردید. غلظت ۲- متیل آزیدین در پساب با روش پیشنهاد شده و روش استاندارد (OSHA) [۱۸] به‌ترتیب برابر با ۱۷/۷۰±۰/۵۱mg/kg و ۱۶/۸۹ ±۰/۴۹ mg/kg بدست آمد که خطای نسبی موجود میان دو روش برابر با ۴/۴۷٪ می‌باشد، که از لحاظ آماری، توافق بسیار عالی میان روش پیشنهاد شده و روش استاندارد وجود دارد. نتایج حاصل مشخص می‌کند که روش مذکور، برای اندازه‌گیری مقادیر بسیار ناچیز ۲- متیل آزیریدین در پساب بسیار کارآمد و مؤثر خواهد بود.

۴- نتیجه‌گیری

با توجه به سمیت قابل توجه ۲- متیل آزیریدین و کاربردهای آن در بخش دفاعی، اندازه‌گیری مقادیر ناچیز آن بسیار حائز اهمیت می‌باشد. تاکنون برای جداسازی و اندازه‌گیری آن، از روش استخراج مایع- مایع و به‌دنبال آن کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده شده است که به‌دلیل استفاده از حجم وسیعی از حلال‌های آلی، روشی با ایمنی مناسب نبوده و همچنین قابلیت اندازه‌گیری مقادیر بسیار ناچیز (نانو گرم) را ندارد. بنابراین، توسعه و به‌کارگیری تکنیک‌های میکرو استخراج برای جداسازی و پیش تغلیظ امری ضروری خواهد بود. از این‌رو در این کار تحقیقاتی حاضر، تکنیک میکرو استخراج مایع – مایع پخشی (DLLME) برای این منظور به‌کار رفته که استفاده از حلال‌های سمی به‌میزان بسیار زیادی کاهش یافته است و در مقایسه با روش‌های دیگر اندازه‌گیری ۲- متیل آزیریدین، جدول (۴)، در روش پیشنهادی حد تشخیص اندازه‌گیری نسبت به‌روش‌های قبلی به‌میزان زیادی بهبود یافته و از جمله مزیت‌های دیگر روش پیشنهادی، ترکیب و همراه‌سازی میکرو استخراج مایع- مایع پخشی با اسپکتروفتومتری UV-Vis می‌باشد، که روشی ساده، کم هزینه، حساسیت بالا و گستره خطی وسیع را برای اندازه‌گیری ۲- متیل آزیریدین در نمونه‌های آبی بدون نیاز به دستگاه‌هایی مانند کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی مایع در اختیار می‌گذارد.

جدول ۴- مقایسه عملکرد روش پیشنهادی با روش‌های دیگر گزارش شده برای اندازه‌گیری ۲- متیل آزیریدین.

روش اندازه‌گیری	اساس روش	مزایای روش	معایب روش	ارزیابی کلی
کلاسیک- تیتراسیون	واکنش ۲- متیل آزیریدین با تیوسیانات در حضور پارا- تولوئن سولفونیک اسید و تیتراسیون برگشتی اسید اضافی با محلول پتاس	سادگی روش، صحت و دقت خوب، قابلیت تعیین خلوص	فاقد حساسیت بالا، بالا بودن حد تشخیص و عدم توانایی برای اندازه‌گیری مقادیر ناچیز (میکروگرم)	روش در فرآیند تولید ۲- متیل آزیریدین برای تعیین میزان خلوص مناسب است
کروماتوگرافی گازی (GC)	مشتق‌سازی با ۴- فلئوروبنزوئیل کلرید و جداسازی با ستون موئینه و آشکارسازی با دتکتور NPD	حساسیت بالا (میکروگرم)، جداسازی مناسب	بالا بودن هزینه دستگاهی و پیچیدگی و مشکلات کار با دستگاه	روش برای جداسازی و اندازه گیری مشتقات آزیریدین در نمونه‌های پیچیده مناسب است
کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)	مشتق‌سازی با ۲،۱- نفتوکینون-۴- سولفونیک اسید و استخراج مایع- مایع با حلال کلروفرم و به دنبال آن جداسازی و اندازه گیری با HPLC با ستون C_{18} و آشکارسازی با دتکتور UV در طول موج ۲۵۴ nm	حساسیت بالا (میکروگرم)، جداسازی مناسب	مصرف بالای حلال آلی و سمی، بالا بودن هزینه دستگاهی و پیچیدگی و مشکلات کار با دستگاه	روش برای جداسازی و اندازه‌گیری مشتقات آزیریدین در نمونه‌های پیچیده مناسب است
میکرو استخراج مایع- مایع پخشی، اسپکتروفتومتری (UV-Vis) (روش پیشنهادی)	مشتق سازی با ۱،۲معرف فولین و میکرو استخراج مایع- مایع پخشی با مقادیر بسیار کم حلال و اندازه‌گیری با اسپکتروفتومتری (UV-Vis)	حساسیت بسیار بالا (نانو گرم)، سادگی روش، صحت و دقت مناسب، عدم پیچیدگی دستگاهی، مصرف بسیار کم حلال آلی و راندمان استخراج بالا، قابلیت پرتابل و خودکارسازی سیستم	محدودیت کار در حجم‌های بالای نمونه برای اندازه‌گیری مقادیر بسیار ناچیز (پیکوگرم)	روشی بسیار ساده، کم‌هزینه و ارزان بدون نیاز به دستگاه‌های آنالیزی پیچیده برای مونیتورینگ آلاینده‌های زیست محیطی آزیریدینی و سازگار با محیط زیست به‌دلیل مصرف کم حلال آلی و قابلیت پرتابل در آزمایشات میدانی

Archive of SID

www.SID.ir

مراجع

[1] Hutchmacher, K.; Most, D. "Cyanuric Acid and Cyanuric Chloride."; Ulmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Wiley-VCH, Weinheim, 2000, 234-238.

[2] Davenas, A. "Solid Rocket Propulsion Technology."; Pergamon Press, Oxford, 1993.

[3] "Tris-1- (2-Methyl Aziridinyl) Phosphine Oxide (MAPO)."; http://www.orionchem.com/ Tris-1- (2-Methyl Aziridinyl) Phosphine Oxide (MAPO) MAPO.htm, 2002.

[4] Hasegawa, M.; Takizuka, T. "Bonding agent for AP and Nitramine/HTPB composite propellants.", AIAA 1983,1199-1202.

[5] Dundar, D.; Gullu, M. A. K.; Puskulcu, G.; Yildirim, C. "Synthesis and Application of Bonding Agents Used in Rocket Propellants."; IEEE 2005, 335–338.

[6] Petkovic J.; Wali, Mijin, A. D.; UscumLic, G. "The Influence of Bonding Agents in Improving Interactions in Composite Propellants, Determined Using the FT-IR Spectra."; Scientific Technical Review 2009, 3, 12-15.

[7] U. S. Environmental Protection Agency "1,2-Propyleneimine (2-Methyl Aziridine)."; http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/propylen.html#ref6, 2000.

[8] "Propyleneimine."; http://hazmap.nlm.nih.gov/category-details?id=422&table=copytblagents.

[9] Steuerle, U.; Feuerhake, R. "Aziridines."; Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Sixth Edition, Electronic Release, 2002.

[10] Finck, B.; Doriath, G.; Martenot, J. P. "Solid Propellant Containing an Aziridinyl Bonding Agent."; US Patent 1988, 4, 747, 891.

[11] Kawamoto, A. M.; Wills, M. "Enantioselective Synthesis of Aziridine Using Asymmetric Transfer Hydrogenation as a Precursor for Chiral Derivatives Used as Bonding Agent for Rocket Solid Propellants."; Quim. Nova. 2002, 25, 921-925.

[12] International Agency for Research on Cancer (IARC), IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Supplement 7, World Health Organization, Lyon, 1986.

[13] American Conference of Governmental Industrial Hyginists (ACGIH), TLVs and BEIs, Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents, Biological Exposure Indices, Cincinnati, OH., 1999.

[14] National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), "Pocket Guide to Chemical Hazards."; U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, Cincinnati, OH., 1997.

[15] Allen, E.; Seaman, W. "Method of Assay for Ethylenimine Derivatives."; Anal. Chem. 1955, 27, 540-543.

[16] Schlitt, R. C. "Assay of Aziridinyl Compounds."; Anal. Chem. 1963, 35, 1063-1064.

[17] Demertzis, P. G.; Franz, R.; Piringer, O. "Determination of Low Levels of Aziridine in Food-Simulating Liquids by Capillary Gas Chromatography."; Dev. Food Sci. 1995, 37, 981-993.

[18] Demertzis, G. P.; Franz, R. "Determination of Low Levels of Aziridine in Official EU Food Stimulants by Capillary Gas Chromatography."; Z. Lebensm unters Forsch A. 1997, 204, 227-230.

[19] Evans, D. J.; Mayfield, R. J.; Rassell, L. M. "Rapid Estimation of Trace Amounts of Ethylenimine by High Pressure Liquid Chromatography."; J. Chromatogar. 1975, 115, 391-395.

[20] May, E. M.; Hunt, D. C.; Sloggem, J. "Normal-Phase High-Performance Liquid-Chromatographic Assay for Aziridine Residue in Trientine Dihydrochloride."; J. Pharmaceut. Biomed. 1987, 5, 65-70.

[21] Virindar, S.; Jedrzejczak, K.; Huang, L.; Vohra, K. "Determination of 2-Methylaziridine in Workplace Atmospheres."; Analyst. 1990, 115, 925-928.

[22] Occupational Safety and Health Administration (OSHA), Primary Sampling/Analytical Method (SLC1), "Propyleneimine."; 1999.

[23] Nerin, C. "Focus on Sample Handling."; Anal. Bioanal. Chem. 2007, 388, 1001-1002.

[24] US Environmental Protection Agency (EPA), "Test Method for Evaluating Solid Waste: Physical/Chemical Methods."; SW-846, US GPO. Washington, DC, USA, 3rd Ed, 1986.

[25] Rezaee, M.; Assadi, A.; Milani Hosseini, M. R.; Aghaee, E.; Ahmadi, F.; Berijani, S. "Determination of Organic Compounds in Water Using Dispersive Liquid–Liquid Microextraction."; J. Chromatgr. A. 2006, 1116, 1-9.

[26] Chen, H.; Ying, J.; Huang, J.; Liao, L. "Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Followed by High-Performance Liquid Chromatography as an Efficient and Sensitive Technique for Simultaneous Determination of Chloramphenicol and Thiamphenicol in Honey."; Anal. Chim. Acta 2009, 632, 80-85.

[27] Rezaee, M.; Yamini, Y.; Faraji, M.; "Evolution of Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Method."; J. Chromatogr. A 2010, 1217, 2342-2354.

[28] Sarafraz-Yazdi, A.; Amiri, A. "Liquid-Phase Microextraction."; TrAC, Trends Anal. Chem. 2010, 29, 1-14.

[29] Zarei, A. R.; Gholamian, F. "Development of a Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Method for Spectrophotometric Determination of Barbituric Acid in Pharmaceutical Formulation and Biological Samples."; Anal. Biochem. 2011, 412, 224-228.

[30] Wenker, H. "The Preparation of Ethyleneimine from Mono-Ethanolamine."; J. Am. Chem. Soc. 1935, 57, 2328-2331.

[31] Ingle, J. D. Jr., Crouch, S. R., "Spectrochemical Analysis."; Premtice-hall, USA, 1988.

[32] Yazdi, A. S.; Razavi, N.; Yazdinejad, S. R. "Separation and Determination of Amitriptyline and Nortriptyline by Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Combined with Gas Chromatography Flame Ionization Detection."; Talanta 2008, 75, 1293-1299.

[33] Caldas, S. S.; Costa, F. P.; Primel, E. G. "Validation of Method for Determination of Different Classes of Pesticides in Aqueous Samples by Dispersive Liquid-Liquid Microextraction with Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometric Detection."; Anal. Chim. Acta. 2010, 665, 55-62.

Archive of SID

www.SID.ir