

اندازه‌گیری مقادیر جزئی سرب و کادمیوم در شیرهای پاستوریزه و استریلیزه به روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی بر اساس شناورسازی قطره آلی منجمد و دستگاه اسپکترومتری جذب اتمی الکتروترمال

سمیه اسفندیاری^۱ و حسین شیخ لویی^{۲*}

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه

۲. استادیار، گروه شیمی و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه

(تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۹، تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۱۲)

چکیده

در این پژوهش امکان کاربرد روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی بر اساس شناورسازی قطره آلی منجمد با استفاده از اسپکترومتری جذب اتمی کوره گرافیتی جهت استخراج و اندازه‌گیری مقادیر جزئی سرب و کادمیوم در شیر پاستوریزه و استریلیزه مطالعه گردید. اثر پارامترهای تجربی مختلف نظیر pH، نوع و حجم حلال پخش‌کننده، حجم حلال استخراج‌کننده، غلظت معرف کمپلکس‌کننده، نمک، شرایط سانتریفیوژ، زمان و دمای استخراج، بررسی و شرایط بهینه حاصل گردید. تحت شرایط بهینه، pH = 2/5، معرف آمونیوم پیرولیدین دی‌تیوکربومات ۵٪، 80 μ L حلال استخراج‌کننده 1- اندوکانول، 1/5 میلی‌لیتر حلال پخش‌کننده اتانول، 0/5٪ نمک کلرید سدیم، با سرعت سانتریفیوژ 4000 دور در دقیقه به مدت 5 دقیقه در دمای اتاق (25 ± 1 °C)، حد تشخیص سرب و کادمیوم، یعنی سه برابر انحراف استاندارد شاهد، به ترتیب 0/31 و 0/10 نانوگرم بر میلی‌لیتر با فاکتور تغلیظ 100 و درصد انحراف استاندارد نسبی سرب و کادمیوم (n=5) با اضافه کردن 20 نانوگرم بر میلی‌لیتر سرب و 5 نانوگرم بر میلی‌لیتر کادمیوم به ترتیب برابر 1/33 و 1/70 درصد به دست آمد. هم‌چنین روش برنامه‌ریزی شده به صورت درصد بازیابی مورد مطالعه قرار گرفت. ارزیابی کاربرد عملی روش پیشنهادی، با اندازه‌گیری سرب و کادمیوم در نمونه‌های شیر پاستوریزه و استریلیزه به طور موفقیت‌آمیز صورت گرفت. نتایج نشان داد میزان سرب و کادمیوم شیرهای پاستوریزه و استریلیزه در حد استانداردهای بین‌المللی بوده و مخاطره‌ای از نظر تجمع این فلزات در بدن برای مصرف‌کنندگان شیر به دنبال نخواهد داشت. سادگی، ارزانی، سریع، بازیابی و کارایی استخراج بالا، تکرارپذیری خوب، مصرف کم حلال آلی و روش تجزیه‌ای موثر از مزیت‌های اصلی روش پیشنهادی برای جداسازی و اندازه‌گیری فلز سرب و کادمیوم در نمونه‌های آبی و شیر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اندازه‌گیری سرب در شیر، اندازه‌گیری کادمیوم در شیر، میکرواستخراج مایع-مایع، اسپکترومتری جذب اتمی کوره گرافیتی.

* نویسنده مسئول: H.Sheikhloie@iau-maragheh.ac.ir

1- مقدمه

برخی از تکنیک‌های میکرو استخراج مانند میکرو استخراج فاز جامد و میکرو استخراج فاز مایع در جهت توسعه آن‌ها شده است و در میان آن‌ها تکنیک میکرواستخراج مایع-مایع پخشی بر اساس شناورسازی قطره آلی منجمد جدیدترین و ساده‌ترین روش می‌باشد. سادگی، هزینه کم، فاکتور غنی‌سازی بالا، مصرف پایین حلال استخراج‌کننده و سمیت پایین آن از مزایای این روش می‌باشد [12]. بنابراین در این تحقیق در نظر است، میزان سرب و کادمیوم در شیرهای پاستوریزه و استریلیزه به روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی بر اساس شناورسازی قطره منجمد آلی با استفاده از دستگاه جذب اتمی کوره گرافیتی اندازه‌گیری گردد. اثر پارامترهای تجربی مختلف از جمله pH، نوع و حجم حلال پخش‌کننده، حجم حلال استخراج‌کننده، غلظت معرف کمپلکس‌کننده، نمک، شرایط سانتریفوژ، زمان و دمای استخراج، بررسی و شرایط بهینه به دست آمد. در ضمن روش پیشنهادی به صورت درصد بازیابی مورد مطالعه قرار گرفت. این روش، روشی ساده، کارا، دقیق، دارای سرعت عمل، هزینه کم، حجم نمونه کم، حداقل مصرف حلال آلی و تکرار پذیر می‌باشد.

2- مواد و روش‌ها

2-1-1- دستگاه‌های مورد استفاده

دستگاه اسپکتروسکوپی جذب اتمی کوره گرافیتی مدل PG 990 FG ساخت کشور انگلیس و لامپ دوتریم جهت تصحیح زمینه و لامپ کاتد توخالی سرب و کادمیوم به عنوان منبع نور، مورد استفاده قرار گرفت. سرب و کادمیوم به ترتیب در طول موج تجزیه‌ای 283/3 nm و 228/8 با پهنای باند 0/4 nm و شدت جریان به ترتیب 3 mA و 5 اندازه‌گیری گردید. در تمامی آزمایشات حجم نمونه تزریق 20 μ L بود. شرایط تنظیمات گرمایی کوره گرافیتی با سکوی لوو در جدول (1) آورده شده است. دستگاه pH متر مدل AG827 شرکت مترهم ساخت کشور سوئیس، دستگاه سانتریفوژ تجهیزات پزشکی بهداد مدل 3480، ترازوی دیجیتالی با دقت 0/0001 گرم مدل GF300 شرکت And ژاپن، ورتکس مدل GENius3 از شرکت IKA آلمان مورد استفاده قرار گرفتند.

فلزات سنگین به فلزاتی گفته می‌شود که در حالت استاندارد خود، دارای دانسیته بیش از 5 میلی‌گرم بر سانتی‌متر مکعب می‌باشد. برخی از آن‌ها مانند نیکل، کروم، مس، آهن در غلظت بسیار کم برای بقا زندگی لازم هستند که به‌عنوان عناصر ضروری شناخته شده‌اند، اما برخی دیگر مثل سرب، کادمیوم و جیوه در غلظت‌های بسیار کم هم سمی بوده و از آن‌جا که غیرقابل تجزیه و دارای حلالیت بالا در آب هستند و نیز خاصیت تجمعی در قسمت‌های مختلف بدن دارند [1]. اثرات سوئی بر روی دستگاه‌های مختلف بدن از جمله کلیه، گوارش، عصبی، ایمنی، قلبی و عروقی، سیستم تنفسی گذاشته و موجب کم‌خونی، افسردگی، اختلال در باروری، اختلالات معده و روده، سرطان و حتی مرگ می‌شوند [2]. حضور آلاینده‌هایی مانند سرب و کادمیوم در شیر بسیار اهمیت دارد، زیرا شیر بیش‌تر از سایر مواد غذایی مورد توجه قرار می‌گیرد و دلیل آن ارزش غذایی بالا و مصرف در تمامی سنین به‌خصوص برای نوزادان و کودکان می‌باشد و تعیین سطح سرب و کادمیوم در شیر بسیار نگران‌کننده است، چون این عناصر سنگین بر روی رشد شنوایی و فکری کودکان موثر است و می‌تواند باعث آسیب برگشت‌ناپذیر در سیستم عصب مرکزی شود [3]. تاکنون به روش‌های مختلفی از جمله پتانسیومتری عاری سازی [4]، تکنیک هسته‌ای ذره تحریک‌شده با نشر اشعه X [5]، اسپکتروسکوپی نشر اتمی با قوس الکتریکی [6]، اسپکترومتری جرمی با پلاسمای جفت شده القایی [7]، اسپکترومتری نشر نوری با پلاسمای جفت شده القایی [8]، جذب اتمی شعله‌ای [9]، روش پالس اندی ولتامتری [10] و جذب اتمی کوره گرافیتی [11] برای اندازه‌گیری سرب و کادمیوم در نمونه‌های شیر استفاده شده است. با این حال روش جذب اتمی کوره گرافیتی (GFAAS) دارای حساسیت بالا و حد تشخیص ppb و تداخل طیفی پایین بوده و مقادیر کم نمونه جهت آنالیز استفاده می‌شود. برای اندازه‌گیری یون سرب و کادمیوم، مراحل پیش‌تغلیظ ضروری است. روش‌های مختلف مانند هم‌رسوبی، میکرو استخراج مایع-مایع، استخراج نقطه ابری و استخراج فاز جامد، برای جداسازی و پیش‌تغلیظ فلزات از نمونه استفاده شده است. امروزه توجه ویژه‌ای به

جدول (1) شرایط تنظیمات گرمایی کوره گرافیتی

مراحل	دما (°C)		زمان (ثانیه)	جریان گاز
	Cd ²⁺	Pb ²⁺		
خشک کردن	90	120	10	بالا
خاکسترسازی	120	140	10	بالا
توقف جریان گاز	400	600	10	خاموش
اتمیزاسیون	1800	2000	3	بالا
پاکسازی	2000	2300	2	بالا

2-1-2 مواد و معرف‌های لازم

محلول استاندارد مادر کادمیم با غلظت 1000 میلی‌گرم در لیتر، از حل کردن 2/745 گرم کادمیم نیترات 4 آبه (شرکت مرک) در اسید نیتریک 5٪ (حجمی-حجمی)، محلول‌های استاندارد کاری کادمیم به‌طور تازه موقع کار کردن از رقیق سازی محلول استاندارد مادر کادمیم در اسید نیتریک 0/2٪ (حجمی-حجمی)، محلول استاندارد مادر سرب با غلظت 1000 گرم در لیتر، از حل کردن 1/599 گرم نیترات سرب (از شرکت مرک) در اسید نیتریک 5٪ (حجمی-حجمی) و محلول‌های استاندارد کاری سرب به‌طور تازه موقع کار کردن از رقیق سازی محلول استاندارد مادر سرب به‌دست آمد. اسید کلریدریک با درجه خلوص 37٪، اسید نیتریک با درجه خلوص 70٪، اسید سولفوریک غلیظ 98٪، معرف کمپلکس‌کننده 5٪ (وزنی-حجمی) آمونیوم پیرولیدین دی تیوکاربومات (APDC) به عنوان معرف کمپلکس‌کننده از شرکت سیگما آلدریچ که با حل کردن 0/1 گرم APDC در 2 میلی‌لیتر متانول به‌دست آمد. تنظیم pH توسط اسید کلریدریک، برای مقادیر pH اسیدی، یا محلول هیدروکسید سدیم، برای مقادیر pH بازی صورت گرفت. 1- آندکانول، حلال استخراج‌کننده، از شرکت سیگما آلدریچ، اتانول، حلال پخش‌کننده و متانول از شرکت مرک تهیه گردید. برای تهیه محلول‌های آبی از آب دیونیزه بسیار خالص استفاده گردید. درضمن تمامی محلول‌ها در دمای 4 °C یخچال نگه‌داری شده و تمامی ظروف شیشه‌ای قبل از استفاده در اسید نیتریک 10٪ به مدت 12 ساعت غوطه‌ور و سپس با آب دیونیزه شستشو گردید.

2-3 روش میکرو استخراج مایع-مایع پخشی براساس

شناورسازی قطره آلی منجمد

ابتدا 5 میلی‌لیتر آب دیونیزه را در داخل لوله آزمایش ریخته سپس توسط 20 ppb سرب و 5 ppb کادمیوم آن را آلوده کرده و 1/5 میلی‌لیتر اتانول که حاوی 80 میکرولیتر 1- آندکانول و 10 میکرولیتر کمپلکس‌کننده آمونیوم پیرولیدین دی تیو کربومات بود به سرعت از بالای لوله آزمایش توسط میکروسمپلر تزریق و توسط ورتکس همزده تا محلول ابری تشکیل گردید. در این مرحله به مدت 5 دقیقه در سانتریفوژ 4000 دور بر دقیقه قرار داده شد تا فاز آلی از فاز آبی جدا و فاز آلی در بالای لوله آزمایش قرار گرفت. سپس لوله آزمایش به حمام یخ منتقل و پس از انجماد حلال آلی به فنجان‌ی منتقل و توسط سمپلر به دستگاه کوره گرافیتی تزریق شد. در این مرحله حجم فاز آلی حدود 50 میکرو لیتر بود، که 10 میکرولیتر به داخل کوره گرافیتی تزریق گردید.

3- نتایج و بحث

در این تحقیق یون‌های سرب و کادمیوم در شیرهای پاستوریزه و استریلیزه به روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی بر اساس شناورسازی قطره آلی منجمد استخراج و پیش تغلیظ گردیده سپس با استفاده از دستگاه جذب اتمی الکتروترمال مورد اندازه‌گیری قرار گرفته است. دیاگرام کلی فرایند در شکل (1) نشان داده شده است. بنابراین بعد از انجام آزمایشات اولیه و اطمینان از کارایی این روش به بررسی شرایط بهینه مانند اثر pH، اثر معرف کمپلکس‌کننده، حجم حلال استخراج‌کننده،

نوع و حجم حلال پخش‌کننده، اثر نمک، اثر شرایط سانتریفوژ و اثر زمان و دمای استخراج پرداخته شده است. می‌یابد. به دلیل این که در pH پایین، کاتیون‌ها تمایل کمتری به رسوب دارند از این رو آزمون‌ها در $pH = 2/5$ انجام گردید. نتایج این تحقیق با مطالعات دادفرنیا و همکاران مطابقت دارد [14].

3-1 اثر pH

مقدار pH اثر مهمی در تشکیل کمپلکس فلز-لیگاند و به دنبال آن در کارایی استخراج فلزات دارد و تولید کمپلکس خنثی وابسته به مقدار pH است. معرف APDC با تعدادی از فلزات واسطه و شبه فلزات در محیط اسیدی کمپلکس پایدار تشکیل می‌دهد، اما با فلزات قلیایی واکنش نمی‌دهد. یکی از مزیت‌های استفاده از APDC، پایداری کمپلکس‌ها در محیط اسیدی به‌خاطر مقاومت در برابر هیدرولیز است، بنابراین نیازی به استفاده از محلول بافر که ممکن است منبع آلودگی باشد، نیست [13]. بنابراین اثر pH نمونه در کارایی استخراج سرب و کادمیوم در محدوده pH برابر با 1-8 بررسی گردید.

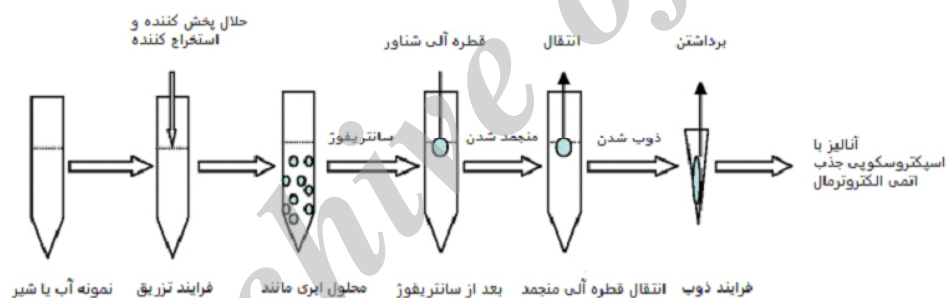
همان‌طور که در شکل (2) نشان داده شده است کارایی استخراج سرب و کادمیوم در محدوده pH 1-2/5 افزایش می‌یابد و بعد از آن در محدوده pH برابر با 2/5-9 کاهش

3-2 اثر غلظت معرف کمپلکس‌کننده

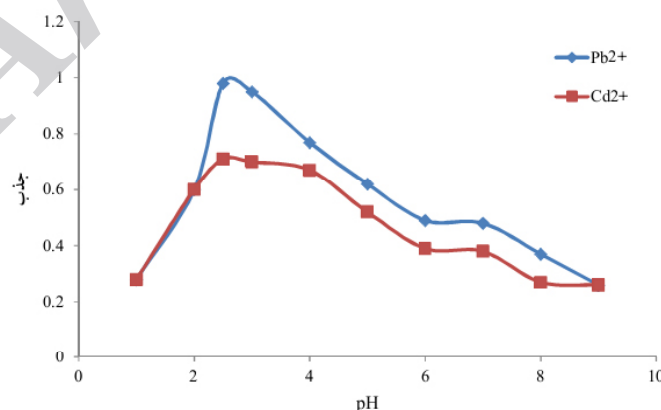
کارایی استخراج سرب و کادمیوم وابسته به غلظت معرف کمپلکس‌کننده است [15-16]. بنابراین اثر غلظت معرف کمپلکس‌کننده APDC در کارایی استخراج سرب و کادمیوم مطالعه گردید و نتایج در شکل (3) نشان داده شده است. غلظت معرف کمپلکس‌کننده تا زمانی که تمامی سرب و کادمیوم کمپلکس نگردیده، افزایش می‌یابد. سینگال جذب در مقادیر بالاتر از $10 \mu L$ معرف APDC 5٪ ثابت است که نشان دهنده کامل شدن کمپلکس فلز-لیگاند است. بنابراین $10 \mu L$ معرف APDC 5٪ برای فرایند میکرو استخراج انتخاب شد.

3-3 اثر حجم حلال استخراج‌کننده

به‌منظور بررسی اثر حلال استخراج‌کننده محلول‌هایی شامل



شکل (1) دیاگرام فرایند میکرواستخراج مایع-مایع پخش‌کننده بر اساس شناورسازی قطره آبی منجمد



شکل (2) اثر pH در میزان استخراج Pb^{2+} و Cd^{2+} از نمونه‌های آبی شرایط: 5 میلی‌لیتر محلول نمونه که با 20 ppb سرب و 5 ppb کادمیوم آلوده شده است؛ 1/5 میلی‌لیتر اتانول حاوی 80 μL -آندکانول و $10 \mu L$ APDC استفاده گردید

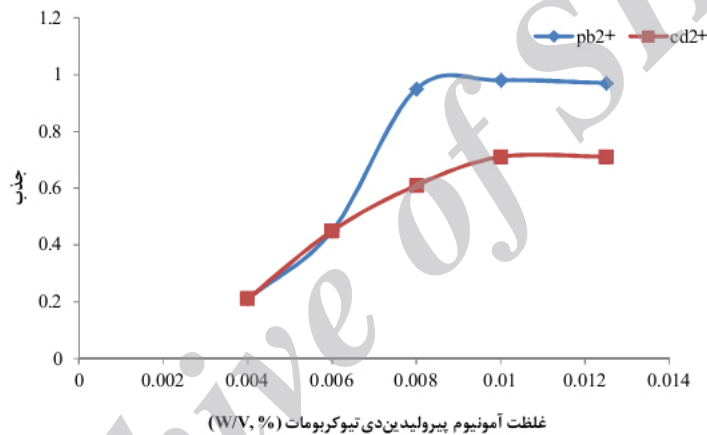
نظیر استون، استونیتریل، متانول و اتانول مورد آزمایش قرار گرفت. در این مطالعه از 1/5 میلی لیتر حلال پخش کننده که حاوی 80 μL 1-آندکانول و 10 μL APDC معرف کمپلکس کننده) استفاده گردید. همان طور که در شکل (5) نشان داده شده است، حداکثر استخراج توسط اتانول حاصل، لذا اتانول به عنوان حلال پخش کننده انتخاب گردید.

همان طور که در شکل (5) نشان داده شده، حجم های مختلف اتانول (0/5-2/5 mL) مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج نشان داد که در حجم کم تر از 1/5 میلی لیتر محلول ابری به خوبی شکل نگرفته و در نتیجه باعث کاهش راندمان استخراج می گردد. بنابراین برای داشتن محلول ابری پایدار حجم مطلوب 1/5 میلی لیتر انتخاب شد.

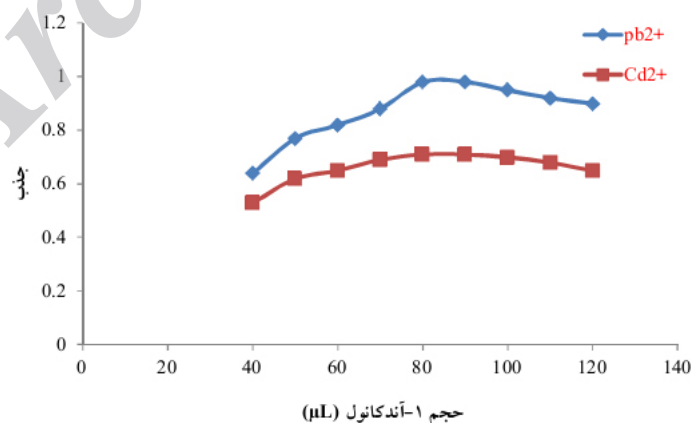
حجم های مختلف 1-آندکانول مورد بررسی قرار گرفت، باقی شرایط ثابت و اتانول 1/5 ml که حاوی 10 μL APDC و حلال استخراج کننده با حجم مختلف (40-100 μL) با فواصل 10 μL مورد مطالعه قرار گرفت. وقتی حجم حلال استخراج کننده افزایش یابد، فاز شناور افزایش اما فاکتور غنی سازی کاهش می یابد [17]. راندمان استخراج زمانی که 80 میکرو لیتر آندکانول استفاده شد، بیش ترین کارایی را داشت، لذا حجم مطلوب 80 μL انتخاب شد و نتایج در شکل (4) نشان داده شده است.

3-4 اثر نوع و حجم حلال پخش کننده

حلال پخش کننده باید در هر دو حلال استخراج کننده و نمونه آبی قابل اختلاط باشد. برای این منظور حلال های مختلفی



شکل (3) اثر غلظت APDC در میزان استخراج Pb^{2+} و Cd^{2+} شرایط: 5 میلی لیتر محلول نمونه که با 20 ppb سرب و 5 ppb کادمیوم آلوده شده است، pH=2/5، 1/5 میلی لیتر اتانول حاوی 80 μL 1-آندکانول و 10 μL APDC استفاده گردید



شکل (4) اثر حجم 1-آندکانول در میزان استخراج Pb^{2+} و Cd^{2+} شرایط: 5 میلی لیتر محلول نمونه که با 20 ppb سرب و 5 ppb کادمیوم آلوده شده است، pH=2/5، 1/5 mL اتانول استفاده گردید

3-5 اثر نمک

بنابراین اثر زمان استخراج در کارایی استخراج و میزان جذب در محدوده صفر الی 20 دقیقه بررسی گردید. نتایج نشان داد که زمان استخراج هیچ اثری عمده‌ای بر کارایی استخراج و میزان جذب ندارد. به دلیل این که سطح تماس مابین فاز استخراج‌کننده و فاز آبی خیلی زیاد است و بعد از تشکیل محلول کدر و ابری مانند، بلافاصله کمپلکس خنثی فلز-لیگاند در فاز آبی تشکیل و به داخل فاز استخراج‌کننده انتقال می‌یابد. بنابراین، به خاطر داشتن زمان آنالیز تا حد ممکن کوتاه، محلول کدر و ابری مانند بلافاصله بعد از تشکیل در دمای اتاق سانتریفیوژ می‌گردد. اثر دما نیز در محدوده دمایی صفر الی 60°C بررسی گردید. نتایج نشان داد که افزایش دما اثر خاصی بر سیگنال جذبی ندارد و حتی در دماهای بالاتر محلول ابری و کدر مانند سریع تشکیل نمی‌شود و نیاز به سرد کردن محلول دارد. بنابراین، دمای اتاق (25±1°C) به عنوان دمای بهینه در فرایند استخراج در نظر گرفته شد.

3-8 ارقام شایستگی

پارامترهای تجزیه‌ای مانند محدوده خطی، ضریب همبستگی، دقت و حد تشخیص برای ارزیابی کارایی روش اندازه‌گیری شد. در شرایط بهینه، سرب و کادمیم به ترتیب در محدوده غلظت 1000 - 0/3 و 1-200 نانو گرم بر میلی‌لیتر دارای حالت خطی است. تمامی نتایج تجزیه‌ای در جدول (2) آمده است. همان‌گونه که دیده می‌شود، روش پیشنهادی محدوده خطی خوبی برای سرب و کادمیم با مجذور ضریب همبستگی (R^2) به ترتیب 0/9925 و 0/9976 دارد. دقت روش با معیار درصد انحراف استاندارد نسبی (RSD%) برای 10 بار اندازه‌گیری مکرر سرب و کادمیم در غلظت 20 و 5 نانوگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب برابر 1/3 و 1/7 درصد است. حد تشخیص سرب و کادمیم بر اساس $3S_b/m$ انحراف استاندارد شاهد برای 20 اندازه‌گیری مکرر و m شیب منحنی کالیبراسیون است) به ترتیب برابر 0/10 و 0/31 نانوگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. نتایج حاصل نشان داد که روش پیشنهادی از حساسیت و پایداری خوبی برخوردار است و توانایی تجزیه سرب و کادمیم در سطوح غلظتی بسیار کم و جزئی را دارد.

3-9 بررسی نمونه‌های شیر

در این تحقیق به منظور قابل اجرا بودن روش میکرواستخراج

با ثابت نگه داشتن پارامترهای دیگر، تاثیر قدرت یونی بر عملکرد میکرواستخراج مایع-مایع پخشی بر اساس شناورسازی قطره آلی منجمد با اضافه کردن مقادیر مختلف NaCl در محدوده 0-1 (w/v)% ارزیابی گردید. با افزایش مقدار نمک در محدوده 0-0/5% کارایی استخراج افزایش یافت. نمک باعث افزایش قدرت یونی محیط و کاهش حلالیت حلال استخراج‌کننده در فاز آبی شده و فاکتور تغلیظ افزایش و در نتیجه راندمان استخراج نیز افزایش می‌یابد. هنگامی که مقدار بیش‌تری نمک (1-0/5%) اضافه شد، حجم فاز شناور افزایش یافته و به خاطر کاهش حلالیت حلال شناور در فاز آبی، فاکتور تغلیظ اندکی کاهش می‌یابد. در نتیجه راندمان استخراج در غلظت بالای نمک کاهش می‌یابد [17].

3-6 اثر شرایط سانتریفیوژ

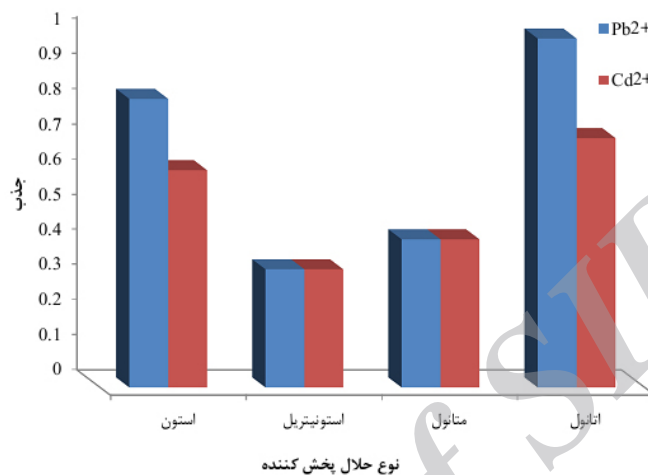
جهت جداسازی فاز آلی حاوی آنالیت سرب و کادمیم از توده محلول آبی از دستگاه سانتریفیوژ استفاده می‌شود. این کار یک مرحله مهم در استخراج به روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی بر اساس شناورسازی قطره آلی منجمد می‌باشد. در ضمن کارایی نهایی به جداسازی کامل توده فاز آلی مربوط است. بنابراین اثر سرعت دستگاه سانتریفیوژ در محدوده 1000 تا 5000 دور در دقیقه بررسی و مشاهده گردید که در سرعت بیش‌تر از 3000 دور بر دقیقه فاز آلی به‌طور کامل متراکم می‌گردد، لذا سرعت 4000 دور در دقیقه به‌عنوان سرعت بهینه انتخاب گردید. هم‌چنین مدت زمان سانتریفیوژ نیز در محدوده 0-20 دقیقه بررسی و معلوم شد در مدت زمان بیش‌تر از 4 دقیقه فاز ابری مانند به‌طور کامل متراکم و در بالای لوله جمع شده و می‌توان آن را منتقل نمود، بنابراین مدت زمان سانتریفیوژ 5 دقیقه انتخاب گردید.

3-7 اثر زمان و دمای استخراج

در تکنیک میکرواستخراج مایع-مایع پخشی بر اساس شناورسازی قطره آلی منجمد، زمان استخراج عبارت است از فاصله زمانی بین تزریق مخلوط حلال پخش‌کننده (اتانول) و حلال استخراج‌کننده (1-آندکانول) و شروع سانتریفیوژ.

جدول (2) پارامترهای تجزیه‌ای روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی براساس شناورسازی قطره منجمد آلی و اسپکتروسکوپی جذب اتمی کوره گرافیتی در اندازه‌گیری سرب و کادمیوم در نمونه‌های شیر پاستوریزه و استریلیزه

آنالیت	معادله منحنی کالیبراسیون	محدوده خطی (ng mL ⁻¹)	ضریب همبستگی (R ²)	حد تشخیص (ng mL ⁻¹)	درصد انحراف استاندارد نسبی (n=10)	فاکتور تغلیظ
سرب	$y = 0.0388x + 0.0862$	0/3-1000	0/9925	0/10	1/3	100
کادمیوم	$y = 0.147x + 0.0198$	1-200	0/9976	0/31	1/7	100



شکل (5) اثر نوع حلال پخش کننده در میزان استخراج Pb²⁺ و Cd²⁺ شرایط: 5 میلی‌لیتر محلول نمونه که با 20 ppb سرب و 5 ppb کادمیوم آلوده شده است، APDC 10 μL، pH=2/5، 80 μL-آندکانول استفاده گردید.

مایع-مایع پخشی براساس شناورسازی قطره آلی منجمد شیر، با غلظت مشخص از سرب و کادمیوم غنی شده و در تعیین سرب و کادمیوم، بعد از تعیین شرایط بهینه مورد آنالیز قرار گرفتند. نتایج به دست آمده در جدول‌های روش، مقدار سرب و کادمیوم در چند نمونه شیر پاستوریزه و استریلیزه اندازه‌گیری و با مقدار مجاز استاندارد مقایسه شد. بدین منظور تعداد 6 نمونه شیر پاستوریزه و استریلیزه از سوپر مارکت خریداری و به روش برنامه‌ریزی شده مورد آنالیز قرار گرفت. میزان مجاز سرب و کادمیوم در شیر طبق

3-10 مقایسه روش با روش‌های دیگر با توجه به ارقام شایستگی

روش پیشنهادی با روش‌های دیگر در جدول (6) مورد مقایسه قرار گرفته است. طبق نتایج میزان حد تشخیص و انحراف استاندارد نسبی این روش در مقایسه با سایر روش‌ها کم‌تر و فاکتور تغلیظ در آن بیش‌تر می‌باشد. فاکتور تغلیظ از نسبت غلظت آنالیت (سرب و کادمیوم) در فاز شناور به غلظت آنالیت در نمونه محاسبه شده است. بنابراین روش برنامه‌ریزی شده می‌تواند در آنالیز مقادیر جزئی سرب و کادمیوم در شیر پاستوریزه و استریلیزه مورد استفاده قرار گیرد.

کدکس 2000 (کمیته بررسی افزودنی‌های مواد غذایی در ژنو) به ترتیب 1 و 0/01 ppm می‌باشد [18]. نتایج حاصل از اندازه‌گیری در جدول (3) نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود میزان سرب و کادمیوم شیرهای پاستوریزه و استریلیزه در حد استانداردهای بین‌المللی بوده و مخاطره‌ای از نظر تجمع این فلزات در بدن برای مصرف‌کنندگان شیر به دنبال نخواهد داشت.

هم‌چنین برای بررسی صحت روش برنامه‌ریزی شده از روش افزودن مقدار مشخصی از محلول استاندارد به نمونه (آلوده‌سازی یا غنی‌سازی) استفاده شد، بدین منظور نمونه‌های

جدول (3) نتایج اندازه‌گیری سرب و کادمیوم در نمونه‌های شیر پاستوریزه و استرلیزه

نمونه	میزان سرب (ng mL^{-1})	میزان کادمیوم (ng mL^{-1})
شیر پاستوریزه 1	$1/30 \pm 0/04$	$2/07 \pm 0/02$
شیر پاستوریزه 2	$1/28 \pm 0/01$	$1/99 \pm 0/04$
شیر پاستوریزه 3	$2/38 \pm 0/06$	$0/86 \pm 0/10$
شیر استرلیزه 1	$1/67 \pm 0/02$	$0/87 \pm 0/01$
شیر استرلیزه 2	$1/42 \pm 0/10$	$0/75 \pm 0/02$
شیر استرلیزه 3	$1/23 \pm 0/07$	$0/60 \pm 0/10$

جدول (4) نتایج اندازه‌گیری سرب در نمونه‌های شیر پاستوریزه و استرلیزه آلوده شده با استاندارد سرب

نمونه	میزان سرب (ng mL^{-1})	اضافه کردن سرب (ng mL^{-1})	میزان سرب خوانده شده (ng mL^{-1})	درصد بازیابی
شیر پاستوریزه 1	$1/30 \pm 0/04$	2	$3/28 \pm 0/03$	99/4
شیر پاستوریزه 1	$1/30 \pm 0/04$	3	$4/22 \pm 0/02$	98/1
شیر استرلیزه 1	$1/67 \pm 0/02$	2	$3/55 \pm 0/04$	96/6
شیر استرلیزه 1	$1/67 \pm 0/02$	3	$4/68 \pm 0/10$	100/1

جدول (5) نتایج اندازه‌گیری کادمیوم در نمونه‌های شیر پاستوریزه و استرلیزه آلوده شده با استاندارد کادمیوم

نمونه	میزان کادمیوم (ng mL^{-1})	اضافه کردن کادمیوم (ng mL^{-1})	میزان کادمیوم خوانده شده (ng mL^{-1})	درصد بازیابی
شیر پاستوریزه 2	$1/99 \pm 0/04$	2	$3/88 \pm 0/10$	97/2
شیر پاستوریزه 2	$1/99 \pm 0/04$	3	$4/91 \pm 0/02$	98/3
شیر استرلیزه 2	$0/75 \pm 0/02$	2	$2/72 \pm 0/04$	98/8
شیر استرلیزه 2	$0/75 \pm 0/02$	3	$3/70 \pm 0/10$	98/6

جدول (6) مقایسه روش پیشنهادی با سایر روش‌ها در اندازه‌گیری سرب و کادمیوم در شیر پاستوریزه و استرلیزه

مرجع	فاکتور تغلیظ	انحراف استاندارد نسبی (%)	حد تشخیص ($\mu\text{g L}^{-1}$)	نوع روش
[19]	24/6	3/2	2/8	on-line solvent extraction-GFAAS
[20]	100	3/2	2/9	Coprecipitation- GFAAS
[21]	59/4	1/3	1/3	SPE-GFAAS
[22]	50	1/2	5/9	CPE-GFAAS
[23]	65	7/4	0/7	SDME-GFAAS
[13]	125	3/5	0/6	DLLME-GFAAS
[24]	57-96	3/4-7/5	0/1-0/3	DLME-SFO ICP-OES
روش پیشنهادی				
-	100	1/33	0/1	سرب
-		1/7	0/3	کادمیوم

4- نتیجه‌گیری

فشار بخار کم، نقطه ذوب کم و همچنین چگالی آن کم‌تر از آب است و یکی از مهم‌ترین الزامات برای توسعه روش برنامه‌ریزی شده می‌باشد، استفاده گردید. حلال پخش‌کننده نیز باید با فازهای آلی (حلال استخراج‌کننده) و آبی (محلول نمونه) قابلیت اختلاط خوبی داشته باشد و در نتیجه حلال اتانول به‌عنوان حلال پخش‌کننده انتخاب گردید. از آمونیوم پیرولیدین دی‌تیوکربومات به‌عنوان معرف کمپلکس‌کننده استفاده شد به‌دلیل این‌که نمونه‌ها در محیط اسیدی تهیه و نگهداری می‌شوند این امر مزیت مهمی به‌شمار می‌رود و موجب تسهیل در مراحل پیش تغلیظ و جداسازی نمونه می‌شود. با توجه به نتایج حاصله میزان سرب و کادمیوم در حد مجاز در کدکس 2000 (سرب 1 ppm و کادمیوم 0/01 ppb) می‌باشد، با این وجود بهتر است دامداری‌ها تا حد امکان با فاصله بیشتری از مناطق آلوده و پر ترافیک ساخته شوند و در تهیه غذای دام به آنالیز مواد، به‌ویژه میزان آلاینده‌ها و فلزات سنگین توجه گردد تا حد امکان بتوان راه‌های جذب گوارشی و تنفسی سرب و کادمیوم را به حداقل رساند.

در این مطالعه تکنیک جدید آماده‌سازی نمونه شامل میکرواستخراج مایع-مایع پخشی بر اساس شناورسازی قطره آلی منجمد جهت اندازه‌گیری مقادیر جزئی سرب و کادمیوم در نمونه‌های شیر توسعه و بهینه گردید. این تکنیک ساده، دقیق، کم هزینه، حساس و سریع با مصرف کم حلال آلی بوده که از نظر محیط زیست نگران‌کننده نمی‌باشد. همچنین راندمان استخراج بالا و حلال استخراج‌کننده با ابزارهای آنالیز هم‌چون کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و اسپکترومتری نشر نوری با پلاسما جفت شده القایی سازگار است. در این روش زمان استخراج کوتاه‌تر بوده، زیرا بعد از تشکیل محلول ابری که متشکل از قطرات بسیار ریز استخراج‌کننده (1-آندکانول) می‌باشد، داخل نمونه آبی پخش می‌شود، بنابراین سطح تماس بین حلال استخراج‌کننده و محلول نمونه زیاد بوده و در نتیجه انتقال جرم سریع‌تر و زمان استخراج کوتاه‌تر و کارایی استخراج بالا می‌رود. از حلال 1-آندکانول به‌عنوان حلال استخراج‌کننده که دارای ویژگی‌های حلالیت کم در آب،

منابع

- [1] Waston, D.H. (2001). *Food chemical safety*. 1st ed., CRC Press Boca Raton FL, VOL. 1, contaminants, pp 1-12.
- [2] Pereira, J.S.F., Pereira, L.S.F., Schmidt, L., Moreria, C.M., Barin, J.S., Flores Erico, M.M. (2013). Metals determination in milk powder samples for adult and infant nutrition after Focused- microwave induced combustion. *Microchem. J.*, 109, 29-35.
- [3] Khan, N., Jeong, I.S., Hwang, I.M., Kim, J.S., Choi, S.H., Nho, E.Y., Choi, J.Y., Park, K.S., Kim, K.S. (2014). Analysis of minor and trace elements in milk and yogurts by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP- Ms). *Food Chem.*, 147, 220-224.
- [4] Munoz, E., palmero, S. (2004). Determination of heavy metals in milk by potentiometric stripping analysis using a home-made flow cell. *Food Control*, 15, 635-641.
- [5] Solis, C., Isaac- olive, K., uireles, A., vidal- Hernandez, M. (2009). Determination of trace metals in cow's milk from waste water irrigated areas in central Mexico by chemical treatment coupled to PIXE. *Microchem. J.*, 91, 9-12.
- [6] Najafi, N.M., Eidizadeh, M., seidi, S., Ghasemi, E., Alizadeh, R. (2009). Developing electrodeposition techniques for preconcentration of ultra- traces of Ni, Cr and pb prior to arc- atomic emission spectrometry determination. *Microchem. J.*, 93, 159-163.
- [7] Ataro, A., crindle, R.I.M., Botha, B.M., Crindle, C.M.E.M., Ndibewn, P.P. (2008). Quantification of trace elements in raw cow's milk by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). *Food Chem.*, 111, 243-248.
- [8] Krejcora, A., kahoun, D., cernohorsky, T., pouzar,

- samples. *J. Hazard. Mater.*, 178, 766–770.
- [16] Durukan, I., Arpa Şahin, C., Bektaş, S. (2011). Determination of copper traces in water samples by flow injection-flame atomic absorption spectrometry using a novel solidified floating organic drop microextraction method. *Microchem. J.*, 98, 215–219.
- [17] Mirzaei, M., Behzadi, M., Mahmoud Abadi, N., Beizaei, A. (2011). Simultaneous Separation /preconcentration of ultra-trace heavy metals in industrial wastewaters by dispersiveliquid–liquid microextraction based on solidification of floating organic drop prior to determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *J. Hazard. Mater.*, 186, 1739–1743.
- [18] Charter, M.H. (2000). *Food Safety and Toxicology*. Wolf Publication, pp: 54-56.
- [19] Anthemidis, A.N., Zachariadis, G.A., Stratis, J.A. (2003). Development of an on-line solvent extraction system for electrothermal atomic absorption spectrometry utilizing a new gravitational phase separator. Determination of cadmium in natural waters and urine samples. *J. Anal. At. Spectrom.* 18, 1400-1403.
- [20] Atsumi, K., Minami, T., Uada, J. (2005). Determination of cadmium in spring water by graphite-furnace atomic absorption spectrometry after coprecipitation with ytterbium hydroxide. *Anal. Sci.*, 21, 647-649.
- [21] Wang, J., Hansen, E.H. (2002). Sequential injection on-line matrix removal and trace metal preconcentration using a PTFE beads packed column as demonstrated for the determination of cadmium by electrothermal atomic absorption spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* 17, 248-252.
- [22] Zhu, X., Zhu, X., Wang, B. (2006). Determination of trace cadmium in water samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry after cloud point extraction. *Microchim. Acta*, 154, 95-100.
- [23] Fan, Z., Zhou, W. (2006). Dithizone-chloroform M. (2006). Determination of macro and trace element in multivitamins preparations by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with slurry sample introduction. *Food Chem.*, 98, 171-178
- [9] Tuzen, M., soylak, M. (2004). Column system using diaion HP- 2MG for determination of some metal ions by flame atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 504, 329- 334.
- [10] Ninwong, B., Chuanuwatanaku, S., Chaila pakul, O., Dungchai, W., Motomizu, S. (2012). online preconcentration and determination of lead and cadmium by seauential injection/ anodic stripping voltammetry. *Talanta*, 96, 75-81.
- [11] Bruhn, J.C., Franke, A.A. (1976). Lead and cadmium in California raw milk. *J. Dairy Sci.*, 59, 10, 1711-1717.
- [12] Rezaee, M., Yamini, Y., Faraji, M. (2010). Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method. *J. Chromatogr. A.*, 1217, 2342-2357.
- [13] Zeini Jahromi, E., Bidari , A., Assadi, Y., Milani Hosseini, M.R., Jamali, M.R. (2007). Dispersive liquid–liquid microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry Ultra trace determination of cadmium in water samples. *Anal. Chim. Acta*, 585, 305–311.
- [14] Dadfarnia, Sh., Haji Shabani, A.M., Kamranzadeh, E. (2009). Separation/preconcentration and determination of cadmium ions by solidification of floating organic drop microextraction and FI-AAS. *Talanta*, 79, 1061–1065.
- [15] Rezaee, M., Yamini, Y., Khanchi, A., Faraji, M., Saleh, A. (2010). A simple and rapid new dispersive liquid–liquid microextraction based on solidification of floating organic drop combined with inductively coupled plasma-optical emission spectrometry for preconcentration and determination of aluminium in water

single drop microextraction system combined with electrothermal atomic absorption spectrometry using Ir as permanent modifier for the determination of Cd in water and biological samples, *spectrochim. Acta Part B*, 61, 870-874.

[24] Yamini, Y., Rezaee, M., Khnchi, A., Faraji, M., Saleh, A. (2010), Dispersive liquid-liquid microextraction based on the solidification of floating organic drop followed by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry as a fast technique for the simultaneous determination of heavy metals. *J. Chromatogr. A* 1217, 2358-2364.

Archive of SID