

اندازه‌گیری مقادیر ناچیز ۴- کلروفنل در نمونه‌های آب دریا با استفاده از طیف‌نورسنجی پس از استخراج جذبی آن به‌وسیله میله چرخان پوشش‌دار شده با بسیار قالب مولکولی

سید حسین هاشمی^{۱*}، مسعود کیخواتی^۲، فهیمه نجاری^۳ و زهرا منفردزاده^۳

- ۱- استادیار شیمی تجزیه، گروه شیمی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
- ۲- استاد شیمی تجزیه، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران
- ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد شیمی دریا، گروه شیمی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، ایران

دریافت: مهر ۱۳۹۶، بازنگری: بهمن ۱۳۹۶، پذیرش: فروردین ۱۳۹۷

چکیده: در این پژوهش، روش استخراج جذبی با میله چرخان پوشش‌دار شده با یک بسیار قالب مولکولی جدید برای استخراج انتخابی ۴- کلروفنل، به‌طور مستقیم از آب دریا، به‌کار رفته است. برای تهیه قالب مولکولی، از بسیار وینیل‌پیریدین و از ۴- کلروفنل به‌عنوان مولکول الگو استفاده شد. برای جذب آنالیت‌ها، میله چرخان به‌طور مستقیم در نمونه آب دریا قرار داده و سپس، برای واجذب آنالیت، به ظرف شیشه‌ای محتوی ۲/۵ میلی‌لیتر استونیتریل منتقل شد. برای تعیین غلظت ۴- کلروفنل، این محلول در میکروکووت یک طیف‌نورسنج در برابر محلول شاهد قرار گرفته و در طول موج ۲۹۲ نانومتر اندازه‌گیری انجام شد. تأثیر عامل‌های متفاوت روی بازده استخراج بررسی و شرایط بهینه به این‌صورت به‌دست آمد: زمان‌های جذب و واجذب ۲۰ دقیقه تعیین شدند، سرعت چرخش همزن ۵۰۰ دور بر دقیقه بود، pH روی ۵/۵ تنظیم شد و غلظت NaCl افزوده‌شده به نمونه استانداردها، برابر ۰/۳۵ میکروگرم بر لیتر بود. همچنین، فرایند استخراج در دمای ۴۰ °C انجام شد. گستره خطی منحنی واسنجی برای ۴- کلروفنل ۱/۰ تا ۸۰/۰ میکروگرم بر لیتر به‌دست آمد. تحت شرایط بهینه، حد تشخیص ۰/۳۳ میکروگرم بر لیتر با عامل تغلیظ برابر ۹۷ برای این آنالیت به‌دست آمد. این روش با موفقیت برای تجزیه مقادیر اندک ۴- کلروفنل در آب خلیج چابهار استفاده و مقادیر آن از ۱/۵ تا ۲/۵ میکروگرم بر لیتر در نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. تکرارپذیری روش به‌صورت انحراف استاندارد نسبی برای ده بار اندازه‌گیری نمونه حقیقی، بین ۰/۶۹ تا ۵/۷ درصد بود.

واژه‌های کلیدی: ۴- کلروفنل، قالب مولکولی روی میله، طیف‌نورسنجی، تجزیه آب دریا، خلیج چابهار

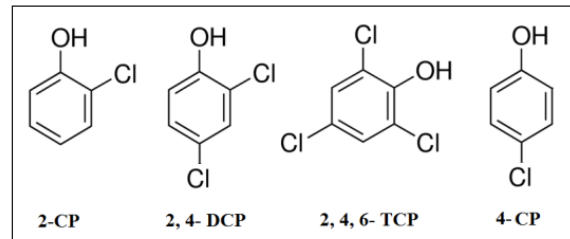
مقدمه

بیشتر در آب، خاک و رسوب‌ها دیده شده‌اند. ساختار برخی از کلروفنل‌ها در شکل ۱ نشان داده‌شده است. مقدار مجاز این ترکیب‌ها در آب ۰/۱ میکروگرم بر لیتر برای هر ترکیب فنلی و برای کل فنل، ۰/۵ میکروگرم بر لیتر است [۴]. به دلیل سمیت بالای این ترکیب‌ها، تجزیه کلروفنل‌ها و توسعه روش‌های جدید

ترکیب‌های فنلی و کلروفنل‌ها در فرایندهای متفاوت ساخت فراورده‌هایی از قبیل رنگ‌ها، پلاستیک‌ها، کاغذها، آفت‌کش‌ها و فراورده‌های پتروشیمیایی کاربرد دارند، اما در عین حال از مهم‌ترین آلاینده‌های محیط‌زیست بشمار می‌روند [۳ تا ۱]. آن‌ها

بسیاری سبه‌بعدی ساکن نگه‌داشته شده و سپس، مولکول الگو از بسیار خارج می‌شود. پس از انتقال و خارج شدن مولکول الگو از بسیار، فضای موجود در آن که ابتدا با مولکول الگو پر شده بود، به شکل یک حفره باقی می‌ماند. در صورت تماس مجدد حفره‌ها با مولکول هدف، پیوند مجدد برقرار و آنالیت جذب می‌شود. این روش انتخاب‌پذیر، تکرارپذیر، ارزان، ساده و با ظرفیت بالا در جذب آنالیت‌ها از نمونه است. بسیار وینیل‌پیریدین به‌کاررفته برای ساخت جاذب، برای استخراج ۴-کلروفنل، تمام ویژگی‌های لازم را دارد [۱۳ تا ۱۶]. استخراج با میله همزن جاذب^۲ (SBSE) در سال ۱۹۹۹ توسط بالتوسن^۴ و همکارانش معرفی شد. در این روش، یک هسته مغناطیسی چرخان در محفظه شیشه‌ای جای گرفته و سپس، با جاذبی که استخراج را انجام می‌دهد، پوشش داده می‌شود. در استخراج با میله همزن جاذب، پوشش بسیاری، محیطی جاذب برای استخراج آنالیت‌های هدف فراهم می‌آورد. به این صورت که ابتدا بخشی از آنالیت به داخل پوشش بسیاری میله همزن استخراج می‌شود و سپس، میله همزن از نمونه بیرون آورده و ترکیب‌های جذب‌شده با گرما یا شستشو به‌وسیله یک مایع از آن جدا و وارد دستگاه تجزیه‌ای می‌شوند. همین‌طور، وظیفه هم‌زدن و ایجاد همرفت در محلول نیز برعهده این میله است. اساس جذب با SBSE مشابه SPME است، اما حجم فاز استخراجی آن بزرگ‌تر است. از آنجایی که SBSE‌های موجود در بازار پوشش‌های غیر قطبی دارند، نمی‌توانند برای استخراج ترکیب‌های قطبی و نیم‌قطبی به‌کار روند، مگر اینکه آنالیت با مشتق‌سازی به گونه‌های آب‌گریز تبدیل شود که این عمل همیشه ممکن نیست. راه بهتر آن است که فازهای استخراج‌کننده جدیدی برای ترکیب‌های قطبی بر SBSE پوشش داده شوند [۱۷ و ۱۸]. یکی از روش‌های ساخت پوشش با انتخاب‌گری بالا آن است که بسیار قالب مولکولی به عنوان فاز استخراج‌کننده روی سطح شیشه نشانه شود. این روش، میله چرخان پوشش‌دار شده با بسیار‌های قالب مولکولی^۵ (MIPSB) نامیده می‌شود. برای ساخت، ابتدا سطح شیشه با سود آبکافت شده و سپس هیدرکلریدریک اسید

برای اندازه‌گیری آن‌ها ضروری به نظر می‌رسد [۱]. روش‌های متنوعی مانند سوانگاری مایع با کارایی بالا، سوانگاری گازی، سوانگاری^۱ گازی- طیف‌سنجی جرمی، الکتروفورز موئینه و طیف‌نورسنجی برای تعیین فنل‌ها به‌کار رفته‌اند [۵ تا ۷].



شکل ۱ ساختار شیمیایی برخی از کلروفنل‌ها:
 (۲- کلروفنل (2-CP)، ۲ و ۴- دی کلروفنل (2,4-DCP)،
 ۴، ۶- تری کلروفنل (2,4,6-TCP)، ۴- کلروفنل (4-CP)).

اندازه‌گیری کلروفنل‌ها با توجه به غلظت ناچیزشان و مزاحمت بافت در نمونه‌های حقیقی مانند آب دریا به‌طور مستقیم با دستگاه‌های تجزیه‌ای ممکن نیست [۸ و ۹]. استفاده از یک مرحله پیش‌تغلیظ می‌تواند بر این مشکل‌ها غلبه کند، زیرا ترکیب‌های مورد اندازه‌گیری، تغلیظ شده و همچنین، عوامل مزاحم نیز هم‌زمان حذف می‌شوند. برای پیش‌تغلیظ ترکیب‌های فنلی، تاکنون روش‌هایی از قبیل استخراج فاز جامد (SPE) [۱]، استخراج مایع- مایع [۵]، میکرواستخراج فاز جامد (SPME) [۱ و ۵]، استخراج جذبی با میله چرخان^۲ (SBSE) با پوشش‌های پلی‌اتیلن‌گلیکول و پلی‌اکریلیک [۷]، پلی‌وینیل‌پیریدین- دی‌متاکریلیک اسید [۱۰]، بتاسیکلودکسترین پیوند شده با ذره‌های سیلیکا [۱۱] و فتالازین‌کتون اتر سولفون [۱۲] و میکرواستخراج تک قطره (SDME) [۱] به‌کاربرده شده‌اند.

ساخت بسیار قالب مولکولی فرایندی است که در آن با یک مولکول هدف، قالبی به‌اندازه مولکول الگو برای استخراج آن درون یک شبکه بسیاری ایجاد می‌شود. در این روش، ابتدا تکپار عاملی و مولکول الگو با یکدیگر پیوند شده و پس از مدتی کمپلکس تشکیل می‌شود. کمپلکس تکپار-الگو در یک شبکه

1. Chromatography 2. Stir Bar Sorption Extraction 3. Stir bar sorption extraction 4. Baltussen
 5. Molecularly imprinted polymer coated stir bar

(مدل q-01701، ساخت شرکت استارنا انگلستان) انجام شد. یک طیف‌سنج فرورسرخ تبدیل فوریه^۵ (FTIR) ساخت شرکت پركين المر انگلیس برای تجزیه کیفی و تعیین ساختار به کار رفت. pH محلول‌ها با استفاده از یک pH متر متروم ۶۳۰ (ساخت کشور سوئیس) با الکتروود شیشه- کالومل تعیین شد.

روش ساخت MIPSB

یک میله آهنی مغناطیسی (آهن‌ریا) به ابعاد ۲ mm × ۰.۵ cm درون یک لوله شیشه‌ای به ضخامت ۵ میلی‌متر به طوری قرار گرفت که به طور کامل داخل آن ثابت و سپس، دو انتهای لوله با شعله مسدود شد. برای نشان دادن روکش بسپاری روی شیشه، ابتدا میله شیشه‌ای به مدت ۸ ساعت در محلول سدیم هیدروکسید یک مولار قرار گرفت تا سطح آن فعال شود. پس از آن با آب شسته شد و یک ساعت در محلول یک مولار HCl قرار گرفت. سپس، با آب شسته و در یک آون در دمای ۱۵۰ °C قرار داده شد تا خشک شود. برای اتصال پل به سطح فعال شده شیشه، میله شیشه‌ای سه ساعت در محلول (v/v) ۲۵٪، ۳- متا آکریلوکسی پروپیل‌تری‌اتوکسی سیلان در استون قرار داده شد (شکل ۲). در انتها، این میله با متانول شسته و با نیتروژن خشک شد. به این ترتیب میله شیشه‌ای برای اتصال به بسپارهای قالب مولکولی آماده شد [۱۹ و ۱۸].

برای آماده‌سازی بسپار، در یک ظرف شیشه‌ای سر بسته ۱۰۰ میلی‌لیتری، ۱۲۹ میلی‌گرم ۴-کلروفنل را در ۶ میلی‌لیتر استونیتریل حل کرده، به آن ۰.۴۰ میلی‌لیتر ۴-وینیل‌پیریدین (مونومر عاملی) افزوده شد. سپس، مقدار ۳/۸۰ میلی‌لیتر از اتیلن گلیکول دی‌متا آکریلات و ۴۰ میلی‌گرم ۲ و ۲-آزوبیس‌ایزوبوتیرونیتریل (آغازگر) به محلول افزوده شد. آنگاه، میله شیشه‌ای آماده شده، در این محلول قرار گرفت. در ظرف با استفاده از درپوش آلومینیومی با دستگاه پرس مهر و موم شد. واکنش بسپارش در حمام آب و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت انجام گرفت (شکل ۲). بسپار غیر منقوش (NIP)^۶ نیز طبق روال بالا اما بدون

افزوده تا سطح آن برای پیوند با پل (رابط بین سطح شیشه و اتصال‌دهنده عرضی) آماده شود. طرف آزاد این پل پیوند دوگانه دارد و می‌تواند با پیونددهنده عرضی و بسپار قالب مولکولی وارد واکنش شود. در ادامه، تکپار، شروع‌کننده و مولکول الگو نیز افزوده و بسپار بر SBSE تشکیل می‌شود. در پایان، مولکول الگو با حلال مناسب زدوده می‌شود و برای جداسازی مولکول الگو از محیط‌های متفاوت آماده می‌شود [۱۸ و ۱۹]. استخراج جذبی با میله چرخان با پوششی مانند پلی‌اتیلن گلیکول و پلی‌اکریلیک [۷]، پلی‌وینیل پیریدین-دی‌متا‌اکریلیک اسید [۱۰]، بتاسیکلودکسترین پیوند شده با ذره‌های سیلیکا [۱۱] و فتالازین‌کتون اتر سولفون [۱۲] برای استخراج و پیش‌تغلیظ کلروفنل‌ها گزارش شده است، اما تاکنون گزارشی مبنی بر استفاده بسپارهای قالب مولکولی برای استخراج و پیش‌تغلیظ کلروفنل‌ها ارائه نشده است. در این پژوهش، ابتدا MIPSB انتخاب‌گر ۴-کلروفنل ساخته شده و روش استخراج این مولکول از نمونه آب‌های خلیج چابهار بهینه‌سازی شد. سپس، اندازه‌گیری این ترکیب در آب‌های مجاور چهار اسکله خلیج چابهار انجام شد.

بخش تجربی

مواد و دستگاه‌ها

ترکیب‌های ۴-کلروفنل (4-CP)، ۴-وینیل‌پیریدین^۱ (4-VP)، اتیلن گلیکول دی‌متا‌اکریلات^۲ (EGDMA)، ۲ و ۲-آزوبیس‌ایزوبوتیرونیتریل^۳ (AIBN) از شرکت سیگما-آلدريج آمریکا خریداری شدند. نمک‌ها و حلال‌های مورد استفاده با درجه خلوص تجزیه‌ای از شرکت مرک آلمان یا آلدريج آمریکا خریداری شدند. برای تهیه محلول‌ها از آب دوبار تقطیر استفاده شد. برای تهیه محلول استوک استاندارد ۴-کلروفنل، ۱۰ میکروگرم از آن در یک میلی‌لیتر استونیتریل حل شده و سپس با آب دوبار تقطیر تا حجم ۱۰ میلی‌لیتر رقیق شد. تمام اندازه‌گیری‌ها با یک طیف‌نورسنج فتونیکس^۴ مدل UV-Vis ۲۰۱۵ (ساخت ایران) و در طول موج ۲۹۲ نانومتر در میکروسول‌های ۳۰۰ میکرولیتری کوارتزی

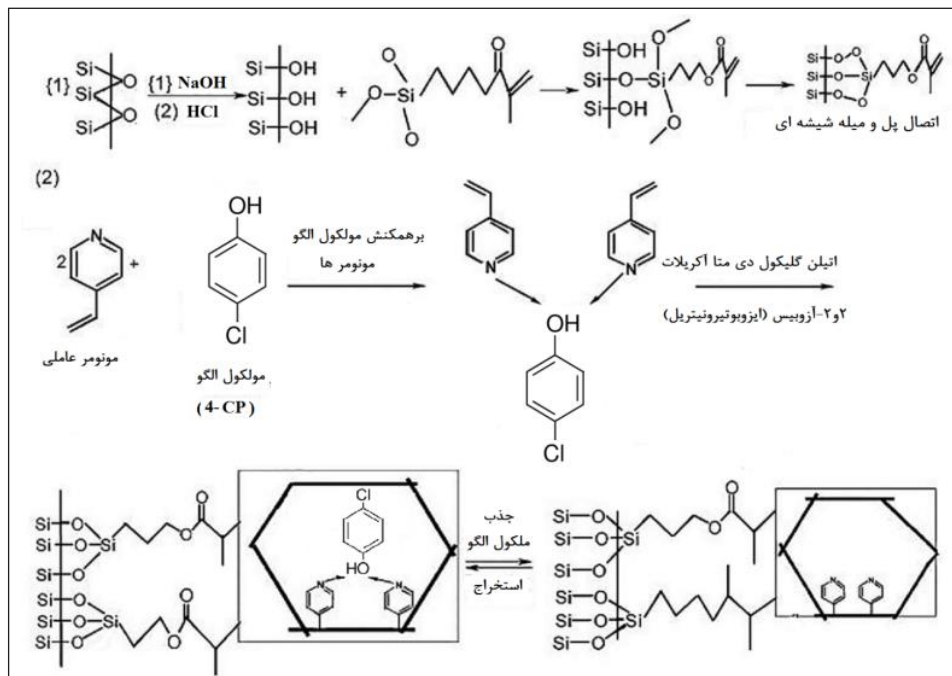
1. 4-Vinylpyridin 2. Ethylene Glycol Dimethacrylate 3. 2,2-Azobisisobutyronitrile 4. Photonix Ar 5. Fourier Transform Infrared (FTIR) 6. Non Imprinted Polymer

MIPSB در ۵ میلی‌لیتر متانول قرار داده شد و به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰ rpm هم به چرخش در آمد. آنگاه برای حذف مولکول الگو، آن را با محلول هیدروکلریدریک اسید ۰.۵ مولار شسته و محلول شستشو در دستگاه طیف‌نورسنج قرار گرفت. عدم جذب در ۲۹۲ نانومتر با بیانگر حذف مولکول الگو (۴-کلروفنل) است.

حضور مولکول الگو (4-CP) ساخته و روی یک میله دیگر پوشش داده شد. این میله همزن، پوشش‌دار شده با بسیار غیر منقوش (NIPSB) نامیده می‌شود.

آماده‌سازی MIPSB برای عمل استخراج

پس از تهیه بسیار، به‌منظور حذف مواد شیمیایی واکنش نکرده،



شکل ۲ طرح وارهایی از روش ساخت پوشش ایجادشده روی SBSE به کار رفته در این پژوهش

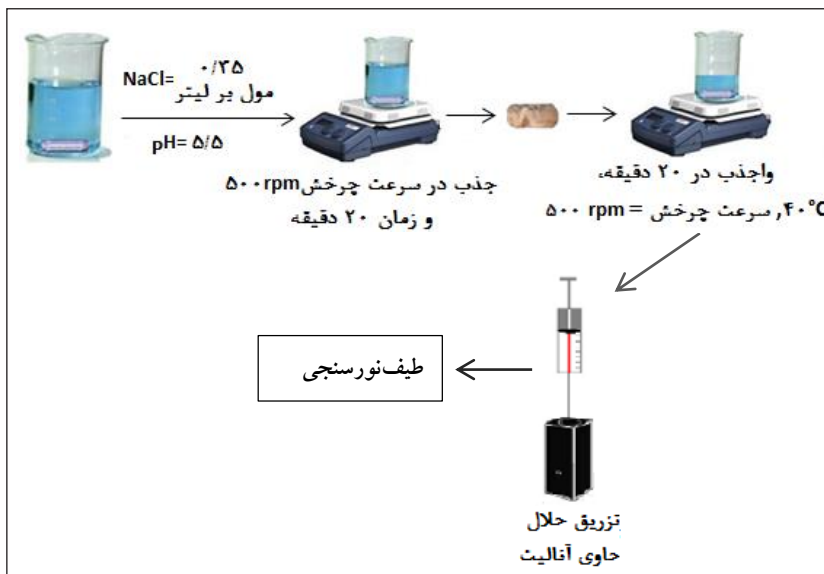
استخراج و شستشو، pH محلول نمونه، دمای واجذب، نوع حلال شوینده، سرعت چرخش میله، غلظت نمک موجود در نمونه و حجم نمونه بررسی و بهینه شدند. برای بهینه‌سازی از محلول 4-CP با غلظت ۸۰ میکروگرم بر لیتر استفاده شد و تحت شرایط بهینه، روش استخراج به این صورت بود که pH محلول نمونه روی ۵٫۵ تنظیم‌شده و میله همزن، با سرعت ۵۰۰ rpm به چرخش درآمد و به مدت ۲۰ دقیقه برای جذب ۴-کلروفنل هم‌زده شد. سپس محلول مورد استخراج دور ریخته و برای واجذب، MIPSB به یک بشر کوچک منتقل

روش کار استخراج

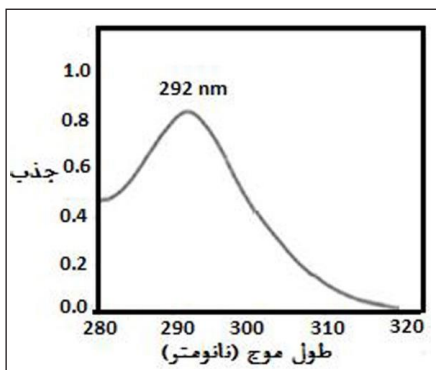
پس از آنکه MIPSB برای حذف مولکول الگو آماده شد، در MIPSB در حجم معینی از محلول حاوی ۴-کلروفنل قرار گرفت. پس از اتمام استخراج، آن را با حلال مناسب شسته و محلول شستشو با دستگاه طیف‌نورسنج اندازه گرفته شد. درنهایت، با توجه به نتایج جذب داده‌شده با دستگاه طیف‌نورسنج، کارایی MIPSB برای حذف مولکول الگو بررسی شد. به منظور بهینه‌سازی روش برای جذب ۴-کلروفنل با MIPSB، عامل‌های مؤثر بر استخراج مانند زمان

برای تعیین درصد استخراج MIPSB با دستگاه طیف‌نورسنج مورد سنجش واقع شد (شکل ۳). در شکل ۴، طیف جذبی 4-CP پس از استخراج با روش یادشده مشاهده میشود.

شد. در آنجا با ۲/۵ میلی‌لیتر حلال شستشو (استونیتریل) در سرعت چرخش ۵۰۰ rpm و دمای واجذب ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفت. در پایان فراورده به‌دست آمده،



شکل ۳ روش کار استخراج با MIPSB



شکل ۴ نمونه‌ای از طیف جذبی 4- کلروفنل با غلظت ۵۰ میکروگرم بر لیتر در شرایط: زمان‌های جذب و واجذب ۲۰ دقیقه، سرعت چرخش ۵۰۰ دور بر دقیقه، pH برابر با ۵/۵ و فرایند استخراج در دمای ۴۰ °C (محلول شاهد در این گستره فاقد جذب است).

بررسی طیف‌های فروسرخ تبدیل فوریه

برای اطمینان از حذف مولکول الگو (4- کلروفنل) از بسپار، طیف‌های فروسرخ تبدیل فوریه بسپار تهیه‌شده پیش و پس از

نتیجه‌ها و بحث

بررسی کارایی روش

کارایی روش MIPSB با بیان عامل‌هایی از قبیل درصد بازیابی و عامل تغلیظ موردبررسی قرار می‌گیرد. نتایج به‌دست آمده از محاسبه این عامل‌ها در بخش بعدی موردبررسی قرار می‌گیرد. به منظور مقایسه کمی بین آزمایش‌های انجام شده، مقدار استخراج^۱ محاسبه شد (معادله ۱).

با تقسیم کردن مقدار آنالیت واجذب‌شده به مقدار اولیه آنالیت، مقدار استخراج به‌دست می‌آید.

$$E^1 = 100 (C_B / C_A) \quad (1)$$

که در آن C_A و C_B به ترتیب غلظت آنالیت پیش و پس از استخراج و E^1 ، درصد استخراج هستند. ضریب تغلیظ (EF) با کمک معادله ۲ به‌دست آمده است [۱۸].

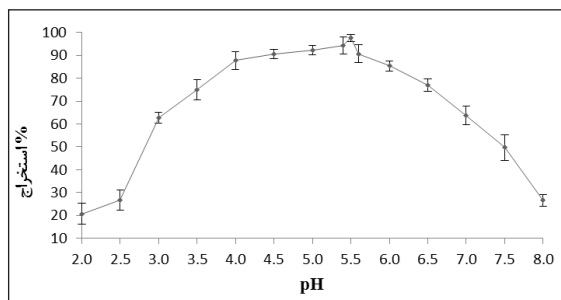
$$EF = \text{استخراج} \times \text{حجم شویش نهایی} / \text{حجم نمونه} \quad (2)$$

1. Extraction 2. Enrichment Factor

اندازه‌گیری‌ها در برابر محلول شاهد انجام شده و برای تعیین غلظت از یک نمودار واسنجی^۲ خارجی برای اندازه‌گیری کمی استفاده شده است.

اثر pH

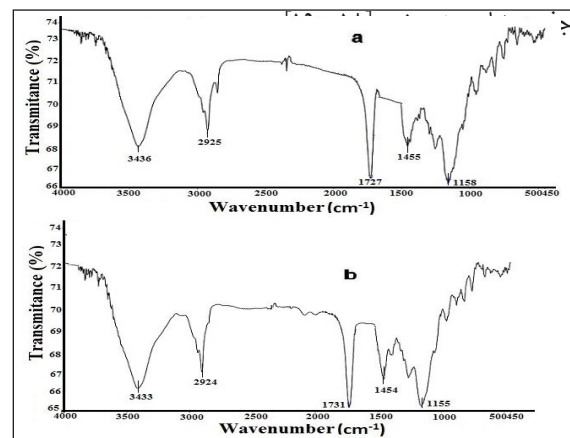
برای به دست آوردن شرایط pH بهینه محلول نمونه برای استخراج، MIPSB در ده میلی‌لیتر محلول حاوی ۸۰ میکروگرم بر لیتر ۴- کلروفنل قرار گرفته و pH آن تنظیم شد. برای این تنظیم، محلول یک مولار سود و یا یک مولار کلریدریک اسید استفاده شد. نتایج اثر pH در گستره ۲٫۰ تا ۸٫۰ بر کارایی استخراج در شکل ۶ آمده است. همان گونه که دیده می‌شود، بازده استخراج با افزایش pH از ۲٫۰ تا ۵٫۵، افزایش می‌یابد و بالاترین بازیابی، در pH برابر با ۵٫۵ است. برای ۴- کلروفنل، pK_a بیشتر از ۷ است، بنابراین، در pH برابر با ۵٫۵ پیوند هیدروژنی بین گروه هیدروکسیل فنل و اتم‌های نیتروژن در گروه‌های پیریدین بسیار افزایش می‌یابد. در نتیجه، جذب قوی‌تر بسیار، برای این ترکیب است [۲۰ و ۲۱]. کاهش قابل توجه بازیابی در pH های بالا می‌تواند به دلیل این باشد که حفره‌های MIPSB برای مولکول‌های خنثی کلروفنل‌ها مناسب هستند، اما چون در pH بالاتر، ۴- کلروفنل به گونه‌های آنیونی تبدیل می‌شود، نمی‌تواند وارد حفره‌های بسیار شود. کاهش در مقدار استخراج در pH پایین به این دلیل است که هیدروژن آزاد با گروه هیدروکسیل ترکیب‌های فنلی رقابت می‌کند و برهم‌کنش قوی‌تری با نیتروژن پیریدین در موقعیت‌های فعال حفره‌های بسیار روی داده، که باعث ایجاد مزاحمت برای جذب ۴- کلروفنل با آن می‌شود. بنابراین، pH بهینه برای استخراج این ترکیب، برابر ۵٫۵ در نظر گرفته شد.



شکل ۶ نمودار اثر pH بر کارایی استخراج 4-CP با MIPSB

1. Recovery 2. Calibration

شستشو با محلول کلریدریک اسید ۰٫۵ مولار ثبت شد. حدود ۱۵ میلی‌گرم بسیار پیش و پس از شستشو با ۴۰۰ میلی‌گرم پتاسیم برمید خالص و خشک، مخلوط و به صورت یک پودر نرم و یکنواخت درآورده شدند. این پودرها با دستگاه قرصساز، به صورت یک قرص نازک و شفاف آماده و سپس، طیف فروسرخ تبدیل فوریه آن‌ها ثبت شد (شکل ۵). نوار مربوط به گروه‌های وینیل در ناحیه ۱۶۳۸ تا ۱۶۴۸ cm^{-1} در این طیف‌ها مشاهده نمی‌شود و نشان‌دهنده این است که گروه‌های وینیل پیریدین بسیار شده و بنابراین، اثبات شد که بسیار تشکیل شده است. تفاوت‌های موجود در طیف‌های فروسرخ تبدیل فوریه پیش و پس از شستشو، ناشی از حذف مولکول الگو است. همچنین، عدد موجی ۱ cm^{-1} به ۳۴۳۶ cm^{-1} و ۳۴۳۳ cm^{-1} به ۱۷۲۷ cm^{-1} جابه‌جا شده است. در طیف پیش از شستشو، MIPSB در cm^{-1} ۲۴۰۰ جذب دارد، که در طیف پس از شستشو



شکل ۵ طیف‌های FTIR نمونه MIPSB، پیش (a) و پس از شستشو با محلول کلریدریک اسید ۰٫۵ مولار (b)

بررسی عوامل مؤثر در مقدار استخراج

به منظور بهینه‌سازی روش برای تعیین و استخراج ۴-کلروفنل از محیط‌های آبی، به ترتیب اثر pH، نوع حلال، اثر قدرت یونی، زمان استخراج و شستشو، سرعت هم‌زدن و دمای واجذب بهینه شدند. برای هر عامل، نقطه بهینه آن با توجه به مقدار بازیابی^۱ به دست آمده از استخراج، به دست آمد که در بخش‌های زیر شرح داده شده‌اند. تمام

اثر نوع حلال شوینده

تا ۵۰۰ دور بر دقیقه، افزایش یافته و سپس، ثابت باقی می‌ماند. دلیل آن، این است که با زیاد شدن سرعت چرخش تا ۵۰۰ دور بر دقیقه، همرفت مولکول‌ها به سمت میله چرخان سریع‌تر رخ می‌دهد. بنابراین، مقدار بازیابی استخراج بیشتر می‌شود اما پس از آن، هرگونه افزایش در سرعت هم‌زدن، تأثیر زیادی روی بازده استخراج ندارد. این سرعت برای آزمایش‌های بعدی به‌عنوان سرعت بهینه در نظر گرفته شد.

اثر دما

به‌منظور بهینه‌کردن دمای استخراج، ضمن ثابت نگه‌داشتن عامل‌های بخش‌های پیشین، دمای مرحله واجذب از ۲۵ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد تغییر داده شد. مشاهده شد در دمای ۴۰°C مقدار واجذب به بیش‌ترین مقدار رسیده و پس از آن ثابت می‌ماند که ممکن است به دلیل شکست نیروهای جذب، بین مکان‌های فعال بسپارهای قالب مولکولی و ۴- کلروفلن باشد. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این مرحله، دمای بهینه ۴۰°C در نظر گرفته شد.

بررسی اثر قدرت یونی

افزودن نمک به نمونه، به‌طور گسترده در استخراج مایع-مایع سنتی استفاده می‌شود زیرا باعث کاهش حلالیت آنالیت‌های آلی در فاز آبی می‌شود. بنابراین، آنالیت‌های بیشتری به فاز استخراجی وارد می‌شوند. به‌منظور بهینه‌سازی اثر قدرت یونی بر کارایی استخراج کلروفلن، با ثابت نگه‌داشتن عامل‌های بخش‌های قبلی، به محلول استاندارد 4-CP، نمک (NaCl) افزوده شد تا غلظت‌هایی مابین صفر تا ۰٫۷۵ مولار از آن در محلول ساخته و سپس، استخراج انجام شود. نتایج نشان می‌دهند که در غلظت ۰٫۳۵ مولار از NaCl، مقدار استخراج به بیشینه خود رسیده و سپس، ثابت می‌شود (شکل ۷). پس، غلظت نمک ۰٫۳۵ مولار در نظر گرفته شد. لازم به یادآوری است که برای نمونه‌های آب دریا، نیازی به افزودن NaCl نیست زیرا خود، اشباع از انواع نمک‌هاست.

با در نظر گرفتن pH بهینه ۵٫۵، نوع حلال شوینده برای واجذب ۴- کلروفلن از روی MIPSB بررسی شد. حلال‌های شوینده متفاوت مانند استونیتریل، استیک اسید، اتانول، متانول، آب (۱:۱)، متانول، استیک اسید (۱:۱)، متانول، استیک اسید (۱:۹)، متانول، استیک اسید (۱:۲)، متانول، استیک اسید (۲:۱) به‌کار گرفته شدند که بالاترین توان واجذب در استونیتریل دیده شد. دلیل آن به‌احتمال این است که این حلال، یک حلال پروتیک قطبی، به‌طور نسبی با ثابت دی‌الکتریک بالا است که به‌آسانی می‌تواند ۴- کلروفلن قطبی را شستشو دهد. بنابراین، حلال بهینه برای استخراج ۴- کلروفلن، استونیتریل در نظر گرفته شد.

اثر زمان استخراج

با در نظر گرفتن pH بهینه برابر با ۵٫۵ و حلال شستشوی استونیتریل، زمان استخراج ۴- کلروفلن از ۵ تا ۲۵ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد درصد استخراج با افزایش زمان جذب تا ۲۰ دقیقه، افزایش یافته و پس از آن ثابت می‌شود. بنابراین، زمان بهینه برای استخراج، ۲۰ دقیقه در نظر گرفته شد.

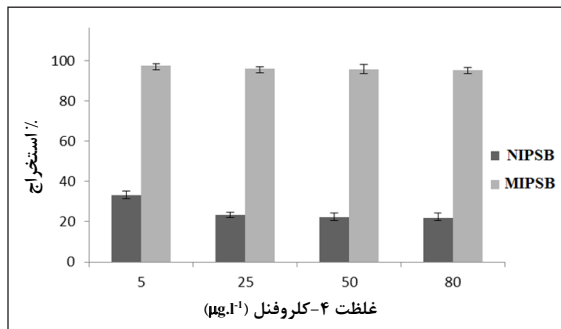
اثر زمان شویش

به‌منظور بهینه کردن زمان مرحله شویش، زمان‌های ۵ تا ۲۵ دقیقه بررسی شد. سایر شرایط مانند بخش‌های پیشین هستند. با توجه به نتایج به دست آمده، پس از ۲۰ دقیقه مقدار واجذب به بیش‌ترین مقدار رسیده و پس از آن افزایش نمی‌یافت. پس، زمان بهینه شویش ۲۰ دقیقه در نظر گرفته شد.

اثر سرعت چرخش MIPSB

پس از قرار دادن MIPSB در محلول استاندارد، سرعت چرخش آن از ۱۰۰ تا ۶۰۰ دور بر دقیقه در یک بازه زمانی ۲۰ دقیقه‌ای بررسی شد. سایر شرایط مانند بخش پیشین تنظیم شد. مشاهده شد که بازده استخراج با افزایش سرعت چرخش

استخراج بسیار بالاتری نسبت به NIPSB دارد.

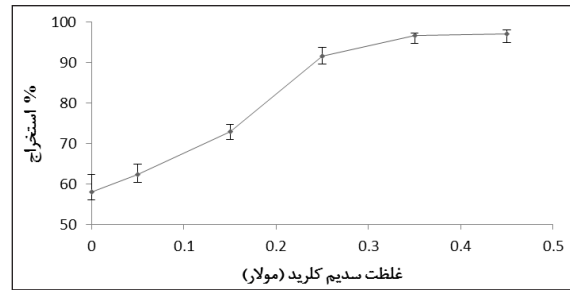


شکل ۸ نمودار مقایسه استخراج کلروفنل‌ها با MIPSB و NIPSB در چهار غلظت متفاوت

در جدول ۱ داده‌های روش پیشنهادی با داده‌های پژوهش‌های دیگر مقایسه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، روش گزارش شده نسبت به روش‌های ۲، ۶، ۷ و ۸ حد تشخیص پایین‌تر و نسبت به روش‌های ۱، ۴، ۵ و ۸ گستره خطی بیشتری دارد.

تعیین ۴- کلروفنل در نمونه‌های آب دریا

برای تجزیه نمونه‌های حقیقی، نمونه‌هایی از آب دریای خلیج چابهار از ۴ ایستگاه برداشته و با روش پیشنهادی تجزیه شدند (جدول ۲). نتایج به‌دست آمده از تجزیه نشان می‌دهد که ایستگاه اسکله هفت‌تیر بیش‌ترین مقدار ۴- کلروفنل (۲,۵ µg.l⁻¹) را دارد. برای اطمینان از صحت تجزیه انجام شده از روش آلوده‌سازی^۲ استفاده شد. به این صورت که به هر یک از نمونه‌ها، ۴- کلروفنل با غلظت ۱۰ میکروگرم بر لیتر افزوده و سپس بازیابی استخراج، محاسبه شد. نتایج، بازیابی بین ۸۸,۰ تا ۹۹,۲ را نشان داد. همچنین، برای تعیین تکرارپذیری روش، درصد انحراف استاندارد نسبی (RSD) برای نتایج به‌دست آمده از سه آزمایش، محاسبه شد. به این صورت که انحراف استاندارد هر سری از آزمایش‌ها بر میانگین غلظت آلوده‌شده ۱۰ میکروگرم بر لیتر ۴- کلروفنل از ایستگاه‌های متفاوت و بدون افزودن آنالیت در آن‌ها تقسیم و محاسبه انجام شد. اعداد به‌دست آمده، بین ۵,۷ تا ۰,۶۹ است که نشان‌دهنده تکرارپذیری بالای این روش است.



شکل ۷ نمودار اثر قدرت یونی بر واجذب کلروفنل‌ها با MIPSB

ارقام با ارزش تجزیه‌ای

تحت شرایط بهینه قیدشده در بخش‌های پیشین، منحنی واسنجی برای 4-CP بین ۱,۰ تا ۸۰,۰ میکروگرم بر لیتر خطی بود. معادله حداقل مربعات با ضریب همبستگی ۰,۹۹۶۶ به‌صورت زیر است:

$$A = 013/0 C + 1567/0$$

که در آن A، پاسخ دستگاه (جذب) و C غلظت ۴-کلروفنل (µg.l⁻¹) است.

حد تشخیص روش (تعریف‌شده به‌صورت ۳ برابر انحراف استاندارد نشانک^۱ به‌دست آمده از ۱۰ بار اندازه‌گیری تکراری محلول شاهد تقسیم بر شیب منحنی واسنجی) برای ۴- کلروفنل ۰,۳۳ میکروگرم بر لیتر به‌دست آمد.

برای به‌دست آوردن عامل پیش‌تغلیظ (EF) بر اساس معادله ۲، اثر حجم نمونه بر کارایی استخراج ۴- کلروفنل با MIPSB در گستره ۱۰ تا ۵۰۰ میلی‌لیتر بررسی شد. نتایج نشان داد که تا حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر، بازیابی ۴- کلروفنل افزایش و سپس کاهش می‌یابد. بنابراین، با در نظر گرفتن این حجم به عنوان حجم حد، و اینکه حجم حلال شستشو ۲,۵ ml است، عامل پیش‌تغلیظ ۱۰۰ برابر محاسبه می‌شود، اما با در نظر گرفتن کارایی استخراج (۹۷ درصد)، مقدار واقعی EF برابر ۹۷ است. به منظور مقایسه جذب مولکول الگو (4-CP) با MIPSB و NIPSB، جذب چهار غلظت متفاوت از محلول آن با این دو ترکیب بررسی و نتایج در شکل ۸ نشان داده‌شده است. همان‌گونه که مشخص است MIPSB بازده

نتایج نشان داد که روش پیشنهادی می‌تواند به‌طور موفقیت‌آمیزی استفاده شود. تکرارپذیری برای استخراج با دو میله چرخان جاذب برای تعیین ۴- کلروفنل در نمونه‌های پیچیده‌ای مانند آب دریا که در شرایط مشابهی ساخته شده بودند نیز ۸٫۴ درصد به دست آمد.

جدول ۱ مقایسه روش پیشنهادی در این پژوهش با پژوهشهای دیگر

| شماره | گستره خطی (µg.l ⁻¹) | حد تشخیص (µg.l ⁻¹) | روش تجزیه‌ای | روش | مرجع |
|-------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--|------------|
| ۱ | ۰٫۰۲۵-۱٫۷۵ | ۰٫۰۰۰۳-۰٫۰۰۱۴ | سوانگاری گازی- طیفسنجی جرمی | استخراج با میله همزن جاذب با پوشش پلی‌اتیلن گلیکول و پلی آکرلیک | [۷] |
| ۲ | ۱۰-۲۰۰ | ۱٫۵۰-۲٫۵۷ | سوانگاری مایعی | استخراج با میله همزن جاذب با پوشش پلی‌وینیل پیریدین- دی متا آکرلیک اسید | [۱۰] |
| ۳ | ۰٫۱-۴۰۰٫۰ | ۰٫۰۲-۱٫۰ | سوانگاری گازی- طیفسنجی جرمی | استخراج با میله همزن جاذب با پوشش بتا سیکلودکسترین پیوند شده با ذره‌های سیلیکا | [۱۱] |
| ۴ | ۰٫۰۰۱۲۵-۸ | ۰٫۰۰۰۰۵-۰٫۰۱۰ | سوانگاری گازی | استخراج با میله همزن جاذب با پوشش فتالازین کتون اتر سولفون | [۱۲] |
| ۵ | ۰٫۵-۵۰٫۰ | ۰٫۱ | سوانگاری مایعی با کارایی بالا | میکرواستخراج حلال سه‌تایی- مایع یونی | [۲۰] |
| ۶ | ۲۵۰-۶۰۰۰ | ۲ | طیف‌نورسنجی | فیلتر غشائی محتوی حلال آلی | [۲۲] |
| ۷ | - | ۲-۴ | سوانگاری مایع با کارایی بالا | میکرواستخراج فاز جامد | [۲۳] |
| ۸ | ۳-۵۰ | ۱ | الکتروشیمیایی | سوانگاری مایعی موئینه | [۲۴] |
| ۹ | ۱-۸۰ | ۰٫۳۳ | طیف‌نورسنجی | MIPSB | این مطالعه |

جدول ۲ غلظت کل کلروفنل‌ها در آب دریا در ایستگاه‌های خلیج چابهار

| ایستگاه | مقدار ۴- کلروفنل (µg.l ⁻¹) | | انحراف استاندارد نسبی n=3 | % باز یابی |
|-------------|--|----------|---------------------------|------------|
| | افزوده شده | یافت شده | | |
| اسکله | - | ۱٫۵ | ۲٫۰ | - |
| شهید بهشتی | ۱۰ | ۱۱٫۵ | ۳٫۴ | ۹۵٫۶ |
| اسکله | - | ۲٫۵ | ۱٫۴ | - |
| هفت‌تیر | ۱۰ | ۱۱٫۰ | ۵٫۷ | ۸۸٫۰ |
| اسکله | - | ۲٫۲ | ۳٫۱ | - |
| شهید کلاتری | ۱۰ | ۱۲٫۱ | ۴٫۵ | ۹۹٫۲ |
| اسکله | - | ۲٫۱ | ۰٫۷ | - |
| تیس | ۱۰ | ۱۱٫۷ | ۳٫۲ | ۹۶٫۷ |

نتیجه‌گیری

اندازه‌گیری با یک دستگاه طیف‌سنج انجام شده که ارزان و در دسترس بوده و استفاده از آن راحت است. هر میله برای حداقل ۶۰ بار قابل استفاده است و می‌تواند حداقل به مدت ۹ ماه در آزمایشگاه انبار و بدون تغییر روشن در توان استخراجی، استفاده شود. بازیابی استخراج بیشتر از ۸۸٪ درصد به‌دست آمد و حد تشخیص روش پیشنهاد شده ۰/۳۳ بود. گستره خطی دینامیکی در گستره ۱٫۰ تا ۸۰٫۰ میکروگرم بر لیتر به‌دست آمد. انحراف استاندارد نسبی ۰/۷ تا ۵/۷ درصد بود. تجزیه نمونه‌های حقیقی نشان داد که اثرات مزاحمت‌های بافت نمونه بر تجزیه، ناچیز است.

در این پژوهش، از روش ساده MIPSB برای استخراج ۴-کلروفنل استفاده شد و اندازه‌گیری آن با یک طیف‌نورسنج معمولی به انجام رسید. نتایج به‌دست آمده نشان دادند که روش پیشنهادی، این پتانسیل را دارد که مولکول هدف را از محلول آبی به‌خوبی جداسازی کند و دارای مزایایی از جمله سهولت آماده‌سازی، قابلیت تکرارپذیری و جداسازی سریع، هزینه پایین با قابلیت استخراج بالا و گزینش‌پذیری خوب است که از خود، حد تشخیص پایین، دامنه خطی گسترده و خطای کم نشان داد. مزیت مهم دیگر روش آن است که

مراجع

- [1] Jiang, X.; Zhang H.; Chen, X.; *Microchimica Acta* 175, 341–346, 2011.
- [2] Ou, J.J.; Hu, L.H.; Hu, L.G.; Li, X.; Zou, H.F.; *Talanta* 69, 1001–1006, 2006.
- [3] Zhou, F.R.; Li, X.J.; Zeng, Z.R.; *Analytical Chimica Acta* 538, 63–70, 2005.
- [4] Faraji, H.; Tehrani, M.S.; Tehrani, S.W.; *Journal of Chromatography A* 1216, 8569–8574, 2009.
- [5] Ghorbanpour, H.; Yadeghari, A.; Khoshmaram, L.; Farajzadeh, M.A.; *Analytical Methods* 6, 7733–7743, 2014.
- [6] Maand, Y.T.; Cheung, P.C.K.; *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 4222–4228, 2007.
- [7] Cacho, J.I.; Campillo, N.; Viñas, P.; Hernández-Córdoba, M.; *Talanta* 118, 30–36, 2013.
- [8] *
*رحمانی، ماشالله؛ کیخوانی، مسعود؛ نشریه پژوهش‌های کاربردی در شیمی، دوره ۷، شماره ۴، ۲۵–۳۳، ۱۳۹۲.
- [9] *
*هاشمی، سید حسین؛ کیخوانی مسعود؛ دهواری، رقیه؛ نشریه پژوهش‌های کاربردی در شیمی، دوره ۱۱، شماره ۱، ۱۰۷–۱۱۷، ۱۳۹۶.
- [10] Huang, X.; Qiu, N.; Yuan, D.; *Journal of Chromatography A* 1194, 134–138, 2008.
- [11] Faraji, H.; Husain, S.W.; Helalizadeh, M.; *Journal of Chromatographic Science* 49, 482–487, 2011.
- [12] Wenna, G.; Wang, Y.; Xu, F.; Guan, Y.; *Journal of Chromatography A* 1177, 28–35, 2008.
- [13] Khajeh, M.; Kaykhaii, M.; Mirmoghaddam, M.; Hashemi, H.; *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 89, 981–992, 2009.
- [14] Khajeh, M.; Kaykhaii, M.; Hashemi, H.; Mirmoghaddam, M.; *Polymer Science Series B* 51, 344–351, 2009.
- [15] Khajeh, M.; Bohlooli, M.; Hashemi, H.; *Journal of Macromolecular Science, Part A* 46, 526–532, 2009.
- [16] *
*هاشمی، سید حسین؛ کیخوانی مسعود؛ میرمقدم، مجید؛ شاکری، محمد؛ نشریه پژوهش‌های کاربردی در شیمی، دوره ۱۰، شماره ۲، ۱۰۴–۱۱۷، ۱۳۹۵.
- [17] Hashemi, S.H.; Kaykhaii, M.; Khajeh, M.; *Analytical Letters* 48, 1815–1829, 2015.
- [18] Hashemi, H.; Khajeh, M.; Kaykhaii, M.; *Analytical Methods* 5, 2778–2783, 2013.
- [19] Hashemi, S.H.; Kaykhaii, M.; Tabehzar, F.; *Journal of the Iranian Chemical Society* 12, 1–9, 2015.

- [20] Guo, L.; Lee, H.K.; Journal of Chromatography A 1218, 4299-4306, 2011.
- [21] Qi, P.; Wang, J.; Jin, Su, J.F.; Chen, J.; Talanta 81, 1630-1635, 2010.
- [22] Chen, Y., Wang, S.; Zhou, T.; Analytical Letters 31, 1233-1245, 1998.
- [23] Peñalver, A.; Pocurull, E.; Borrull, F.; Marcé, R.M.; Journal of Chromatography A 953, 79-87, 2002.
- [24] L. Segovia-Martnez, Y.; Moliner-Martnez, P.; Campns, F.; Journal of Chromatography A 1217, 7926-7950, 2010.

Trace determination of 4-chlorophenole from seawater samples by spectrophotometry after its molecularly imprinted polymer coated stir bar sorptive extraction

Sayyed Hossein Hashemi^{1,*}, Massoud Kaykhai², Fahimeh najari³, Zahra Monfaredzadeh³

1. Assistant Prof.of Analytical Chemistry, Department of Marine Chemistry, Faculty of Marine Science, Chabahaar Maritime University, Chabahaar
2. Professor of Analytical Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan
3. M.Sc. Student of Marine Chemistry, Department of Marine Chemistry, Faculty of Marine Science, Chabahaar Maritime University, Chabahaar

Recieved: October 2017, Revised: February 2018, Accepted: April 2018

Abstract: In this research, a novel molecularly imprinted polymer coated stir bar was employed to selectively extract 4-chlorophenol (4-CP) directly from seawater samples. Preparation of molecularly imprinted polymer was performed using vinyl pyridine polymer and 4-CP as template molecule. Stir bar was directly placed in seawater samples to adsorb the analyte, then was transferred to a glass vial containing 2.5 mL of acetonitrile for analyte desorption. This solution was put in a micro cuvette of a spectrophotometer for 4-CP concentration determination against a blank solution at a wavelength of 292 nm. The effect of different parameters on the extraction efficiency of 4-CP were studied and optimized. Optimum conditions were established as: absorption and desorption times were fixed at 20 min, stirring rate was 500 rpm, pH was adjusted to 5.5, concentration of added NaCl for standards was 0.35 mol.l⁻¹, and extraction process was performed at a temperature of 40 °C. The linear range of calibration curve for 4-CP was 1.0-80.0 µgl⁻¹. Under the optimum conditions, for this analyte the detection limit was 0.33 µgl⁻¹ with an enrichment factor of 97 folds. This method was successfully employed for the analysis of trace amounts of 4-CP in seawater of Chabahaar Bay which was determined to be between 1.5 to 2.5 µg.l⁻¹. Reproducibility of the method (expressed as relative standard deviation) for ten replicate measurements of real samples was between 0.69 and 5.7%.

Keywords: Chlorophenols, Molecularly imprinted on stir bar, Spectrophotometry, Seawater analysis, Chabahaar Bay