

# تغلیظ بدون لیگاند و تعیین کادمیوم در نمونه های مواد غذایی و سرم انسانی با روش میکرواستخراج مایع - مایع پخشی بر پایه مایع یونی با عملکرد ویژه همراه با طیف سنجی جذب اتمی شعله ای

ندا صرافی، سوسن صادقی\*

گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

**چکیده:** در مقاله حاضر، یک روش ساده و موثق برای تعیین یون های کادمیوم، بر اساس تکنیک میکرواستخراج مایع-مایع پخشی معرفی شده است. یک مایع یونی با عملکرد ویژه (TSIL) جدید به عنوان فاز استخراج کننده برای پیش تغلیظ انتخابی یون های کادمیم از نمونه آبی و تعیین با اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله ای (AAS) استفاده شد. پارامترهای موثر بر میکرواستخراج مانند pH محلول، غلظت TSIL، زمان ساتریفوژ، غلظت نمک آگریز، غلظت سورفکتانت غیر یونی و قدرت یونی بهینه شدند. در شرایط بهینه، منحنی کالیبراسیون در محدوده غلظتی  $5-250 \mu\text{g L}^{-1}$  با حد تشخیص  $0.42 \mu\text{g L}^{-1} \text{Cd}^{2+}$  خطی بود. از آنجایی که TSIL میل ترکیبی بالایی به کادمیوم دارد، تداخل کننده ها اثر کمی بر استخراج داشتند، بطوریکه بازیابی های رضایت بخشی برای میکرواستخراج کادمیوم از نمونه های حقیقی (سرم خون، شیر و عسل) به دست آمد.

**واژگان کلیدی:** میکرو استخراج مایع - مایع پخشی، مایع یونی با عملکرد ویژه، یونکادمیم، جذب اتمی شعله ای.

[ssadeghi@birjand.ac.ir](mailto:ssadeghi@birjand.ac.ir)

حاصل از حیوانات آلوده به کادمیوم می شود. غلظت مجاز کادمیوم در آب آشامیدنی توسط آژانس حفاظت محیط زیست ایالات متحده [۳]، اتحادیه اروپا [۴] و سازمان بهداشت جهانی [۵]  $3-5 \mu\text{g L}^{-1}$  گزارش شده است. لذا به منظور افزایش کیفیت زندگی انسان و کاهش صدمات محیطی، تعیین کادمیوم در نمونه های بیولوژیکی و مواد غذایی ضروری است. تاکنون چندین روش تجزیه ای برای تعیین کادمیوم بکار رفته است که شامل طیف سنجی جذب اتمی شعله ای (FAAS) [۶ و ۷]، طیف سنجی جذب اتمی کورره گرافیت (GFAAS) [۸-۱۰]، طیف سنجی جذب اتمی الکتروترمال (EAAS) [۱۱ و ۱۲] و پلاسما جفت شده القایی (ICP) [۱۳ و ۱۴] می باشد. در بین روشهای ذکر شده، FAAS به دلیل

## ۱- مقدمه

آلودگی به فلزات سنگین مانند کادمیوم باعث بروز مشکلاتی در محیط زیست و زندگی انسان می شود. بیشترین منابع تولید کننده فلزات سنگین در محیط زیست، معادن و صنایعی مانند کودهای معدنی، آفت کش ها، ضایعات صنعتی و غیره است. کادمیوم عنصری با سمیت بالا و غیر قابل تجزیه زیستی است. انباشته شدن تدریجی این عنصر در بدن طی ۱۵ الی ۲۰ سال به قسمت های مختلف مانند قلب، ریه ها، استخوان ها و به ویژه کلیه ها آسیب می رساند [۲۱]. آلودگی خاک، آب و کودها به کادمیوم منجر به یافتن مقادیر کم کادمیوم در حیوانات و انسان و تولید مواد غذایی

یونی با عملکرد ویژه یک IL متشکل از یک مولکول عامل دار است که می تواند به بخش کاتیونی و/یا آنیونی یک IL به صورت کووالانسی متصل گردد. مولکول عامل دار در TSIL خواص ویژه فیزیکی، شیمیایی، نوری، مغناطیسی و یا ... به IL القا می کند. چندین نوع TSIL به عنوان حلال در فرایند استخراج بکار رفته اند [۲۳-۲۵].

هدف از این کار ابداع یک روش ساده، سریع، انتخابی و حساس برای جداسازی و پیش تغلیظ یون کادمیوم بود. در این زمینه، یک TSIL جدید متشکل از ۵-آمینو-۱ و ۳ و ۴ تیادیازول-۲-تیول و ۱-اتیل-۳-متیل ایمیدازولیوم کلراید تهیه شد که برای استخراج انتخابی یون های کادمیوم از نمونه های آبی با روش میکرواستخراج مایع-مایع پراکنده استفاده گردید. پارامترهای موثر بر میکرواستخراج مانند pH محلول، غلظت TSIL، زمان سانتریفوژ، غلظت نمک آگریز، غلظت سورفکتانت غیریونی و قدرت یونی بهینه شدند. روش پیشنهادی با موفقیت در تعیین یون های کادمیوم در نمونه های سرم خون، شیر و عسل استفاده شد.

## ۲- بخش تجربی

### ۲-۱- مواد و تجهیزات

همه معرف های شیمیایی با خلوص تجزیه ای از شرکت مرک خریداری شدند و بدون خالص سازی بیشتر مورد استفاده قرار گرفتند. ۵-آمینو-۱، ۳، ۴-تیادیازول-۲-تیول، و تریتون X-۱۱۴ از سیگما آلدیج خریداری شدند. محلول غلیظ  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  یون کادمیوم با حل کردن مقدار مناسب  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  در آب فاقد یون تهیه شد. محلول کار با رقیق کردن محلول غلیظ با آب فاقد یون روزانه و محلول های استاندارد با اتانول حاوی  $0.1$  مولار اسید نیتریک رقیق شدند. در طول آزمایشات، بافر فسفات ( $M$   $0.1$ ) استفاده شد و pH محلولها با HCl یا  $1 \text{ M NaOH}$  تنظیم شدند. تمام ظروف شیشه ای قبل از استفاده در محلول اسید نیتریک  $10\%$  درصد به مدت  $24$  ساعت قرار داده و با آب دوبار تقطیر شسته شدند.

اندازه گیری کادمیوم توسط طیف سنج جذب اتمی شعله ای (FAAS - Shimadzu 6300 G، ژاپن) با شعله هوا-استیلن

سادگی در عملیات و هزینه نسبی کم تکنیک موثری برای تعیین فلزات است. با این حال، معمولاً این روش قادر به تعیین مستقیم فلز در سطح نسبی پایین غلظتی نیست و باید قبل از آنالیز یک مرحله پیش تغلیظ انجام شود. استخراج مایع-مایع (LLE) [۱۲]، رسوب گیری همزمان [۱۵]، و استخراج فاز جامد (SPE) [۶-۷] برای پیش تغلیظ یون های فلزی استفاده شده است. میکرواستخراج مایع-مایع (LLME) یکی از روش های ارزان قیمت و مقرون به صرفه زمانی است که مصرف نمونه ها و/یا حلال های آلی را در پیش تغلیظ کاهش می دهد. در این روش، یک حلال پخش کننده به همراه حلال استخراج کننده به نمونه آبی اضافه می شود تا قطرات بسیار ریز حلال برای استخراج سریع تشکیل شود. معمولاً از معرف های کمپلکس دهنده برای تشکیل کمپلکس با گونه مورد نظر و استخراج به فاز آلی استفاده می شود. روش DLLME دارای چندین مزیت از جمله سادگی، سرعت، کاهش مصرف حلال آلی، عملکرد آسان و قابلیت اتوماسیون با ابزارهای تجزیه ای است.

اخیراً مایعات یونی (IL) با دو ویژگی اصلی جایگزین حلال های آلی شده اند: اولاً مایعات یونی دارای خواص فیزیکی خوبی مانند فشار بخار کم، پایداری حرارتی و غیره هستند که می توان آنها را به عنوان حلال های سبز در نظر گرفت. ثانیاً، میتوان IL های متعددی با طیف گسترده ای از ترکیبات آنیونی و کاتیونی برای مقاصد مختلف تهیه نمود. مایعات بونی به دلیل اهمیت انتخاب پذیری، حساسیت و حد تشخیص پایین در پایش بیولوژیکی مطالعات محیطی / شغلی عملکرد خوبی از خود نشان دادند. IL ها برای پیش تغلیظ و جداسازی آلاینده های رایج در مواجهه شغلی، از جمله فلزات سنگین، هیدروکربن های پلی آروماتیک، آفت کش ها، نشانگرهای زیستی و غیره از نمونه های بیولوژیکی مانند ادرار، خون و سرم استفاده شده است [۱۶]. گستره کاربردهای ارائه شده امکان استفاده از طیف سنجی اتمی/مولکولی و روش های کروماتوگرافی مختلف همراه با IL را برای پایش بیولوژیکی فراهم ساخته است [۱۷-۱۹]. همچنین مایعات یونی به عنوان یک گزینه جایگزین برای حلال های آلی در زمینه های مختلف مانند فرآیندهای پلیمریزاسیون، الکتروشیمی، سنتز، کاتالیز، اصلاح کننده فازهای ثابت کروماتوگرافی مایع و گازی و اصلاح کننده فاز متحرک در کروماتوگرافی مایع بکار رفته است [۲۰-۲۲]. یک مایع

### ۲-۳- روش انجام میکرواستخراج

۱۰ میلی لیتر محلول کادمیم  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  در بافر فسفات در pH ۸ به یک لوله سانتریفوژ ۱۵ میلی لیتری منتقل شد. سپس نترات سدیم (۱۰٪، w/v) و تریتون (۵٪، w/v) X-۱۱۴ به محلول فوق اضافه شد. سپس ۶۰۰ میکرولیتر مایع یونی (۲/۵٪، w/v) TSIL به نمونه آبی تزریق شد و به مدت ۵ دقیقه به هم زده شد تا فاز همگن به دست آید. با افزودن ۱۵۰ میکرولیتر هگزافلورو فسفات پتاسیم (۲٪، w/v) به محلول فوق، محلول کدر شد و سپس با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. فاز فوقانی با یک پیپت با دقت برداشته شد و TSIL رسوب شده در ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول حاوی نیتریک اسید ۰/۱ مولار حل شد و مستقیماً برای تعیین غلظت کادمیم به FAAS تزریق شد.

### ۲-۴- آماده سازی نمونه

نمونه های عسل و شیر از یک سوپرمارکت محلی خریداری شد. نمونه خون از بیمارستان محلی تهیه شد. مراحل آماده سازی نمونه بر اساس موارد زیر انجام شد:

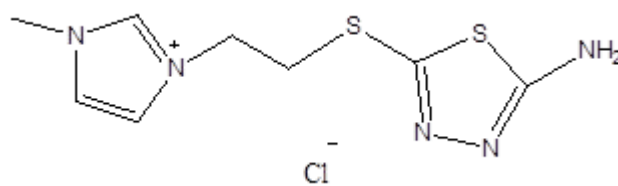
**شیر:** ۱ میلی لیتر شیر در ۵ میلی لیتر محلول غلیظ  $\text{HNO}_3$  در یک ارلن حل شد و ۲ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳۰٪ به آن اضافه شد و در دمای نسبتاً پایین حرارت داده شد تا رسوب حاصل شود. پس از افزودن ۱۰ میلی لیتر محلول اسید نیتریک ۰/۰۱ مولار به محصول، محلول به دست آمده صاف شد و با بافر فسفات به حجم نهایی ۱۰۰ میلی لیتر رسید و برای آزمایش های بعدی pH در ۸ تنظیم شد.

**سرم خون:** ۶ میلی لیتر سرم در ۳ میلی لیتر محلول غلیظ اسید نیتریک و ۲ میلی لیتر آب اکسیژنه حل شد. سپس محلول با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. در ادامه، لوله سانتریفوژ به مدت ۹۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سانتیگراد قرار داده شد. پس از سرد شدن محلول تا دمای اتاق، در یک فلاسک حجمی با محلول بافر فسفات به حجم نهایی ۱۰۰ میلی لیتر رسید. pH برای آزمایش های بعدی روی ۸ تنظیم شد [۲۷].

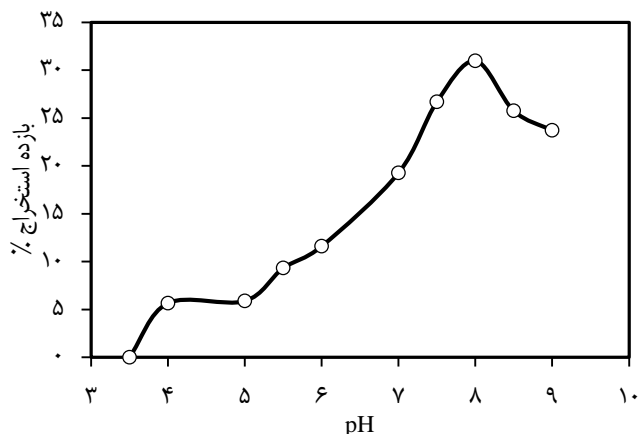
مجهاز به منبع تابش لامپ های کاتد توخالی کادمیوم (HCL) در طول موج ۲۸۸/۸ نانومتر و عرض شکاف ۰/۷ نانومتر تحت جریان الکتریکی ۸ میلی آمپر انجام شد. آب فاقد یون توسط سیستم آکوئوا مکس (Young-Lin، کره) تهیه شد. به منظور جداسازی فازها از سانتریفوژ هتیج (EBA 20، آلمان) استفاده شد. pH محلولها در دمای  $25 \pm 1$  درجه سانتیگراد با pH متر مجهز به الکتروود شیشه ای (Trans، سنگاپور) اندازه گیری شد. ساختار TSIL توسط اسپکتروفتومتر جذبی مادون قرمز تبدیل فوریه بروکر Bruker (Vector-66 FT-IR، آلمان) و طیف سنجی تشدید مغناطیسی هسته ای  $^1\text{H-NMR}$  و  $^{13}\text{C-NMR}$  بروکر Bruker Uitrashield (400 Nuclear، آلمان) شناسایی شد.

### ۲-۲- سنتز مایع یونی با عملکرد ویژه

مایع یونی بر اساس گزارش قبلی تهیه شد [۲۶]. بطور مختصر، مخلوط N-methylimidazole (میلی مول ۱۶/۳، گرم ۱/۳۴) و ۲،۱-دی کلرواتان (۱۷/۹ میلی مول، گرم ۳/۳۷) به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد حرارت داده شد. سپس، هیدروکسید پتاسیم (۱۰ میلی مول، گرم ۰/۵۶) و ۵-آمینو-۱،۳،۴-تیادیازول-۲-تیول (۱۰ میلی مول، گرم ۱/۳۳) محلول در ۱۰۰ میلی لیتر اتانول خشک (۱۰۰ میلی لیتر) به مواد فوق اضافه شد. مخلوط به مدت ۱۲ ساعت رفلاکس گردید. سپس اتانول در خلاء تبخیر شد تا مایع ویسکوز زرد کم رنگ به دست آمد. محصول چندین بار با اتانول شسته شد و به مدت ۱۲ ساعت در آن تحت خلاء در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد نگهداری شد تا خشک شود. ساختار شیمیایی مایع یونی با عملکرد ویژه تولید شده 3-(2-[(5-amino-1,3,4-thiadiazol-2-yl)thio]ethyl)-1-methyl-1H-imidazol-3-ium chloride با علامت اختصاری [ATT-C<sub>2</sub>C<sub>1</sub>IM][Cl] (شکل ۱) با  $^{13}\text{C-NMR}$ ،  $^1\text{H-NMR}$ ، FTIR مشخص شد.



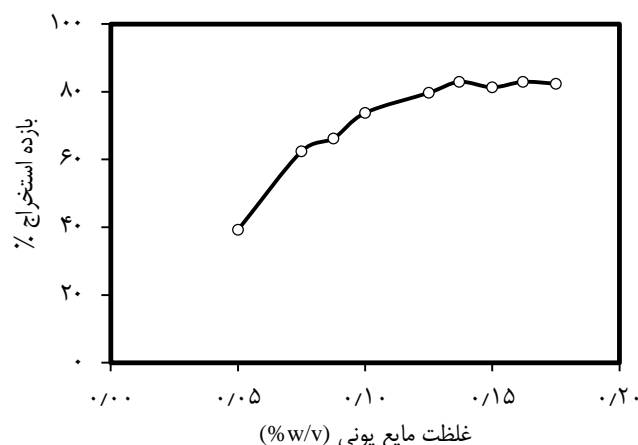
شکل ۱. ساختار شیمیایی [ATT-C<sub>2</sub>C<sub>1</sub>IM][Cl]



شکل ۲. بررسی اثر pH بر میزان استخراج کادمیم توسط TSIL (شرایط استخراج: حجم نمونه ۱۰ میلی لیتر، غلظت کادمیم  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ ، غلظت تریتون X-۱۱۴ (w/v) ۰/۰۵٪، غلظت نمک  $\text{NaNO}_3$  (w/v) ۰/۱٪، غلظت مایع یونی  $\text{KPF}_6$  (w/v) ۰/۰۲٪، غلظت  $\text{KPF}_6$  (w/v) ۰/۰۵٪)

انتظار می رود که درصد استخراج با تغییر غلظت مایع یونی با عملکرد ویژه TSIL تغییر کند. مشاهده گردید با تغییر مقدار TSIL بین ۰/۰۵٪ و ۰/۱۵٪ (درصد وزنی - حجمی) میزان استخراج افزایش یافت (شکل ۳). مقادیر کم مایع یونی به اندازه کافی ته- نشین نمی شود. افزایش غلظت مایع یونی بعد از ۰/۱۵٪ تأثیر چشمگیری بر بازده استخراج کادمیم ندارد بطوریکه افزایش بیشتر از ۰/۱۵٪ راندمان استخراج ثابت باقی ماند که نشان دهنده اشباع شدن فاز مایع یونی TSIL با  $\text{Cd}^{2+}$  است. بنابراین، غلظت (w/v) ۰/۱۵٪ مایع یونی TSIL در آزمایش های بعدی استفاده شد.

سرعت زمان بالاتر سانتریفوژ، زمان جداسازی دو فاز را کاهش دهد.



شکل ۳. بررسی اثر غلظت مایع یونی بر میزان استخراج کادمیم توسط TSIL (شرایط استخراج: pH=8، حجم نمونه ۱۰ میلی لیتر، غلظت کادمیم  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ ، غلظت تریتون X-۱۱۴ (w/v) ۰/۰۵٪، غلظت نمک  $\text{NaNO}_3$  (w/v) ۰/۱٪، غلظت  $\text{KPF}_6$  (w/v) ۰/۰۲٪)

عسل: عسل در غلظت ۰/۱ گرم در میلی لیتر در بافر فسفات تهیه شد. پس از تنظیم pH روی ۸، محلول به مدت ۱۰ دقیقه اولتراسونیک شد و برای آزمایش های بعدی استفاده شد.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- بهینه سازی پارامترهای موثر بر استخراج

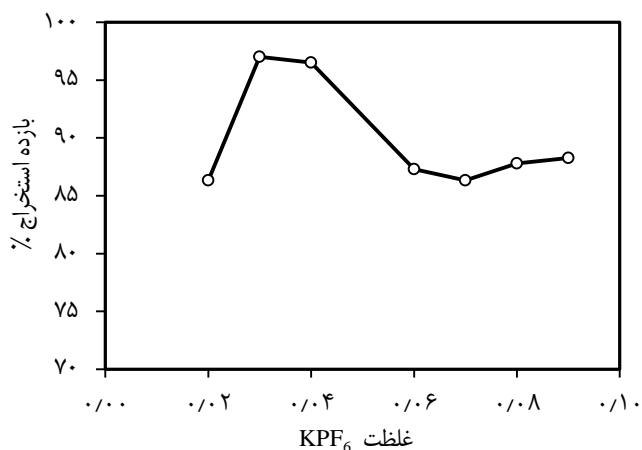
برای بررسی پارامترهای اصلی موثر بر میکرواستخراج کادمیم، درصد استخراج (ER%) مطابق معادله ۱ محاسبه شد:

$$ER\% = \frac{n_{TSIL\ phase}}{n_{aqu\ phase}} \times 100$$

$$= \frac{C_{TSIL\ phase} V_{TSIL\ phase}}{C_{aqueous\ phase} V_{aqu\ phase}} \times 100 \quad (1)$$

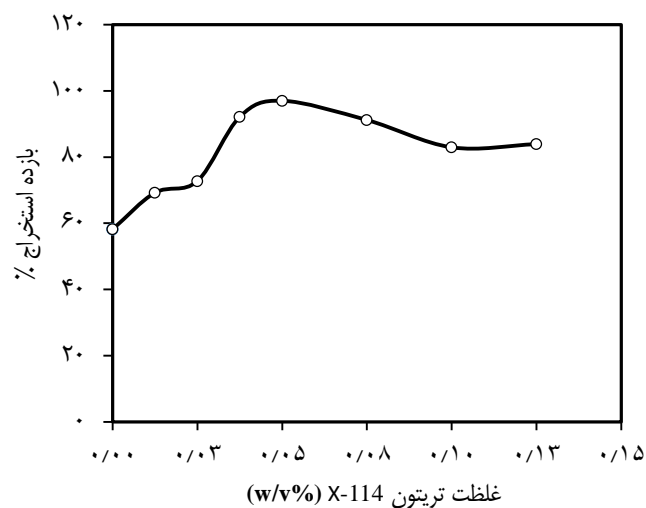
که در آن  $n_{TSIL\ phase}$  و  $n_{aqu\ phase}$  به ترتیب تعداد مول های آنالیت در فاز TSIL و فاز آبی هستند.  $C_{TSIL\ phase}$  و  $C_{aqueous\ phase}$  به ترتیب غلظت آنالیت در TSIL و فاز آبی هستند.  $V_{TSIL\ phase}$  و  $V_{aqueous\ phase}$  نیز به ترتیب حجم TSIL و فاز آبی هستند. پارامترهایی مانند pH محلول، غلظت TSIL، زمان و سرعت سانتریفوژ، غلظت نمک آگریز، غلظت سورفکتانت و غلظت نمک به عنوان پارامترهای اصلی در نظر گرفته شدند و بهینه شدند.

pH نمونه آبی بر تشکیل کمپلکس بین یون کادمیم و لیگاند ۵- آمینو-۱، ۳، ۴-تیادیازول-۲-تیول و همچنین راندمان استخراج تأثیر می گذارد. به منظور بررسی اثر pH بر فرآیند استخراج، محلولهای  $\text{Cd}^{2+}$   $50 \mu\text{g L}^{-1}$  در pH های ۳/۵ تا ۹ در بافر فسفات تهیه شد. همانطور که در شکل ۲ مشاهده می شود، درصد استخراج با افزایش pH تا ۸ افزایش می یابد و در مقادیر بالاتر، میزان درصد استخراج کاهش می یابد. از آنجایی که تشکیل کمپلکس به pH بستگی دارد، انتظار می رود در pH خنثی و قلیایی در مقادیر استخراج  $\text{Cd}^{2+}$  بهتر باشد. در مقادیر pH کمتر از ۸، نیتروژن یا گوگرد در لیگاند ۵-آمینو-۱، ۳، ۴-تیادیازول-۲-تیول می تواند پروتونه شود و برای تشکیل کمپلکس با  $\text{Cd}^{2+}$  رقابت کند. در مقادیر pH بالاتر، احتمالاً رسوب می کند و درصد استخراج کاهش می یابد. بنابراین، pH ۸ برای مطالعات بعدی انتخاب شد.



شکل ۵. بررسی اثر غلظت KPF<sub>6</sub> بر میزان استخراج کادمیم توسط TSIL (شرایط استخراج: pH=8، حجم نمونه ۱۰ میلی لیتر، غلظت کادمیم ۵۰ μg L<sup>-1</sup>، غلظت تریتون X-۱۱۴ (w/v) ۰/۰۵٪، غلظت نمک NaNO<sub>3</sub> (w/v) ۰/۱٪، غلظت مایع یونی (w/v) ۰/۱۵٪)

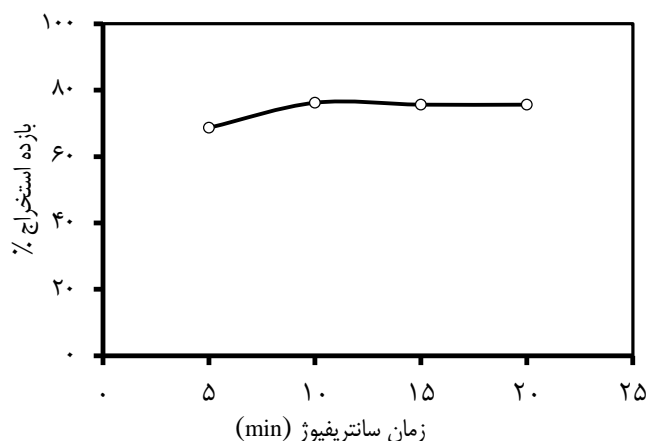
تغییر نمود (شکل ۶). هنگامی که غلظت تریتون X-۱۱۴ از ۰/۰۵ (وزنی-حجمی) افزایش یافت، درصد استخراج نیز افزایش یافت. غلظت بالاتر تریتون X-۱۱۴ تأثیری بر استخراج برای تکمیل ته نشینی TSIL نداشت. با توجه به مشاهدات، سورفکتانت غیر یونی ۰/۰۵ (وزنی - حجمی) مناسب بود.



شکل ۶. بررسی اثر غلظت تریتون X-۱۱۴ بر میزان استخراج کادمیم توسط TSIL (شرایط استخراج: pH=8، حجم نمونه ۱۰ میلی لیتر، غلظت کادمیم ۵۰ μg L<sup>-1</sup>، غلظت تریتون X-۱۱۴ (w/v) ۰/۰۵٪، غلظت نمک NaNO<sub>3</sub> (w/v) ۰/۱٪، غلظت مایع یونی (w/v) ۰/۱۵٪، غلظت KPF<sub>6</sub> (w/v) ۰/۰۲٪)

یکی دیگر از پارامترهای تأثیرگذار بر فرایند استخراج، قدرت یونی محلول نمونه است که تحت تأثیر غلظت های مختلفی از نمک تغییر می کند. برای این منظور از NaNO<sub>3</sub> در غلظت های مختلف استفاده شد. افزودن نمک باعث افزایش بازیابی استخراج به دلیل

لذا اثر سرعت و زمان سانتریفیوژ کردن در استخراج یونهای Cd<sup>2+</sup> با روش میکرواستخراج پیشنهادی برای محلول Cd<sup>2+</sup> ۵۰ μg L<sup>-1</sup> در شکل ۴ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود، زمان سانتریفیوژ ۱۰ دقیقه و سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه برای استخراج کافی بود. زمان های بیشتر تأثیری بر میزان استخراج نداشت.



شکل ۴. بررسی اثر زمان سانتریفیوژ بر بازده استخراج (شرایط مانند شکل ۳)

یک معرف مبادله کننده یونی مانند نمک آگریز از طریق تبادل یونی آنیون آگریز با یون مخالف کلر در مایع یونی حاصل منجر به تشکیل یک مایع یونی آگریز می شود [۲۸]. لذا برای ته نشین کردن قطرات ریز حلال استخراج به فاز آبی، از نمک آگریز پتاسیم هگزاfluوئورو فسفات (KPF<sub>6</sub>) استفاده شد. غلظت های مختلف KPF<sub>6</sub> در محدوده غلظتی ۰/۰۲-۰/۰۹ (وزنی - حجمی) به نمونه آبی حاوی TSIL اضافه شد. همانطور که در شکل ۵ مشاهده می شود حداکثر میزان استخراج در غلظت ۰/۰۳ (وزنی - حجمی) KPF<sub>6</sub> به دست آمد. افزودن مقادیر بیشتر KPF<sub>6</sub> تأثیر ناچیزی بر- خاصیت آگریزی فاز استخراج کننده و درصد استخراج داشت. بر این اساس ۰/۰۳ (وزنی - حجمی) نمک فوق برای آزمایش های بعدی استفاده شد.

یکی دیگر از عوامل موثر بر فرایند استخراج، غلظت سورفکتانت غیر یونی بود. در حضور سورفکتانت غیر یونی، چسبندگی بین مایع یونی و دیواره لوله کاهش می یابد زیرا سورفکتانت غیر یونی، مایع یونی را از نمونه آبی احاطه می کند. علاوه بر این، سورفکتانت غیر یونی می تواند به عنوان یک عامل پخش کننده مایع یونی در نظر گرفته شود [۲۹، ۳۰]. بنابراین، غلظت Triton X-۱۱۴ به عنوان سورفکتانت غیر یونی از ۰/۰ تا ۰/۱۲۵ (وزنی - حجمی)

Cl<sup>-</sup> و I<sup>-</sup> تداخل معنی داری در بازیابی استخراج نداشتند. ممکن است بین عناصر حدواسط با وجود اوریتال خالی "d" در این سری از فلزات و جفت الکترون آزاد N و S در TSIL برهمکنش باشد، بنابراین، تاثیر فلزات واسطه نیز بر درصد استخراج Cd<sup>2+</sup> بررسی شده است. فلزاتی مانند Fe<sup>3+</sup>، Cr<sup>3+</sup>، Al<sup>3+</sup> و Pb<sup>2+</sup> در بازیابی استخراج تا ۱۰۰ برابر غلظت کادمیم، تداخل نداشتند، در حالی که Zn<sup>2+</sup>، Mn<sup>2+</sup>، Ni<sup>2+</sup> و Co<sup>2+</sup> برهمکنش قوی تری با TSIL داشتند و حدود آستانه مزاحمت آنها به ترتیب ۷۵، ۲۰، ۱۰ و ۱۰ بود. Cu<sup>2+</sup> تداخل شدیدی در بازیابی استخراج Cd<sup>2+</sup> داشت. برای حل این مشکل، عامل پوشاننده تیواوره در سطح غلظتی ۱ میلی گرم در لیتر به ۲۰ برابر غلظت محلول Cd<sup>2+</sup> اضافه شد [۳۲]. نتایج نشان داد که بازیابی استخراج محلول Cd<sup>2+</sup> بهبود یافته است. روش توسعه یافته می تواند برای استخراج Cd<sup>2+</sup> در نمونه های واقعی مانند عسل، شیر و سرم خون مفید باشد.

### ۳-۳-۳- مشخصات تجزیه ای

تحت شرایط بهینه، روش میکرواستخراج مایع-مایع پراکنده توسعه یافته برای تعیین Cd<sup>2+</sup> در غلظت های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. منحنی کالیبراسیون محدوده خطی از ۵ μg L<sup>-1</sup> تا ۲۵۰ μg L<sup>-1</sup> با ضرایب همبستگی ۰/۹۹۵ و حد تشخیص (LOD) ۰/۴۲ μg L<sup>-1</sup> نشان داد. همچنین انحراف استاندارد نسبی (RSD%) به عنوان معیاری از دقت برای شش اندازه گیری تکراری Cd<sup>2+</sup> در سطح غلظتی ۵۰ μg L<sup>-1</sup>، ۳/۵٪ بود. همچنین فاکتور غنی سازی ۲۱ برای تغلیظ کادمیم بدست آمد.

مقایسه روش پیشنهادی با سایر روش های میکرواستخراج مایع-مایع برای تعیین یون های Cd<sup>2+</sup> با استفاده از طیف سنجی جذب اتمی شعله ای در جدول ۲ نشان داده شده است. این روش در مقایسه با روش های دیگر، حد تشخیص پایین و محدوده خطی غلظتی وسیع تری را نشان داد. در روش پیشنهادی، TSIL نقش دوگانه ای را ایفا می کند که هم به عنوان یک عامل کیلیت دهنده و هم به عنوان حلال استخراج کننده بکار می رود در حالی که در گزارش ها [۳۳-۳۷] هم عامل کیلیت دهنده و هم حلال استخراج کننده به طور جداگانه استفاده شدند. یکی از ویژگی های این روش نسبت به روش های دیگر [۳۳-۳۶] عدم استفاده از حلال آلی مضر

فرآیند نمک زدایی می شود و راندمان استخراج را به دلیل افزایش آبگریزی مایع یونی بهبود می بخشد. از سوی دیگر، غلظت بالای نمک باعث تغییر خواص فیزیکی مانند کاهش حلالیت و چگالی یون ها و کاهش راندمان استخراج می شود [۳۱]. علاوه بر این، افزایش زیاد غلظت نمک باعث تبادل یونی آنیون نمک با آنیون آبگریز مایع یونی می گردد. نتایج نشان داد که استخراج کادمیوم بیش از ۹۹٪ را می توان با استفاده از محلول آبی NaNO<sub>3</sub> (w/v) ۰/۱٪ بدست آورد. با توجه به نتایج به دست آمده، راندمان استخراج در محلول آبی بیش از NaNO<sub>3</sub> (w/v) ۲/۵٪ کاهش یافت.

### ۳-۲- اثر گونه های مزاحم بر میکرواستخراج

اثر یون های تداخل کننده که احتمالاً در نمونه های واقعی یافت می شوند، در روش پیشنهادی بررسی شدند. اگر غلظت کادمیوم استخراج شده در حضور یون های همراه، ۵ درصد بیشتر یا کمتر از غلظت کادمیوم یافت شده در غیاب آن یون ها باشد، آن یون تداخل کننده در استخراج محسوب می گردد. به منظور بررسی اثر یون های تداخل کننده، ۱۰ میلی لیتر محلول دوتایی حاوی محلول Cd<sup>2+</sup> ۵۰ μg L<sup>-1</sup> و یون مزاحم تهیه و طبق روش پیشنهادی، Cd<sup>2+</sup> استخراج و غلظت کادمیوم در حضور و غیاب یون های مزاحم اندازه گیری شد. جدول ۱، حداکثر حد مزاحمت یون های مختلف را نشان می دهد.

بررسی های یون های مزاحم نشان داد که یون های قلیایی و قلیایی خاکی نمی توانند با TSIL کمپلکس تشکیل دهند. همچنین آنیون های مورد مطالعه مانند PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>، CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>، SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>، NO<sub>2</sub><sup>-</sup>، F<sup>-</sup>

جدول ۱. بررسی اثر یون های مزاحم بر میزان استخراج کادمیم توسط مایع یونی عامل دار، شده با ۵-آمینو-۴،۳،۱-تیادیازول-۲-تیول

حد مزاحمت (w/w)	یون ها
۲۵۰۰	K <sup>+</sup> , Mg <sup>2+</sup>
۱۰۰۰	Li <sup>+</sup> , Ba <sup>2+</sup> , Ca <sup>2+</sup>
۱۰۰۰	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , F <sup>-</sup> , I <sup>-</sup>
۷۵۰	Cl <sup>-</sup>
۱۰۰	Fe <sup>3+</sup> , Cr <sup>3+</sup> , Pb <sup>2+</sup> , Al <sup>3+</sup>
۷۵	Mn <sup>2+</sup>
۲۰	Zn <sup>2+</sup>
۱۰	Co <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup>

جدول ۳. کاربرد روش اندازه گیری کادمیم در نمونه های حقیقی طبق روش پیشنهادی

روش	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	RSD (%)	Calibration range ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	مرجع
VALLME	۲/۹	۴/۱	۱۰-۲۵۰	[۳۳]
VALLME	۰/۵۰	۴/۲	۱۰-۲۰۰	[۳۴]
TCIL-DLPME	۰/۶۲	۲/۷	۲-۲۵۰	[۳۵]
DLLME	۰/۴۰	۱/۹	۵-۱۰۰	[۳۶]
DLLM-DES	۰/۳۸	۳/۴	۱-۴۰	[۳۷]
TSIL-DLLME	۰/۴۲	۳/۵	۵-۲۵۰	کار حاضر

VALLME: vortex assisted ionic liquid based liquid-liquid microextraction; TCIL-DLPME: temperature controlled ionic liquid dispersive liquid phase microextraction; DLLME: dispersive liquid-liquid microextraction; DES: deep eutectic solvent; TSIL: task specific ionic liquid

استخراج کننده سبز بکار رفت که جایگزین مناسبی برای حلال های آلی مضر برای محیط زیست است. بعلاوه، پیوند عامل کیلیت دهنده از طریق برهم کنش عامل گوگردی در مایع یونی به یون کادمیم، موجب عدم نیاز به افزودن لیگاند جهت استخراج گونه مورد نظر از نمونه آبی شد. روش پیشنهادی برای تعیین  $\text{Cd}^{2+}$  در نمونه های غذایی و سرم خون انسانی با بازیابی رضایت بخش استفاده شد.

## مراجع

1. A. Wilk, E. Kalisińska, D.I. Kosik-Bogacka, M. Romanowski, J. Rózański, K. Ciechanowski, M. Słojewski, N. Łanocha-Arendarczyk, Environ. Geochem. Health. 39, 889 (2017).
2. R.S. Pappas, M.R. Fresquez, C.H. Watson, J. Anal. Toxicol. 39, 45 (2015).
3. Unites States Environmental Protection Agency, National Primary Drinking Water Standards, June 2003
4. Official Journal of the European Communities, Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on

به عنوان حلال استخراج کننده است. بعلاوه جدول ۲ نشان می دهد در روش میکرواستخراج پیشنهادی، مقدار حجم فاز استخراج کننده مصرفی کم و زمان استخراج کوتاه است.

جدول ۲. مقایسه روش پیشنهادی برای اندازه گیری کادمیم با سایر روش های میکرواستخراج فاز مایع و اندازه گیری با FAAS

نمونه	غلظت افزوده شده ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	غلظت یافت شده ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) (SD $\pm$ )	درصد بازیابی (%)
شیر	۰	-	-
	۳۰	۲۷/۵ $\pm$ ۰/۵	۹۱/۷
	۴۰	۴۰/۳ $\pm$ ۴/۰	۱۰۰/۸
	۵۰	۵۲/۸ $\pm$ ۰/۷	۱۰۵/۶
	۰	-	-
عسل	۰	-	-
	۳۰	۲۷/۰ $\pm$ ۱/۳	۹۰/۱
	۴۰	۳۲/۰ $\pm$ ۱/۳	۸۰/۳
	۵۰	۴۴/۵ $\pm$ ۰/۳	۸۹/۰
	۰	-	-
سرم	۰	-	-
	۳۰	۲۴/۰ $\pm$ ۸/۸	۸۲/۸
	۴۰	۴۳/۲ $\pm$ ۰/۵	۸۵/۶
	۵۰	۴۰/۹ $\pm$ ۰/۲	۸۱/۸
	۰	-	-

## ۳-۴- آنالیز نمونه حقیقی

نمونه های واقعی دارای ماتریکس پیچیده ای هستند، بنابراین قبل از مرحله استخراج، روش توصیه شده در بخش ۲-۵ برای آماده سازی نمونه ها انجام شد. سپس روش پیشنهادی برای استخراج  $\text{Cd}^{2+}$  از نمونه های غذایی (شیر و عسل) و بیولوژیکی (سرم خون) مورد بررسی قرار گرفت. به هر نمونه  $\text{Cd}^{2+}$  در سه سطح غلظتی ( $۳۰$ ،  $۴۰$  و  $۵۰$   $\mu\text{g L}^{-1}$ ) افزوده شد و در هر سطح، آزمایش سه بار تکرار شد. جدول (۳) نشان می دهد که درصد بازیابی استخراج بین ۸۰/۳٪ تا ۱۰۵/۶٪ بوده است.

## ۴- نتیجه گیری

در این مطالعه، تغلیظ و میکرواستخراج  $\text{Cd}^{2+}$  توسط یک مایع یونی با عملکرد ویژه جدید انجام شد. کادمیم توسط FAAS اندازه گیری شد که روشی ساده تر، ارزان تر و انتخابی و کم هزینه نسبت به GFAAS و ICP بود. حجم کمی از مایع یونی به عنوان حلال

17. L. B. Escudero, A.C. Grijalba, E. M. Martinis, R. G. Wuilloud, *Anal. Bioanal. Chem.* 405, 7597 (2013).
18. S. Talpur, T. Gul Kazi, H. Afridi, F N. Talpur, S. Nizamani, A. Lashari, A. Akhtar, M. Khan, *J. AOAC Int.* 101, 883 (2018).
19. I. Pacheco-Fernández, V. Pino, J. Lorenzo-Morales, J. H. Ayala, A. M. Afonso, *Anal. Bioanal. Chem.* 410, 4701 (2018).
20. Q.i. Zhang, S. Ren, C. Gu, A. Li, S. Xue, *J. Mol. Liq.* 327, 114840 (2021).
21. M.V. Shashkov, V.N. Sidelnikov, A.A. Bratchikova, *New Stationary Ionic Liquid Phases with Quinolinium Cations for Capillary Gas Chromatography*, *Anal. Lett.* 53, 84 (2020).
22. B..Y. Hui, N.N.M. Zain, Sharifah Mohamad, P. Varanusupakul, H. Osman, M. Raoov, *Food Chem.* 314, 126214 (2020).
23. N. Altunay, A. Elik, R. Gürkan, *Microchem. J.* 147, 49 (2019).
24. B. Dutta, R. Ruhela, M. Yadav, A.K. Singh, K.K. Sahu, N.P.H. Padmanabhan, J. K. Chakravartty, *Sep. Purif. Technol.* 175, 158 (2017).
25. S. Platzer, M. Kar, R. Leyma, S. Chib, A. Roller, F. Jirsa, R. Krachler, D.R. MacFarlane, W.Kandioller, B.K. Keppler, *J. Hazard. Mater.* 324, 241 (2017).
26. S. Sadeghi, S. Oliaeei, *Spectrochim. Acta, A: Mol. Biomol. Spect.* 223, 117349 (2019).
27. N.F. Ramandi, F. Shemirani, *Talanta.* 131, 404 (2015).
28. N. Khan, T. G. Kazi, H. I. Afridi, M. B. Arain, *Anal. Lett.* 51, 673 (2018).
- the Quality of Water Intended for Human Consumption.
5. World Health Organization, *Guidelines for Drinking-Water Quality*, 3rd ed., vol. 1, Recommendations, Geneva, (2006).
6. M. Behbahani, P.G. Hassanlou, M.M. Amini, F. Omidi, A. Esrafil, M. Farzadkia, A. Bagheri, *Food Chem.* 187, 82 (2015).
7. F. Omidi, M. Behbahani, M. K. Bojdi, S.J.Shahtaheri, *J. Magn. Magn.Mater.* 395, 213 (2015).
8. J. S. Mandlate, B.M. Soares, T.S. Seeger, P. Dalla Vecchia, P.A. Mello, E. M. M. Flores, F.A. Duarte, *Food Chem.* 221, 907 (2017).
9. S. Moinfar, G. Khayatian, *Microchem. J.* 132, 293 (2017).
10. A.R. Borges, D.N. Bazanella, Á.T. Duarte, A.V. Zmozinski, M.G.R. Vale, B. Welz., *Microchem. J.* 130, 116 (2017).
11. C. Waterlot, F. Douay, *Measurement.* 46, 2348 (2013).
12. R. Galbeiro, S. Garcia, I. Gaubeur, *J. Trace Elem. Med Biol.* 28, 160 (2014).
13. A. Cervantes, R. Rodríguez, L. Ferrer, V. Cerdà, L. O. Leal, *Microchem. J.* 132, 107 (2017).
14. V. Yilmaz, Z. Arslan, L. Rose, M. D. Little, *Talanta.* 115, 681 (2013).
15. M.C. Barciela-Alonso, V. Plata-García, A. Rouco-López, A. Moreda-Piñeiro, P. Bermejo-Barrera, *Microchem. J.* 114, 106 (2014).
16. A. Damokhi, S. Yousefinejad, R. Yarmohammadi, S. Jafari, *J. Mol. Liquids*, 344, 117732(2021).



29. 22. M. Baghdadi, F. Shemirani, Anal. Chim. Acta. 613, 56 (2008).
30. X. Xu, Z. Liu, X. Zhao, R. Su, Y. Zhang, J. Shi, Y. Zhao, L. Wu, Q. Ma, X. Zhou, J. Sep. Sci. 36 585 (2013).
31. C. F. Poole, N. Lenca, TrAC Anal. Chem. 71 144 (2015).
32. S. Walas, E. Borowska, M. Herda, M. Herman, H. Mrowiec, Int. J. Environ. Anal. chem. 72, 217 (1998).
33. M. Chamsaz, A. Atarodi, M. Eftekhari, S. Asadpour, M. Adibi, J. Adv. Res. 4, 35 (2013).
34. S. Khan, E. Yilmaz, T.G. Kazi, M. Soylak, Soil, Air, Water. 42, 1083 (2014).
35. F. Bamdad ,M. Ardalani, M.R. Sangi, J. the Brazilian Chem. Soc. 25, 264 (2014).
36. F. S. Rojas, C.B. Ojeda, J.C. Pavon, Anal. Methods. 3, 1652 (2011).
37. S. M. Sorouraddina, M. A.Farajzadeha, H. Dastoori, Talanta 208, 120485 (2020).

# Ligandless preconcentration and determination of cadmium in food and human serum samples by dispersive liquid- liquid microextraction method based on a task-specific ionic liquid combined with flame atomic absorption spectrometry

N. Sarrafi, S. Sadeghi\*

Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Birjand, Birjand, Iran

**Abstract:** In the present paper, a simple, and reliable method for the preconcentration of cadmium ions based on dispersive liquid-liquid microextraction technique is introduced. A new task specific ionic liquid (TSIL) was used as an extractant for the selective preconcentration of  $\text{Cd}^{2+}$  ions from aqueous solution and determination by flame atomic absorption spectrometer (AAS). Parameters affecting the extraction of  $\text{Cd}^{2+}$  ions such as pH solution, TSIL concentration, centrifugation time, hydrophobic salt concentration, nonionic surfactant concentration, and ionic strength were optimized. Under the optimal conditions, the calibration curve was linear in the concentration range of 5 - 250  $\mu\text{g L}^{-1}$  with a detection limit of 0.42  $\mu\text{g L}^{-1}$   $\text{Cd}^{2+}$ . Since, TSIL has a high affinity toward cadmium ions, interferents have little effects on the microextraction, so satisfactory recoveries were obtained for the extraction of trace amounts of cadmium ions from real samples (blood serum, milk and honey).

**Keywords:** Dispersive liquid-liquid microextraction, Task specific ionic liquid, Cadmium ions, Flame atomic absorption spectrometry