

استخراج و پیش تغلیظ وانادیوم از نمونه‌های بیولوژیکی با روش استخراج میکرو فاز

جامد پختی بر اساس نانو جاذب گرافن اکساید

مهری قزاقی^۱، حسن زوار موسوی^{۱*}، حمید شیرخانلو^۲ و علیمراد رشیدی^۳

^۱ دانشکده شیمی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران
^۲ پژوهشکده سلامت پژوهشگاه صنعت نفت، تهران، ایران
^۳ مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی، پژوهشگاه صنعت نفت، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۲/۲۴

تاریخ تصحیح: ۹۳/۱۱/۱۹

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۲۵

چکیده:

در این تحقیق، از گرافن اکساید برای استخراج و پیش تغلیظ وانادیوم از نمونه‌های بیولوژیکی با کمک روش استخراج میکرو فاز جامد پختی استفاده شده است. ریخت شناسی گرافن اکساید به وسیله TEM و XRD مورد ارزیابی قرار گرفت. فاکتورهای موثر بر فرایند استخراج، از قبیل pH محلول، مقدار جاذب، زمان استخراج و حجم محلول شونیده مورد بررسی قرار گرفت و بهینه شدند. حد تشخیص برای وانادیوم ۰/۰۱ میکرو گرم بر لیتر بدست آمد. انحراف استاندارد نسبی روش ۳/۴٪ محاسبه شد. این روش با موفقیت برای اندازه‌گیری مقادیر کم وانادیوم در نمونه‌های بیولوژیکی به کار گرفته شد.

واژگان کلیدی: استخراج میکرو فاز جامد پختی، وانادیوم، گرافن اکساید

۱- مقدمه:

وانادیوم به صورت گسترده ای توسط فرایندهای صنعتی استفاده می‌شود. ترکیبات وانادیوم در مقادیر بزرگ در طبیعت آزاد می‌شود و روی خاک رسوب می‌کند و در نهایت جذب گیاهان می‌شود [۱]. وانادیوم تجزیه ناپذیر است و در محیط تجمع می‌یابد. بنابراین توسعه روشی دقیق، حساس و تکرارپذیر برای اندازه‌گیری مقادیر کم وانادیوم ضروری می‌باشد [۲]. تکنیک‌های متعددی از قبیل اسپکتروسکوپی پلاسمای جفت شده القایی [۳]، اسپکتروسکوپی جذب شعله‌ای [۴] و اسپکتروسکوپی جذب اتمی الکتروترمال [۵، ۶] برای اندازه‌گیری مقادیر کم فلزات سنگین معرفی شده‌اند، اما به دلیل مزاحمت ماتریس پیچیده نمونه‌ها و غلظت کم گونه یک مرحله پیش تغلیظ و جداسازی ضروری می‌باشد.

روش‌های آماده‌سازی نمونه بر اساس میکرو مقیاس به سرعت در حال توسعه است، که این به دلیل مزیت سازگار با حجم کم نمونه‌های بیولوژیکی است [۷]. روش‌های میکرو استخراج بعضی از محدودیت‌های روش‌های معمول از قبیل استخراج

مایع-مایع و استخراج فاز جامد را از بین می‌برد. هر دو این روش‌ها، چند مرحله‌ای، خسته کننده و استفاده زیاد از حلال آلی رنج می‌برند. امروزه روش میکرواستخراج فاز جامد (SPME) توسعه یافته است که ساده، سریع و حجم کم حلال آلی استفاده می‌کند و بر بعضی از محدودیت‌های روش‌های معمول غلبه می‌کند [۸]. با وجود ویژگی‌های خوب روش SPME، معایبی همچون شکنندگی فیبر و قیمت بالای فیبر و اثر حافظه دارد [۹، ۱۰]. اخیراً، روش استخراج میکروفاز جامد (μ SPE) به عنوان فرمت کوچک شده استخراج فاز جامد توسعه یافته است تا مصرف حلال آلی، جاذب و نمونه را کاهش دهد [۱۱، ۱۲]. در این روش استخراج و تصفیه در یک مرحله انجام می‌شود و برای استخراج از ماترس‌های پیچیده مناسب است. روش μ SPE بر خیلی از معایب روش SPME غلبه می‌کند، از قبیل عدم محافظت جاذب در برابر ماتریس‌های کثیف و محدودیت در انواع تجاری فیبر. در فرایند μ SPE-D، استخراج در توده محلول اتفاق می‌افتد [۱۳، ۱۴] و جاذب قادر است تا به سرعت و به صورت یکنواخت با همه آنالیت‌ها بر همکنش داشته باشد.

گرافن، نانو ماده کربنی در سال ۲۰۰۴ معرفی شد [۱۵]. گرافن به دلیل ساختار دو بعدی شامل شبکه تک لایه‌ای از اتم‌های کربن sp^2 ، مورد توجه زیادی قرار گرفته است. گرافن با ظرفیت جذب بالا به دلیل مساحت سطح بالا به عنوان جاذب در روش‌های SPE [۱۶] و SPME [۱۷] مورد استفاده قرار گرفته است. گرافن اکساید با داشتن گروه‌های هیدروکسل روی سطح خود تمایل بیشتری برای برهمکنش دارد.

در این تحقیق از روش استخراج میکرو فاز جامد پخشی ($D-\mu$ SPE) با استفاده از گرافن اکساید برای استخراج و پیش تغلیظ وانادیوم از نمونه‌های بیولوژیکی استفاده شده است. در این روش جداسازی، تصفیه و پیش تغلیظ در یک مرحله انجام می‌شود.

فاکتورهای موثر بر کارایی روش مورد بررسی قرار گرفت.

۲- روش تجربی:

۲-۱- مواد شیمیایی و دستگاه‌ها

تمام مواد شیمیایی استفاده شده دارای درجه تجزیه‌ای بوده و از آب یون زدایی در تمام طول مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. محلول وانادیوم (1000 mg L^{-1}) از حل کردن مقدار مناسب از نمک وانادات آمونیوم (خریداری شده از مرک) در آب تهیه شد. سایر محلول‌ها با رقیق سازی مکرر محلول اولیه با آب یون زدایی شده به صورت روزانه تهیه شد. بافر استاتی با خنثی سازی اسیداستیک با سدیم هیدروکسید تا رسیدن به $\text{pH}=4$ تهیه شد. برای اندازه‌گیری غلظت وانادیوم از دستگاه اسپکتروسکوپی جذب اتمی الکتروترمال GBC (استرالیا) مدل ۹۳۲ با کوره گرافیتی GF3000 مجهز به لامپ کاند توخالی

استفاده شد. ۲۰ میکرولیتر از نمونه توسط نمونه بردار خودکار (PAL3000) داخل کوره تزریق شد. از گاز آرگون با خلوص ۹۹٫۹۹٪ به عنوان گاز محافظت کننده و تمیز کننده استفاده شد. شرایط عملی دستگاه در جدول ۱ آورده شده است. مقادیر PH با استفاده از دستگاه PH متر شرکت Metrohm مدل ۷۴۴ اندازه گیری شد. ریخت شناسی اکسید گرافن با دستگاه‌های میکروسکوپ پویش الکترونی (SEM) شرکت TESCAN مدل VEGA\ و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) شرکت Zeiss مدل EM10C با قدرت ۸۰KV انجام شد.

جدول ۱. پارامترهای دستگاهی برای اندازه گیری وانادیوم با دستگاه کوره گرافیتی

پارامتر	ETAAS
طول موج	۳۱۸/۵
جریان لامپ	۵ mA
حجم تزریق	۲۰ μL
مد	مساحت پیک
گاز	آرگون
خشک کردن	۱۱۰
خاکستر سازی	۱۲۰۰
اتم سازی	۲۷۰۰
تمیز کردن	۲۹۰۰

۲-۲- سنتز گرافن اکساید

مقدار ۵ g از پودر گرافیت و ۲/۵ g از نیترات سدیم با ۱۲۰ mL از اسید سولفوریک غلیظ مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام یخ (۰ °C) هم خورده شد. مقدار ۱۵ g از پرمنگنات پتاسیم به آرامی به مخلوط در حال هم خوردن اضافه و دمای مخلوط زیر ۱۵ °C نگه داشته شد. سپس حمام یخ برداشته شد و مخلوط در دمای ۳۵ °C هم خورده شد تا یک دوغاب قهوه‌ای حاصل شود. سپس مخلوط با ۲۵۰ mL آب به آرامی رقیق شد. دمای واکنش به سرعت به ۹۸ °C افزایش یافت، رنگ مخلوط به قهوه‌ای تغییر می‌یابد. سپس محلول ۳۰٪ هیدروژن پراکسید به مخلوط اضافه می‌شود، در این مرحله رنگ مخلوط به زرد روشن تغییر می‌کند که نشان دهنده گرافیت کاملاً اکسید شده است. گرافیت اکسید شده تشکیل شده با محلول رقیق اسید کلریدریک شسته می‌شود سپس فرایند شستشو با آب ادامه می‌یابد تا کاملاً خنثی شود. نانو ورقه‌های اکسید گرافن با التراسونیک کردن پودر اکسید گرافیت و سانتریفیوژ کردن (برای حذف گرافیت های ورقه ورقه نشده) بدست می‌آید. در نهایت به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۶۰ °C خشک می‌شود.

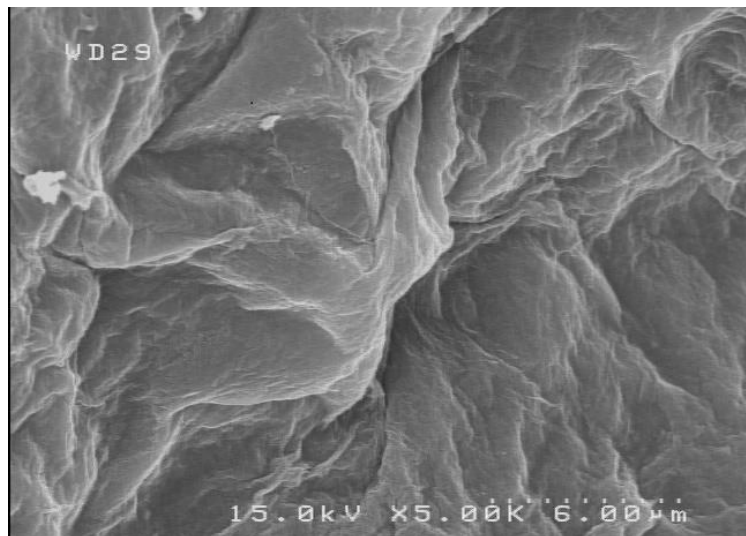
۳-۲- روش استخراج میکرو فاز جامد پخشی

۲ mL محلول نمونه شامل $15 \mu\text{g L}^{-1}$ از وانادیوم ($\text{pH}=4$) با ۲ mg از گرافن اکساید به مدت ۵ دقیقه در تماس قرار گرفت. پس از جداسازی نانو جاذب از محلول با $200 \mu\text{L}$ از محلول 0.5 mol L^{-1} اسید نیتریک شسته شد. سپس $20 \mu\text{L}$ از محلول حاصل به دستگاه ETAAS تزریق شد.

۳-۳- بحث و نتیجه گیری:

۳-۱- نتایج تصویر برداری توسط میکروسکوپ پوشش الکترونی

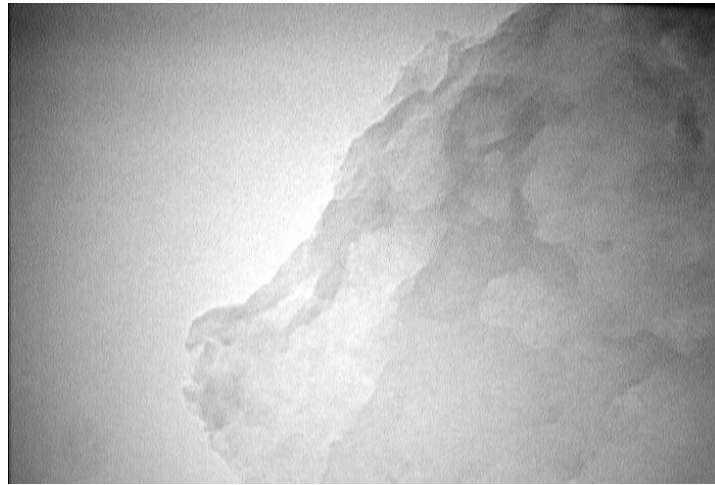
شکل ۱ نتیجه حاصل از آنالیز میکروسکوپ پوشش الکترونی (SEM) را برای اکسید گرافن نشان می‌دهد. در این تصویر ساختار صفحه‌ای گرافن به وضوح مشخص است.



شکل ۱. تصویر میکروسکوپ پوشش الکترونی (SEM) اکسید گرافن

۳-۲- نتایج تصویر برداری توسط میکروسکوپ الکترون عبوری

شکل ۲ تصویر میکروسکوپ الکترون عبوری را نشان می‌دهد. این تصویر نیز ساختار لایه ای تشکیل شده برای اکسید گرافن را تایید می‌کند.

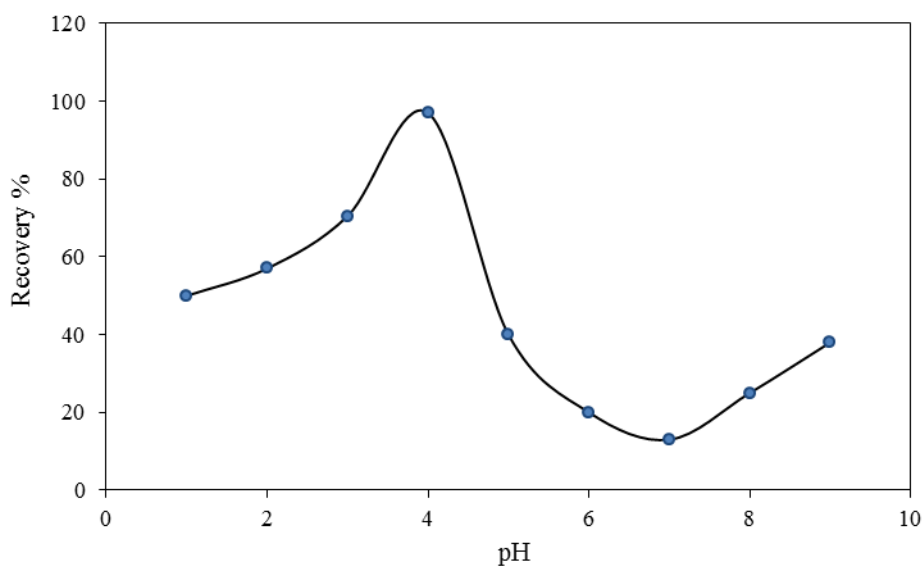


شکل ۲. تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) اکسید گرافن

۳-۳- بررسی پارامترهای موثر بر فرایند استخراج

۳-۳-۱- تاثیر pH محلول نمونه

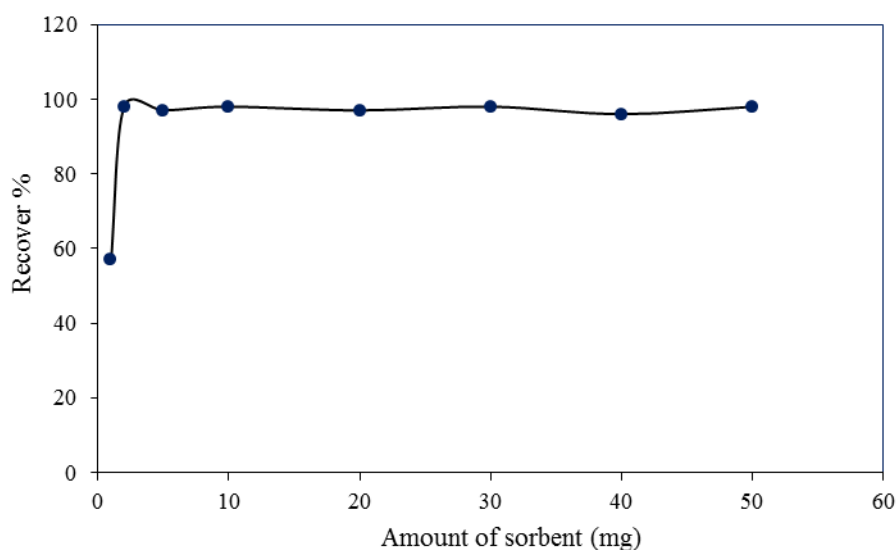
شکل ۳ نتایج تاثیر pH محلول نمونه بر کارایی استخراج وانادیوم را نشان می‌دهد. وانادیوم در محدوده pH بین ۲ تا ۴ به صورت VO_2^+ وجود دارد. نمودار تاثیر pH نشان می‌دهد که pH=۴ بهترین pH برای استخراج وانادیوم توسط اکسید گرافن است. علت کاهش کارایی استخراج در pH های بالاتر از ۴ ممکن است به این دلیل باشد که وانادیوم در این محدوده pH به صورت گونه‌هایی دیگری از وانادیوم تبدیل می‌شود که احتمالاً امکان برهمکنش کمتری با اکسید گرافن دارد. وانادیوم در pH بین ۴ تا ۹ به صورت‌های $H_2VO_4^-$ و $V_4O_{12}^{4-}$ وجود دارد.



شکل ۳. تاثیر pH بر کارایی استخراج، ۲ mL نمونه شامل $2 \mu\text{g L}^{-1}$ وانادیوم، ۱۰ mg اکسید گرافن

۳-۳-۲- تاثیر مقدار جاذب

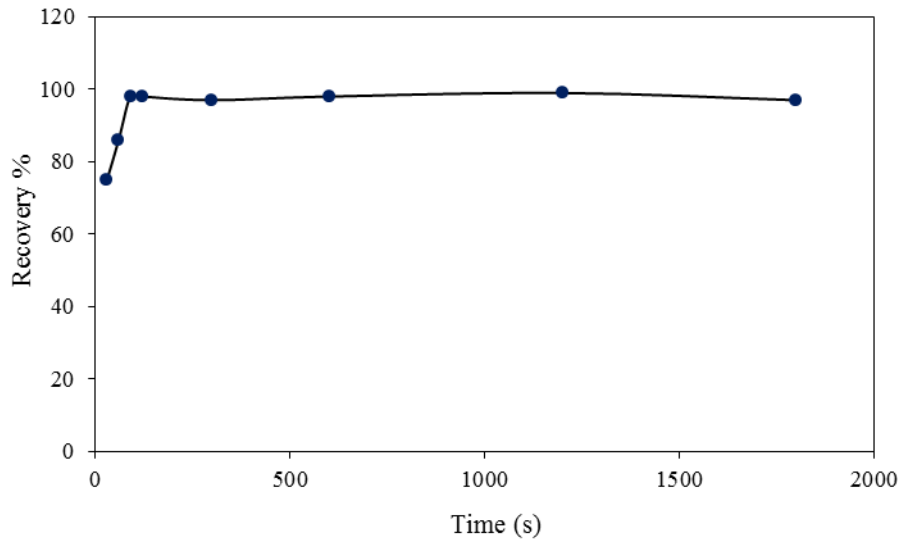
بررسی تاثیر مقدار جاذب بر کارایی استخراج وانادیوم توسط روش استخراج میکروفاز جامد پخشی در رنج ۱ تا ۵۰ میلی-گرم از اکسید گرافن انجام شد. نتایج این بررسی در شکل ۴ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که حداقل مقدار جاذب برای استخراج کمی وانادیوم ۲ mg است. برای کاهش اثر مزاحمت سایر گونه‌ها در ماتریس پیچیده مقدار ۵ mg از اکسید گرافن برای استخراج وانادیوم انتخاب شد.



شکل ۴. تاثیر مقدار جاذب بر کارایی استخراج، ۲ mL محلول نمونه شامل $2 \mu\text{g L}^{-1}$ وانادیوم، pH=4

۳-۳-۳- تاثیر زمان استخراج

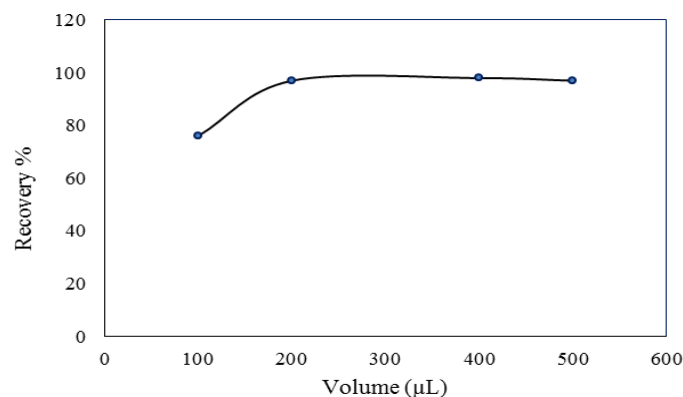
تاثیر زمان بر کارایی استخراج وانادیوم در رنج زمانی ۳۰ تا ۱۸۰۰ s مورد بررسی قرار گرفت و نتایج در شکل ۵ نشان داده شده است. همان طور که در شکل مشخص است حداقل ۹۰ s برای استخراج کمی وانادیوم مورد نیاز است و افزایش بیشتر زمان، تاثیری بر کارایی استخراج وانادیوم ندارد. در نتیجه ۹۰ s به عنوان زمان مناسب برای انجام آزمایشات بعدی انتخاب شد.



شکل ۵. تاثیر زمان بر کارایی استخراج؛ ۲ mL محلول نمونه شامل $2 \mu\text{g L}^{-1}$ وانادیوم، pH=4، مقدار جاذب ۵ mg

۳-۳-۴- تاثیر حجم شوینده

حجم محلول شوینده تاثیر زیادی بر روش دارد. از طرفی کمترین حجم شوینده برای افزایش فاکتور پیش تغلیظ مورد نظر است و از طرفی حجم شوینده باید به اندازه کافی باشد که بتواند تمام آنالیت‌های جذب شده را به صورت کمی از جاذب آزاد کند. برای این هدف حجم‌های ۱۰۰ تا ۵۰۰ میکرولیتر مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آن در شکل ۶ نشان داده شده است. همان طور که مشخص است حجم $100 \mu\text{L}$ می‌تواند وانادیوم را به صورت کمی از روی جاذب آزاد کند و افزایش بیشتر حجم شوینده تاثیر زیادی ندارد در حالی که در حجم‌های بیشتر اسید فاکتور پیش تغلیظ کاهش زیادی پیدا می‌کند. بنابراین حجم $100 \mu\text{L}$ به عنوان حجم مناسب حلال شوینده انتخاب شد.



شکل ۶. تاثیر حجم شوینده بر کارایی استخراج؛ ۲ mL محلول نمونه شامل $2 \mu\text{g L}^{-1}$ وانادیوم، pH=4، مقدار جاذب ۵ mg

۳-۳-۵- بررسی اثر مزاحمت سایر گونه‌ها

بعد از بررسی اثر پارامترهای موثر بر فراین استخراج و بدست آوردن شرایط مناسب، اثر مزاحمت سایر گونه‌های یونی موجود در ماتریس نمونه مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور، ۲ mL از نمونه شامل $2 \mu\text{g L}^{-1}$ وانادیوم و مقادیر مختلف از یون مزاحم مورد بررسی با ۵ mg از گرافن اکساید به مدت ۹۰ s در تماس قرار گرفت سپس با محلول اسید نیتریک 1 mol L^{-1} شسته شد و در نهایت محلول بازیابی شده به دستگاه ETAAS تزریق شد. یون مزاحم به یونی گفته می‌شود که باعث تغییری بیشتر از $\pm 5\%$ در استخراج وانادیوم شود. نتایج در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که یون‌های مورد بررسی تاثیر زیادی بر جذب وانادیوم ندارند.

جدول ۲. بررسی حضور سایر یون‌ها بر کارایی استخراج وانادیوم؛ ۲ mL محلول نمونه شامل $2 \mu\text{g L}^{-1}$ وانادیوم، pH=۴، مقدار جاذب ۵ mg، ۲۰۰ μL اسید نیتریک

حد مجاز غلظت (C_w / C_w کاتیون مربوطه / یون C_w)	یون
۲۵۰	$\text{Pb}^{2+}, \text{Cd}^{2+}, \text{Cu}^{2+}, \text{Zn}^{2+}, \text{Ni}^{2+}, \text{Fe}^{2+}$
۵۰۰	$\text{Cr}^{2+}, \text{Mn}^{2+}, \text{Mg}^{2+}, \text{Al}^{3+}, \text{Ag}^+, \text{Co}^{2+}$
۱۰۰۰	$\text{Ba}^{2+}, \text{Ca}^{2+}, \text{Li}^+, \text{Na}^+, \text{K}^+$
۱۰۰۰	$\text{F}^-, \text{I}^-, \text{Cl}^-, \text{Br}^-, \text{NO}_3^-$

۳-۳-۶- ارقام شایستگی روش

ارقام شایستگی روش با ۲ mL محلول‌های استاندارد وانادیوم در رنج غلظتی $20-0.5 \mu\text{g L}^{-1}$ بدست آمد. نمودار کالیبراسیون با رسم میانگین جذب سه بار اندازه‌گیری در برابر غلظت وانادیوم بدست آمد. ضریب همبستگی نمودار کالیبراسیون ۰/۹۹۷ برای وانادیوم حاصل شد. حد تشخیص روش، محاسبه شده به صورت سه برابر نسبت سیگنال به نویز، مقدار $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ برای وانادیوم محاسبه شد. تکرار پذیری روش با درصد انحراف استاندارد نسبی (RSD) محاسبه شد که برای غلظت $5 \mu\text{g L}^{-1}$ از وانادیوم مقدار ۳/۴٪ بدست آمد. نتایج این بخش در جدول ۳ خلاصه شده است.

جدول ۳. ارقام شایستگی روش؛ ۲ mL محلول نمونه شامل $5 \mu\text{g L}^{-1}$ وانادیوم، pH=۴، مقدار جاذب ۵ mg، ۲۰۰ μL اسید نیتریک

ارقام شایستگی	V
محدوده خطی ($\mu\text{g L}^{-1}$)	۰/۰۵-۲۰
ضریب همبستگی نمودار کالیبراسیون	۰/۹۹۷
حد تشخیص ($\mu\text{g L}^{-1}$) (n=۵)	۰/۰۱
انحراف استاندارد نسبی (%) (n=۱۰)	۳/۴
فاکتور تغلیظ	۲۰

۳-۳-۷- کاربرد روش برای اندازه‌گیری وانادیوم در نمونه‌های حقیقی

برای بررسی توانایی روش پیشنهادی برای استخراج وانادیوم در نمونه‌های حقیقی با ماتریس پیچیده، این روش برای اندازه‌گیری وانادیوم در نمونه‌های آب رودخانه کن، آب شهر و سرم خون مورد استفاده قرار گرفت. برای بررسی صحت روش از روش افزایش استاندارد استفاده شد. به هر یک از نمونه‌ها مقادیر مشخص از وانادیوم اضافه و روش پیشنهادی برای بازیابی وانادیوم انجام شد. نتایج در جدول ۴ نشان داده شده است. همان طور که مشخص است ماتریس‌های پیچیده تاثیر زیادی بر کارایی استخراج روش ندارد.

جدول ۴. اندازه‌گیری وانادیوم در نمونه‌های حقیقی

نمونه	مقدار اضافه شده (μgL^{-1})	مقدار اندازه‌گیری شده	بازیابی %
آب شهر تهران	۰	۶/۳	-
	۲	۸/۲	۹۵/۰
	۸	۱۴/۴	۱۰۱/۲
آب رودخانه کن	۰	۱۳/۶	-
	۲	۱۵/۵	۹۵/۰
	۶	۱۹/۸	۱۰۳/۳
سرم خون	۰	زیر حد تشخیص	-
	۲	۲/۱	۱۰۵/۰
	۸	۷/۹	۹۸/۷۵

۴- نتیجه‌گیری:

اکسید گرافن کارایی بالایی برای استخراج و جداسازی وانادیوم از نمونه‌های آبی و نمونه‌های بیولوژیکی نشان می‌دهد. در روش استخراج میکرو فاز جامد پخشی زمان و حجم مصرفی نمونه به مقدار زیادی کاهش یافته است که این روش را برای کاربردهای بیولوژیکی مفید و قابل استفاده می‌کند. فاکتورهای موثر بر فرایند استخراج مورد بررسی قرار گرفت و بهینه شد. نتایج نشان داده است که اکسید گرافن در روش ساده و سریع استخراج میکرو فاز جامد پخشی قادر به استخراج وانادیوم از ماتریس‌های پیچیده است.

۵- مراجع:

- [1] K. Pyrzyńska, T. Wierzbicki, *Talanta*, **64** (2004) 823.
- [2] O. Yildiz, D. Citak, M. Tuzen, M. Soylak, *Food and Chemical Toxicology*, **49** (2011) 458.
- [3] S. Kagaya, Y. Araki, N. Hirai, K. Hasegawa, *Talanta*, **67** (2005) 90.

- [4] H. Parham, N. Pourreza, N. Rahbar, *J. Hazard. Mater.*, **163** (2009) 588.
- [5] B. Yang, Q. Gong, L. Zhao, H. Sun, N. Ren, J. Qin, J. Xu, H. Yang, *Desalination*, **278** (2011) 65.
- [6] A. N. Anthemidis, K. I. G. Ioannou, *Anal. Chim. Acta*, **668** (2010) 35.
- [7] Q. Chen, J. Wu, Y. Zhang, J. M. Lin, *Anal. Chem.* **84** (2012) 1695.
- [8] C. L. Arthur, J. Pawliszyn, *Anal. Chem.*, **62** (1990) 2145.
- [9] A. Sarafraz-Yazdi, A. Amiri, *TrAC Trends Anal. Chem.*, **29** (2010) 1.
- [10] J. X. Wang, D. Q. Jiang, Z. Y. Gu, X.-P. Yan, *J. Chromatogr. A*, **1137** (2006) 8-.
- [11] L. Xu, H. K. Lee, *J. Chromatogr. A*, **1192** (2008) 203.
- [12] C. Basheer, K. Narasimhan, M. Yin, C. Zhao, M. Choolani, H. K. Lee, *J. Chromatogr. A*, **1186** (2008) 358.
- [13] E. M. Reyes-Gallardo, G. Lasarte-Aragonés, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *J. Chromatogr. A*, **1271** (2013) 50.
- [14] W. H. Chung, S. H. Tzing, W. H. Ding, *J. Chromatogr. A*, **1307** (2013) 34.
- [15] K. S. Novoselov, A. K. Geim, S. V. Morozov, D. Jiang, Y. Zhang, S. V. Dubonos, I. V. Grigorieva, A. A. Firsov, *Science*, **306** (2004) 666.
- [16] N. Sun, Y. Han, H. Yan, Y. Song, *Anal. Chim. Acta*, **810** (2014) 25.
- [17] Q. Wu, C. Feng, G. Zhao, C. Wang, Z. Wang, *J. Sep. Sci.*, **35** (2012) 193.