

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده شیمی

گروه شیمی تجزیه

عنوان :

تعیین مقدار کبالت (II) به روش اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای پس از پیش تغلیظ
آن بر روی پلی ونیل کلراید اصلاح شده با ۳- (۲- تیا زولیل آزو) ۲-۶ دی آمینو پیریدین

دانشجو:

طاهره زرنوشه فراهانی

استاد راهنما:

دکتر قدمعلی باقریان دهقی

استاد مشاور:

دکتر منصور عرب چم جنگلی

پایان نامه ارشد جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

بهمن ماه ۱۳۹۱

تقدیم بابوسه بر شانه های پدرم،

پدری به استواری کوه ، به او که نمی دانم از بزرگی اش بگویم یا مردانگی ، سخاوت ، سکوت ، مهربانی و ... به او که تنها دنجوشی
همیشگی ام است.

بابوسه بردستان مادرم،

مادی به زلالی چشمه ، آنکه آفتاب مهرش در آستانه قلم ، پنهان پابرجاست و هرگز غروب نخواهد کرد. دریای بی کران فداکاری و
عشقی که وجودم برایش همه رنج بود و وجودش برایم همه مهر است.

با عشق به همسرم،

همسری به صمیمیت باران، او که اسطوره زندگیم، پناه حاکمیت و امید بودنم است. به قلبی آکنده از عشق و معرفت که محیطی سرشار از
سلامت، امنیت و آرامش برای من فراهم آورد.

و تقدیم بامهربانی به فرشتگانی که،

سخطات ناب باور بودن، لذت و غرور دانستن، جسارت خواستن، عظمت رسیدن و تمام تجربه های یکتا و زیبای زندگیم، مدیون حضور
سبز آنهاست. خواهران و برادران عزیزم

همدم بدرقه‌ی راه کن ای طایر قدس که دراز است ره مقصد و من نوسفرم

سپاس و ستایش مرخدای راجل و جلالة که آثار قدرت او بر چهره روز روشن، تهبان است و انوار حکمت او در دل شب تار، در فشان. آفریدگاری که خوشتن را به ما شناساند و دمی علم را بر ما کشود و عمری و فرصتی عطا فرمود تا بدان، بنده ضعیف خویش را در طریق علم و معرفت بیازماید. سپاس او را که سخنوران، در ستودن او بمانند و شانندگان، شمردن نعمت های او ندانند و کوشندگان، حق او را کز اردن نتوانند. و سلام و دور در بر محمد و خاندان پاک او، طاهران معصوم، هم آنان که وجودمان و لیدار وجودشان است؛ و نفرین پیوسته بر دشمنان ایشان تا روز رستاخیز...

سپاسگذار کسانی هستم که سرآغاز تولد من هستند. از یکی زاده می‌شوم و از دیگری جاودانه. پدر و مادری که تار مویی از آنها پایی من سیاه نماند، آنان که پیوسته جرعه نوش جام تعلیم و تربیت، فضیلت و انسانیت آنها بوده ام، و استادی که سپیدی را بر تخته سیاه زندگیم مگاشت.

باتقدیر و شکر شایسته از استاد فریخته و فرزانه جناب آقای دکتر قدس علی باقریان دهمی که با نکته های دلاویز و نکته های بلند، صحیفه های سخن را علم پرور نمود و همواره راهنما و راه گشای مکارنده در اتمام و تکمال این پایان نامه بوده است.

معلمای مقامت ز عرش برتر باد همیشه تو سن اندیشه ات مظفر باد

چکیده

در این پایان نامه یک روش ساده و حساس برای استخراج فاز جامد بر-خط و اندازه‌گیری مقادیر بسیار کم کبالت (II) با استفاده از روش تزریق در جریان کوپل شده با اسپکترومتری جذب اتمی شعله‌ای ارائه شده است. در این روش پلی‌ونیل کلرید اصلاح شده با لیگاند ۳- (۲- تiazolil آزو)-۶،۲- دی آمینو پیریدین (TADAP) در $\text{pH} = 6/5$ به منظور بازداري بر-خط کبالت (II) مورد استفاده قرار گرفت. کبالت بازداري شده در ستون بوسيله هیدروکلریک اسید $1/0$ مولار شسته و به منظور اندازه‌گیری مستقیماً وارد مه‌پاش دستگاه جذب اتمی شد. به منظور بررسی پیش‌تغلیظ کمی و اندازه‌گیری کبالت (II) متغیرهای شیمیایی و دستگاهی موثر بر روی حساسیت روش در سیستم طراحی شده بهینه‌سازی شدند و تأثیر یون‌های مختلف نیز بر روی اندازه‌گیری بر-خط کبالت بررسی شد. تحت شرایط بهینه، منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۱۵۰-۲ میکروگرم بر لیتر خطی است. مقدار حد تشخیص و فاکتور پیش‌تغلیظ برای پیش‌تغلیظ حجم $10/0$ میلی‌لیتر از نمونه، به ترتیب $1/3$ میکروگرم بر لیتر و ۴۰ بدست آمد. انحراف استاندارد نسبی برای ۶ اندازه‌گیری تکراری کبالت (II) در سطح غلظتی $0/01$ ، $0/05$ ، $0/10$ و $0/14$ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب $2/5\%$ ، $3/0\%$ ، $1/8\%$ و $1/8\%$ است. تأثیر سایر گونه‌های مزاحم موجود در بیشتر نمونه‌های حقیقی مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

لغات کلیدی: اسپکترومتری جذب اتمی شعله‌ای، استخراج فاز جامد، کبالت (II).

مقالات مستخرج از این پایان نامه که در همایش ها ارائه شده است :

- دهمین همایش ملی شیمی پیام نور، دانشگاه پیام نور کرمان، مهرماه ۱۳۹۱
- ششمین همایش ملی و نمایشگاه تخصصی مهندسی محیط زیست، دانشگاه تهران، آذرماه ۱۳۹۱

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه

- ۱-۱- مقدمه ۲
- ۲-۱- کبالت ۲
- ۳-۱- خواص فیزیکی و شیمیایی کبالت ۳
- ۴-۱- تاریخچه و ژئوشیمی کبالت ۴
- ۵-۱- کاربردهای کبالت ۴
- ۶-۱- تأثیرات بیولوژیکی و زیست محیطی کبالت ۵
- ۷-۱- منابع آلودگی ۶
- ۸-۱- مروری بر روش‌های اندازه‌گیری کبالت به کمک تکنیک پیش تغلیظ و اسپکترومتری جذب اتمی شعله‌ای... ۷

فصل دوم : بخش تئوری

- ۱-۲- مقدمه ای بر روش‌های آماده سازی نمونه ۱۶
- ۲-۲- استخراج فاز جامد ۱۷
- ۱-۲-۲- تاریخچه ۱۷
- ۲-۲-۲- اصول و مراحل استخراج با فاز جامد (SPE) ۱۸
- ۳-۲-۲- روش استخراج با فاز جامد (SPE) ۱۸
- ۴-۲-۲- فاکتورهای مؤثر بر انتخاب نوع فاز جامد ۲۰
- ۱-۴-۲-۲- انواع فازهای جامد ۲۰
- ۲-۴-۲-۲- میکروستونها ۲۱
- ۳-۴-۲-۲- کارتریج‌ها و لوله‌های سرنگی مصرفی ۲۱

۲۲	 دیسک‌ها. ۴-۴-۲-۲
۲۳	 SPE. ۵-۲-۲ خصوصیات مطلوب جاذب‌های SPE
۲۳	 ۱-۵-۲-۲ مساحت سطح زیاد
۲۳	 ۲-۵-۲-۲ جذب سطحی برگشت پذیر
۲۴	 ۳-۵-۲-۲ خلوص
۲۴	 ۴-۵-۲-۲ سختی و پایداری شیمیایی بالا
۲۴	 ۵-۵-۲-۲ درصد بازیابی بالا
۲۵	 SPE. ۶-۲-۲ مزایای SPE
۲۵	 ۱-۶-۲-۲ پیش‌تغلیظ
۲۶	 ۲-۶-۲-۲ نگهداری و ذخیره‌سازی گونه‌ها
۲۶	 ۳-۶-۲-۲ گزینش‌پذیری بالا
۲۷	 ۴-۶-۲-۲ اتوماسیون و امکان اتصال بر- خط به تکنیک‌های تجزیه‌ای
۲۷	 ۷-۲-۲ اتصال بر- خط به اسپکترومتری جذب اتمی
۲۸	 ۳-۲- آنالیز با تزریق در جریان (FIA).
۲۸	 ۱-۳-۲ تاریخچه
۲۹	 ۲-۳-۲ دستگاهوری
۳۰	 FIA. ۳-۳-۲ اجزای اساسی در سیستم FIA
۳۳	 FIA. ۴-۳-۲ وسیله‌ای برای انتقال دقیق و تکرار پذیر نمونه
۳۴	 ۵-۳-۲ روش پیش‌تغلیظ بر- خط نمونه به روش FIA
۳۷	 ۴-۴- اصول اندازه گیری در اسپکتروسکوپی جذب اتمی

فصل سوم: بخش تجربی

- ۳-۱- پیش تغلیظ بر خط مقادیر بسیار کم کبالت و اندازه گیری پیوسته آن به روش اسپکترومتری جذب اتمی ۴۰
- ۳-۲- مواد شیمیایی، محلول های مورد استفاده و طرز تهیه ی آنها ۴۰
- ۳-۲-۱- تهیه لیگاند ۳-(۲'-تيازولیل آزو)-۲، ۶-دی آمینوپیریدین (TADAP) ۴۲
- ۳-۲-۲- واکنش لیگاند ۳-(۲'-تيازولیل آزو)-۲، ۶-دی آمینوپیریدین (TADAP) با پلی وینیل کلرید (PVC) ۴۳
- ۳-۲-۳- تهیه ستون پیش تغلیظ ۴۶
- ۳-۳- وسایل و دستگاه های لازم ۴۶
- ۳-۴- سیستم شیمیایی مورد استفاده ۴۷
- ۳-۵- طراحی سیستم پیش تغلیظ جریان پیوسته ۴۸
- ۳-۶- روش بهینه سازی عوامل موثر بر سیستم ۵۰
- ۳-۶-۱- بهینه سازی pH محیط ۵۱
- ۳-۶-۲- بررسی نوع بافر ۵۴
- ۳-۶-۳- بررسی و بهینه سازی حجم بافر ۵۵
- ۳-۶-۴- بررسی و بهینه سازی نوع شوینده ۵۷
- ۳-۶-۵- بررسی و بهینه سازی غلظت شوینده ۵۸
- ۳-۶-۶- بررسی و بهینه سازی سرعت جریان نمونه ۶۰
- ۳-۶-۷- بررسی و بهینه سازی سرعت جریان شوینده ۶۲
- ۳-۶-۸- بررسی و بهینه سازی طول ستون (مقدار ماده پرکننده ستون) ۶۳
- ۳-۶-۹- بررسی و بهینه سازی حجم پیش تغلیظ ۶۶
- ۳-۶-۱۰- بررسی قدرت یونی (اثر نمک) ۶۸
- ۳-۷- شرایط بهینه ۷۰
- ۳-۸- منحنی درجه بندی ۷۰

۷۳	۹-۳- دقت و صحت روش.....
۷۴	۱۰-۳- حد تشخیص روش.....
۷۵	۱۱-۳- بررسی اثر مزاحمت یون‌ها.....
۷۸	۱۲-۳- فاکتور پیش‌تغلیظ.....
۸۰	۱۳-۳- درصد بازیابی روش.....
۸۲	۱۴-۳- بررسی ظرفیت ستون.....
۸۲	۱۵-۳- سرعت نمونه‌گیری، ضریب مصرف و کارایی غلظت روش.....
۸۳	۱۶-۳- اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌های حقیقی.....
۸۳	۱-۱۶-۳- اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌ی آب شاهرود.....
۸۴	۲-۱۶-۳- اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌ی فاضلاب شرکت داروسازی.....
۸۵	۳-۱۶-۳- اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌های میوه و سبزیجات.....
۸۷	۴-۱۶-۳- اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌ی آمپول ویتامین.....

فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری

۹۰	۱-۴- ارقام شایستگی روش.....
۹۱	۲-۴- مقایسه روش با سایر روش‌های انجام شده.....
۹۳	۳-۴- آینده نگری.....
۹۴	مراجع.....

فهرست جداول

جدول (۱-۲) ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی کبالت.....	۳
جدول (۳-۱) - مواد شیمیایی مورد نیاز در تهیه‌ی محلول‌ها و مواد استفاده شده.....	۴۱
جدول (۳-۲) - تنظیمات دستگاهی اسپکترومتر جذب اتمی شعله.....	۴۶
جدول (۳-۳) - نتایج حاصل از بررسی اثر pH نمونه.....	۵۳
جدول (۳-۴) - نتایج حاصل از بررسی نوع بافر.....	۵۴
جدول (۳-۵) - نتایج حاصل از بررسی حجم بافر فسفاتی pH= ۶/۵.....	۵۶
جدول (۳-۶) - نتایج حاصل از بررسی نوع شوینده.....	۵۸
جدول (۳-۷) - نتایج حاصل از بررسی غلظت شوینده.....	۵۹
جدول (۳-۸) - نتایج حاصل از بررسی سرعت جریان نمونه.....	۶۱
جدول (۳-۹) - نتایج حاصل از بررسی اثر سرعت جریان شوینده.....	۶۳
جدول (۳-۱۰) - نتایج حاصل از بررسی طول ستون.....	۶۵
جدول (۳-۱۱) - نتایج حاصل از بررسی حجم نمونه‌ی پیش تغلیظ.....	۶۷
جدول (۳-۱۲) - بررسی اثر قدرت یونی.....	۶۹
جدول (۳-۱۳) - نتایج حاصل از بررسی منحنی درجه بندی برای حجم پیش تغلیظ ۱۰/۰ میلی لیتر.....	۷۲
جدول (۳-۱۴) - بررسی دقت و صحت.....	۷۴
جدول (۳-۱۵) - بررسی اثر مزاحمت گونه‌های مزاحم و حد مجاز آنها نسبت به کبالت (۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر).....	۷۷
جدول (۳-۱۶) - نتایج حاصل از بررسی منحنی درجه بندی بدون پیش تغلیظ.....	۷۹
جدول (۳-۱۷) - اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌ی آب شهر شاهرود.....	۸۴
جدول (۳-۱۸) - اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌ی آب کارخانه داروسازی.....	۸۵
جدول (۳-۱۹) - اندازه‌گیری کبالت (II) در نمونه‌های میوه و سبزیجات.....	۸۶
جدول (۳-۲۰) - اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌ی آمپول.....	۸۸
جدول (۴-۱) - روش‌های پیش تغلیظ بر- خط کبالت با استفاده از جاذب‌های اصلاح شده شیمیایی.....	۹۲

فهرست شکل‌ها

- شکل (۱-۲) - مراحل یک فرایند آنالیز شامل مرحله آماده‌سازی نمونه ۱۷
- شکل (۲-۲) - مراحل مختلف استخراج با فاز جامد ۱۹
- شکل (۳-۲) - انواع مختلف فاز جامد مصرفی ۲۰
- شکل (۴-۲) - طرح کلی سیستم FIA ۲۹
- شکل (۵-۲) - پاسخ یک آشکارساز نوعی به محلول رنگی ۳۰
- شکل (۶-۲) - نمایش اثر متقابل غلظت‌های پمپ پرستالتیک و لوله‌های آن ۳۲
- شکل (۷-۲) - سیستم تزریق شش قسمتی ۳۳
- شکل (۸-۲) - یک خط اتصال ساده بین پمپ و تزریق کننده و اسپکترومتری جذب اتمی شعله ۳۴
- شکل (۹-۲) - قاعده‌ی روش پیش‌تغلیظ توسط FIA ۳۵
- شکل (۱۰-۲) - سیستم ساده تک کاناله با دو دریچه FIA برای پیش‌تغلیظ بر- خط ۳۵
- شکل (۱۱-۲) - فرایندهای انجام شده طی اتم سازی ۳۸
- شکل (۱-۳) - واکنش‌های مربوط به سنتز TADAP ۴۳
- شکل (۲-۳) - واکنش لیگاند ۳-(۲'-تiazolil آزو)-۲، ۶-دی‌آمینوپیریدین (TADAP) با پلی‌وینیل کلرید ۴۴
- شکل (۳-۳-الف) - طیف FT-IR پلی‌وینیل کلرید ۴۵
- شکل (۳-۳-ب) - طیف FT-IR پلی‌وینیل کلرید اصلاح شده با لیگاند ۴۵
- شکل (۴-۳) - ساختار پیشنهادی کمپلکس لیگاند ۳-(۲'-تiazolil آزو)-۲، ۶-دی‌آمینوپیریدین با کبالت (II) ۴۸
- شکل (۵-۳) - طرح شماتیک سیستم مورد استفاده در این پروژه ۴۹
- شکل (۶-۳) - شیر شش راهه‌ی چرخشی ۴۹
- شکل (۷-۳) - اثر pH محیط بر میزان جذب ۵۳
- شکل (۸-۳) - اثر نوع بافر ۵۵
- شکل (۹-۳) - اثر حجم بافر بر جذب ۵۶
- شکل (۱۰-۳) - اثر غلظت شوینده ۵۹
- شکل (۱۱-۳) - اثر سرعت جریان نمونه در حجم پیش‌تغلیظ ثابت بر میزان جذب ۶۱
- شکل (۱۲-۳) - اثر سرعت جریان شوینده در حجم پیش‌تغلیظ ثابت بر میزان جذب ۶۳

- شکل (۳-۱۳) - اثر طول ستون بر میزان جذب..... ۶۵
- شکل (۳-۱۴) - تغییرات جذب با تغییر در حجم نمونه‌ی پیش تغلیظ شده..... ۶۷
- شکل (۳-۱۵) - اثر قدرت یونی بر حساسیت..... ۶۹
- شکل (۳-۱۶) - منحنی کالیبراسیون..... ۷۲
- شکل (۳-۱۷) - منحنی درجه بندی بدون پیش تغلیظ..... ۸۰

فصل اول:

مقدمه

۱-۱- مقدمه

در سال‌های اخیر آلودگی محیط زیست توسط عناصر سمی سنگین بسیار مورد توجه قرار گرفته است. از میان هزاران ماده آلی و غیر آلی منتشر شده به داخل اکوسیستم‌های آبی، به فلزات سنگین به دلیل سمیت، پایداری، تجمع زیستی و نیز جذب آسان توجه بیشتری شده است. افزایش عناصر فلزی بخصوص فلزات واسطه سنگین در محیط زیست حتی در مقادیر بسیار اندک، آثار زیان باری را بر سلامتی انسان‌ها و دیگر جانداران در پی دارد. از این رو، شناسایی و اندازه‌گیری این عناصر در جهت کنترل و جلوگیری از افزایش نامطلوب آنها امری ضروری است [۱ و ۲]. با توجه به اهمیت کبالت در منابع مختلف آلیاژی، دارویی، غذایی، بیولوژیکی به بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی این عنصر، اهمیت، کاربردها و راه‌های اندازه‌گیری این کاتیون می‌پردازیم.

۱-۲- کبالت

کبالت، عنصر شیمیایی است که با نشان Co و عدد اتمی ۲۷ در جدول تناوبی قرار دارد. این عنصر فلزی سخت، براق و شکننده به رنگ خاکستری است. این عنصر در سال ۱۷۳۷ توسط دانشمند سوئدی به نام جورج براندت^۱ کشف گردید. از لحاظ خواص فیزیکی شبیه به نیکل و آهن می‌باشد و از نظر شیمیایی عنصری فعال است. کبالت به ندرت به صورت غیر ترکیبی در طبیعت یافت می‌شود و غالباً به صورت فلز درخشان وجود دارد [۳].

1. George brandt

۱-۳- خواص فیزیکی و شیمیایی کبالت

کبالت، عنصر فرومغناطیس سختی است. این عنصر اغلب با نیکل همراه است و هر دوی آنها از اجزای مشخص فلز شهاب سنگی می‌باشند [۴]. پستانداران، نیازمند مقدار بسیار کمی از نمک‌های کبالت هستند. کبالت ۶۰ که ایزوتوپ رادیواکتیو و مصنوعی کبالت است، یک ردیاب رادیواکتیو مهم و عامل معالجات سرطان به‌شمار می‌آید. نفوذ پذیری نسبی کبالت، دو سوم آهن است. کبالت فلزی عموماً دارای مخلوطی از دو ساختار شکل بلورین مکعبی با مرکز وجوه پر (fcc)^۱ و شبکه هگزاگونال فشرده (hcp)^۲ است. حالات اکسیداسیون عادی کبالت، شامل ۲+ و ۳+ است، گرچه ۱+ نیز دیده شده است [۴]. در جدول (۱-۲) خواص فیزیکی و شیمیایی کبالت آورده شده است [۵].

جدول (۱-۲) ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی کبالت

نشانه شیمیایی	Co
شکل ظاهری	جامد سخت، براق و شکننده
عدد اتمی	۲۷
جرم اتمی	۵۸/۹۳
نقطه ذوب	۱۴۹۵ درجه سانتیگراد
نقطه جوش	۲۸۷۰ درجه سانتیگراد
شعاع اتمی	$1.67 \text{ \AA}^0$
عدد اکسایش	۲ و ۳
رنگ	خاکستری
انرژی یونیزاسیون	7.89 kJ/mol
شعاع یونی	$0.745 \text{ \AA}^0$
الکترون‌گاتیوی	۱/۷
گرمای تبخیر	376.5 kJ/mol

1. Face centered cubic
2. Hexagonal cubic paking

۱-۴- تاریخچه و ژئوشیمی کبالت

کبالت و ترکیبات آن از زمان‌های قدیم برای ایجاد رنگ آبی در شیشه سازی و سفالگری به کار رفته است. همان‌طور که اشاره شد در سال ۱۷۳۵ یک دانشمند سوئدی به نام جورج براندت برای اولین بار فلز کبالت را به صورت یک نمونه‌ی ناخالص با احیا کردن از کانسنگ آن جدا کرد.

در سال ۱۷۸۰ ت. ا. برگمان^۱ نشان داد که این فلز در واقع یک عنصر است. استفاده از کبالت به عنوان یک فلز به سال ۱۹۰۷ برمی‌گردد. در سال ۱۹۳۰ مشاهده شد که افزودن کبالت به آلیاژهای خاصی از آهن، نیکل و آلومینیوم ویژگی آنها را به عنوان آهنربای دائم افزایش می‌دهد [۶].

استخراج کانی‌های کبالت، نیکل، طلا و نقره در سال ۱۹۳۲ در مراکش آغاز شد. تولید کبالت از کانه‌های مس زامبیا در سال ۱۹۳۳ انجام گرفت. گلن سیبرگ^۲ و جان لیونگود^۳ در سال ۱۹۳۸ کبالت ۶۰ را کشف کردند. در سال ۱۹۴۰ نیز شرکت بین‌المللی نیکل، روش جدیدی را برای بازیافت کبالت از کانه‌های نیکل معرفی کرد [۷].

۱-۵- کاربردهای کبالت [۸]

برخی از کاربردهای کبالت عبارتند از:

- آلیاژهای دیر گداز و همچنین آلیاژهای مقاوم در مقابل فرسایش و آسیب پذیر در اثر کارکرد بالا

- در کاربردهای روکش‌دار و ابزارهای الماسه

- در آهنربا و واسطه ضبط مغناطیسی (از قبیل نوار کاست و ویدئو)

۱. A bregman
۲. Glenn seaborg
۳. John livingood

- کاتالیزگر برای مصرف در صنایع شیمیایی و نفتی
- در آبکاری الکتریکی برای استحکام و مقاومت در برابر اکسیداسیون
- عامل خشک کننده در رنگها، جوهر و براق کننده ها
- لایه ی زیرین در لعاب های چینی
- رنگدانه (کبالت آبی و سبز)
- الکترودهای باطری
- کاربرد در پرتو درمانی
- در استرلیزه کردن غذاها به روش تابشی (پاستوریزه کردن سرد)
- در رادیوگرافی صنعتی به منظور تشخیص عیوب ساختاری قطعات فلزات

۱-۶- تأثیرات بیولوژیکی و زیست محیطی کبالت [۹]

کبالت (II) در غلظت های پایین برای فعالیت های متابولیکی بدن ضروری است و همچنین ممکن است در تنظیم کردن پرو-اکسیدان ها در خون نیز موثر باشد. اثرات حاد مسمومیت با کبالت، بصورت تاثیر بر ریه ها خود را نشان می دهند و شامل آسم، التهاب ریه ها و خس خس کردن سینه می باشد. در دهه ۶۰ تعدادی از کارخانجات آبجو سازی برای تثبیت کف موجود در آبجوها، مقداری کبالت به آبجو اضافه کردند. افرادی که مقدار زیادی از این محصول را استفاده کردند دچار حالت تهوع، استفراغ و مشکلات جدی قلبی شدند.

با این حال مشکلات قلبی در افرادی که آنمی (کم خونی) داشتند و یا خانم‌های باردار که کبالت برایشان تجویز شده بود مشاهده نشده است. مطالعات بر روی حیوانات نشان داد که آلودگی با غلظت‌های زیاد کبالت در دوران بارداری، مشکلاتی را برای جنین بوجود می‌آورد. با این حال کبالت در رشد تعدادی از حیوانات یک عنصر ضروری است.

آژانس بین المللی تحقیقات سرطان آمریکا، کبالت را به عنوان ماده‌ای که ممکن است سرطانزا باشد، تعیین کرده است. مطالعات بر روی حیوانات نشان داده است که کبالت در صورتی که مستقیماً وارد عضلات شود و یا در زیر پوست قرار گیرد، باعث سرطان می‌شود. در حیواناتی که از طریق هوا، غذا و آب آشامیدنی در معرض آلودگی با کبالت قرار گرفتند، سرطان مشاهده نشده است.

آزمایش‌های خون و ادرار، برای تعیین صحیح میزان کبالت در انسان باید حداکثر تا چند روز پس از آلودگی انجام شود، زیرا کبالت به سرعت از بدن خارج می‌شود. کبالت هسته اصلی ویتامین کوبالامین یا B_{۱۲} می‌باشد که این ویتامین در خون‌سازی و حفظ سلامت اعصاب نقش دارد.

۱-۷- منابع آلودگی

کارخانه‌های تولید کننده فراورده‌های کبالت می‌توانند از مهم‌ترین منابع آلودگی کبالت باشند. کبالت از طریق منابع طبیعی، سوختن زغال یا نفت و یا تولید آلیاژهای کبالت وارد محیط زیست می‌شود.

باطله‌های صنعتی و همچنین صنایع ریخته‌گری نیز از منابع آلودگی کبالت به شمار می‌آیند.

۸-۱- مروری بر روش‌های اندازه‌گیری کبالت به کمک تکنیک پیش‌تغلیظ و

اسپکترومتري جذب اتمي شعله‌اي

اسپکترومتري جذب اتمي شعله^۱، اسپکترومتري نشری نوری^۲، کوره الکتریکی^۳، پلاسماي القايي جفت شده با اسپکترومتري جرمی^۴ و تکنیک‌های الکتریکی تجزیه‌ای، تکنیک‌های اصلی دستگاهی برای اندازه‌گیری مقادیر کم یون‌های فلزی سنگین هستند. حضور فلزهای سنگین در مقادیر کمتر از حدتشخیص این تکنیک‌های دستگاهی یک مشکل اصلی می‌باشد [۱۰]. از میان تکنیک‌های جذب اتمي، اسپکترومتري جذب اتمي شعله‌اي به دلیل داشتن مزایایی نظیر هزینه پایین، دقت و گزینش‌پذیری بالا از روش‌های متداول در اندازه‌گیری این دسته از عناصر است. اما به واسطه میزان بسیار کم این عناصر و پیچیدگی بافت نمونه‌های حقیقی و محدودیت اسپکترومتري جذب اتمي شعله‌اي که شامل حد تشخیص بالا و مزاحمت شیمیایی بافت نمونه می‌باشد مقادیر خیلی کم این عناصر با استفاده از این روش قابل تعیین نیستند. این مشکل با بکارگیری یک مرحله پیش‌تغلیظ حل شده است، زیرا در پیش‌تغلیظ همزمان با جداسازی آنالیت از بافت نمونه، غلظت آنالیت افزایش می‌یابد.

روش‌های زیادی به صورت دستی یا بر-خط^۵ شامل هم‌رسوبی، استخراج مایع-مایع، استخراج فاز جامد و استخراج نقطه ابری برای پیش‌تغلیظ این عناصر بکار برده شده است. از میان این روش‌ها روش استخراج فاز جامد به دلیل داشتن مزایایی نظیر سادگی روش، گستره وسیع انتخاب فاز جامد، فاکتور پیش‌تغلیظ بالا، زمان استخراج کوتاه و توانایی جداسازی چند عنصری بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرند. مزیت مهم این روش پیش‌تغلیظ این است که به آسانی می‌تواند با سیستم‌های تزریق پیوسته بکار گرفته شود و بنابر این از آن می‌توان در پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری بر-خط عناصر

1. (FAAS)
2. (ICP-OES)
3. (ETC)
4. (ICP-MS)
5. On-line

استفاده کرد. امروزه یافتن مواد جدید به عنوان استخراج کننده ی فاز جامد به عنوان یک زمینه تحقیقاتی مهم در سیستم های پیش تغلیظ مطرح می باشد. با توجه به اینکه سیستم بکار گرفته شده در این پروژه، پیش تغلیظ کبالت و اندازه گیری بر- خط آن با اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای با استفاده از یک نوع جاذب جدید سنتزی می باشد، در این قسمت توضیح مختصری درباره ی گزارش های موجود از اندازه گیری کبالت به روش پیش تغلیظ بر- خط با FAAS ارائه می شود.

در سال ۲۰۰۲ یینگ سو^۱ و همکارانش از یک عامل کمپلکس دهنده به نام ۱-نیتروزو-۲-نفتول (NN)^۲ برای پیش تغلیظ بر- خط کبالت با استفاده از میکروستون C₁₈ با سیستم FI-FAAS استفاده کردند. محلول واکنش دهنده (با غلظت ۰/۰۰۲۵ mol/L) و محلول نمونه ی آبی با نیتریک اسید ۰/۱٪ v/v اسیدی شده و در یک واکنش حلقه ای در دمای ۶۵ درجه ی سانتیگراد برای مدت ۳۰ ثانیه در طول میکروستون با هم مخلوط شدند. pH محلول مخلوط با اضافه کردن (1M) HNO₃ یا NaOH (1M) در محدوده ی ۳-۴ بهینه شد. کمپلکس جذب شده در میکروستون با اتانول در عرض ۱۰ ثانیه به درون مه پاش FAAS شسته شد. دقت، فاکتور پیش تغلیظ، و حد تشخیص به ترتیب ۱/۶٪ (برای n=۱۰، ۱۷/۲، ۳/۲ میکروگرم بر لیتر، دامنه خطی ۱۰^{-۵}-۱۰^{-۳} mol/L و همچنین فرکانس نمونه برداری ۹۰ نمونه بر ساعت بود [۱۱].

در سال ۲۰۰۳ حاجی شعبانی و همکارانش از روش تزریق جریان با استفاده از اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای برای تعیین کبالت استفاده کردند. در این روش کبالت به صورت بر- خط روی یک میکروستون از ۲-نیتروزو-۱-نفتول^۳ نشانده شده روی سورفاکتانت پوشیده شده با آلومینا پیش تغلیظ شده، کبالت به دام انداخته شده سپس با ۲۵۰ میکرو لیتر اتانول شسته شده و با اسپکترومتر جذب اتمی شعله ای اندازه گیری شد. حد تشخیص ۰/۰۲ نانو گرم بر میلی لیتر، دقت ۲/۸٪ برای ۲۰ نانو گرم بر میلی لیتر و ۱/۷٪ برای ۷۰ نانو گرم بر میلی لیتر از کبالت و همچنین فاکتور غنی سازی ۱۲۵، حجم

1. Yingxue ye

2. 1-nitroso-2-naphthol (NN)

3. 2-nitroso-1-naphthol

نمونه‌ی پیش‌تغلیظ شده ۲۵ میلی‌لیتر و دامنه خطی روش ۵-۱۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است. این روش برای اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌های آبی، ویتامین B₁₂ و آمپول‌های ب-کمپلکس^۱ استفاده شد [۱۲].

در همان سال سولداد کروتی^۲ و همکارانش از روش اسپکترومتری جذب اتمی الکتروترمال با پیش‌تغلیظ توسط تزریق جریان بر-خط برای اندازه‌گیری مقادیر کم کبالت در نمونه‌های آب آشامیدنی توسط جذب روی یک مینی‌ستون ته‌گرد پر شده با کربن فعال در pH=۹/۵ استفاده کردند. کبالت جذب شده از مینی‌ستون توسط نیتریک اسید ۱۰٪ v/v شسته شد. فاکتور پیش‌تغلیظ ۱۹۰ بدست آمد. همچنین در حجم پیش‌تغلیظ ۱۰ میلی‌لیتر حد تشخیص و انحراف استاندارد نسبی به ترتیب برابر ۵ نانوگرم بر لیتر و ۴/۷٪ برای ۵۰ نانوگرم بر لیتر (n=۱۰) بدست آمد. همچنین منحنی کالیبراسیون از نقاط نزدیک حد تشخیص تا ۰/۳۵ میکروگرم بر لیتر خطی بود [۱۳].

در سال ۲۰۰۴، کیوفن^۳ و همکارانش از واکنش سریع کبالت با ۲- (۲- کوئینولینیل آزو)-۵- دی اتیل آمینوآنیلین^۴ و استخراج با فاز جامد کی‌لیت Co(II)-QADEAA با دیسک‌های غشایی C₁₈ برای اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌های محیطی استفاده کردند. در حضور محلول بافری با pH=۵/۵ و ستیل تری متیل آمونیوم برمید^۵، QADEAA با کبالت برای تشکیل کمپلکس بنفش رنگ با نسبت مولی ۱:۲ (کبالت به QADEAA) واکنش می‌دهد. فاکتور غنی‌سازی ۵۰ بوسیله شویش کی‌لیت از دیسک‌ها با مقدار حداقلی از ایزو پنتیل الکل^۶ بدست آمد. قانون بیر در گستره‌ی ۰/۶-۰/۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر در محلول‌های مورد اندازه‌گیری صدق میکند. انحراف استاندارد برای ۱۱ اندازه‌گیری در سطح ۰/۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برابر ۱/۱۸٪ بود و حد تشخیص ۰/۰۲ میکروگرم بر لیتر به دست آمد [۱۴].

1. B-complex

2. Soledad Cerutti

3. Qiufen

4. 2-(2-quinolinyazo)-5-diethylaminoaniline (QADEAA)

5. Cetyl trimethyl ammonium bromide (CTMAB)

6. Isopentyl alcohol

در سال ۲۰۰۵ پروین^۱ سنتز پلیمرهای استایرن- دی وینیل بنزن^۲ (DVB) / اتیلن گلیکول دی متاکریلات^۳ (EGDMA) که با کوئینولین-۸-ال^۴ یا مشتقات دی هالو آن در حضور غیاب ۴-وینیل پیریدین^۵ (VP) برای سنتز و غنی سازی کبالت در محلول های حاوی مخلوط نیکل و کبالت و سپس اندازه گیری بوسیله FAAS را ارائه داد. ذرات پلیمر استایرن-EGDMA قرار داده شده روی ۵-۷ دی کلرو کوئینولین ۸-ال^۶ (DCQ) کبالت و نیکل را از محلول های آبی در زمان ۵ دقیقه پیش تغلیظ می کند. این روش فاکتور پیش تغلیظ ۲۰۰ و دامنه خطی ۵۰۰ - ۰ میکرو گرم بر لیتر در حجم پیش تغلیظ ۱۰۰۰ میلی لیتر را نشان داد [۱۵].

در سال ۲۰۰۷ قادی^۷ و همکارانش از یک روش جدید شامل استخراج فاز جامد توسط کربن فعال اصلاح شده با دی تیوکسامید^۸ (DTA) و سپس اندازه گیری با اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای برای تعیین مقادیر کم کبالت، نیکل و مس استفاده کردند. بازیابی آنالیت در pH=۵/۵ و با ۵۰۰ میلی گرم از فاز جامد و بدون مزاحمت یونهای فلزات قلیایی و قلیایی خاکی بیشتر از ۹۵٪ بود. در حجم پیش تغلیظ ۱۶۵۰ میلی لیتر فاکتور غنی سازی ۳۳۰ و حد تشخیص ۰/۸ میکرو گرم بر لیتر برای کبالت و نیز انحراف استاندارد نسبی ۰/۸۵٪ گزارش شده است. همچنین دامنه ی خطی ۹۰۰-۱۸ نانو گرم بر میلی لیتر گزارش شده و از اسید نیتریک ۳ مولار در استون به عنوان شوینده استفاده شد. روش مذکور برای اندازه گیری کبالت در نمونه های آب شهر، رودخانه، دریا و نیز سبزیجات، ماسه و نمونه ی خون با نتایج موفقیت آمیزی به کار برده شد [۱۶].

در سال ۲۰۰۸ منیره خادم و همکارانش برای اندازه گیری مقدار کبالت موجود در نمونه های ادرار، مو و ناخن از اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای و استخراج فاز جامد بوسیله ی مینی ستون پر شده با رزین

-
1. Praveen
 2. Styrene-divinyl benzene
 3. Ethylene glycol dimethacrylate
 4. Quinoline-8-ol
 5. 4-vinyl pyridine
 6. 5,7-dichloroquinoline-8-ol
 7. M. ghaedi
 8. Dithioamide

کروموزورب ۱۰۲ و لیگاند آمونیوم پیریلیدین دی تیو کربامات^۱ استفاده کردند. در این روش از HNO_3 ۲مولار با سرعت جریان ۹ میلی لیتر در دقیقه به عنوان محلول شستشو استفاده شد و بازداری های بدست آمده برای یون کبالت بیشتر از ۹۲٪ بود. انحراف استاندارد نسبی کمتر از ۱۰٪ و دامنه ی خطی روش در غلظت های بالاتر از ۱/۵-۲۱ میکروگرم بر میلی لیتر و حد تشخیص ۰/۰۴ میکروگرم بر میلی لیتر و همچنین فاکتور پیش تغلیظ ۳۳/۳ برای حجم نمونه ی ۱۵ میلی لیتر گزارش شد [۱۷].

در سال ۲۰۰۹ یانگ^۲ و همکارانش برای اندازه گیری کبالت و چند یون دیگر از روش استخراج فاز جامد با استفاده از جاذب مسیجل چ پ ۲۰ وای^۳ و اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای با کوره ی گرافیتی (GFAAS) استفاده کردند. مقادیر بسیار کم این عناصر با ۲- (۲- کوئینولین - آزو)-۴- متیل -۳و۱ دی هیدروکسیدوبنزن^۴ (QAMDB) واکنش داده و بر روی ستون استخراج فاز جامد مذکور جذب می شوند و از HNO_3 ۱ مولار به عنوان شوینده استفاده شد. یون های فلزی در ۳۰۰ میلی لیتر محلول می توانند به ۱ میلی لیتر پیش تغلیظ شوند. فاکتور پیش تغلیظ ۳۰۰ گزارش شد. در $\text{pH} = ۸$ و با استفاده از ۱ گرم رزین بدون تداخل یون های فلزی قلیایی و قلیایی خاکی بازیابی بالای ۹۵٪ بدست آمد. هنگام آشکارسازی با اسپکترومتر جذب اتمی حد تشخیص ۱/۲ نانو گرم بر لیتر و دامنه ی خطی ۱۶۰-۰/۰۱۵ میکرو گرم بر لیتر برای کبالت بدست آمد. این روش برای اندازه گیری کبالت در آب و نمونه های جامد بیولوژیکی با نتایج خوب و انحراف استاندارد کمتر از ۳/۲٪ به کار برده شد [۱۸].

در سال ۲۰۱۰ والفردو^۵ و همکارانش از واکنش دهنده های کی لیت دهنده ای که به جاذب های جامد پیوند داده شده اند برای پیش تغلیظ کبالت در نمونه های غذاهای چاشنی دار با روش اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای استفاده کردند. در این کار از کف پلی اورتان (PUF) عامل دار شده با ۲-

1. Ammonium pirrolidine dithio carbamate

2. Guangyu yang

3. Mcigelchp20y

4. 2-(2-quinolinil- azo)-4-methyl-1,3-dihydroxidobenzene

5. Valfredo azevedo lemos

هیدروکسی استوفنون¹ به عنوان یک سیستم پیش‌تغلیظ برای اندازه‌گیری کبالت و منگنز در غذا استفاده شد. PUF با ۲-هیدروکسی استوفنون در دی‌اکسان²، تا دمای ۹۰ درجه سانتیگراد و بمدت ۷۲ ساعت رفلاکس شد و محصول به عنوان سیستم پیش‌تغلیظ مورد استفاده قرار گرفت. تحت شرایط بهینه و در حجم ۵۰ میلی‌لیتر فاکتور پیش‌تغلیظ ۳۶ و حد تشخیص ۰/۴ میلی‌گرم بر گرم و دامنه‌ی خطی ۱/۳-۷۵/۰ میکروگرم بر گرم برای کبالت بدست آمد [۱۹].

در سال ۲۰۱۰ محرم اینک³ و همکارانش برای اندازه‌گیری مقادیر بسیار کم کبالت از روش پیش‌تغلیظ روی ۴- (۲- پیریدیل-آزو) ریزورسینول (PAR)⁴ بارگذاری شده بر روی XAD-7 Amberlite در pH=۲ و زمان استخراج ۴۵ دقیقه استفاده کردند. کبالت جذب شده با نیتریک اسید غلیظ شسته شده و با اسپکترومتری جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. بازیابی بالای ۹۰٪ و حد تشخیص ۰/۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر و انحراف استاندارد نسبی ۱۳٪ برای ۶۰۰ میلی‌لیتر از ۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر که به ۳/۰ میلی‌لیتر پیش‌تغلیظ شد فاکتور پیش‌تغلیظ ۲۰۰ بدست آمد. همچنین غلظت کبالت در نمونه‌های آبی مورد مطالعه در گستره‌ی ۰/۵-۳۵/۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است [۲۰].

در همان سال مهدی حسینی و همکارانش یک روش ساده برای پیش‌تغلیظ همزمان یون‌های فلزی کبالت و نیکل در نمونه‌های آبی و اندازه‌گیری آنها با اسپکترومتری جذب اتمی شعله‌ای گزارش دادند. این روش بر پایه‌ی استخراج یون‌های هدف بوسیله‌ی تشکیل کمپلکس با ایندان-۱ و ۲-تریون و ۱-دی اکسیم⁵ عامل‌دار شده روی سدیم دودسیل سولفات⁶ (SDS) پوشیده شده با آلومینا استوار است. یون جذب شده با ۴/۵ میلی‌لیتر از نیتریک اسید ۲ مولار شسته شد. دامنه‌ی خطی ۵-۱۰۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر و فاکتور پیش‌تغلیظ ۴۴۴/۴ و حجم پیش‌تغلیظ ۵۰ میلی‌لیتر گزارش شده است. همچنین

1. 2-hyd roxyace tophenon e

2. Dioxane

3. Muharrem ince

4. 4-(2-pyridyl-azo) resorcinol

5. Indane-1,2,3-trione 1,2-dioxime

6. Sodium dodecyl sulfate acid

بازداری آنالیت‌ها به طور عمده بالاتر از ۹۶٪ و انحراف استاندارد نسبی کمتر از ۳٪ و حدتشخیص روش ۱/۹۳ میلی گرم بر لیتر گزارش شد [۲۱].

در سال ۲۰۱۱ علی مقیمی و همکارانش برای اندازه‌گیری مقادیر کم کبالت در آب آشامیدنی از واکنش سریع آن با عامل کی‌لیت‌کننده ایزوپروپیل ۲- ((ایزو پروپوکسی کربوتیول) دی سولفانیل) اتان تیوات (IIDE)^۱ و استخراج فاز جامد از کی‌لیت رنگی توسط دیسک porapak sep-C₁₈ park استفاده کردند. کبالت با (IIDE) در pH = ۴/۲ در محلول بافر اسید استیک/ سدیم استات واکنش می‌دهد. در این کار از ۲/۵ میلی لیتر اتانول (شامل استیک اسید ۵٪) به عنوان محلول شوینده استفاده شد و قانون بیر در گستره‌ی ۰/۰۴-۰/۰۱ میکروگرم بر میلی لیتر خطی بود. انحراف استاندارد نسبی برای ۱۱ اندازه‌گیری برای غلظت ۰/۰۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر برابر ۲/۵۴٪ و حد تشخیص ۰/۰۱ میکروگرم بر میلی لیتر برای حجم پیش‌تغلیظ ۲۵۰ میلی لیتر گزارش شد [۲۲].

در سال ۲۰۱۱ مصطفی خواجه و اسماعیل سانچولی از ذرات نقره در مقیاس نانو به عنوان یک استخراج کننده فاز جامد جدید برای استخراج و پیش‌تغلیظ یون کبالت در مقایر کم در نمونه‌های آبی و از اسپکترومتری جذب اتمی شعله‌ای برای اندازه‌گیری آن استفاده کردند. واکنشگر کمپلکس‌دهنده در این روش ۱- (۲- پیریدیل آزو)-۲- نفتول^۲ (PAN) بود. تحت شرایط بهینه حد تشخیص روش ۰/۷۸ میکروگرم بر لیتر و انحراف استاندارد نسبی ۳/۱٪ برای ۱۰ اندازه‌گیری بدست آمد. در این تحقیق همچنین دامنه‌ی خطی ۵۰/۰-۱۰/۰ میکروگرم بر لیتر و فاکتور پیش‌تغلیظ ۵۰ برای حجم پیش‌تغلیظ ۱۰۰ میلی لیتر گزارش شد [۲۳].

در همان سال راجا ساها^۳ و همکارانش از مخلوطی از پیریدین -۶و۲- دی متانول^۴ (PDM) و تیوسیانات^۱ (SCN⁻) با نسبت ۱:۱ که روی یک لایه‌ی سیلیکا قرار داده شده بود به عنوان یک جاذب

1. 2-[(isopropoxy carbothioyl) disulfanyl] ethanethioate

2. [1-(2-pyridylazo)-2-naphthol]

3. Raja saha

4. Pyridine-2,6-dimethanol

بسیار کارا برای بازداری گزینش پذیر یون کبالت (II) در $pH=9$ و به مقدار 0.203 میلی مول بر گرم استفاده کردند. کبالت جذب شده به طور کامل بوسیله $3/5$ میلی لیتر از هیدروکلریک اسید 3 مولار شسته شده و بوسیله اسپکترومتر جذب اتمی شعله ای (FAAS) اندازه گیری شد. انحراف استاندارد نسبی 0.06% برای 10 اندازه گیری واحد تشخیص 0.6 میکروگرم بر گرم و دامنه ی خطی $3/0-80/0$ میکروگرم بر میلی لیتر و حجم پیش تغلیظ 50 میلی لیتر گزارش شد. همچنین حجم نمونه 330 میلی لیتر و فاکتور پیش تغلیظ نیز 94 گزارش شد [۲۴].

در سال 2012 یانگ وانگ² و همکارانش یک روش جدید برای استخراج و پیش تغلیظ مقادیر کم کبالت و چند یون دیگر با بکارگیری نانو ذرات مغناطیسی عامل دار شده ارائه دادند. برای این منظور نانو ذرات اکسید آهن پوشیده شده با آلومینا سنتز شده و به عنوان جاذب جامد مورد استفاده قرار گرفت. این نانو ذرات سنتز شده همراه با سدیم دودسیل سولفات³ در سیستم استخراج فاز جامد مورد استفاده قرار گرفت. فرایندهای استخراج، شوی و تشخیص با موفقیت در سیستم تزریق متوالی در آزمایشگاه روی یک شیر (SI-LOV)⁴ و اسپکترومتری جذب اتمی الکتروترمال (ETAAS) اجرا شدند. تحت شرایط بهینه منحنی کالیبراسیون نشان داد که در محدوده ی غلظتی $5-0.01$ میکروگرم بر لیتر رابطه ی خطی وجود دارد و انحراف استاندارد نسبی $2/8\%$ برای 11 اندازه گیری و حد تشخیص 6 نانو گرم بر لیتر و فرکانس نمونه برداری 18 نمونه بر ساعت بود و فاکتور پیش تغلیظ نیز 30 گزارش شد. روش مذکور با موفقیت برای اندازه گیری کبالت در نمونه های آب مورد استفاده قرار گرفت [۲۵].

1. Thiocyanate

2. Yang wang

3. Sodium dodecyl sulfate

4. Sequential injection lab-on-valve

فصل دوم :

بخش تئوری

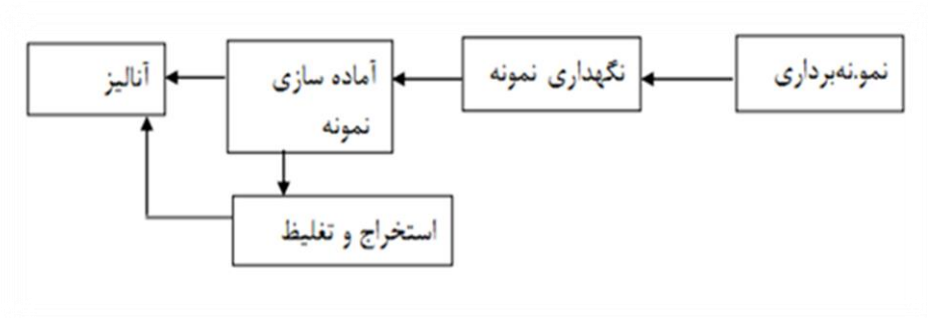
۲-۱- مقدمه‌ای بر روش‌های آماده‌سازی نمونه

در طی چند دهه اخیر رشد بی‌نظیری در تکنیک‌های اندازه‌گیری کمی صورت گرفته است. توسعه‌ی دستگاه‌هایی از قبیل کروماتوگرافی، اسپکتروسکوپی، میکروسکوپی و همین‌طور حسگرها و ابزارهای میکرو تحت تأثیر همین پیشرفت‌ها بوده است. علی‌رغم پیشرفت ابزارهای تجزیه‌ای هنوز هم در بسیاری از موارد، اندازه‌گیری‌های کاملاً غیر تخریبی وجود ندارد [۲۶].

در اغلب اندازه‌گیری‌ها، یک یا چند مرحله آماده‌سازی نمونه ضروری و لازم است. آماده‌سازی نمونه معمولاً اهداف زیر را دنبال می‌کند:

- تغلیظ آنالیت به منظور اندازه‌گیری مقادیر کم آن
- حذف مزاحمت‌های بالقوه در مرحله جداسازی آنالیت و در نتیجه افزایش گزینش‌پذیری روش
- در صورت لزوم، تبدیل گونه به فرم مناسب‌تر برای جداسازی و تشخیص بهتر
- فراهم کردن یک روش تکرارپذیر و قوی، که مستقل از تغییرات ماتریکس نمونه عمل نماید
- از آنجایی که تکرارپذیری در روش‌های آماده‌سازی نمونه اهمیت بسیار زیادی دارد، تکنیک‌های خودکار که در آن‌ها نمونه بدون دخالت فردی مورد سنجش قرار می‌گیرد هر روز در حال افزایش است [۲۷].

برخی از مراحل رایج همراه با فرایند آنالیز که شامل مرحله آماده‌سازی نمونه نیز می‌باشند در شکل (۱-۲) نشان داده شده است.



شکل (۱-۲) - مراحل یک فرایند آنالیز شامل مرحله آماده سازی نمونه [۲۶]

۲-۲- استخراج فاز جامد

۱-۲-۲- تاریخچه

استخراج با فاز جامد (SPE)^۱ از سال ۱۹۰۶ با کروماتوگرافی کلاسیک که در آن از یک محیط جاذب جهت جداسازی جزء مورد نظر استفاده شد آغاز گردید. در حدود سال ۱۹۳۰ سیلیکا، آلومینا، فلورسیل و خاک دیاتومه به عنوان جاذب‌هایی جهت تغلیظ و جذب نمونه‌های قطبی (فاز نرمال) استفاده شد. در سال ۱۹۵۰ برای اولین بار یک مقاله در مورد آنچه که امروزه به نام کروماتوگرافی فاز معکوس شناخته شده، چاپ گردید که در آن کروماتوگرافی، فاز ساکن غیر قطبی برای جذب ترکیبات غیرقطبی از حلال قطبی تهیه شد. در همان سال استفاده از زغال برای جداسازی تعداد زیادی از ترکیبات آلی از آب بکار برده شد. یک دسته از فازهای جامد، در سال ۱۹۶۰ تحت عنوان رزین‌های XAD معرفی شدند که این رزین‌ها سهم عمده‌ای را در استخراج گونه‌های آلی قطبی از آب داشته‌اند. در همین سال، استفاده از ستون‌های فاز معکوس پیوند شده هم در کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا رایج گردید. رشد چشمگیر SPE به عنوان یک روش آماده سازی نمونه از اواسط دهه ۱۹۷۰ شروع شد و با معرفی خانواده پلیمرهای متخلخل در این دهه توجه مجدد محققان به آنالیز نمونه‌های هوا، آب و

1. Solid phase extraction

نمونه‌های بیولوژیکی معطوف گردید. کارتریج‌ها در سال ۱۹۷۸ توسط شرکت واترز^۱ به طور تجاری وارد بازار شدند و با ورود آنها استفاده از SPE در آزمایشگاه‌ها متداول شد. امروزه امکان استفاده از کارتریج‌ها با بیش از ۳۰ نوع فاز ساکن برای جداسازی و تغلیظ گونه مورد آزمایش حتی در بافت‌های پیچیده وجود دارد [۲۸].

۲-۲-۲- اصول و مراحل استخراج با فاز جامد (SPE)

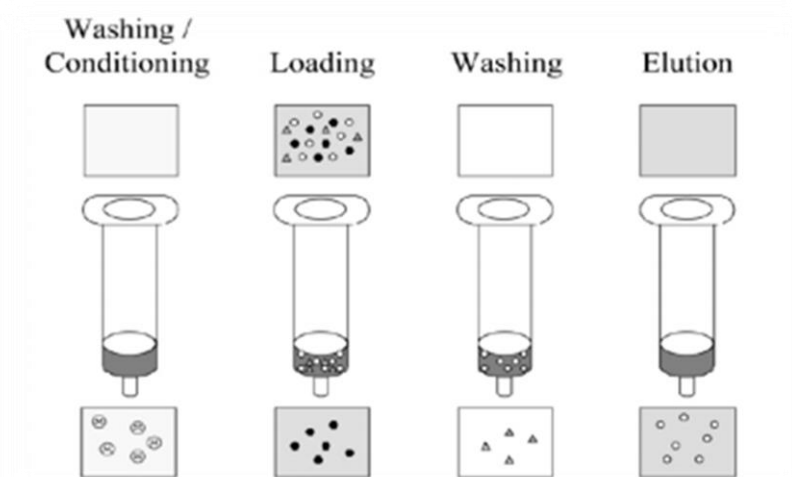
اصول و قواعد SPE مشابه استخراج مایع-مایع می‌باشد. بدین معنی که شامل توزیع ماده حل شده بین دو فاز است با این تفاوت که به جای دو فاز مایع مخلوط نشدنی در استخراج مایع-مایع، این روش شامل توزیع بین یک فاز مایع (بافت نمونه) و یک فاز جامد (جاذب) می‌باشد. این روش آماده‌سازی نمونه می‌تواند آنالیت‌های موجود در محلول را از طریق جذب بر روی فاز جاذب تغلیظ و خالص‌سازی کند. طرز عمل SPE شامل عبور نمونه مایع یا گاز از میان یک ستون، کارتریج، لوله یا یک دیسک حاوی یک جاذب که آنالیت را نگهداری می‌کند، می‌باشد. بعد از اینکه تمام نمونه از میان جاذب عبور داده شد، آنالیت‌های بازدارنده بوسیله شستشو با یک حلال مناسب بازیابی می‌شوند [۲۸].

۲-۲-۳- روش استخراج با فاز جامد (SPE)

روش استخراج با فاز جامد (SPE) معمولاً از سه الی چهار مرحله متوالی به صورتیکه در شکل (۲-۲) نشان داده شده تشکیل شده است. ابتدا جاذب جامد توسط یک حلال مناسب آماده‌سازی می‌شود. ضرورت این مرحله بدلیل اهمیت مرطوب شدن مواد پرکننده و حلال‌پوشی گروه‌های عاملی و حذف

1. Waters

ناخالصی‌های موجود در مواد جاذب است. همچنین حباب‌های هوای موجود در ستون خالی شده و فضاهای خالی داخل ستون توسط حلال پر می‌شوند. نوع حلال آماده‌سازی^۱ به طبیعت جاذب بستگی دارد. بعد از عبور حلال، آب یا محلول بافری با pH و قدرت یونی مشابه نمونه از داخل فاز جامد عبور می‌کند. در مرحله‌ی دوم نمونه از داخل فاز جامد عبور می‌کند. بسته به نوع سیستم مورد استفاده، حجم‌های نمونه می‌تواند بین یک میلی‌لیتر تا یک لیتر تغییر کند. نیروی محرک عبور نمونه از داخل ستون می‌تواند نیروی جاذبه، پمپ و یا خلاء باشد. برای ایجاد شرایط تغلیظ بهتر آنالیت روی جاذب و بازداري مؤثرتر لازم است تا سرعت جریان عبور نمونه از داخل جاذب به اندازه کافی پائین باشد. در مرحله‌ی سوم اجزای بافت جذب شده بر روی فاز جامد توسط حلال مناسب و دارای قدرت شویش کافی شسته می‌شوند بدون اینکه آنالیت‌ها شسته شوند. مرحله‌ی آخر شامل شستن آنالیت‌های مورد نظر با حلال مناسب است بدون اینکه اجزای بافت بازداري شده واجذب شوند. حجم حلال شوینده باید طوری انتخاب شود تا بازیافت کمی آنالیت‌ها همراه با حداقل رقیق‌سازی امکان‌پذیر شود. همچنین سرعت جریان شوینده برای اطمینان از شویش کامل باید به دقت تنظیم شود [۲۹].



شکل (۲-۲) - مراحل مختلف استخراج با فاز جامد [۲۹]

۲-۲-۴- فاکتورهای مؤثر بر انتخاب نوع فاز جامد

اولین فاکتور مؤثر بر انتخاب گروه‌های جاذب، خصوصیات آنالیت می‌باشد. فازهای جامد بر حسب مکانیسم بازداري در چهار دسته غیرقطبی، قطبی، مدهای مخلوط و تبادل یونی قرار می‌گیرند. ساختمان شیمیایی آنالیت‌های مورد نظر به ما نشان می‌دهد که کدام گروه از جاذب‌ها را انتخاب کنیم. برای مثال، یک نمونه‌ی آبی که مقدار نمک آن زیاد بوده و شامل آنالیت با گروه‌های عاملی غیرقطبی می‌باشد (مانند استروئیدها در ادرار) باید بوسیله جاذب‌های غیرقطبی بازداري شود.

۲-۲-۴-۱- انواع فازهای جامد

جاذب‌های جامد معمولاً به فرم‌های تجاری مختلف همانند میکروستون^۱، کارتریج^۲، لوله سرنگی^۳ و دیسک^۴ وجود دارند [۳۰-۳۱]. سه نوع از پرکاربردترین جاذب‌ها در شکل (۲-۳) آورده شده است.



شکل (۲-۳) - انواع مختلف فاز جامد مصرفی [۳۲]

1. Micro- column
2. Cartridge
3. Syringe barrel
4. Disk

۲-۴-۲- میکروستون‌ها

معمولاً از میکروستون‌ها برای استخراج مقادیر بسیار کم عناصر از نمونه‌های مختلف استفاده می‌شود. امکان پرکردن میکروستون‌ها با جاذب‌های مختلف وجود دارد، لذا محدوده‌ی وسیع‌تری از جاذب‌ها را می‌توان در مقایسه با کارتریج‌ها و دیسک‌های تجاری و مصرفی انتخاب نمود. همچنین اندازه‌ی ستون (یعنی وزن جاذب) می‌تواند بر اساس حجم نمونه انتخاب شود. با توجه به اینکه این ستون‌ها می‌توانند برای حجم زیاد نمونه استفاده شوند، در نتیجه پیش‌تغلیظ یون‌های فلزی با غلظت بسیار کم امکان‌پذیر می‌گردد. از آنجائیکه چنین ستون‌هایی باید مجدداً استفاده شوند، لذا شستشوی کامل آنها بسیار مهم است. به‌علاوه قطر داخلی میکروستون‌ها باریک بوده و کاربردشان به سرعت جریان‌هایی در حد ۱-۱۰ میلی‌لیتر بر دقیقه محدود می‌شود. در نتیجه برای حجم‌های زیاد نمونه به زمان پیش‌تغلیظ طولانی نیاز است [۳۲-۳۳].

۲-۴-۳- کارتریج‌ها و لوله‌های سرنگی مصرفی

کارتریج‌ها و لوله‌های سرنگی معمولاً از جنس پلی‌پروپیلن و پلی‌اتیلن هستند و از مواد پرکننده با گروه‌های عاملی مختلف پر شده‌اند. جاذب‌های جامد بین دو فیلتر پلی‌پروپیلن با منافذ ۲۰ میکرومتری قرار داده می‌شوند (گاهی اوقات از فیلترهایی از جنس شیشه استفاده می‌شود). وزن فاز جامد درون کارتریج‌ها از ۱۰۰ میلی‌گرم تا یک گرم و بیشتر تغییر می‌کند. حجم لوله‌های سرنگی بین ۱ تا ۲۵ میلی‌لیتر بوده و وزن پرکننده‌های آن بین ۱۰ میلی‌گرم تا ۵۰ گرم متغیر است. لوله‌های سرنگی دارای نوک استاندارد در قسمت انتهایی هستند که قابلیت اتصال به انواع پمپ‌های خلاء SPE را دارند. کارتریج‌ها علاوه بر نوک تحتانی دارای نوک فوقانی نیز هستند. بنابراین در این طرح امکان استفاده از فشار مثبت و فشار منفی وجود دارد که از فشرده شدن فاز جاذب جلوگیری می‌کند. از مهمترین معایب کارتریج‌ها و لوله‌های سرنگی می‌توان به سرعت‌های پایین آماده‌سازی نمونه و

گرفتگی‌شان بوسیله ذرات و ترکیبات موجود در بافت نمونه به علت سطح مقطع پایین اشاره نمود. ایجاد کانال در داخل کارتریج، ظرفیت بازداري آنالیت را کاهش می‌دهد و سبب آلوده شدن آنالیت‌های پیش‌تغلیظ شده به ناخالصی‌های موجود در مواد پرکننده می‌شود [۳۲-۳۳].

۲-۲-۴-۴- دیسک‌ها

در صورت استفاده از دیسک‌های تخت با سطح مقطع بالا مشکلات مربوط به ستون‌ها، کارتریج‌ها و لوله‌ها برطرف می‌شود [۲۷]. در تهیه دیسک‌ها از مواد پرکننده در یک بافت پلی-تترافلورواتیلن (PTFE) با ترکیب درصد ۹۰٪ وزنی-وزنی جاذب و ۱۰٪ وزنی-وزنی فیبرهای PTFE استفاده می‌شود [۳۴].

دیسک‌ها در قطرهای مختلف بین ۴ تا ۹۰ میلی‌متر در دسترس هستند. دیسک‌هایی با قطر ۴۷ میلی‌متر جزء پراستفاده‌ترین نوع دیسک‌ها هستند. به علت فضای خالی کم، سطح مقطع بالا و اندازه کوچک ذرات، توزیع آنالیت‌ها در دیسک‌ها بهتر از کارتریج‌ها انجام می‌شود. بنابراین جرم کمتری از ماده جاذب برای حجم مشابه‌ای از نمونه لازم است. لذا دیسک‌ها به حجم کمتری از حلال هم در مرحله آماده‌سازی و هم در مرحله شویش نیاز دارند. به علاوه فشار برگشتی پایین دیسک‌ها امکان استفاده از آنها در سرعت جریان‌های زیاد را فراهم می‌سازد و سطح گسترده‌ی دیسک‌ها احتمال گرفتگی را به حداقل می‌رساند. همچنین تکنیک‌های جدید نشانندن فاز جاذب در داخل دیسک، از ایجاد کانال در آن جلوگیری می‌کند و انتقال جرم را بهبود می‌بخشد. یکی از معایب استفاده از دیسک‌ها، کاهش حجم حد است (حجم حد بیشترین حجم عبوری نمونه از روی دیسک است بدون اینکه آنالیت مورد نظر از دیسک خارج شود). همچنین ظرفیت دیسک کمتر از کارتریج است بنابراین برای نمونه‌های حقیقی (همانند آب رودخانه یا دریا دارای مقادیر زیاد مواد آلی طبیعی) گونه‌های

فلزی بطور کامل و کمی بازداري نمی‌شوند. دیسک‌ها برای آنالیت‌هایی توصیه می‌شوند که بر هم‌کنش قوی با فاز جاذب داشته باشند [۳۴].

۲-۲-۵- خصوصیات مطلوب جاذب‌های SPE

۲-۲-۵-۱- مساحت سطح زیاد

در روش SPE جذب یک ماده‌ی حل‌شده در نمونه به سطح تماس ذرات SPE بستگی دارد. به طور کلی میزان تخلخل ذرات و مساحت آنها با هم رابطه‌ی مستقیم دارند، به گونه‌ای که با افزایش تخلخل ذرات، مساحت سطح ذره افزایش می‌یابد. با افزایش مساحت سطح جاذب بر هم‌کنش آن با آنالیت بیشتر شده و باعث افزایش کارایی جاذب می‌شود.

۲-۲-۵-۲- جذب سطحی برگشت پذیر

انجام موفق SPE دارای دو ضرورت اساسی می‌باشد:

الف- جذب ماده حل‌شونده توسط ذرات استخراج‌کننده دارای تکرارپذیری بالایی باشد.

ب- مواد حل‌شده بایستی به راحتی و به طور کامل از ذرات استخراج‌کننده شویش شوند.

۲-۲-۵-۳- خلوص

ذرات جامد باید عاری از هر گونه ناخالصی که ممکن است در حین شویش اجزای نمونه از فاز جامد شسته شوند، باشند. در صورتیکه خالص سازی ذرات فاز جامد لازم باشد این کار را می توان از طریق شستشو با یک حلال آلی یا یک حلال دیگر انجام داد.

۲-۲-۵-۴- سختی و پایداری شیمیایی بالا

در بعضی موارد لازم است محلول نمونه یا شوینده اسیدی یا بازی باشد، بنابراین ذرات جامد باید در حضور محلول نمونه و یا حلال های آلی و آبی در مرحله شویش پایدار باشند. همچنین به منظور نگهداری شرایط مناسب جریان برای حلال ها و نمونه ها در طول فرایند استخراج، جاذب نباید از ستون خارج شده و یا در برابر حلال متورم شود. معمولاً رزین های جاذب توسط حلال های مختلف تحت تأثیر قرار می گیرند، اما امروزه دسته ای از این رزین ها با پیوندهای عرضی زیاد این مشکل را برطرف نموده و به همین دلیل برای SPE مناسب تر می باشند.

۲-۲-۵-۵- درصد بازیابی بالا

تعیین مقدار یک آنالیت هنگامی به طور مطلوب انجام می شود که بازیابی آن به طور کامل صورت گیرد. انجام آنالیزهای کمی به روش SPE مستلزم بازیابی با درصد ثابت و معینی از هریک از آنالیت ها در طول مراحل استخراج و شویش می باشد [۳۵].

۲-۲-۶- مزایای SPE

استخراج‌های مایع - مایع برای پیش‌تغلیظ عناصر در غلظت‌های بسیار پایین معمولاً وقت‌گیر و پردردسر هستند. به‌علاوه نیازمند کنترل شدید شرایط استخراج مانند دما، pH و قدرت یونی می‌باشند. در نتیجه امروزه روش SPE جایگزین روش‌های کلاسیک استخراج مایع - مایع شده است. این تکنیک به علت کاستن مصرف حلال آلی، هزینه‌ی کم و زمان استخراج کوتاه، بسیار مورد توجه می‌باشد [۳۶]. رسیدن به درصد‌های بازیافت و فاکتورهای تغلیظ بالا در این روش امکان پذیر بوده و SPE می‌تواند به طور بر- خط به تکنیک‌های تجزیه‌ای همانند کروماتوگرافی مایع، اسپکترومتری جذب اتمی و یا اسپکترومتری پلاسمای جفت شده القایی (ICP) متصل شود کاربردهای SPE به علت وجود جاذب‌های جامد متعدد وسیع‌تر از روش LLE هستند. SPE دارای مزایای بسیاری است که به طور خلاصه به آنها پرداخته می‌شود.

۲-۲-۶-۱- پیش‌تغلیظ

چون در روش LLE از حجم‌های بالای حلال آلی استفاده می‌شود، لذا فاکتور پیش‌تغلیظ در این روش پایین است. فرآیند SPE امکان پیش‌تغلیظ همزمان عناصر با غلظت کم همراه با حذف مزاحمت‌های بافتی را فراهم می‌سازد و مصرف حلال‌های آلی سمی و آلاینده‌ی محیط زیست در این روش به حداقل می‌رسد. تغلیظ بالای آنالیت استخراج شده به سادگی از طریق شستن ترکیبات جذب شده با حجمی بسیار کمتر از حجم نمونه حاصل می‌شود. بنابراین دسترسی به فاکتور پیش‌تغلیظ بالا امکان پذیر می‌شود [۳۶-۳۷].

۲-۶-۲- نگه‌داری و ذخیره‌سازی گونه‌ها

با استفاده از SPE می‌توان آنالیت‌های مورد نظر را در محل نمونه‌برداری بر روی فاز جامد جذب نمود، سپس نمونه‌های ذخیره شده را جهت آنالیز به آزمایشگاه منتقل نموده و یا برای مدت چند روز گونه‌های فلزی را نگه‌داری کرد [۳۸-۳۹ و ۳۳-۳۱]. این کاربرد SPE برای اندازه‌گیری مقادیر بسیار کم عناصر بسیار حائز اهمیت است. زیرا انتقال مستقیم نمونه به آزمایشگاه و نگه‌داری آن تا زمان آنالیز مشکلاتی را به همراه خواهد داشت، از جمله اینکه ممکن است آنالیت در طی این زمان دستخوش تغییراتی شود. به علاوه فضای اشغال شده توسط جاذب‌های جامد بسیار کم است و از نگه‌داری ظروف حجیم اجتناب می‌شود.

۲-۶-۳- گزینش‌پذیری بالا

گاهی اوقات SPE، استخراج گزینش‌پذیر و پیش‌تغلیظ یک عنصر خاص را امکان‌پذیر می‌سازد. به عنوان مثال، در هنگام آشکارسازی اسپکترومتری فلزات سنگین در آب‌های سطحی باید فلزات غیرسمی همانند آهن و روی حذف شوند در صورتی که این عناصر در غلظت‌های بالایی در این آب‌ها وجود دارند [۴۰]. می‌توان فازهای جامدی طراحی کرد که این گونه‌های مزاحم را بازداري ننماید. همچنین ممکن است بعضی از گونه‌های یک فلز بر روی فاز جامد بازداري شده و سایر گونه‌های آن عبور کنند، در نتیجه گونه شناسی با استفاده از SPE میسر می‌شود [۴۱]. به‌علاوه از این گزینش‌پذیری بالا می‌توان در جهت حذف ترکیبات مزاحم در تعیین فلزات (همانند ترکیبات چربی در نمونه‌های بیولوژیکی) استفاده نمود [۴۲].

۲-۶-۴- اتوماسیون و امکان اتصال بر- خط به تکنیک‌های تجزیه‌ای

SPE می‌تواند به آسانی به صورت خودکار درآید، اخیراً نیز سیستم‌های خودکار شده متعددی به صورت تجاری ارائه شده‌اند. علاوه براین، SPE می‌تواند به صورت بر- خط به تکنیک‌های تجزیه‌ای متصل شود. در روش بر- خط از دست‌کاری کردن نمونه در بین مراحل پیش‌تغلیظ و آنالیز ممانعت به عمل می‌آید. در نتیجه خطر از دست دادن آنالیت و آلوده شدن نمونه به حداقل رسیده و تکرار پذیری بالا میسر می‌شود. در سیستم‌های بر- خط چون تمام حجم نمونه آنالیز می‌شود، لذا حجم نمونه مورد نیاز برای SPE کاهش می‌یابد. با وجود این برای نمونه‌های پیچیده، سیستم‌های بر- خط SPE ترجیح داده می‌شود، زیرا انعطاف پذیری این روش بالا بوده و امکان آنالیز نمونه استخراج شده با روش‌های مختلف آنالیزی وجود دارد [۴۳].

۲-۲-۷- اتصال بر- خط به اسپکترومتری جذب اتمی

اولسن^۱ و همکارانش [۴۴] و فانگ^۲ و همکارانش [۴۰-۴۱] برای اولین بار سیستم پیش‌تغلیظ تزریق جریان بر- خط متصل به اسپکترومتری جذب اتمی شعله‌ای (FAAS) را گزارش کردند. آن‌ها از میکروستون‌های پر شده با مبادله کننده کاتیونی استفاده کردند. بعدها این محققین همین سیستم را به دستگاه ET- AAS متصل کردند [۴۳]. از آن به بعد مقالات متعددی در زمینه پیش‌تغلیظ بر- خط با اسپکترومتری جذب اتمی با سیستم‌های تجزیه‌ای تزریق در جریان^۳ گزارش شده است. جاذب‌هایی که در سیستم پیش‌تغلیظ تزریق پیوسته استفاده می‌شوند باید آنالیت‌ها را سریعاً جذب کرده و به دنبال آن فرایند واجذبشان نیز سریع باشد. به‌علاوه گزینش‌پذیری جاذب‌ها باید به اندازه‌ی کافی بالا باشد. در عمل جاذب سیلیکا- C^{۱۸} یکی از پر استفاده‌ترین جاذب‌های مورد استفاده در این سیستم

1. Olsen

2. Fang

3. Flow injection analysis

است. معمولاً برای شستشو از حلال‌های آلی (همانند متانول) استفاده می‌شود. همچنین برای بالا بردن کارایی بازداري فلزات، عوامل کمپلکس‌دهنده به محلول نمونه اضافه می‌شوند. در این سیستم‌ها مبنای انتخاب عوامل کمپلکس‌دهنده واکنش سریع آنها با فلزات است [۴۵].

۲-۳- آنالیز با تزریق در جریان (FIA)

در چندین سال گذشته یکی از پیشرفت‌های مهم در شیمی تجزیه که تحول زیادی در تجزیه مواد مختلف ایجاد کرده است، ابداع سیستم‌های تجزیه خودکار بوده است. این سیستم‌ها که قادرند نتایج تجزیه‌ای زیادی را با کمترین دخالت نیروی انسانی فراهم آورند، در ابتدا برای استفاده در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی طراحی شدند. در این آزمایشگاه‌ها باید تعداد بسیار زیاد تجزیه با قیمت ارزان انجام شود و در واقع دو عامل کثرت تعداد نمونه و نیاز به کاهش هزینه، سبب تکمیل و پیشرفت تدریجی روش‌های تجزیه خودکار شدند [۴۶-۴۷]. روش تجزیه‌ای تزریق در جریان یکی از انواع روش‌های تجزیه خودکار می‌باشد. در اینجا سعی شده است توضیحات مختصری برای آشنایی کلی با این روش ارائه شود.

۲-۳-۱- تاریخچه

روش تجزیه‌ای تزریق در جریان برای اولین بار در سال ۱۹۷۵ توسط روزیکا^۱ و هانسن^۲، با انتشار مقاله‌ای معرفی شد [۴۹]. این روش از روش‌های آنالیز جریانی قطعه قطعه که در سال‌های ۱۹۶۰ تا ۱۹۷۰ رایج شده بودند، نتیجه گردید. در سیستم‌های جریانی قطعه قطعه^۳، نمونه‌ها بوسیله جریان یک

1. Ruzica

2. Hansen

3. Segmented continuous analysis

محللول حاوی حباب‌های هوا تا آشکارساز حمل می‌شوند. در این سیستم‌ها حباب‌های هوا دو نقش مهم دارند: اول اینکه وجود حباب‌ها مانع از آلودگی جانبی نمونه‌ها می‌شوند و دیگر اینکه حباب‌ها از پخش نمونه‌ها جلوگیری می‌کنند. طراحان سیستم تزریق در جریان نشان دادند که در صورتی که یک سیستم از این نوع به خوبی طراحی شود، بدون استفاده از حباب نیز، دو مزیت فوق بدست می‌آید. علاوه بر این، عدم استفاده از حباب هوا مزایای دیگری نیز برای این روش ایجاد می‌کند. از جمله این مزایا می‌توان به چند مورد زیر اشاره کرد:

الف- سرعت تجزیه‌ی بیشتر (تا ۱۰۰ نمونه در ساعت)

ب- ساده و انعطاف‌پذیر بودن قسمت‌های سیستم (به جزء قسمت تزریق نمونه)

ج- اختلاط تکرارپذیر نمونه و واکنشگر (به دلیل عدم حضور هوا) [۴۷].

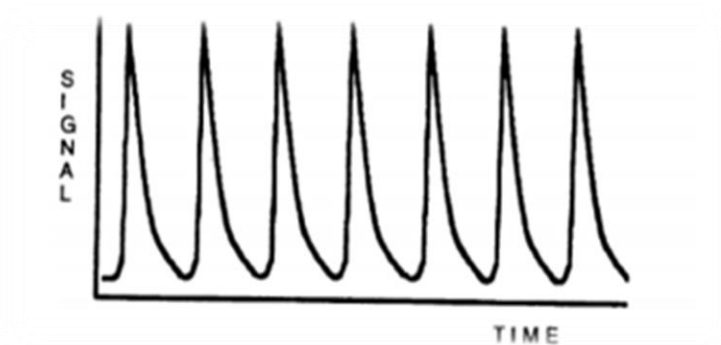
۲-۳-۲- دستگاهوری^۱

طرحی از یک سیستم بسیار ساده تجزیه‌ای تزریق در جریان در شکل (۲-۴) نشان داده شده است.



شکل (۲-۴)- طرح کلی سیستم FIA، C: حامل، R: واکنشگر، S: نمونه، DET: آشکارساز، W: پساب [۴۹].

در اینجا نمونه از طریق یک سیستم تزریق، به سیال غیر واکنشگر که نقش حامل را دارد، وارد می‌شود. معمولاً حامل ممکن است محلول بافر، محلولی از یک نمک و یا آب باشد. توده نمونه درون لوله حرکت کرده و در محل لوله T شکل (ناحیه اختلاط) با محلول واکنشگر، که از طریق لوله‌ی دیگری و توسط یک پمپ (معمولاً پمپ پریستالتیک^۱) به طرف ناحیه اختلاط^۲ انتقال می‌یابد، ترکیب می‌شود. مخلوط نمونه و واکنشگر از درون لوله مارپیچی مخلوط کننده گذشته و به آشکارساز می‌رسد تا علامت خاص مربوط به واکنش بین نمونه و واکنشگر ثبت گردد. در مدت عبور نمونه و واکنشگر از مارپیچ مخلوط کننده، توده نمونه به تدریج به درون سیال واکنشگر نفوذ کرده و در ضمن این عمل واکنش مورد نظر انجام می‌گیرد و نتیجه حاصل در آشکارساز مشخص می‌شود. محلول پس از عبور از آشکارساز به طرف فاضلاب هدایت می‌شود [۴۹].



شکل (۲-۵) - پاسخ یک آشکارساز نوعی به محلول رنگی که به طور متوالی به سیستم تزریق شده است [۴۸]

۲-۳-۳- اجزای اساسی در سیستم FIA

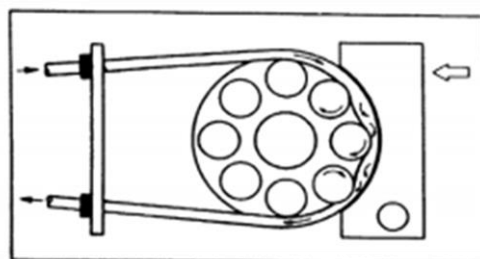
در این قسمت اجزای متفاوت بکار رفته در یک سیستم معمولی FIA معرفی می‌شود.

1. Peristaltic pump
2. Mixing coil

اجزای اصلی یک سیستم FIA شامل وسایل انتقال‌دهنده نمونه و واکنشگرها، مارپیچ واکنش¹، سیستم‌های تزریق نمونه² و آشکارسازها³ می‌باشد. معمول‌ترین روش انتقال نمونه و واکنشگرها در FIA استفاده از پمپ پریستالتیک می‌باشد. پمپ پریستالتیک، وسیله‌ای است که با غلطک‌های خود سیال را در داخل لوله‌های پلاستیکی فشرده و به جلو می‌راند. اساس کار یک پمپ پریستالتیک در شکل (۲-۶) نشان داده شده است. همان‌طوریکه در شکل دیده می‌شود، در هر لحظه حداقل سه غلطک با لوله‌ها در تماس بوده و فشار ناشی از آنها می‌تواند جریان پیوسته‌ای را درون لوله‌ها ایجاد کند.

سرعت جریان محلول‌ها را می‌توان با تنظیم سرعت موتور و انتخاب قطر داخلی لوله‌ها کنترل کرد. امروزه لوله‌هایی با قطرهای داخلی متنوع از ۰/۲۵ تا ۴ میلی‌متر در دسترس هستند که امکان ایجاد جریان‌هایی از ۰/۰۰۵ تا ۴۰ میلی‌لیتر بر دقیقه را فراهم می‌کنند. در پمپ‌های پریستالتیک معمولاً غلطک‌ها دارای طول کافی هستند و می‌توانند به طور همزمان در چندین لوله جریان ایجاد کنند. لوله‌های مورد استفاده در پمپ پریستالتیک از جنس‌های مختلفی ساخته می‌شوند و نوع لوله مورد استفاده با توجه به سیال جاری باید انتخاب شود. برای سیال‌های آبی و الکلی از لوله‌های پلی وینیل‌کلرید می‌توان استفاده کرد ولی برای حلال‌های خیلی اسیدی و یا قلیایی و همچنین محلول‌های آلی، باید از لوله‌های مخصوص استفاده کرد [۴۷].

3. Reaction coil
4. Injectors
5. Detectors

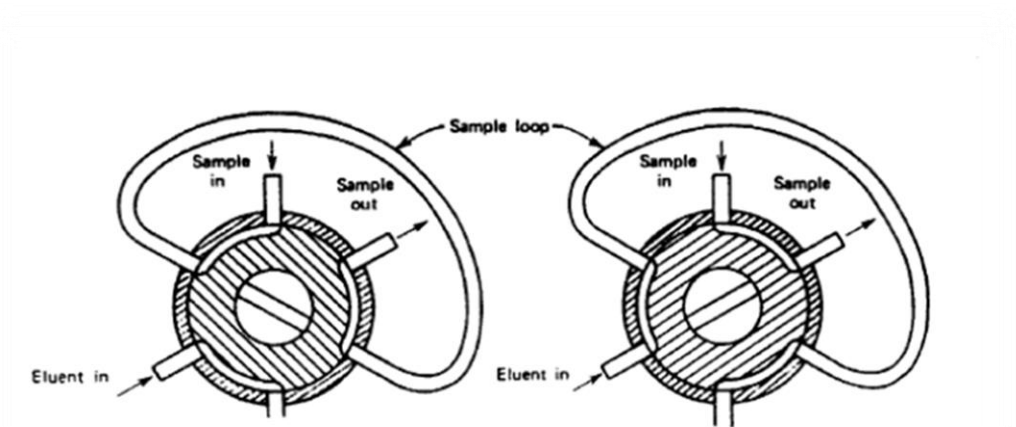


شکل (۶-۲) - نمایش اثر متقابل غلطک‌های پمپ پرستالتیک و لوله‌های آن [۴۷]

در اغلب سیستم‌های تزریق در جریان، یک لوله مارپیچی وجود دارد که به مارپیچ مخلوط کننده یا مارپیچ واکنش معروف است (شکل (۴-۲)) مارپیچ واکنش باعث افزایش اختلاط شعاعی نمونه و واکنشگر با یکدیگر می‌شود تا علامت ایجاد شده از این اختلاط بزرگتر و مشخص‌تر شود [۴۷].

جزء دیگر در یک سیستم FIA سیستم های تزریق نمونه می‌باشد که مشابه سیستم‌های تزریقی کروماتوگرافی مایع به خصوص HPLC می‌باشند. برای یک تجزیه موفق لازم است که محلول نمونه با سرعت و به صورت یک توده واحد از مایع تزریق شده و در هنگام تزریق، در جریان حاصل اغتشاش ایجاد نکند. به همین دلیل مطمئن‌ترین راه تزریق نمونه در جریان پیوسته، استفاده از شیر تزریق چرخان^۱ و لوپ نمونه‌برداری^۲ است. شکل ساده‌ای از یک سیستم تزریق شش قسمتی در شکل (۷-۲) نشان داده شده است. در این شکل، دو مرحله پر شدن مدار نمونه‌برداری و سپس تزریق نمونه مشخص شده است [۴۷].

1. Rotatory injection valve
2. Sampling loop

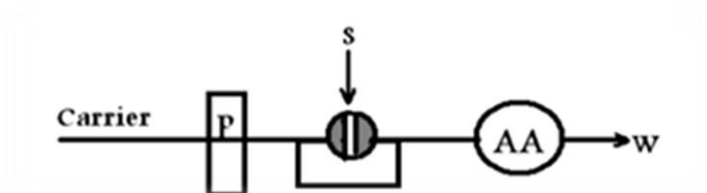


شکل (۷-۲) - سیستم تزریق شش قسمتی [۴۹]

آشکارسازهایی که در سیستم‌های تزریق جریانی استفاده می‌شوند، مشابه آشکارسازهای HPLC می‌باشند. انواع آشکارسازهایی که مورد استفاده قرار گرفته اند عبارتند از: جذب و نشر اتمی، جذب مولکولی، فلوئورسانس مولکولی، روش‌های الکتروشیمیایی، شکست سنجی، کدر سنجی، طیف سنجی زیر قرمز با تبدیل فوریه، طیف سنجی رامان، طیف سنجی جرمی و روش‌های رنگ‌سنجی می‌باشند [۴۷].

۲-۳-۴ FIA وسیله‌ای برای انتقال دقیق و تکرار پذیر نمونه

یکی از دلایل کاربرد روش FIA استفاده از آن به منظور انتقال دقیق و تکرارپذیر نمونه به سمت یک آشکارساز ویژه است. در استفاده از FIA این اطمینان وجود دارد که تمامی شرایط در چرخه اندازه‌گیری به خوبی ثابت نگه داشته می‌شود. مثالی از کاربرد FIA در انتقال نمونه، ترکیب آن با اسپکترومتری جذب اتمی است. اسپکترومتری جذب اتمی یکی از چندین دستگاه تجزیه‌ای است که کارایی آن در ترکیب با FIA بسیار افزایش می‌یابد. شکل (۸-۲) یک سیستم شامل یک خط اتصال ساده بین پمپ و تزریق کننده و اسپکترومتری جذب اتمی شعله‌ای را نشان می‌دهد.



شکل (۲-۸) - یک سیستم شامل یک خط اتصال ساده بین پمپ و تزریق کننده و اسپکترومتری جذب اتمی
شعله [۴۸]

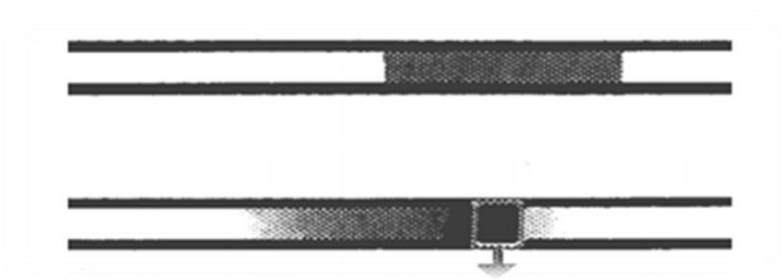
از دیگر مزایای ترکیب روش FIA با روش جذب اتمی افزایش فرکانس نمونه برداری است. مزیت دیگر این روش این است که آشکارساز نیاز به مدت زمان کوتاهی برای نمایش سیگنال نمونه دارد و در بقیه‌ی زمان، آشکارساز توسط محلول حامل تمیز می‌شود. لذا نسبت زمان شستشو به نمونه‌گذاری بسیار بالا بوده و در نتیجه امکان مسدود شدن شعله به واسطه‌ی میزان نمک بالا بسیار کاهش یافته یا به صفر می‌رسد.

یکی دیگر از کاربردهای FIA استفاده از آن برای انتقال و پیش‌تغلیظ نمونه به صورت بر-خط است. این هدف هنگامی قابل دستیابی است که FIA با راکتورهای ستونی مناسب همراه شود. با توجه به اینکه در این پروژه از روش FIA برای پیش‌تغلیظ و واردسازی نمونه و AAS به صورت بر-خط استفاده شده است، لذا در بخش‌های بعدی مروری بر این کاربرد FIA می‌کنیم [۵۰].

۲-۳-۵- روش پیش‌تغلیظ بر-خط نمونه به روش FIA

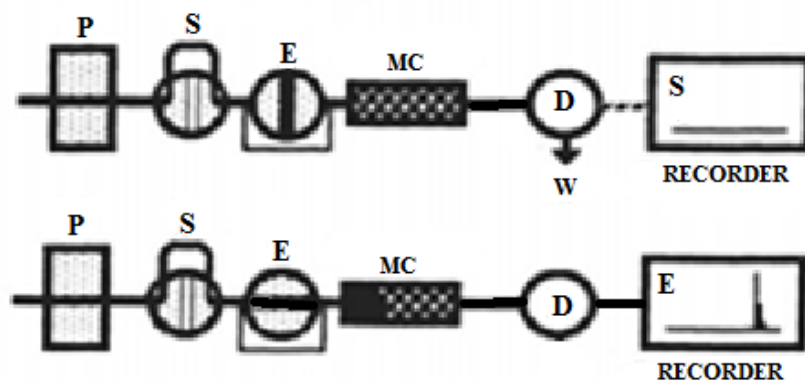
قواعد تکنیک پیش‌تغلیظ بوسیله‌ی روش FIA در شکل (۲-۹) نشان داده شده است. همانگونه که در شکل مشاهده می‌شود، بوسیله‌ی یک ستون کوچک پر شده، غلظت آنالیت در ستون افزایش

می‌یابد و سپس بوسیله‌ی حجم کوچکی از محلول شسته می‌شود. به علاوه چگونگی ایجاد پراکندگی کمتر برای نمونه با وارد کردن مقدار نسبتاً زیاد محلول نمونه نشان داده شده است.



شکل (۲-۹) - قاعده روش پیش‌تغلیظ توسط FIA [۵۱]

این روش برای اندازه‌گیری مقادیر خیلی کم کاتیون عناصر در محلول‌های خیلی رقیق با حساسیتی بالا توسط اسپکتروفتومتری جذب اتمی شعله‌ای به کار گرفته می‌شود. هر چرخه نمونه‌گیری شامل دو عملیات جداگانه است: پیش‌تغلیظ و شویش.



شکل (۲-۱۰) - سیستم ساده تک کاناله با دو دریچه FIA برای پیش‌تغلیظ بر - خط مقادیر بسیار کم یون‌های فلزی [۴۶] P: پمپ، S: دریچه عبور نمونه، E: دریچه عبور شوینده، MC: میکروستون، D: شیر انتخاب، W: فاضلاب

ساده ترین روش، سیستم FIA تک کاناله که دارای دو دریچه است، می باشد (شکل (۲-۱۰)). در ابتدا حجم زیادی از نمونه (مثلا ۵ میلی لیتر) توسط دریچه (S) به درون جریان حامل تزریق می شود و به جلو رانده می شود. سپس حجمی کوچک از شوینده (همانند ۵۰ میکرولیتر از هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار) توسط دریچه ی دوم (E) تزریق می شود و آنالیتی را که در حدود ۱۰۰ برابر پیش تغلیظ شده است به سمت آشکارساز می برد. مهمترین مزیت پیش تغلیظ به صورت بر- خط این است که نمونه و استانداردها متحمل رفتار مشابهی از زمان تزریق تا زمان آشکارسازی می شوند و ستون تبادلگر یون به صورت مشابه برای همه ی نمونه ها و استانداردها استفاده می گردد و در نتیجه هندسه ی جریان و واکنش هایی که به دنبال آن رخ می دهد در سیستم FIA به صورت دقیق و تکرارپذیر انجام می شود. دراین روش جذب کمی آنالیت از محلول شرط لازم نمی باشد اما شستشوی پس از آن بایستی به صورت کمی انجام شود.

محققین دیگری طرح موجود در شکل (۲-۱۰) را اصلاح کردند و سیستمی با دو پمپ پیش تغلیظ ارائه دادند که به طور متناوب کار می کنند [۵۱]. مزیت این طرح این است که هنگامی که یک ستون در مرحله ی پیش تغلیظ است، ستون دیگر در مرحله ی شویش است یا برعکس. همان گونه که چرخه ی عملکرد هریک از ستون ها شامل مرحله ی بارگیری (زمانی که نمونه به درون حلقه داخلی نمونه تزریق می شود)، مرحله تبادل یون و مرحله شویش می باشد. مرحله ی شویش بسیار سریع تر از مرحله ی بارگذاری است. در نتیجه با این طرح تنها هدف دست یافتنی، اصلاح فرکانس نمونه گذاری می باشد و نمی توان اصلاحاتی در مرحله ی شویش انجام داد، زیرا مراحل تعیین کننده ی سرعت، مراحل بارگیری و تبادل یون است [۵۲].

۲-۴- اصول اندازه‌گیری در اسپکتروسکوپی جذب اتمی

فرآیند تجزیه‌ای در اسپکتروسکوپی جذب اتمی شامل تبدیل مولکول‌ها یا یون‌ها به اتم‌های آزاد و سپس اندازه‌گیری میزان جذب تابش بوسیله‌ی این اتم‌های آزاد می‌باشد.

بر اساس رابطه‌ی (۱-۱) جذب در اتم‌ها از قانون بیر- لامبرت پیروی می‌کند:

$$I_1 = I_0 \exp (-a. b. c) \quad \text{رابطه (۱-۱)}$$

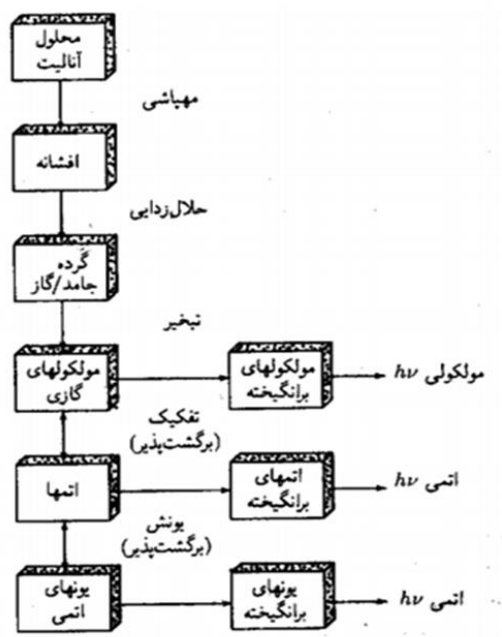
در این رابطه I_1 مقدار نور خارج شده از یک محلول، I_0 شدت نور وارد شده به محلول، a ضریب جذب، b طول مسیر نور و C غلظت محلول می‌باشد.

اگرچه اصول پایه‌ای قانون بیر- لامبرت در اسپکتروسکوپی جذب اتمی به کار برده می‌شود، ولی در عمل به کار بردن این رابطه به صورتی که هست برای اندازه‌گیری غلظت آنالیت، امکان‌پذیر نمی‌باشد. این بدان جهت است که در اسپکتروسکوپی مولکولی، محلول‌های مورد تجزیه یکنواخت بوده و غلظت مولکولی در تمام طول مسیر جذب نور ثابت می‌باشد. لیکن در یک سیستم از اتم‌های آزاد، غلظت اتم‌های آزاد در طول مسیر جذب نور ثابت نمی‌ماند. به این دلیل قانون بیر- لامبرت را نمی‌توان مستقیماً برای تعیین غلظت اتم‌های آزاد از محلول نمونه به کار برد. تعداد اتم‌ها در مسیر نور در حالت تعادل ترمودینامیکی با محلول نمونه و با محصولات احتراق می‌باشد. این تعداد اتم‌های آزاد، به غلظت فلزی که در نمونه تعیین می‌شود بستگی دارد. بنابراین می‌توان یک منحنی استاندارد که میزان جذب را به غلظت ارتباط می‌دهد رسم کرد [۵۳].

فرآیندهای لازم برای تبدیل محلول نمونه به بخار اتمی با وارد کردن پیوسته نمونه به اتم ساز در شکل (۲-۱۳) نشان داده شده است.

همانطور که مشاهده می‌شود، سیستم وارد کننده نمونه، نمونه را به صورت افشانه‌ای با قطرات بسیار ریز به محیط شعله وارد می‌کند. چنین فرآیندی به اصطلاح مه‌پاشی نامیده می‌شود. دمای بالای شعله

باعث تبخیر حلال و سپس تبخیر آئروسول خشک باقیمانده می‌شود. هنگامی که اتم‌های آزاد شکل می‌گیرند می‌توانند توسط برخورد با تابش برانگیخته شوند تا خطوط طیفی حاصل شود و با اینکه با تشکیل اتم‌های آزاد، این اتم‌ها در معرض تابش منبع برانگیخته شده و باعث کاهش در شدت تابش منبع می‌شوند [۵۳].



شکل (۲-۱۱) - فرایندهای انجام شده طی اتم سازی [۵۳]

فصل سوم:

بخش تجربی

۳-۱- پیش تغلیظ بر خط مقادیر بسیار کم کبالت و اندازه گیری پیوسته ی آن به

روش اسپکترومتری جذب اتمی

باتوجه به تأثیرات بیولوژیکی و زیست محیطی کبالت و اهمیت آن که در فصل اول به آن اشاره شد، ارائه روشی حساس، ساده و گزینش پذیر برای اندازه گیری مقادیر بسیار کم آن لازم به نظر می رسد. در این بخش نتایج تجربی و جزئیات توسعه ی یک روش بسیار حساس برای اندازه گیری کبالت بر اساس پیش تغلیظ جریان پیوسته و اسپکترومتری جذب اتمی ارائه خواهد شد.

۳-۲- مواد شیمیایی، محلول های مورد استفاده و طرز تهیه ی آنها

در تهیه ی تمام محلول ها از آب دوبار تقطیر و مواد شیمیایی با خلوص تجزیه ای استفاده شد. محلول کبالت (II) با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر از انحلال ۰/۲۴۶۴ گرم از نمک کبالت (II) نترات شش آبه دربالن حجمی ۵۰ میلی لیتری تهیه شد. محلول های با غلظت کمتر در هر روز از رقیق کردن محلول غلیظ تهیه می شدند. محلول هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار از انحلال ۸/۴ میلی لیتر هیدروکلریک اسید غلیظ در بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری تهیه شد. محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=6/5$ از مخلوط کردن حجم های معین از محلول سدیم هیدروژن فسفات ۰/۰۶۶ مولار و پتاسیم دی هیدروژن فسفات ۰/۰۶۶ مولار تهیه و سپس pH آن بوسیله دستگاه pH متر تنظیم گردید.

برای تهیه محلول بافر بوراکسی از محلول های اسید بوریک ۰/۱۰ مولار و هیدروکلریک اسید ۰/۱۰ مولار استفاده گردید. همچنین برای تهیه محلول بافر استاتی از محلول های اسید استیک ۰/۱ نرمال و سود ۰/۱ نرمال استفاده شد، به این ترتیب که حجم های معینی از محلول های فوق با یکدیگر مخلوط شدند و سپس pH آنها با استفاده از دستگاه pH متر در حد ۶/۵ تنظیم شد.

همچنین برای تهیه محلول بافر سیتراتی از حجم‌های معینی از محلول‌های سدیم سیترات ۰/۱۰ نرمال و سود ۰/۱۰ نرمال استفاده شد.

لیست مواد شیمیایی مورد استفاده به همراه شرکت سازنده آنها در جدول (۱-۳) آمده است.

جدول (۱-۳) - مواد شیمیایی مورد نیاز در تهیه محلول‌ها و مواد استفاده شده

شرکت	فرمول	ماده
مرک ^۱	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	کبالت نیترات شش آبه
مرک	HNO_3	نیتریک اسید
مرک	CH_3COOH	استیک اسید
مرک	NaOH	سدیم هیدروکسید
مرک	$\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2\text{S}$	۲-آمینوتیازول ^۲
مرک	NaNO_2	سدیم نیتريت
مرک	$\text{C}_5\text{H}_3\text{N}(\text{NH}_2)_2$	۲، ۶-دی آمینو پیریدین ^۳
بیدستان	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	اتانول
مرک	$[\text{C}_2\text{H}_3\text{Cl}]_n$	پلی وینیل کلرید
مرک	H_2SO_4	سولفوریک اسید
مرک	HCl	هیدروکلریک اسید
مرک	$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$	سدیم سیترات
مرک	Na_2HPO_4	سدیم هیدروژن فسفات
مرک	KH_2PO_4	پتاسیم دی هیدروژن فسفات

1. Merck

2. 2-Aminothiazole

3. 2,6- diamino pyridine

۳-۲-۱- تهیه لیگاند ۳-(۲'-تiazolylazo)-۲,۶-دی آمینوپیریدین

۱ (TADAP)

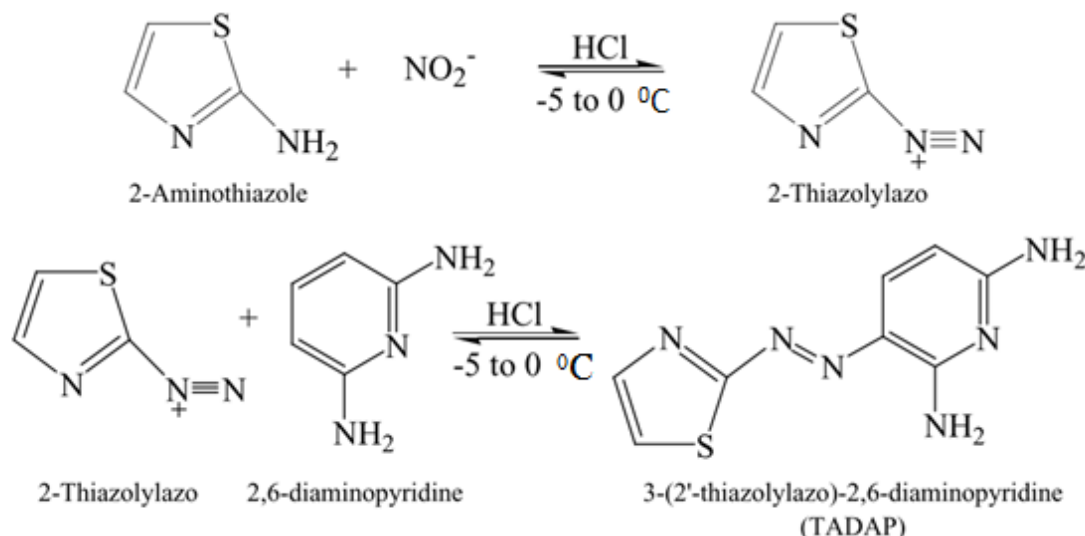
لیگاند مذکور طبق روش ذکر شده در مرجع [۵۲] تهیه شد. ابتدا محلول‌های (۱) و (۲) و (۳) به ترتیب زیر تهیه شدند.

۱/۰ گرم از ۲-آمینو تiazول (۰/۰۱۰ مول) در ۱۶/۰ میلی لیتر از هیدروکلریک اسید ۶/۰ مولار حل شد و در یک حمام یخ و نمک (دمای صفر تا -5°C) سرد گردید (محلول شماره یک). ۰/۷۰ گرم از سدیم نیتريت (۰/۰۱۰ مول) در مقدار کمی از آب حل شد و در حمام یخ و نمک تا -5°C سرد شد (محلول شماره دو). ۱/۱ گرم (۰/۰۱۰ مول) ۲,۶ دی آمینو پیریدین در ۴۰ میلی لیتر هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار حل گردید و دمای آن بین صفر تا منفی ۵ درجه سانتیگراد تنظیم شد (محلول شماره سه). محلول سدیم نیتريت (محلول شماره دو) قطره قطره به درون محلول شماره یک اضافه شد و مخلوط هم زده شد در حالیکه دمای مخلوط بین صفر تا -5°C کنترل شد. نمک دی آزونیم^۲ تشکیل شده، کم کم به محلول سرد ۲,۶-دی آمینو پیریدین^۳ (محلول شماره سه) اضافه گردید و سپس مخلوط در حمام یخ و نمک (دمای صفر تا -5°C) به مدت یک ساعت هم زده شد. سپس حدود ۸۰/۰ میلی لیتر محلول سدیم هیدروکسید ۳/۰ مولار به مخلوط اضافه شد تا محلول به $\text{pH}=6$ رسید. در این موقع رسوب قرمز رنگی تشکیل شد. رسوب روی کاغذ صافی صاف و با آب دوبار تقطیر شسته شد و سپس در مجاورت هوا خشک گردید. محصول ناخالص در مخلوط اتانول-آب به نسبت ۳ به ۱ کریستاله شد. در پایان کریستال‌های قرمز سوزنی شکل با نقطه ذوب $226-227^{\circ}\text{C}$ بدست آمد که با نقطه ذوب گزارش شده در مرجع شماره‌ی [۵۴] دقیقاً مطابقت دارد. بدین ترتیب لیگاند خالص TADAP تهیه گردید. مراحل سنتز لیگاند TADAP در شکل (۳-۱) آورده شده است.

1. 3-(2'-thiazolylazo)- 2,6-diamino pyridine

2. Diazonium salt

3. 2,6- diamino pyridine



شکل (۳-۱)- واکنش‌های مربوط به سنتز TADAP [۵]

طیف IR بدست آمده ساختار لیگاند را تایید می‌کند. نتایج حاصل از طیف IR به صورت زیر می‌باشد.

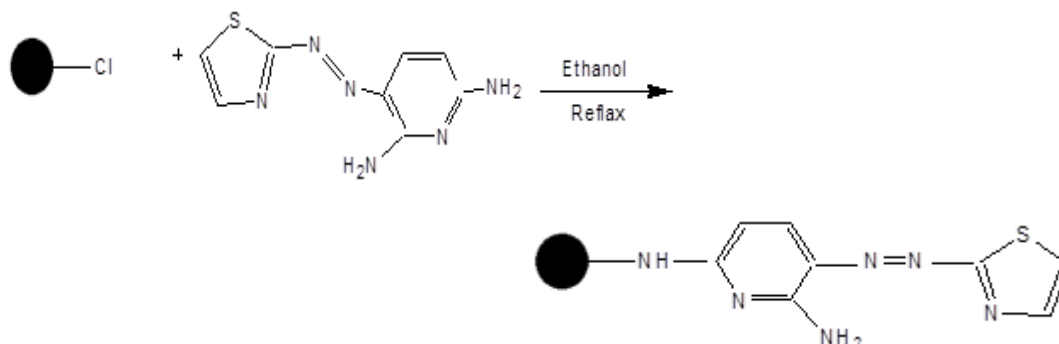
IR (KBr): 3335, 3217(N-H), 3082(C-H, aromatic), 1660(C=N), 1580-1650(N-H), 1451(N=N), 1295(C-N), 1095(C-S). cm^{-1}

۳-۲-۲- واکنش لیگاند ۳-(۲'-تiazolیل آزو)-۲،۶-دی‌آمینوپیریدین

(TADAP) با پلی‌وینیل کلرید (PVC)

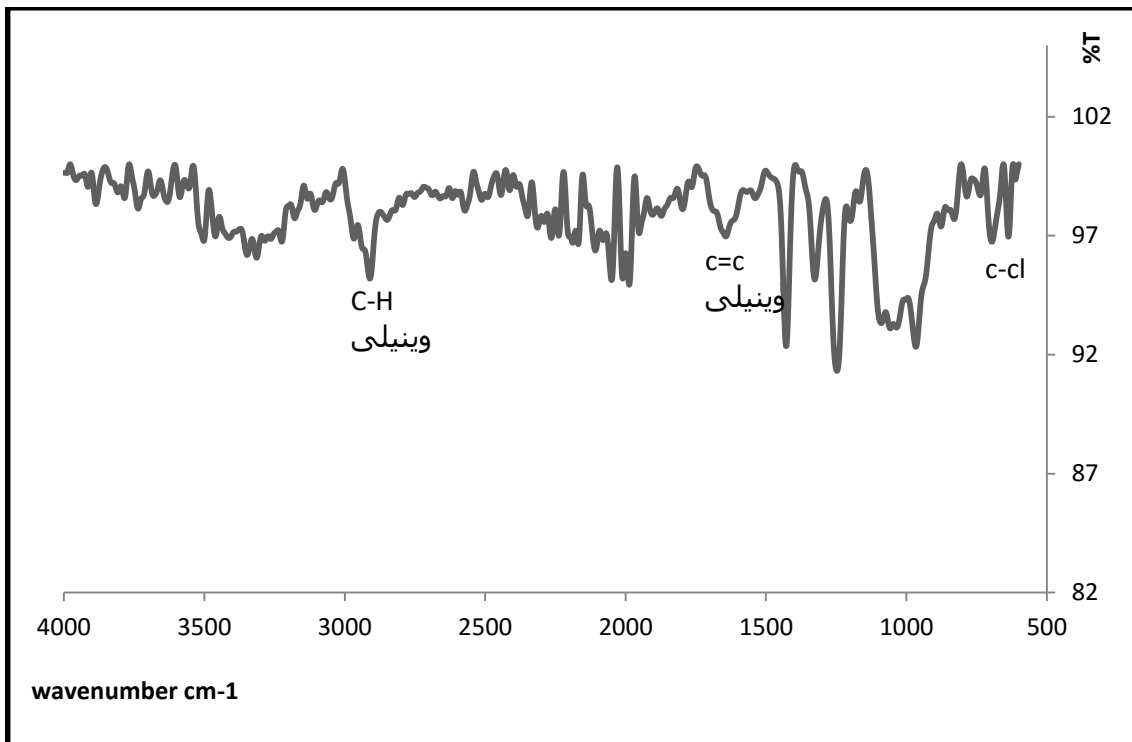
در یک بالن تقطیر ۱۰۰ میلی‌لیتری، ۵۰ میلی‌لیتر اتانول، ۰/۷۰ گرم از لیگاند ۳-(۲'-تiazolیل آزو)-۲،۶-دی‌آمینوپیریدین (TADAP) و ۰/۵۰ گرم از پلی‌وینیل کلرید اضافه گردید. مخلوط واکنش به مدت ۷۲ ساعت در حمام روغن در دمای ثابت 90°C رفلکس شد. پس از آن محلول درون بالن دکانته شد و جامد باقی مانده چندین بار با اتانول شستشو داده شد تا لیگاند ۳-(۲'-تiazolیل آزو)-۲،۶-دی‌آمینوپیریدین که با پلی‌وینیل کلرید وارد واکنش نشده بود شسته شده و از درون جامد خارج

گردد. سپس جهت خشک کردن به مدت ۲ ساعت در آون با دمای 90°C قرار داده شد. واکنش لیگاند ۳-(۲'-تiazolil آزو)-۲،۶-دی آمینوپیریدین با پلی وینیل کلرید در شکل (۳-۲) نشان داده شده است.

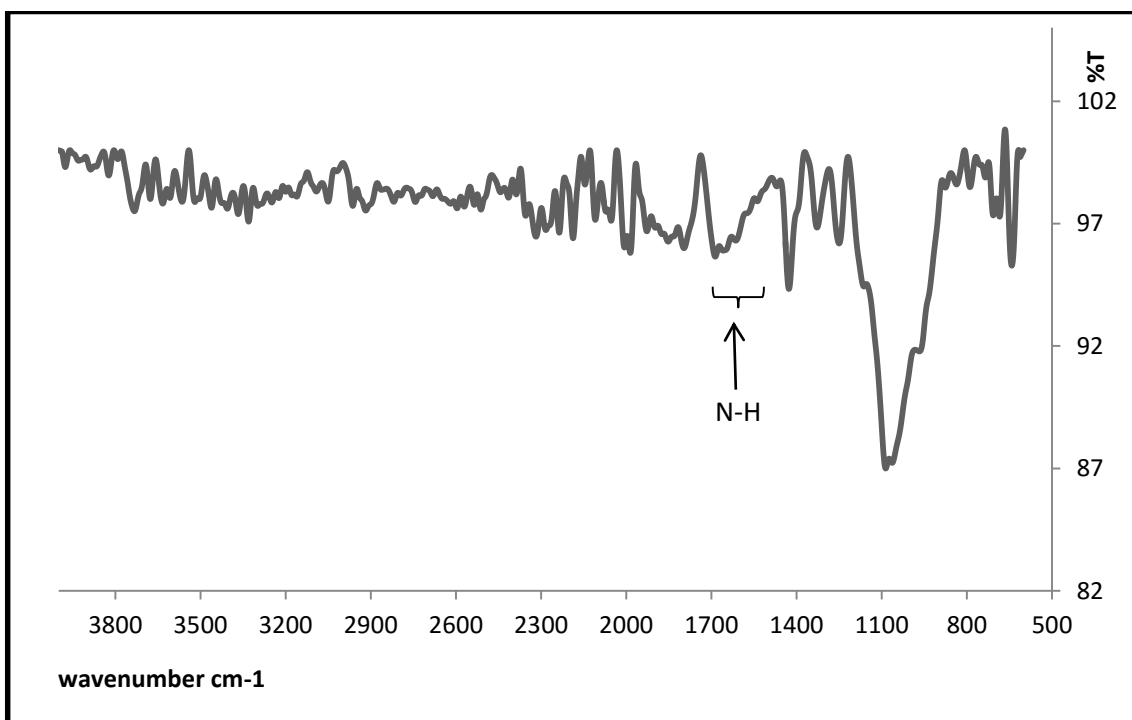


شکل (۳-۲)- واکنش لیگاند ۳-(۲'-تiazolil آزو)-۲،۶-دی آمینوپیریدین (TADAP) با پلی وینیل کلرید

به منظور تایید اتصال لیگاند بر روی پلی وینیل کلرید، طیف FT-IR آن در نواحی $500-4000\text{ cm}^{-1}$ ثبت شد که در شکل (۳-۳) نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود یک پیک در ناحیه $1580-1650\text{ cm}^{-1}$ در طیف جاذب (شکل (۳-۳-ب)) ظاهر شده است که مربوط به ارتعاش خمشی پیوند N-H موجود در ساختار لیگاند-TADAP است. ظاهر شدن این پیک در طیف FT-IR جاذب و عدم وجود آن در طیف FT-IR پلی وینیل کلرید، بیان گر قرار گرفتن لیگاند بر روی سطح پلیمر است. براساس آنالیز عنصری مقدار نیتروژن برابر $3/26\%$ به دست آمد که تایید نهایی برای اتصال لیگاند بر روی پلی وینیل کلرید می باشد.



شکل (۳-۳-الف) - طیف FT-IR پلی وینیل کلرید



شکل (۳-۳-ب) - طیف FT-IR پلی وینیل کلرید اصلاح شده با لیگاند

۳-۲-۳- تهیه‌ی ستون پیش‌تغلیظ

برای تهیه‌ی ستون پیش‌تغلیظ از لوله‌ی شیشه‌ای با قطر داخلی ۲/۰ میلی‌متر استفاده شد. مقدار ۱۸۲/۰ میلی‌گرم از پلی‌وینیل‌کلرید اصلاح شده توسط لیگاند ۳-(۲'-تیاژولیل‌آزو)۲، ۶-دی‌آمینو پیریدین برای پرکردن ستونی به طول ۵/۵ سانتی‌متر استفاده شد. به منظور خارج نشدن ماده پرکننده ستون، دو انتهای آن توسط لایکو مسدود شد. پس از پرکردن، ستون به منظور آماده‌سازی، ابتدا به مدت یک دقیقه آب دوبار تقطیر و سپس به مدت یک دقیقه هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار از داخل آن عبور داده شد. مقدار اضافی اسید نیز با عبور آب دوبار تقطیر تا نزدیک به خنثی شدن شسته شد. مرحله‌ی آماده‌سازی ستون سه مرتبه متوالی انجام شد.

۳-۳- وسایل و دستگاه‌های لازم

از دستگاه اسپکترومتر جذب اتمی شعله‌ای شیمادزو مدل AA-670 مجهز به لامپ کاتدی توخالی کبالت و شعله‌ی هوا-استیلن برای اندازه‌گیری‌های جذب استفاده شد. پارامترهای دستگاهی مربوط در جدول (۳-۲) آورده شده است.

جدول (۳-۲) - تنظیمات دستگاهی اسپکترومتر جذب اتمی شعله

طول موج (nm)	۲۴۰/۷
جریان لامپ (mA)	۶
پهنای شکاف (nm)	۰/۲
سرعت جریان استیلن (L/min)	۲/۲
سرعت جریان هوا (L/min)	۸
ارتفاع شعله (mm)	۶
طول شعله (cm)	۱۰

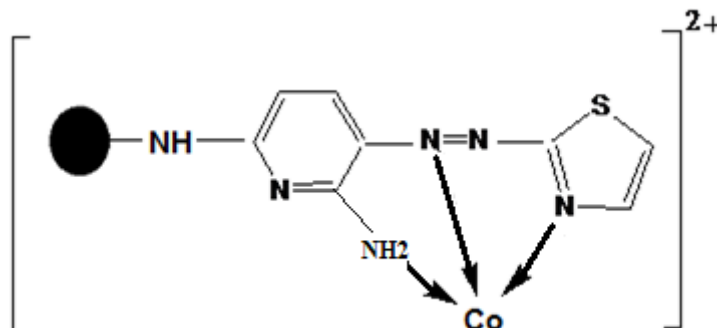
برای تنظیم pH محلول‌های بافری از دستگاه pH متر مدل ۷۴۴ ساخت شرکت متر اهم مجهز به الکتروود شیشه- نقره- نقره کلرید سه مولار ترکیبی استفاده گردید. برای پمپ کردن محلول نمونه از یک پمپ پرستالتیک مدل ۲۰۳ v pp (شرکت الکترولب^۱) با سرعت چرخش موتور قابل تنظیم برای هر کانال استفاده شد. برای تغییر سرعت جریان هر کانال می‌توان از دو روش تغییر سرعت چرخش موتور را برای هر کانال بطور مستقل و همچنین تغییر قطر شلنگ‌ها استفاده کرد. شلنگ‌های مورد استفاده از جنس سلیکون با قطر داخلی ۱/۵۰ میلی‌متر بودند. شیر انتخاب^۲ شش راهه چرخشی رنوداین^۳ مدل ۵۰۱۱ ساخت شرکت ساپلکو^۴ برای مراحل پیش‌تغلیظ و شویش استفاده شد. طیف‌های بازتابش کلی تضعیف شده نیز بوسیله‌ی دستگاه FTIR مدل BRUKER EQUINOX 55 ثبت گردید.

۳-۴- سیستم شیمیایی مورد استفاده

در تحقیق انجام شده از پلی‌وینیل کلرید که به عنوان فاز جامد پلیمری در استخراج فاز جامد مورد استفاده قرار می‌گیرد برای پرکردن ستون پیش‌تغلیظ استفاده شده است. برخی از مزیت‌های استفاده از فازهای جامد پلیمری می‌توان به هزینه‌ی پایین، آماده‌سازی آسان، تخلخل بالا و در نتیجه سطح تماس مناسب و پایداری در محیط‌های اسیدی و بازی اشاره نمود. هنگام استفاده از پلی‌وینیل کلرید به عنوان فاز جامد، افزایش یک عامل کمپلکس‌دهنده با آنالیت به محلول نمونه یا به صورت تثبیت شده بر روی پلیمر مورد نیاز می‌باشد. عامل کمپلکس‌دهنده‌ی استفاده شده در این پروژه لیگاند TADAP است که از طریق پیوندهای شیمیایی بر روی پلی‌وینیل کلرید قرار گرفته است. لیگاند غیرویزه است که با بعضی از کاتیون‌های فلزات واسطه نظیر پالادیم (II)، مس (II) و کبالت (II)

1. Electrolab
2. Selection valve (sv)
3. Rheodyne
4. Supelco

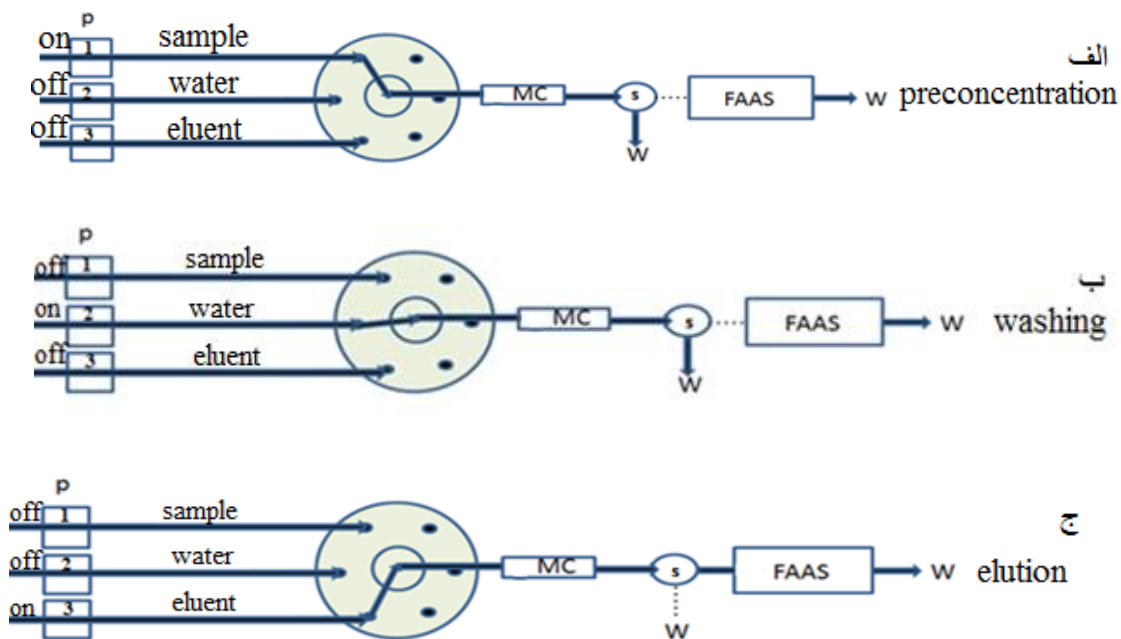
کمپلکس تشکیل می‌دهد [۵۵-۵۶]. ساختار احتمالی کمپلکس کبالت- لیگاند در شکل (۳-۴) آورده شده است.



شکل (۳-۴) - ساختار پیشنهادی کمپلکس لیگاند ۳-(۲'-تيازوليل آزو) ۲، ۶-دی‌آمینوپیریدین با کبالت (II)

۳-۵- طراحی سیستم پیش تغلیظ جریان پیوسته

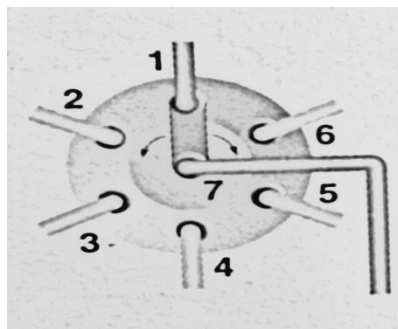
شکل (۳-۵)، سیستم پیش تغلیظ پیوسته که برای اندازه‌گیری مقادیر ناچیز کبالت طراحی شده است را نشان می‌دهد. در این طراحی سعی شده است که سیستم تا حد ممکن ساده و بدون پیچیدگی باشد. در این شکل چگونگی عبور جریان نمونه، آب دوبار تقطیر و شوینده به صورت جداگانه نشان داده شده است. در سیستم طراحی شده ستون مستقیماً به شیر شش راهه چرخشی متصل می‌شود. ابتدا شیر در حالت پیش تغلیظ قرار می‌گیرد و نمونه به کمک پمپ ۱ و تحت سرعت جریان معینی از ستون عبور داده می‌شود تا کبالت موجود در نمونه بر روی ستون جذب شود در حالیکه دو پمپ دیگر خاموش هستند. سپس مسیر عبور نمونه بسته، پمپ ۱ خاموش و پمپ ۲ روشن می‌شود و به مدت یک دقیقه آب عبور داده می‌شود. با چرخش شیر شش راهه چرخشی مسیر عبور آب بسته، پمپ ۲ خاموش و پمپ ۳ روشن می‌شود و محلول شوینده از ستون عبور نموده و کبالت بازداري شده، توسط جریانی از شوینده شسته شده و وارد مه‌پاش دستگاه جذب اتمی و نهایتاً سیگنال‌های نمونه ثبت می‌گردد. طرحی از شیر شش راهه مورد استفاده در شکل (۳-۶) آورده شده است.



شکل (۳-۵) - طرح شماتیک سیستم مورد استفاده در این پروژه. الف) طرح سیستم در حالت پیش تغلیظ

ب) طرح سیستم در حالت شستشوی ستون با آب. ج) طرح سیستم در حالت شویش ستون با اسید.

P: پریستالتیک پمپ W: پساب، MC: ریز ستون، S: شیر انتخاب



شکل (۳-۶) - شیر شش راهه چرخشی مدل ۵۰۱۱

۳-۶- روش بهینه سازی عوامل موثر بر سیستم

در این تحقیق به منظور فراهم نمودن بهترین حساسیت و بهترین حد تشخیص، عوامل مختلف موثر بر عملکرد سیستم شیمیایی مورد نظر بهینه سازی شدند. ساده ترین روش بهینه سازی، روش یک متغیر در یک زمان^۱ است. در این روش همه عوامل تاثیرگذار بر سیستم شیمیایی مورد نظر به جز یکی از آنها ثابت در نظر گرفته شده و تغییرات یک عامل روی پاسخ سیستم بررسی و با انتخاب پاسخ بهینه در این حالت، بقیه عوامل به همین ترتیب بهینه می شوند. عوامل زیر به ترتیب مورد بررسی قرار گرفتند :

۱- pH نمونه

۲- نوع بافر

۳- حجم بافر

۴- نوع شوینده

۵- غلظت شوینده

۶- سرعت جریان نمونه در حجم پیش تغلیظ ثابت

۷- سرعت جریان شوینده در حجم پیش تغلیظ ثابت

۸- طول ستون (مقدار مواد پرکننده ی ستون)

۹- حجم پیش تغلیظ

۱۰- قدرت یونی (اثر نمک)

در بررسی بعضی پارامترها علاوه بر سیگنال تجزیه ای، درصد بازیابی آنالیت نیز اندازه گیری گردید که برای تعیین آن به صورت زیر عمل شد:

۱. One-at- a-time

ابتدا ۱۰/۰ میلی لیتر محلول ۰/۰۵ میلی گرم بر لیتر کبالت تحت شرایط بهینه پیش تغلیظ شده و به مدت یک دقیقه با آب مقطر شستشو داده شد. سپس در مرحله‌ی شویش، کبالت بازداري شده توسط هیدروکلریک اسید ۱ مولار با سرعت جریان ۳/۳ میلی لیتر بر دقیقه در ۰/۰۵ میلی لیتر از شوینده درون یک ویال جمع‌آوری شد. سیگنال محلول جمع‌آوری شده از ستون در این حالت توسط مکش مستقیم با سیستم FAAS اندازه‌گیری شد و سیگنال بدست آمده در منحنی کالیبراسیون مستقیم و بدون پیش تغلیظ کبالت قرار داده شد و میزان کبالت موجود در محلول حاصل از پیش تغلیظ ۱۰/۰ میلی لیتر محلول ۰/۰۵ میلی گرم بر لیتر کبالت در ۰/۵۰ میلی لیتر هیدروکلریک اسید در هر اندازه‌گیری بدست آمد. نسبت بین مقدار بدست آمده با مقدار واقعی کبالت در محلول اولیه، درصد بازیابی را برای روش نشان می‌دهد.

۳-۶-۱- بهینه سازی pH محیط

میزان تشکیل کمپلکس بوسیله‌ی گروه‌های کی‌لیت دهنده بر روی جاذب پلیمری به pH محیط وابسته است. بنابراین بررسی اثر pH ضروری می‌باشد که این بررسی در محدوده ۴/۰-۹/۰ pH انجام شد. بدین منظور محلول‌های بافر استاتی در محدوده‌ی ۴/۰-۶/۵ pH و محلول‌های بافر بوراکسی در محدوده‌ی ۷/۰-۹/۰ pH تهیه شدند. سپس ۵۰ میلی لیتر از محلول ۰/۰۵ میلی گرم بر لیتر کبالت (II) حاوی ۲/۰ میلی لیتر محلول بافر با pH مورد نظر (در بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری) است تهیه شد. سپس با عبور ۱۰/۰ میلی لیتر از محلول نمونه از ستون ۵/۵ سانتی متری در سرعت جریان ۳/۳ میلی لیتر بر دقیقه، پیش تغلیظ انجام شد. در این مرحله کبالت (II) با لیگاند TADAP پیوند شده بر روی PVC تشکیل کمپلکس داده و یونهای کبالت (II) بر روی جاذب پیش تغلیظ می‌شوند. پس از شستشوی ستون با آب دوبار تقطیر به مدت ۱ دقیقه، با چرخش شیر انتخاب در موقعیت عبور شوینده، هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار با سرعت ۳/۳ میلی لیتر بر دقیقه از ستون عبور

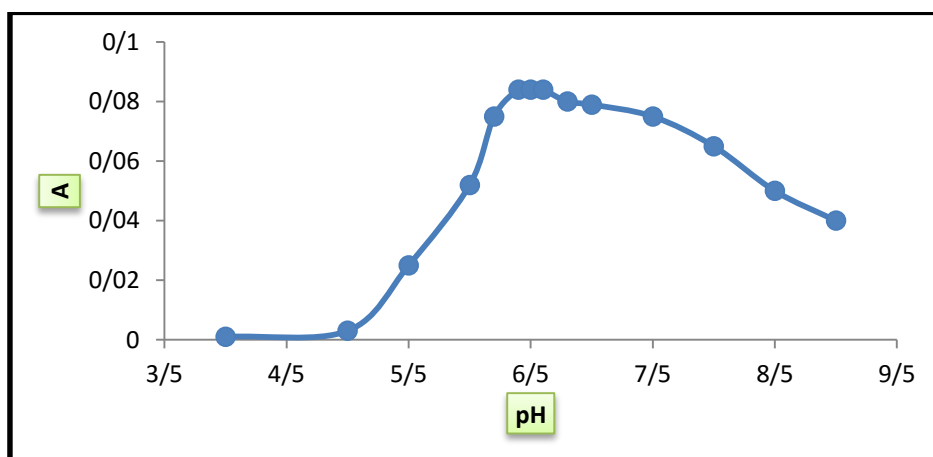
داده شد. (در این مرحله پیوند کمپلکس کبالت (II) با PVC-TADAP شکسته می‌شود). خروجی ستون که شامل کبالت بازداري شده در ستون است، وارد مه‌پاش دستگاه جذب اتمی گردید و جذب نمونه در طول موج ۲۴۰/۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. جذب محلول شاهد نیز همانند نمونه اندازه‌گیری شد با این تفاوت که به آن کبالت افزوده نشد. اختلاف جذب نمونه و شاهد به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در نظر گرفته شد. سیگنال‌های تجزیه‌ای برای محلول‌های نمونه با pHهای مختلف اندازه‌گیری و ثبت شدند. سیگنال‌های جذب حاصله در جدول (۳-۳) گزارش شده و نمودار حاصل از تغییرات جذب با pH در شکل (۳-۷) نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش pH از $pH=4/0$ تا $pH=6/4$ سیگنال تجزیه‌ای افزایش می‌یابد و در pHهای بین ۶/۴ تا ۶/۶ سیگنال تجزیه‌ای ثابت بوده و بیشترین مقدار را دارد. در pHهای بیشتر از ۶/۶ سیگنال کاهش می‌یابد. علت کوچک بودن سیگنال در pHهای نسبتاً اسیدی را می‌توان به پروتونه شدن لیگاند و کاهش امکان تشکیل کمپلکس بین لیگاند بر روی بستر پلی‌وینیل کلرید با کبالت (II) مربوط دانست. در pHهای بازی احتمالاً به علت برهم‌کنش بین کبالت (II) و آنیونهای بافرها و یا هیدروکسید، سیگنال تجزیه‌ای کاهش می‌یابد. بنابراین $pH=6/5$ به عنوان بهینه برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

لازم بذکر است در pHهای زیر ۶/۰ و بالای ۸/۵ به دلیل ناچیز بودن درصدبازایی نتیجه‌ای گزارش

نگردید.

جدول (۳-۳) - نتایج حاصل از بررسی اثر pH نمونه

درصد بازیابی	جذب کبالت	pH
—	۰/۰۰۱	۴/۰
—	۰/۰۰۳	۵/۰
—	۰/۰۲۵	۵/۵
۳۶	۰/۰۵۲	۶/۰
۶۰	۰/۰۷۵	۶/۲
۷۰	۰/۰۸۴	۶/۴
۷۰	۰/۰۸۴	۶/۵
۷۰	۰/۰۸۴	۶/۶
۶۶	۰/۰۸۰	۶/۸
۶۴	۰/۰۷۹	۷/۰
۶۰	۰/۰۷۵	۷/۵
۵۰	۰/۰۶۵	۸/۰
۳۴	۰/۰۵۰	۸/۵
—	۰/۰۴۰	۹/۰



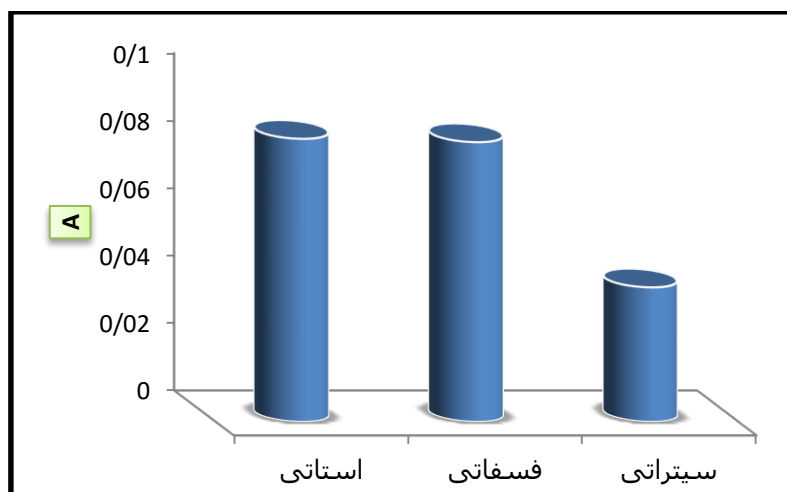
شکل (۳-۷) - اثر pH محیط بر میزان جذب کبالت. شرایط: حجم محلول پیش تغلیظ ۱۰/۰ میلی‌لیتر، غلظت کبالت ۰/۰۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، حجم بافر مورد نظر ۲/۰ میلی‌لیتر در بالن حجمی ۵۰ میلی‌لیتری، سرعت جریان نمونه ۳/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه، سرعت جریان هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار (به عنوان شوینده) ۳/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه، طول ستون ۵/۵ سانتی‌متر، زمان شویش ۶۰ ثانیه

۳-۶-۲- بررسی نوع بافر

پس از بررسی pH محلول، برای دستیابی به حساسیت بیشتر، اثر نوع بافر مورد بررسی قرار گرفت. در اینجا از بافرهای استاتی، فسفاتی و سیتراتی استفاده شد. روش کار به این صورت بود که: ابتدا حجم‌های ۵۰ میلی‌لیتری از محلول نمونه‌ی حاوی ۰/۰۵۰ میلی‌گرم بر لیتر کبالت (II) و ۲/۰ میلی‌لیتر بافر pH= ۶/۵ از بافرهای مختلف تهیه گردید. سپس محلول‌ها با سرعت جریان ۳/۳۰ میلی‌لیتر بر دقیقه از ستون ۵/۵ سانتی‌متری عبور داده شدند. پس از گذشت ۱۸۰ ثانیه زمان پیش‌تغلیظ و عبور آب دوبار تقطیر به مدت ۱ دقیقه، با چرخش شیر انتخاب، هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار با سرعت ۳/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه از ستون عبور داده شد و خروجی ستون وارد مه پاش دستگاه جذب اتمی گردید و جذب هریک از محلول‌های نمونه ثبت شد. جذب محلول شاهد مثل نمونه اندازه‌گیری شد با این تفاوت که به آن کبالت (II) افزوده نشد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۴) و شکل (۳-۸) نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که بافر سیتراتی سیگنال جذب کمتری نسبت به بافر فسفاتی دارد و سیگنال مربوط به بافر استاتی برابر با بافر فسفاتی است. در مورد بافر سیترات می‌توان علت کوچک‌تر بودن سیگنال تجزیه‌ای را ناشی از احتمال تشکیل کمپلکس بین سیترات و کبالت (II) دانست [۵۷]. همچنین به علت کم بودن ظرفیت بافر استات در این pH از این بافر استفاده نشد. لذا از بافر فسفاتی pH= ۶/۵ برای بررسی‌های بعدی استفاده شد.

جدول (۳-۴) - نتایج حاصل از بررسی نوع بافر

نوع بافر	جذب	درصد بازیابی
استاتی	۰/۰۸۴	۷۰
فسفاتی	۰/۰۸۴	۷۰
سیتراتی	۰/۰۴۰	۲۴



شکل (۳-۸)- اثر نوع بافر. شرایط: حجم محلول پیش‌تغلیظ ۱۰/۰ میلی‌لیتر، غلظت کبالت ۰/۰۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، ۲/۰ میلی‌لیتر بافر مورد نظر با $pH = 6.5$ در بالن حجمی ۵۰ میلی‌لیتری، سرعت جریان نمونه ۳/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه، سرعت جریان هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار (به عنوان شوینده) ۳/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه، طول ستون ۵/۵ سانتی‌متر، زمان شویش ۶۰ ثانیه

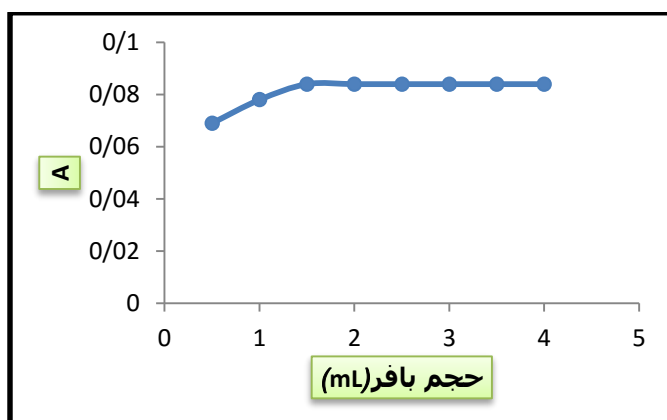
۳-۶-۳- بررسی و بهینه‌سازی حجم بافر

اثر حجم (غلظت) بافر در محدوده‌ی ۰/۵۰ تا ۴/۰ میلی‌لیتر بر سیگنال تجزیه‌ای بررسی شد. ابتدا به یک بالن حجمی ۵۰ میلی‌لیتری، ۵/۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۵۰ میلی‌گرم بر لیتر کبالت (II) منتقل شد. سپس حجم‌های مختلف (۰/۵۰ تا ۴/۰ میلی‌لیتر) از بافر فسفاتی $pH = 6.5$ به آن افزوده شد و تا خط نشانه با آب دوبار تقطیر به حجم رسانده و یکنواخت گردید. ۱۰/۰ میلی‌لیتر از هریک از محلول‌های تهیه شده با سرعت جریان ۳/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه از ستون ۵/۵ سانتی‌متری عبور داده شد. پس از گذشت ۱۸۰ ثانیه زمان پیش‌تغلیظ و سپس شستشوی ستون با آب دوبار تقطیر، با چرخش شیر انتخاب، هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار با سرعت ۳/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه از ستون عبور داده شد و خروجی ستون وارد مه‌پاش دستگاه جذب اتمی شعله شد و جذب هریک از محلول‌ها ثبت شد. جذب محلول شاهد هم همانند نمونه اندازه‌گیری شد با این تفاوت که به آن کبالت (II) افزوده نشد. نتایج و نمودار حاصل از این بررسی در جدول (۳-۵) و شکل (۳-۹) نشان داده شده است.

همان طور که مشاهده می شود با افزایش حجم بافر از ۰/۵۰ تا ۱/۵ میلی لیتر، سیگنال تجزیه ای افزایش می یابد و به بیشترین مقدار می رسد و در حجم های بیشتر ثابت باقی می ماند. حجم ۲/۰ میلی لیتر بافر در بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری به عنوان مقدار بهینه انتخاب گردید تا برای بافری نمودن نمونه ها، ظرفیت کافی داشته باشد و همچنین حداقل مقدار واکنشگر مصرف گردد تا هزینه آنالیز کاهش یابد.

جدول (۳-۵) - نتایج حاصل از بررسی حجم بافر فسفاتی با $\text{pH} = ۶/۵$

درصد بازیابی	جذب	حجم بافر (میلی لیتر)
۵۴	۰/۰۶۹	۰/۵۰
۶۳	۰/۰۷۸	۱/۰
۷۰	۰/۰۸۴	۱/۵
۷۰	۰/۰۸۴	۲/۰
۷۰	۰/۰۸۴	۲/۵
۷۰	۰/۰۸۴	۳/۰
۷۰	۰/۰۸۴	۳/۵
۷۰	۰/۰۸۴	۴/۰



شکل (۳-۹) - اثر حجم بافر بر جذب. شرایط: حجم محلول پیش تغلیظ ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت کبالت ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر، سرعت جریان نمونه ۳/۳ میلی لیتر بر دقیقه، سرعت جریان هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار (به عنوان شوینده) ۳/۳ میلی لیتر بر دقیقه، طول ستون ۵/۵ سانتی متر. زمان شویش ۶۰ ثانیه

۳-۶-۴- بررسی و بهینه سازی نوع شوینده

یک شوینده مناسب برای بهبود عملکرد سیستم پیش تغلیظ بر- خط کوپل شده با اسپکترومتری جذب اتمی شعله‌ای باید خصوصیات زیر را داشته باشد: ۱- توانایی آن در شویش کامل آنالیت بازداری شده در ستون ۲- گزینش در شویش آنالیت مورد نظر و ۳- سازگاری شوینده با تکنیک تجزیه‌ای به کار گرفته شده در اندازه‌گیری آنالیت پیش تغلیظ شده. علاوه بر این، شوینده مناسب باید بتواند با حداقل حجم، توانایی شویش کامل آنالیت جذب شده در ستون را دارا باشد تا فاکتور پیش تغلیظ بزرگتری حاصل شود. در این روش از شوینده‌های اسیدی استفاده گردید تا پروتون‌های آن با زوج الکترون‌های غیر پیوندی لیگاند بر هم کنش داده، پیوند لیگاند و فلز شکسته شود و فلز از ستون خارج شود. در بررسی نوع شوینده، محلول‌های هیدروکلریک اسید ۱/۰ نرمال، نیتریک اسید ۱/۰ نرمال و سولفوریک اسید ۱/۰ نرمال را تهیه کرده و از هریک از آنها به صورت جداگانه برای مرحله‌ی شویش کبالت بازداری شده (در ستون در مرحله پیش تغلیظ) استفاده شد. این بررسی به این صورت انجام شد که ۱۰/۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۵۰ میلی‌گرم بر لیتر کبالت در شرایط $\text{pH} = 6/5$ (۲/۰ میلی‌لیتر بافر در بالن حجمی ۵۰ میلی‌لیتری) و سرعت جریان ۳/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه آنالیت در ستون ۵/۵ سانتی‌متری پیش تغلیظ شد. پس از گذشت زمان پیش تغلیظ (۱۸۰ ثانیه) و شستن ستون با آب دوبار تقطیر، شیر انتخاب در موقعیتی قرار گرفت که امکان عبور شوینده از ستون فراهم شود. در این حالت خروجی ستون حاصل از شویش به وسیله هریک از محلول‌های شوینده در سرعت جریان ۳/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه وارد مه‌پاش دستگاه جذب اتمی شده و سیگنال‌های حاصل ثبت شدند. جذب محلول‌های شاهد هم همانند نمونه اندازه‌گیری شد با این تفاوت که به آنها کبالت (II) افزوده نشد. نتایج حاصل در جدول (۳-۶) نشان می‌دهد که قدرت شوینده‌های مختلف با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند. با توجه به اینکه احتمال مزاحمت سولفات با برخی کاتیون‌ها بیشتر از یون کلرید است و با در نظر گرفتن اینکه خوردگی و اکسیدکنندگی نیتریک اسید بیشتر از HCl است، لذا هیدروکلریک اسید به عنوان شوینده مناسب انتخاب گردید.

جدول (۳-۶) - نتایج حاصل از بررسی نوع شوینده

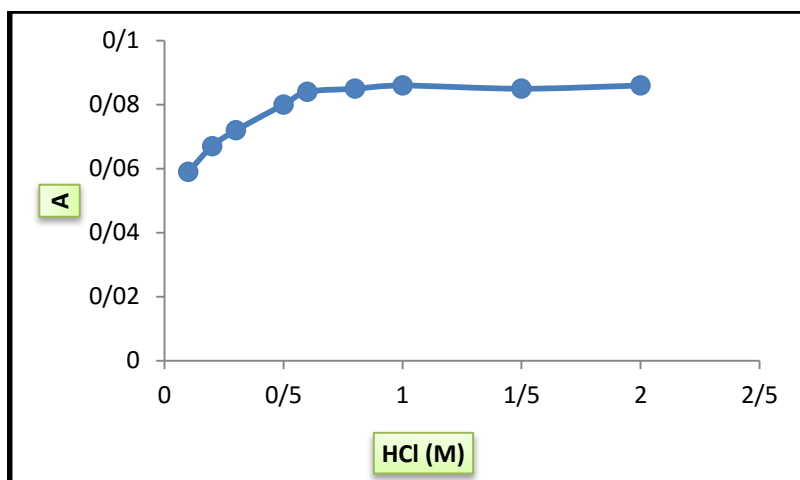
نوع شوینده	جذب کبالت	درصد بازیابی
HCl (1N)	۰/۰۸۵	۷۰
HNO ₃ (1N)	۰/۰۸۴	۷۰
H ₂ SO ₄ (1N)	۰/۰۸۶	۷۰

۳-۶-۵- بررسی و بهینه سازی غلظت شوینده

اثر غلظت شوینده‌ی هیدروکلریک اسید بر حساسیت روش در محدوده‌ی غلظتی ۰/۱۰ تا ۲/۰ مولار هیدروکلریک اسید مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی ۱۰/۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۵۰ میلی‌گرم بر لیتر کبالت در محیط بافر فسفاتی با $\text{pH}=6/5$ (۲/۰ میلی‌لیتر بافر در بالن حجمی ۵۰) در ستون ۵/۵ سانتی‌متری و سرعت جریان ۳/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه در مدت زمان ۱۸۰ ثانیه پیش‌تغلیظ شد. پس از شستن ستون با آب دوبار تقطیر، با قرار دادن شیر انتخاب در موقعیت عبور شوینده، کبالت بازداری شده به وسیله‌ی محلول‌های هیدروکلریک اسید با غلظت‌های مختلف و با سرعت جریان ۳/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه از شوینده شسته شده و وارد مه‌پاش دستگاه جذب اتمی شد و جذب حاصل از شویش توسط هریک از محلول‌ها اندازه‌گیری و ثبت شد. همچنین درصد بازیابی برای غلظت‌های متفاوت از شوینده به صورت تجربی مطابق با روش ذکر شده در بخش (۳-۱۲) محاسبه گردید. برای محلول شاهد هم به همین ترتیب محاسبات انجام شد. نتایج در جدول (۳-۷) و شکل (۳-۱۰) آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، درصد بازیابی و در نتیجه سیگنال تجزیه‌ای کبالت تا غلظت ۰/۶۰ مولار هیدروکلریک اسید افزایش یافته و پس از آن تقریباً ثابت می‌شود. غلظت ۱/۰ مولار این اسید به عنوان شوینده انتخاب گردید تا از شویش کامل آنالیت بازداری شده در ستون اطمینان حاصل شود. غلظت‌های بالاتر شوینده به علت اثرات تخریبی آن بر دستگاه جذب اتمی مورد استفاده قرار نگرفت.

جدول (۷-۳) - نتایج حاصل از بررسی غلظت شوینده

غلظت شوینده (مول بر لیتر)	جذب کبالت	درصد بازیابی
۰/۱۰	۰/۰۵۹	۴۳
۰/۲۰	۰/۰۶۷	۵۲
۰/۳۰	۰/۰۷۲	۵۷
۰/۵۰	۰/۰۸۰	۶۶
۰/۶۰	۰/۰۸۴	۷۰
۰/۸۰	۰/۰۸۵	۷۱
۱/۰	۰/۰۸۶	۷۱
۱/۵	۰/۰۸۵	۷۱
۲/۰	۰/۰۸۶	۷۱



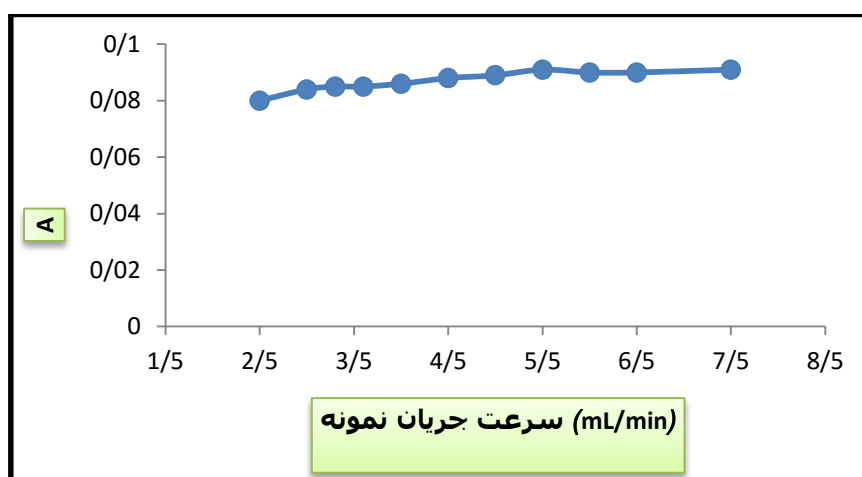
شکل (۳-۱۰) - اثر غلظت شوینده. شرایط: حجم محلول پیش تغلیظ ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت کبالت ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر، ۲/۰ میلی لیتر بافر $\text{pH} = 6/5$ در بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری، سرعت جریان نمونه ۳/۳ میلی لیتر بر دقیقه، سرعت جریان هیدروکلریک اسید در غلظت‌های متفاوت (به عنوان شوینده) ۳/۳ میلی لیتر بر دقیقه، طول ستون ۵/۵ سانتی‌متر و زمان شویش ۶۰ ثانیه.

۳-۶-۶- بررسی و بهینه سازی سرعت جریان نمونه

بهینه‌سازی سرعت جریان نمونه به منظور کسب اطمینان از بازداري مقدار بیشتر آنالیت بر روی فاز جامد صورت می‌گیرد. مقدار بهینه این پارامتر باید به گونه‌ای انتخاب شود که حداقل زمان مورد نیاز برای این میزان بازداري در حجم مورد نظر تعیین شود و دستیابی به فرکانس نمونه‌برداری بیشتر امکان‌پذیر گردد. لذا به این منظور در حالیکه همه شرایط بهینه‌ی قبلی ثابت نگه داشته شد، سرعت جریان نمونه در محدوده‌ی ۲/۰ تا ۷/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه، برای غلظت ۰/۰۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و در حجم پیش‌تغلیظ ۱۰/۰ میلی‌لیتر، تغییر داده شد و اثر آن بر حساسیت روش مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، با توجه به سرعت جریان در نظر گرفته شده برای عبور نمونه، مدت زمان لازم برای پیش‌تغلیظ حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر از نمونه محاسبه گردید. پس از گذشت زمان محاسبه شده برای عبور ۱۰/۰ میلی‌لیتر از نمونه و شستشوی ستون با آب دوبار تقطیر به مدت ۶۰ ثانیه، شیر انتخاب در موقعیت عبور شوینده هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار، با سرعت جریان ثابت ۳/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه قرار گرفت و خروجی ستون وارد مه‌پاش دستگاه جذب اتمی شد. سیگنال‌های حاصل از نمونه و شاهد اندازه‌گیری و ثبت شد که نتایج حاصل در جدول (۳-۸) و شکل (۳-۱۱) نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش سرعت جریان تا ۵/۰ میلی‌لیتر بر دقیقه سیگنال تجزیه‌ای افزایش یافته و بعد از آن ثابت باقی می‌ماند و در سرعت جریان‌های بیشتر از ۵/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه، تکرارپذیری سیگنال کم می‌شود. برای اینکه زمان آنالیز تا حد امکان کوتاه شود و دقت اندازه‌گیری‌ها مناسب باشد سرعت جریان ۵/۰ میلی‌لیتر بر دقیقه به عنوان سرعت جریان بهینه انتخاب شد.

جدول (۳-۸) - نتایج حاصل از بررسی سرعت جریان نمونه

سرعت جریان نمونه (میلی لیتر بر دقیقه)	جذب کبالت	%RSD n=۴	درصد بازیابی
۲/۵	۰/۰۸۰	۱/۸۰	۶۶
۳/۰	۰/۰۸۴	۱/۷۰	۷۰
۳/۳	۰/۰۸۵	۱/۵۹	۷۱
۳/۶	۰/۰۸۵	۱/۶۵	۷۱
۴/۰	۰/۰۸۶	۱/۶۰	۷۲
۴/۵	۰/۰۸۸	۱/۸۱	۷۴
۵/۰	۰/۰۸۹	۲/۳۰	۷۶
۵/۵	۰/۰۹۱	۲/۵۵	۷۷
۶/۰	۰/۰۹۰	۶/۵۰	۷۶
۶/۵	۰/۰۹۰	۶/۳۰	۷۶
۷/۵	۰/۰۹۱	۵/۹۱	۷۷



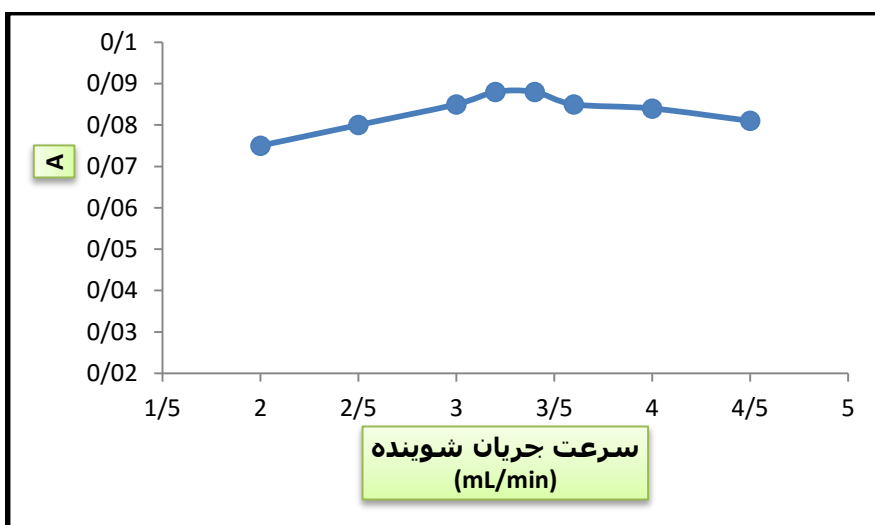
شکل (۳-۱۱) - اثر سرعت جریان نمونه در حجم پیش تغلیظ ثابت بر میزان جذب. شرایط: حجم محلول پیش تغلیظ ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت کبالت ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر، ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی pH=۶/۵ در بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری، سرعت جریان هیدروکلریک اسید (به عنوان شوینده) ۳/۳ میلی لیتر بر دقیقه، طول ستون ۵/۵ سانتی متر، و زمان شویش ۶۰ ثانیه.

۳-۶-۷- بررسی و بهینه‌سازی سرعت جریان شوینده

در سیستم پیش‌تغلیظ به کار گرفته شده، سرعت جریان شوینده باید به اندازه‌ی کافی بالا باشد تا از شویش اضافی ستون جلوگیری شود و از طرفی سرعت باید به اندازه‌ی کافی پایین باشد تا از شویش کامل آنالیت بازاری شده در سطح جاذب اطمینان حاصل شود. در بررسی این پارامتر، سرعت جریان نمونه در مقدار بهینه ۵/۰ میلی‌لیتر بر دقیقه تنظیم شد و سرعت جریان شوینده در محدوده ۲/۰ تا ۴/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه تغییر داده شد. روش کار مشابه بهینه‌سازی سرعت جریان نمونه بود با این تفاوت که سرعت جریان نمونه ۵/۰ میلی‌لیتر بر دقیقه بود ولی سرعت جریان شوینده بطور مستقل تغییر داده شد. این مطالعه در غلظت ۰/۰۵۰ میلی‌گرم بر لیتر آنالیت و در بافر فسفاتی با $\text{pH} = ۶/۵$ بررسی صورت گرفت. نتایج حاصل در جدول (۳-۹) و شکل (۳-۱۲) نشان داده شده است. باتوجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت که در سرعت جریان‌های کمتر از ۳/۰ میلی‌لیتر بر دقیقه، به دلیل عدم تطابق سرعت جریان شوینده با سرعت مکش مه‌پاش دستگاه جذب اتمی، میزان ورود نمونه به داخل مه‌پاش کم بوده و در نتیجه سیگنال تجزیه‌ای کم است. کاهش سیگنال در سرعت جریان‌های بالاتر از ۴/۰ میلی‌لیتر بر دقیقه، به دلیل کافی نبودن زمان برای شویش کامل کبالت جذب شده در سطح جاذب است. بنابراین سرعت جریان ۳/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه از شوینده که هم در آن شویش کامل است و هم به سرعت مکش مه‌پاش دستگاه نزدیک است، به عنوان سرعت جریان بهینه انتخاب شد.

جدول (۳-۹) - نتایج حاصل از بررسی اثر سرعت جریان شوینده

درصد بازیابی	جذب (0.050 mg/l)	سرعت جریان شوینده (میلی لیتر بر دقیقه)
۶۰	۰/۰۷۵	۲/۰
۶۶	۰/۰۸۰	۲/۵
۷۱	۰/۰۸۵	۳/۰
۷۶	۰/۰۸۸	۳/۳
۷۶	۰/۰۸۹	۳/۴
۷۱	۰/۰۸۵	۳/۶
۷۰	۰/۰۸۴	۴/۰
۶۷	۰/۰۸۱	۴/۵



شکل (۳-۱۲) - اثر سرعت جریان شوینده در حجم پیش تغلیظ ثابت بر میزان جذب. شرایط: حجم محلول پیش تغلیظ ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت کبالت ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر، ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی pH=۶/۵ در بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری، سرعت جریان نمونه ۵/۰ میلی لیتر بر دقیقه، طول ستون ۵/۵ سانتی متر، و زمان شویش ۶۰ ثانیه

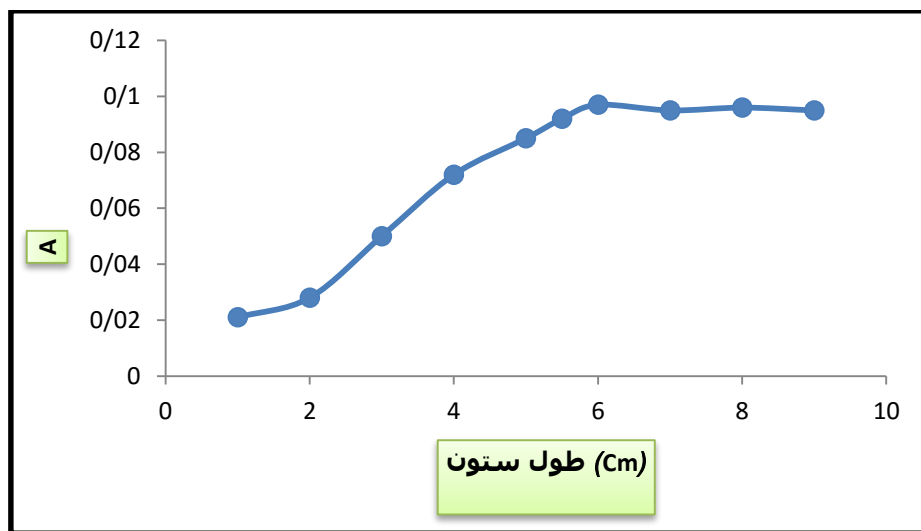
۳-۶-۸- بررسی و بهینه سازی طول ستون (مقدار ماده پرکننده ستون)

یکی دیگر از عواملی که بر سیگنال تجزیه‌ای موثر است، طول ستون یا مقدار ماده پرکننده (جاذب) ستون است. برای بهینه سازی طول ستون، ستون‌هایی در محدوده طولی ۱/۰ تا ۹/۰ سانتی‌متری که شامل مقادیر مختلف جاذب بودند تهیه شدند و در شرایط بهینه بدست آمده، اثر مقدار جاذب (طول ستون) بر سیگنال تجزیه‌ای به صورت زیر بررسی شد:

حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر از محلول ۰/۰۵۰ میلی‌گرم بر لیتر کبالت، بافری شده در محیط فسفاتی با $\text{pH} = 6.5$ با سرعت جریان ۵/۰ میلی‌لیتر بر دقیقه از هریک از ستون‌های تهیه شده عبور داده شد. پس از گذشت زمان پیش‌تغلیظ (۱۲۰ ثانیه)، ستون به مدت یک دقیقه با آب دوبار تقطیر شسته شد. سپس با چرخش شیر انتخاب محلول هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار با سرعت جریان ۳/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه از ستون عبور داده شد و خروجی ستون وارد مه‌پاش دستگاه جذب اتمی شعله‌ای گردید. جذب محلول شسته شده اندازه‌گیری و ثبت شد. جذب محلول شاهد هم همانند محلول نمونه اندازه‌گیری شد با این تفاوت که به آن کبالت (II) اضافه نشد. نتایج حاصل در جدول (۳-۱۰) و شکل (۳-۱۳) نشان می‌دهد که با افزایش مقدار جاذب (طول ستون) تا طول ستون ۶/۰ سانتی‌متر سیگنال تجزیه‌ای افزایش می‌یابد و در ستون‌های با طول بیشتر از ۶/۰ سانتی‌متر سیگنال تجزیه‌ای تقریباً ثابت است. افزایش سیگنال را می‌توان به دلیل افزایش عوامل کی‌لیت‌دهنده و ثابت شدن آن را به دلیل افزایش میزان پخش نمونه در طول‌های بیشتر ستون نسبت داد. با توجه به اینکه هرچه مقدار جاذب بیشتر باشد، ظرفیت بازداري آنالیت بیشتر شده و حد بالای منحنی کالیبراسیون نیز بیشتر می‌شود، همچنین برای جلوگیری از فشار برگشتی، ستون ۸/۰ سانتی‌متری با ۲۶۵/۰ میلی‌گرم از جاذب به عنوان طول ستون بهینه انتخاب شد.

جدول (۳-۱۰) - نتایج حاصل از بررسی طول ستون

وزن جاذب (میلی گرم)	طول ستون (سانتی متر)	جذب (۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر)	درصد بازیابی
۳۳	۱/۰	۰/۰۲۱	-
۶۸	۲/۰	۰/۰۲۸	-
۹۹	۳/۰	۰/۰۵۰	۳۴
۱۳۱	۴/۰	۰/۰۷۲	۵۷
۱۶۵	۵/۰	۰/۰۸۵	۷۱
۱۸۲	۵/۵	۰/۰۹۱	۷۶
۱۹۹	۶/۰	۰/۰۹۵	۸۵
۲۳۱	۷/۰	۰/۰۹۵	۸۶
۲۶۵	۸/۰	۰/۰۹۶	۸۸
۲۹۶	۹/۰	۰/۰۹۵	۸۶



شکل (۳-۱۳) - اثر طول ستون بر میزان جذب. شرایط: حجم محلول پیش تغلیظ ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت کبالت ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر، ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفات $\text{pH} = 6/5$ در بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری، سرعت جریان نمونه ۵/۰ میلی لیتر بر دقیقه، سرعت جریان هیدروکلریک اسید (به عنوان شوینده) ۳/۳ میلی لیتر بر دقیقه، زمان پیش تغلیظ ۱۲۰ ثانیه و زمان شویش ۶۰ ثانیه.

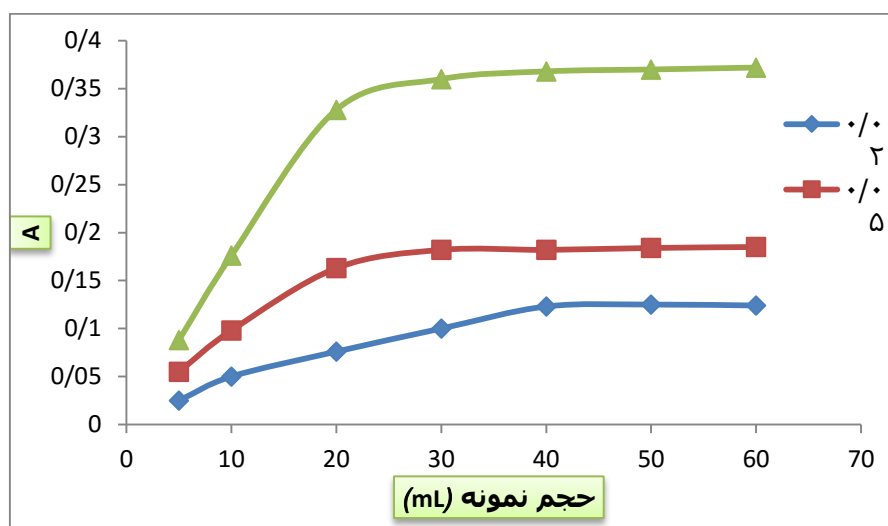
۳-۶-۹- بررسی و بهینه سازی حجم پیش تغلیظ

اثر حجم نمونه پیش تغلیظ شده در سرعت جریان ۵/۰ میلی لیتر بر دقیقه نمونه بر روی حساسیت روش در دامنه‌ی حجمی ۵/۰ تا ۶۰/۰ میلی لیتر بررسی شد. در این بررسی حجم‌های مختلفی از محلول‌های ۰/۲۰ و ۰/۵۰ و ۰/۱۰ میلی گرم بر لیتر از کبالت در محیط بافر فسفاتی با $\text{pH}=6/5$ (۲/۰ میلی لیتر بافر در بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری) با سرعت ۵/۰ میلی لیتر بر دقیقه از ستون ۸/۰ سانتی متری عبور داده شد. پس از گذشت زمان لازم برای عبور حجم در نظر گرفته شده و شستشوی ستون با آب دوبار تقطیر، با تغییر موقعیت شیر انتخاب، محلول هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار از ستون عبور داده شد. خروجی ستون در این حالت وارد مه پاش دستگاه جذب اتمی شعله‌ای شد و جذب در طول موج ۲۴۰/۷ نانومتر اندازه‌گیری و ثبت شد. جذب محلول شاهد همانند نمونه اندازه‌گیری شد با این تفاوت که به آن کبالت (II) اضافه نشد. اختلاف جذب نمونه و شاهد برای هر سه غلظت مذکور محاسبه شد. نتایج و نمودار حاصل از این بررسی به ترتیب در جدول (۳-۱۱) و شکل (۳-۱۴) گزارش شده است. در غلظت ۰/۱۰ میلی گرم بر لیتر کبالت (II) با افزایش حجم پیش تغلیظ از ۵/۰ تا ۳۰/۰ میلی لیتر سیگنال تجزیه‌ای افزایش یافته و در حجم‌های بیشتر سیگنال تجزیه‌ای تقریباً ثابت باقی می‌ماند. در غلظت ۰/۰۵ میلی گرم بر لیتر نیز با افزایش حجم پیش تغلیظ از ۵/۰ تا ۳۰/۰ میلی لیتر سیگنال تجزیه‌ای افزایش می‌یابد و در حجم‌های بیشتر تقریباً ثابت می‌شود. در غلظت ۰/۰۲ میلی گرم بر لیتر نتایج نشان می‌دهد که با افزایش حجم پیش تغلیظ تا حجم ۴۰/۰ میلی لیتر، میزان انتقال جرم آنالیت از فاز مایع به فاز جامد افزایش یافته و مطابق با آن سیگنال تجزیه‌ای نیز افزایش یافته و بعد از آن سیگنال تجزیه‌ای ثابت باقی می‌ماند. بنابراین در صورت نیاز می‌توان حجم‌های بیشتر از ۱۰/۰ میلی لیتر نمونه را پیش تغلیظ نمود. در بررسی‌های بعدی برای کاهش زمان پیش تغلیظ و افزایش دفعات نمونه‌گذاری، حجم ۱۰/۰ میلی لیتر (زمان پیش تغلیظ ۱۲۰ ثانیه) برای پیش تغلیظ

استفاده شد. در مواردی که نیاز به حد تشخیص خیلی پایین باشد می‌توان از حجم‌های پیش‌تغلیظ بالاتر استفاده کرد.

جدول (۱۱-۳) - نتایج حاصل از بررسی حجم نمونه پیش‌تغلیظ

حجم (میلی لیتر)	جذب محلول ۰/۰۲۰) میلی گرم بر لیتر)	درصد بازیابی محلول ۰/۰۲۰ میلی گرم بر لیتر	جذب محلول ۰/۰۵۰) میلی گرم بر لیتر)	درصد بازیابی محلول ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر	جذب محلول ۰/۱۰) میلی گرم بر لیتر)	درصد بازیابی محلول ۰/۱۰ میلی گرم بر لیتر
۵/۰	۰/۰۲۵	۴۰	۰/۰۵۵	۷۹	۰/۰۸۸	۷۴
۱۰/۰	۰/۰۵۰	۸۷	۰/۰۹۸	۸۸	۰/۱۷۶	۸۶
۲۰/۰	۰/۰۷۶	۷۷	۰/۱۶۳	۷۶	۰/۳۲۸	۸۱
۳۰/۰	۰/۱۰۰	۷۲	۰/۱۸۲	۵۷	۰/۳۶۰	۶۰
۴۰/۰	۰/۱۲۳	۶۹	۰/۱۸۲	۵۷	۰/۳۶۸	۴۶
۵۰/۰	۰/۱۲۵	۵۶	۰/۱۸۴	۴۳	۰/۳۷۰	۳۷
۶۰/۰	۰/۱۲۴	۴۶	۰/۱۸۵	۴۴	۰/۳۷۲	۳۱



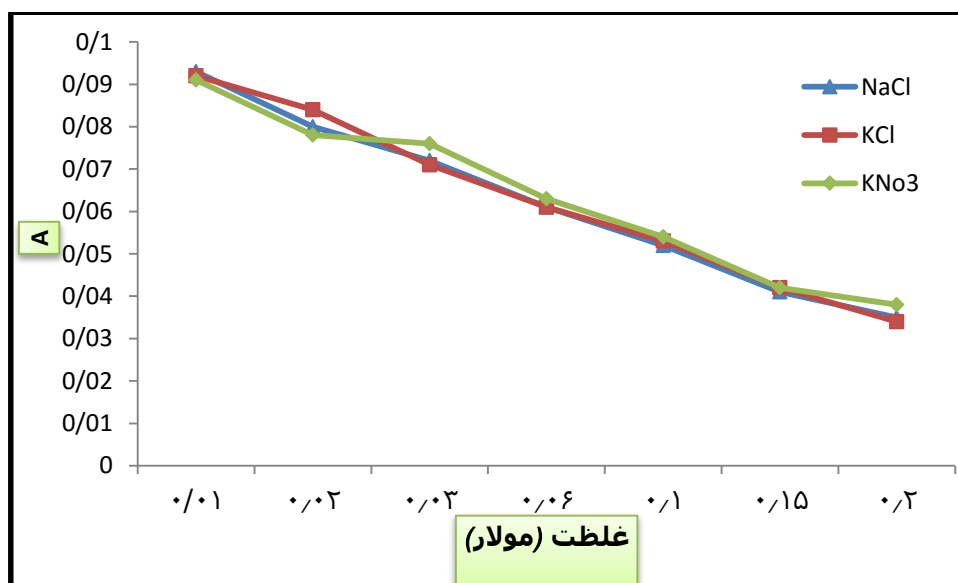
شکل (۱۴-۳) - تغییرات جذب با تغییر در حجم نمونه پیش‌تغلیظ شده. شرایط: غلظت کبالت ۰/۰۲۰ و ۰/۰۵۰ و ۰/۱۰ میلی گرم بر لیتر، ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی pH=۶/۵ در بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری، سرعت جریان نمونه ۵/۰ میلی لیتر بر دقیقه، سرعت جریان هیدروکلریک اسید (به عنوان شوینده) ۳/۳ میلی لیتر بر دقیقه، طول ستون ۸/۰ سانتی متر و زمان شویش ۶۰ ثانیه

۳-۶-۱۰- بررسی قدرت یونی (اثر نمک)

اثر قدرت یونی بر سیگنال تجزیه‌ای در ناحیه‌ی غلظت ۰/۰۰ تا ۰/۲۰ مولار سدیم کلرید، پتاسیم کلرید و پتاسیم نیترات مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی برای تهیه‌ی محیط‌هایی با قدرت یونی مختلف از محلول نمک‌های مذکور با غلظت ۲/۰ مولار استفاده شد. محلول‌های کبالت با غلظت ۰/۰۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بافری شده به وسیله بافر فسفاتی در $\text{pH}=6/5$ که قدرت یونی آنها بوسیله‌ی این نمک‌ها در محدوده‌ی غلظتی ۰/۲۰ - ۰/۰۱۰ مولار تنظیم شده بود تهیه شد. سپس ۱۰/۰ میلی‌لیتر از هریک از محلول‌ها در سرعت جریان ۵/۰ میلی‌لیتر بر دقیقه نمونه، با عبور از ستون ۸/۰ سانتی‌متری پیش‌تغلیظ شد. پس از شستشوی ستون با آب دوبار تقطیر، با تغییر موقعیت شیر انتخاب، محلول هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار با سرعت جریان ۳/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه از ستون عبور داده شد و خروجی ستون شامل شوینده و کبالت بازدارنده، وارد مه‌پاش دستگاه جذب اتمی شعله‌ای شد و سیگنال جذب حاصل از آنها اندازه‌گیری و ثبت گردید. جذب محلول شاهد همانند نمونه اندازه‌گیری شد با این تفاوت که به آن کبالت (II) و نمک‌های مذکور افزوده نشد. سیگنال‌های تجزیه‌ای در جدول (۳-۱۲) و شکل (۳-۱۵) گزارش شده است. این بررسی نشان می‌دهد که با افزایش غلظت نمک در دامنه غلظتی ۰/۲۰ - ۰/۰۰ مولار، سیگنال تجزیه‌ای کاهش می‌یابد که دلیل آن این است که حضور یون‌های حاصل از الکترولیت بی اثر (یون‌های K^+) میزان جذب سطحی کبالت (II) بر روی بستر را کاهش داده و در نتیجه میزان برهم کنش با فاز جامد کاهش یافته و میزان بازدارنده کاهش می‌یابد. برای حل این مشکل پیشنهاد می‌شود در بررسی‌های بعدی از روش افزایش استاندارد استفاده شود.

جدول (۳-۱۲) - بررسی اثر قدرت یونی

غلظت نمک (مولار)	جذب در حضور NaCl	درصد بازیابی در حضور NaCl	جذب در حضور KCl	درصد بازیابی در حضور KCl	جذب در حضور KNO3	درصد بازیابی در حضور KNO3
۰/۰۰	۰/۰۹۵	۸۸	۰/۰۹۴	۸۸	۰/۰۹۴	۸۸
۰/۰۱	۰/۰۹۳	۷۹	۰/۰۹۱	۷۷	۰/۰۹۲	۷۸
۰/۰۲	۰/۰۸۰	۶۶	۰/۰۸۴	۷۰	۰/۰۷۸	۶۳
۰/۰۳	۰/۰۷۲	۵۷	۰/۰۷۱	۵۶	۰/۰۷۶	۶۱
۰/۰۶	۰/۰۶۱	۴۶	۰/۰۶۱	۴۶	۰/۰۶۳	۴۸
۰/۱۰	۰/۰۵۲	۳۶	۰/۰۵۳	۳۷	۰/۰۵۴	۳۸
۰/۱۵	۰/۰۴۱	۲۵	۰/۰۴۲	۲۶	۰/۰۴۲	۲۶
۰/۲۰	۰/۰۳۵	۱۸	۰/۰۳۴	۱۷	۰/۰۳۸	۲۱



شکل (۳-۱۵) - اثر قدرت یونی بر حساسیت. شرایط: حجم محلول پیش تغلیظ ۱۰/۰ میلی لیتر، غلظت کبالت ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر، ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی pH=۶/۵ در بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری، سرعت جریان آنالیت ۵/۰ میلی لیتر بر دقیقه، سرعت جریان هیدروکلریک اسید (به عنوان شوینده) ۳/۳ میلی لیتر بر دقیقه، طول ستون ۸/۰ سانتی متر، و زمان شویش ۶۰ ثانیه.

۷-۳- شرایط بهینه

با توجه به نتایج به دست آمده در بررسی و بهینه سازی پارامترهای موثر بر عملکرد سیستم شرایط

بهینه‌ی زیر در رسم منحنی کالیبراسیون مورد استفاده قرار گرفت:

۱- ۲/۰ میلی‌لیتر بافر فسفاتی با $pH=6/5$ در بالن حجمی ۵۰ میلی‌لیتری

۲- هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار به عنوان شوینده

۳- سرعت جریان ۵/۰ میلی‌لیتر بر دقیقه برای نمونه و ۳/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه برای شوینده

۴- حجم پیش‌تغلیظ ۱۰/۰ میلی‌لیتر

۵- طول ستون ۸/۰ سانتی‌متری (حاوی ۲۶۵/۰ میلی‌گرم جاذب)

۸-۳- منحنی درجه بندی

بدست آوردن منحنی کالیبراسیون مهمترین مرحله در توسعه‌ی یک روش تجزیه‌ای می‌باشد. با استفاده از منحنی کالیبراسیون، می‌توان رابطه‌ی مناسب بین غلظت نمونه مورد آنالیز و سیگنال ثبت شده در آشکارساز را به دست آورد. ارزش و کارایی یک روش آنالیز با توجه به گستره‌ی دامنه‌ی خطی آن و حساسیت و تکرارپذیری نتایج آن قابل ارزیابی می‌باشد. این پارامترها با توجه به منحنی کالیبراسیون برای یک روش قابل استخراج می‌باشد. برای بدست آوردن منحنی کالیبراسیون این روش، غلظت‌های مختلفی از محلول کبات (II) در محدوده‌ی غلظتی ۰/۰۰۱۰ تا ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه شدند. سپس به صورت متوالی از غلظت‌های کم تا زیاد با استفاده از سیستم طراحی شده در شکل (۳-۴) و در شرایط بهینه‌ی غلظتی و دستگاهی، سیگنال تجزیه‌ای (اختلاف جذب نمونه و شاهد) برای ۱۰/۰ میلی‌لیتر از هر محلول ثبت گردید. به این ترتیب که ابتدا شیر شش راهه چرخشی در حالت پیش‌تغلیظ قرار گرفت و نمونه با سرعت جریان ۵/۰ میلی‌لیتر بر دقیقه از درون ستون عبور داده شد تا کبات موجود در نمونه بر روی ستون جذب شود. در مرحله بعد مسیر عبور نمونه بسته و

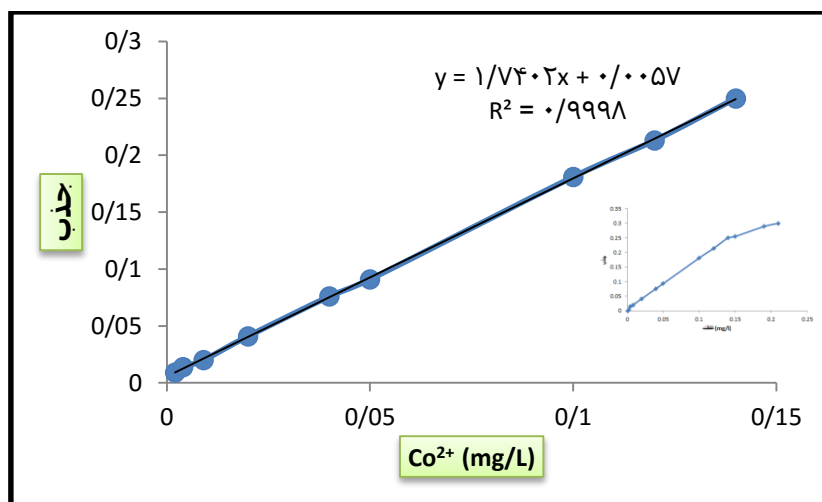
به مدت یک دقیقه آب مقطر عبور داده شد تا ناخالصی‌های احتمالی از درون ستون خارج شوند. همزمان خروجی ستون به دستگاه جذب اتمی متصل شد و پس از اتمام زمان یک دقیقه، مسیر عبور نمونه بسته و به مدت یک دقیقه هیدروکلریک اسید ۱۰/۰ مولار با سرعت جریان ۳/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه از داخل ستون عبور داده شد و کبالت بازداری شده وارد مه‌پاش جذب اتمی شد و سیگنال نمونه ثبت و سیگنال تجزیه‌ای (اختلاف جذب نمونه و شاهد) گزارش شد. برای هر غلظت سه اندازه‌گیری تکراری انجام شد. جدول (۳-۱۳) شدت میانگین سیگنال‌های تجزیه‌ای اندازه‌گیری شده توسط دستگاه جذب اتمی شعله‌ای برای غلظت‌های متفاوت را نشان می‌دهد. در شکل (۳-۱۶) نیز نمودار منحنی کالیبراسیون رسم شده است که نشان می‌دهد در گستره‌ی غلظتی ۰/۰۰۲۰ تا ۰/۱۵ میلی‌گرم بر لیتر کبالت، بین غلظت آنالیت و سیگنال تجزیه‌ای رابطه‌ی خطی وجود دارد. با پردازش داده‌ها به روش حداقل مربعات، معادله‌ی رگرسیون برای حجم پیش‌تغلیظ ۱۰/۰ میلی‌لیتر در محدوده غلظتی ۰/۱۵ - ۰/۰۰۲۰ میلی‌گرم بر لیتر کبالت به صورت زیر به دست آمد:

$$A = 1740 C_{Co(II)} + 0.005 \quad r^2 = 0.9998 \quad (n=8)$$

که در آن A جذب آنالیت (اختلاف جذب نمونه و شاهد) و $C_{Co(II)}$ غلظت کبالت بر حسب میلی‌گرم بر لیتر است. لازم بذکر است در تمام بررسی‌ها میانگین سیگنال شاهد ۰/۰۰۵ بوده است.

جدول (۳-۱۳) - نتایج حاصل از بررسی منحنی درجه بندی برای حجم پیش تغلیظ ۱۰/۰ میلی لیتر

جذب	غلظت کبالت (میلی گرم بر لیتر)
۰/۰۰۲	۰/۰۰۱۰
۰/۰۰۹	۰/۰۰۲۰
۰/۰۱۴	۰/۰۰۴۰
۰/۰۲۰	۰/۰۰۸۰
۰/۰۴۳	۰/۰۲۰۰
۰/۰۷۶	۰/۰۴۰۰
۰/۰۹۱	۰/۰۵۰۰
۰/۱۸۱	۰/۱۰۰۰
۰/۲۱۳	۰/۱۲۰۰
۰/۲۵۰	۰/۱۴۰۰
۰/۲۵۵	۰/۱۵۰۰
۰/۲۸۹	۰/۱۹۰۰
۰/۳۰۰	۰/۲۰۰۰



شکل (۳-۱۶) - منحنی کالیبراسیون. شرایط: حجم محلول پیش تغلیظ ۱۰/۰ میلی لیتر، ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی pH=۶/۵ در بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری، سرعت جریان نمونه ۵/۰ میلی لیتر بر دقیقه، سرعت جریان هیدروکلریک اسید (به عنوان شوینده) ۳/۳ میلی لیتر بر دقیقه، طول ستون ۸/۰ سانتی متر، و زمان شویش ۶۰ ثانیه

۳-۹- دقت و صحت روش

برای محاسبه‌ی درصد انحراف استاندارد نسبی (RSD) روش، محلول‌هایی با غلظت‌های متفاوت در دامنه‌ی خطی بدست آمده برای منحنی کالیبراسیون، تهیه شدند. حجم‌های ۱۰/۰ میلی‌لیتر از محلول‌های تهیه شده کبالت در غلظت مورد نظر از روی جاذب اصلاح شده در شرایط بهینه عبور داده شد و برای هر غلظت ۶ بار اندازه‌گیری تکراری انجام شد و سیگنال‌های آنالیت حاصل ثبت گردید. با استفاده از سیگنال‌های به دست آمده و با توجه به منحنی درجه بندی پیش‌تغلیظ، غلظت معادل هر سیگنال به دست آمد و سپس مقدار انحراف استاندارد نسبی برای هر غلظت طبق روابط (۳-۱) و (۳-۲) محاسبه گردید.

$$S = \sqrt{\frac{\sum (C_i - \bar{C})^2}{n-1}} \quad \text{رابطه (۳-۱)}$$

$$RSD = \frac{S}{\bar{C}} \times 100 \quad \text{رابطه (۳-۲)}$$

که در این روابط، S انحراف استاندارد غلظت، C_i غلظت اندازه‌گیری شده بر حسب میلی‌گرم بر لیتر، $\bar{C}$ میانگین غلظت بر حسب میلی‌گرم بر لیتر، n تعداد اندازه‌گیری‌ها و RSD انحراف استاندارد نسبی غلظت می‌باشد.

مقادیر انحراف استاندارد نسبی برای اندازه‌گیری‌های تکراری برای غلظت‌های مختلف کبالت با حجم پیش‌تغلیظ ۱۰/۰ میلی‌لیتر به دست آمده در جدول (۳-۱۶) نشان دهنده دقت خوب روش است. مقادیر درصد بازیابی نشان داده شده در جدول (۳-۱۶) بیانگر صحت روش است.

جدول (۳-۱۴) - بررسی دقت و صحت

مقدار کبالت موجود (میلی گرم بر لیتر)	مقدار کبالت اندازه گیری شده (میلی گرم بر لیتر)	RSD% n = 6	مقدار t محاسبه شده	درصد بازیابی
۰/۰۱۰	۰/۰۰۰۵ ± ۰/۰۰۹۵ *	۵/۲	۲/۴	۹۵
۰/۰۵۰	۰/۰۰۱۵ ± ۰/۰۰۴۹	۳/۰	۱/۶	۹۸
۰/۱۰	۰/۰۰۱۸ ± ۰/۰۰۹۹	۱/۸	۱/۳	۹۹
۰/۱۴۰	۰/۰۰۲۵ ± ۰/۰۱۳۸	۱/۸	۱/۹۲	۹۸

* انحراف استاندارد برای ۶ اندازه گیری

۳-۱۰- حد تشخیص روش

حد تشخیص تئوری با استفاده از رابطه کیزر^۱ (۳-۳) محاسبه می شود :

$$\text{LOD} = \frac{KS_b}{m} \quad \text{رابطه (۳-۳)}$$

در این رابطه K ضریب اطمینان، S_b انحراف استاندارد سیگنال های تکراری اندازه گیری شده برای شاهد و m شیب منحنی کالیبراسیون است. کیزر نشان داد که مقدار منطقی برای K برابر ۳ است [۵۸]. برای بدست آوردن حد تشخیص روش، آب دوبار تقطیر در محیط بافر فسفاتی pH=۶/۵ به عنوان شاهد استفاده شد و سیگنال جذبی آن ۱۰ بار به صورت تکراری با حجم پیش تغلیظ ۱۰/۰ میلی لیتر و شویش تحت شرایط بهینه اندازه گیری شد. انحراف استاندارد حاصل از این ۱۰ اندازه گیری تکراری محاسبه گردید. با توجه به انحراف استاندارد $7/45 \times 10^{-4}$ بدست آمده برای شاهد و شیب ۱/۷۴۰ در منحنی کالیبراسیون، مقدار حد تشخیص روش برای این حجم پیش تغلیظ، ۱/۳۰ میکروگرم بر لیتر به دست آمد.

۱. Kazer

۳-۱۱- بررسی اثر مزاحمت یونها

علی‌رغم گزینش‌پذیری ذاتی در اندازه‌گیری کاتیون‌ها توسط FAAS، با انتخاب نمونه با غلظت ۰/۰۵۰ میلی‌گرم برلیتر، مزاحمت احتمالی کاتیون‌ها و آنیون‌ها توسط روش پیش‌تغلیظ پیوسته و اندازه‌گیری با FAAS بررسی شد که روش کار به صورت زیر بود:

ابتدا میزان جذب اتمی نمونه در غیاب گونه‌ی مزاحم در شرایط بهینه برای ۵ بار تکراری اندازه‌گیری شد و انحراف‌استاندارد جذب‌های حاصل محاسبه گردید. محدوده‌ی قابل قبول سیگنال با توجه به رابطه‌ی $\bar{A} \pm 3S$ بدست آمد که در این محدوده $\bar{A}$ میانگین سیگنال‌های به دست آمده برای غلظت ۰/۰۵۰ میلی‌گرم بر لیتر کبالت و S انحراف‌استاندارد آنها می‌باشد. سپس برای بررسی اثر مزاحمت هر یون، یون موردنظر به میزان ۱۰۰۰۰ برابر وزنی- وزنی نسبت به کبالت (II) به محلول اضافه شد. جذب اتمی محلول حاصل پس از پیش‌تغلیظ به صورت بر- خط اندازه‌گیری شد. اگر مقدار جذب در محدوده $\bar{A} \pm 3S$ قرار داشت، به این معنا بود که یون مورد نظر با نسبت موجود مزاحم نیست در غیر این صورت نسبت گونه‌ی مزاحم به یون کبالت مرتباً کم می‌شد تا دیگر مزاحمت مشاهده نشود. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۷) آمده است. با توجه به نتایج بدست آمده معلوم گردید که تعداد زیادی از کاتیون‌ها و آنیون‌های بررسی شده در این روش مزاحمتی نداشته‌اند (۱۰۰ تا ۱۰۰۰۰ برابر غلظتی نسبت به کبالت ۰/۰۵۰ میلی‌گرم بر لیتر). بیشترین اثر مزاحمت برای یون‌های Ag^+ و Ni^{2+} و Zn^{2+} می‌باشد که باعث کاهش سیگنال تجزیه‌ای در مقدار ۲۰ برابر وزنی-وزنی می‌شوند و مزاحمت هر کدام به ترتیبی که در ذیل به آن اشاره می‌شود رفع شد:

برای رفع مزاحمت نقره از دیتیزون استفاده شد اما قبل از شروع کار لازم بود تا مزاحمت خود دیتیزون نیز بررسی شود. برای این‌منظور به محلول ۰/۰۵ میلی‌گرم بر لیتر کبالت که با ۲/۰ میلی‌لیتر بافر فسفاتی $pH = 6/5$ بافری شده بود مقادیر مختلفی از دیتیزون در نسبت‌های بالای وزنی- وزنی نسبت به کبالت (از ۱۰۰ تا ۵۰۰۰ برابر) اضافه شد و پس از پیش‌تغلیظ ۱۰ میلی‌لیتر آن از عدم

مزا حمت آن تا حد ۱۰۰۰ برابر وزنی-وزنی اطمینان حاصل شد. در مرحله بعد طی چندین آزمایش به محلول ۰/۰۵ میلی گرم بر لیتر کبالت، بافری شده با ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی $\text{pH} = 6/5$ بافری شده مقادیر مختلفی نقره و مقدار ۱۰۰۰ برابر وزنی- وزنی دیتیزون (برای اطمینان از حذف کامل همه نقره موجود) اضافه شد و پس از پیش تغلیظ مشاهده شد که مزا حمت نقره در نسبت ۲۰۰ برابر وزنی- وزنی نسبت به کبالت به خوبی رفع شد.

همچنین برای رفع مزا حمت نیکل از ماده دی متیل گلی اکسیم استفاده شد اما قبل از آن مزا حمت خود دی متیل گلی اکسیم نیز بررسی شد به این صورت که به محلول ۰/۰۵ میلی گرم بر لیتر کبالت که توسط ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی $\text{pH} = 6/5$ بافری شده مقادیر مختلفی از دی متیل گلی اکسیم اضافه شد و پس از پیش تغلیظ ۱۰ میلی لیتر از آن مشاهده شد که این ماده تا ۲۰۰ برابر وزنی- وزنی نسبت به کبالت مزا حمت ندارد. در مرحله بعد به محلول ۰/۰۵ میلی گرم بر لیتر کبالت که توسط ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی $\text{pH} = 6/5$ بافری شده بود مقادیر مختلف وزنی-وزنی از نیکل نسبت به کبالت و ۲۰۰ برابر وزنی- وزنی دی متیل گلی اکسیم اضافه شد و پس از پیش تغلیظ مشاهده شد که مزا حمت نیکل در نسبت ۲۰۰ برابر وزنی- وزنی نسبت به کبالت به خوبی رفع شد.

برای رفع مزا حمت روی نیز یون کلرید استفاده گردید. در این مورد نیز ابتدا مزا حمت خود یون کلرید بر روی جذب کبالت بررسی شد، همانطور که در جدول (۳-۱۵) مشاهده می شود این آنیون هیچگونه تأثیری روی جذب کبالت نداشت. در مرحله ی بعد به محلول ۰/۰۵ میلی گرم بر لیتر کبالت که توسط ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی $\text{pH} = 6/5$ بافری شده بود نسبت های مختلف وزنی- وزنی از روی نسبت به کبالت، و همچنین مقدار ۱۰۰۰ برابر وزنی- وزنی از یون کلرید نسبت به کبالت اضافه شد و پس از پیش تغلیظ ۱۰ میلی لیتر از آن مشاهده شد که مزا حمت روی در نسبت ۱۰۰ برابر وزنی- وزنی نسبت به کبالت رفع شد. همچنین مزا حمت مربوط به آلومینیم و منگنز نیز به روش زیر رفع شد.

برای رفع مزاحمت آلومنیوم از از آنیون F^- که در بررسی مزاحمت‌ها عدم مزاحمت آن مورد تأیید قرار گرفت استفاده شد و به محلول ۰/۰۵ میلی گرم بر لیتر کبالت که توسط ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی $pH=6/5$ بافری شده بود نسبت‌های مختلف وزنی- وزنی از آلومنیوم نسبت به کبالت، و همچنین مقدار ۱۰۰۰ برابر وزنی- وزنی از یون فلوئور نسبت به کبالت اضافه شد و پس از پیش‌تغلیظ ۱۰ میلی لیتر از آن مشاهده شد که مزاحمت آلومنیوم در نسبت ۲۰۰ برابر وزنی- وزنی نسبت به کبالت رفع شد.

برای رفع مزاحمت منگنز هم همانند روی از یون کلرید استفاده شد و پس از افزودن نسبت‌های مختلف وزنی-وزنی از منگنز به محلولی که نسبت کلر به کبالت در آن ۱۰۰۰ برابر وزنی-وزنی بود و پیش‌تغلیظ ۱۰ میلی لیتر از آن مشاهده شد که مزاحمت مربوط به منگنز در نسبت وزنی ۲۰۰ برابر رفع شد.

جدول (۳-۱۵)- بررسی اثر مزاحمت گونه‌های مزاحم و حد مجاز آنها نسبت به کبالت (۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر)

گونه مزاحم	حد مجاز گونه مزاحم
SCN^- , $HCOO^-$, SO_4^{2-} , ClO_3^-	۱۰۰۰۰ برابر
F^- , K^+ , Cl^- , NO_3^- , Na^+	۲۰۰۰ برابر
CO_3^{2-} , Li^+ , PO_4^{3-} , I^- , NO_2^- , Pb^{2+} , IO_4^-	۱۰۰۰ برابر
Mg^{2+} , Ba^{2+} , $Cr_2O_7^{2-}$, HSO_4^-	۴۰۰ برابر
Hg^{2+} , Cu^{2+}	۱۰۰ برابر
Mn^{2+} , Al^{3+} , Cd^{2+} , Cr^{3+}	۵۰ برابر
Ni^{2+} , Ag^+ , Zn^{2+}	۲۰ برابر

۳-۱۲- فاکتور پیش تغلیظ^۱

فاکتور پیش تغلیظ برای یک گونه به صورت نسبت غلظت دو آنالیت که اولی بدون پیش تغلیظ و دومی با پیش تغلیظ عدد جذب یکسانی داشته باشند تعریف می شود [۵۹].

برای اندازه گیری فاکتور پیش تغلیظ (PF) کبالت به روش پیشنهادی بصورت زیر عمل شد:

محلول هایی با غلظت معین و متفاوت از کبالت (II) در دامنه ی غلظتی ۱/۰ تا ۵/۰ میلی گرم بر لیتر و در محیط اسیدی (هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار) تهیه شد. ابتدا میزان جذب هریک از محلول ها بدون انجام عمل پیش تغلیظ و توسط مکش مستقیم با سیستم FAAS اندازه گیری و سیگنال های مورد نظر ثبت شد. سپس حجم ۱۰/۰ میلی لیتری از محلول ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر کبالت (II) تحت شرایط بهینه پیش تغلیظ شد. پس از گذشت زمان پیش تغلیظ و شستشوی ستون با آب دوبار تقطیر، با چرخش شیر انتخاب، محلول شوینده هیدروکلریک اسید از داخل ستون عبور داده شد. سپس جذب محلول حاصل از شویش توسط سیستم تزریق در جریان پیوسته اسپکترومتری جذب اتمی به صورت پیوسته اندازه گیری شد. در این مرحله نیز سیگنال توسط ثبات، ثبت گردید. با مقایسه ارتفاع پیک های بدست آمده در دو مرحله مشخص شد که ارتفاع پیک محلول ۲/۰ میلی گرم بر لیتر کبالت بدون انجام پیش تغلیظ با ارتفاع پیک محلول ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر کبالت پیش تغلیظ شده تحت شرایط بهینه با یکدیگر برابرند. با این توضیحات، فاکتور پیش تغلیظ توسط رابطه ی (۳-۴)، برابر با ۴۰ بدست آمد. در این رابطه (۳-۴) C_1 غلظت کبالت بدون انجام فرآیند پیش تغلیظ و C_2 غلظت کبالت تحت فرآیند پیش تغلیظ می باشد.

$$PF = \frac{C_1}{C_2} \quad \text{رابطه (۳-۴)}$$

1. Preconcentration factor

فاکتور پیش تغلیظ را همچنین می‌توان از نسبت شیب‌های منحنی‌های کالیبراسیون بدست آمده با پیش تغلیظ و بدون پیش تغلیظ محاسبه کرد [۶۰].

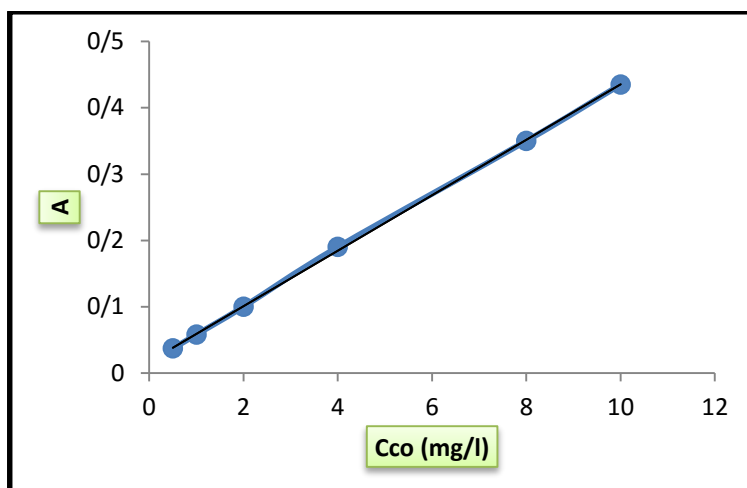
$$PF = \frac{m_1}{m_2} \quad \text{رابطه (۳-۵)}$$

که در این رابطه m_1 و m_2 و به ترتیب شیب معادله منحنی کالیبراسیون با پیش تغلیظ و بدون پیش تغلیظ می‌باشد. برای بدست آوردن منحنی کالیبراسیون بدون پیش تغلیظ محلول‌های کبالت (II) در دامنه‌ی غلظتی ۱/۰ تا ۱۰/۰ میلی گرم بر لیتر در ۱/۰ مولار هیدروکلریک اسید تهیه شد و جذب آنها توسط مکش مستقیم با دستگاه اسپکترومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری و ثبت شد. جذب محلول ۱/۰ مولار هیدروکلریک اسید به عنوان شاهد هم اندازه‌گیری شد. اختلاف جذب نمونه و شاهد به عنوان سیگنال جذب مستقیم بر حسب غلظت کبالت (II) رسم شد.

معادله‌ی خط بدست آمده بدون پیش تغلیظ و با اندازه‌گیری مستقیم با دستگاه جذب اتمی به صورت $A = 0.0418 X + 0.0173$ بدست آمد که در این رابطه X غلظت کبالت (II) و A سیگنال تجزیه ای می‌باشد. از نسبت شیب معادله خط منحنی کالیبراسیون بدست آمده برای روش پیشنهادی ($m_1 = 1/740$) به شیب معادله خط بدون پیش تغلیظ ($m_2 = 0.0418$)، فاکتور پیش تغلیظ روش طبق رابطه (۳-۵)، ۴۱ بدست آمد.

جدول (۳-۱۶)- نتایج حاصل از بررسی منحنی درجه بندی بدون پیش تغلیظ

غلظت کبالت (میلی گرم بر لیتر)	جذب کبالت
۰/۵۰	۰/۳۷
۱/۰	۰/۵۹
۲/۰	۰/۱۰۰
۴/۰	۰/۱۹۰
۸/۰	۰/۳۵۰
۱۰/۰	۰/۴۳۵



شکل (۳-۱۷) - منحنی درجه بندی بدون پیش تغلیظ.

۳-۱۳- درصد بازیابی^۱ روش

درصد بازیابی این روش به صورت نسبت مقدار آنالیت شسته شده از ستون پس از پیش تغلیظ به مقدار آنالیت موجود در محلول اولیه (قبل از پیش تغلیظ) تعریف می شود.

درصد بازیابی تئوری که برای یک روش طراحی شده انتظار می رود توسط رابطه (۳-۶) بیان می شود [۵۵]:

$$\%R = \frac{V_{eluent}}{V_{sample}} \times PF \times 100 \quad \text{رابطه (۳-۶)}$$

که در آن PF فاکتور پیش تغلیظ روش، V_{sample} حجم نمونه پیش تغلیظ شده و V_{eluent} حجم شوینده مصرفی می باشد.

با توجه به اینکه زمان مورد نیاز برای شروع تا خاتمه سیگنال و اندازه گیری جذب مربوط به آن با سرعت جریان ۳/۳ میلی لیتر بر دقیقه شوینده، ۴ ثانیه می باشد، حجم شوینده مصرفی محاسبه شده

1. Recovery factor

۰/۲۲ میلی لیتر است و در حجم پیش تغلیظ ۱۰/۰ میلی لیتر و فاکتور پیش تغلیظ ۴۰، درصد بازیابی با توجه به رابطه (۳-۶)، ۸۸٪ بدست آمد.

همچنین برای بدست آوردن درصد بازیابی تجربی در این روش به صورت زیر عمل شد: محلول‌هایی با غلظت‌های معین و متفاوت از کبالت در دامنه‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۵/۰ میلی گرم بر لیتر در محیطی که نسبت به هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار است، تهیه شد. ابتدا میزان جذب هر یک از محلول‌ها بدون انجام عمل پیش‌تغلیظ و توسط مکش مستقیم با سیستم FAAS اندازه‌گیری شد و سیگنال‌های مورد نظر توسط ثبات ثبت شد و با توجه به این سیگنال‌ها منحنی کالیبراسیون حاصل رسم شد. سپس ۱۰/۰ میلی لیتر محلول ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر کبالت تحت شرایط بهینه پیش‌تغلیظ شد و در مرحله شویش، کبالت بازداري شده در ستون توسط هیدروکلریک اسید و با تنظیم زمان شویش (با توجه به سرعت ۳/۳ میلی لیتر بر دقیقه شوینده) در ۰/۵۰ میلی لیتر از شوینده جمع آوری شد. سیگنال محلول جمع آوری شده از ستون در این حالت توسط مکش مستقیم با سیستم FAAS اندازه‌گیری شد. با توجه به سیگنال بدست آمده برای محلول جمع آوری شده و قرار دادن آن در منحنی کالیبراسیون در حالت اندازه‌گیری مستقیم کبالت و بدون پیش‌تغلیظ، میزان کبالت موجود در محلول حاصل از پیش‌تغلیظ ۱۰/۰ میلی لیتر محلول ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر کبالت در ۰/۵۰ میلی لیتر هیدروکلریک اسید، ۰/۸۳ میکروگرم بدست آمد. نسبت بین مقدار بدست آمده با مقدار واقعی کبالت در محلول اولیه، درصد بازیابی ۸۸٪ را برای روش نشان می‌دهد که تطابق خوبی با درصد بازیابی تئوری دارد.

۳-۱۴- بررسی ظرفیت ستون

ظرفیت ستون پر شده با پلی‌وینیل‌کلرید اصلاح شده با لیگاند ۳-۲^۱-تيازولیل‌آزو-۲،۶-دی‌آمینوپیریدین به صورت غیر پیوسته^۱ محاسبه گردید. به این منظور ۱۰۰ میلی گرم از این رزین که ابتدا به مدت ۵ دقیقه با هیدروکلریک اسید شسته شده و با آب دوبار تقطیر خنثی شد، با ۱۰۰ میلی لیتر محلول با غلظت ۲/۰ میلی گرم بر لیتر از کبالت (II) و در محیط با بافر فسفاتی pH=۶/۵ در یک بشر هم زده شد. پس از گذشت یک ساعت، میزان کبالت موجود در محلول توسط مکش مستقیم با دستگاه جذب اتمی اندازه گیری شد. از اختلاف کبالت موجود در محلول اولیه و کبالت موجود در محلول پس از جذب روی جاذب، ظرفیت ستون محاسبه گردید. با توجه به نتایج، ظرفیت ستون ۷۸۵ میکروگرم کبالت به ازای هر گرم رزین بدست آمد.

۳-۱۵- سرعت نمونه گیری^۲، ضریب مصرف^۳ و کارایی غلظت^۴ روش [۶۰]

سرعت نمونه گیری، تعداد اندازه گیری های قابل انجام توسط روش را در یک ساعت نشان می دهد. بیشتر بودن تعداد اندازه گیری ها نشان دهنده کارایی بیشتر روش است. در این روش با توجه به زمان پیش تغلیظ ۱۲۰ ثانیه، یک دقیقه زمان شستشوی ستون با آب دوبار تقطیر، ۶۰ ثانیه زمان شویش با اسید و یک دقیقه زمان شستشو با آب دوبار تقطیر جهت خنثی شدن بستر، در حجم پیش تغلیظ ۱۰/۰ میلی لیتر از محلول نمونه، سرعت نمونه گیری روش، ۱۲ نمونه بر ساعت است.

ضریب مصرف (CI) در یک روش پیش تغلیظ به صورت حجمی از محلول نمونه بر حسب میلی لیتر تعریف می شود که فاکتور پیش تغلیظ را یک واحد افزایش می دهد. کمتر بودن این ضریب در یک روش پیش تغلیظ، کارایی بیشتر روش را نشان می دهد. با توجه به این که در حجم پیش تغلیظ ۱۰/۰

1. Batch

2. Sampling rate

3. Consumption index

4. Concentration efficiency

میلی لیتر، فاکتور پیش تغلیظ روش ۴۰ بدست آمده است، ضریب مصرف این روش ۰/۲۵ میلی لیتر محاسبه شد.

کارایی غلظت (CE) به صورت حاصل ضرب فاکتور پیش تغلیظ در سرعت نمونه گیری روش در دقیقه تعریف می شود. با توجه به فاکتور پیش تغلیظ ۴۰ و سرعت نمونه گیری ۱۲ نمونه در ساعت (۰/۲۰ نمونه در دقیقه)، کارایی غلظت این روش ۸ بر دقیقه بدست می آید. کارایی غلظت بیشتر برای مقایسه روش های مختلف پیش تغلیظ و اندازه گیری پیوسته که فاکتور پیش تغلیظ و فرکانس نمونه گیری متفاوت دارند، به کار برده می شود.

۳-۱۶- اندازه گیری کبالت در نمونه های حقیقی

۳-۱۶-۱- اندازه گیری کبالت در نمونه ی آب شاهرود

برای بررسی کارایی روش پیشنهادی در اندازه گیری کبالت در چند نمونه ی سنتزی استفاده شد. برای تهیه ی نمونه های سنتزی از آب شهر شاهرود استفاده شد. روش کار به این صورت بود که مقادیر مشخصی از یون کبالت به حجم ثابتی از آب شهر اضافه گردید تا نمونه های سنتزی بدست آید و سپس میزان کبالت موجود در نمونه های سنتزی حاصل به روش پیشنهادی پیش تغلیظ و اندازه گیری شد. هر اندازه گیری ۴ بار تکرار شد. در اندازه گیری کبالت، از افزایش استاندارد استفاده گردید. نتایج حاصل از اندازه گیری ها در جدول های (۳-۱۷) آمده است. مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ و برای ۴ اندازه گیری ۳/۱۸ گزارش شده است.

جدول (۳-۱۷) - اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌ی آب شهر شاهرود

مقدار کبالت اضافه شده (میلی‌گرم بر لیتر)	مقدار کبالت / اندازه‌گیری شده (میلی‌گرم بر لیتر)	%RSD n = 4	مقدار t محاسبه شده	درصد بازیابی
-	< DL	-	-	-
۰/۰۲۰۰	$0.0196 \pm 0.0005^*$	۲/۵	۱/۶۰	۹۸
۰/۰۵۰۰	0.0485 ± 0.0018	۳/۷	۱/۶	۹۷
۰/۱۰	0.0982 ± 0.0025	۲/۵	۱/۴	۹۸

* انحراف استاندارد ۴ اندازه‌گیری تکراری

۳-۱۶-۲- اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌ی فاضلاب شرکت داروسازی

نمونه‌ی فاضلاب شرکت داروسازی پارس دارو واقع در استان تهران پس از صاف کردن به روش پیشنهادی پیش‌تغلیظ و به روش افزایش استاندارد تعیین مقدار شد. روش کار به این صورت بود که ۴۰/۰ میلی‌لیتر از محلول نمونه به یک بالن ۵۰/۰ میلی‌لیتری منتقل گردید و ۲/۰ میلی‌لیتر بافر pH=۶/۵ فسفاتی به آن افزوده شد و با آب مقطر به حجم رسانده شد. ۱۰/۰ میلی‌لیتر از این محلول در شرایط بهینه پیش‌تغلیظ و به صورت بر-خط جذب آن در طول موج ۲۴۰/۷ نانومتر اندازه‌گیری گردید. در مرحله‌ی بعد به نمونه فاضلاب مقادیر مشخصی کبالت (II) افزوده شد و به روش فوق اندازه‌گیری گردید. نتایج حاصل در جدول (۳-۱۸) آمده است.

جدول (۳-۱۸) - اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌ی آب کارخانه داروسازی

مقدار کبالت اضافه شده (میلی گرم بر لیتر)	مقدار کبالت اندازه‌گیری شده (میلی گرم بر لیتر)	مقدار t محاسبه شده	درصد بازیابی	میکروگرم کبالت در هر لیتر فاضلاب
-	0.0002 ± 0.0040	-	-	5.0 ± 0.2
0.02	0.0007 ± 0.0250	2/85	105	
0.05	0.0115 ± 0.0560	2/67	104	
0.10	0.020 ± 0.1050	1/00	105	

* انحراف استاندارد ۴ اندازه‌گیری تکراری

۳-۱۶-۳- اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌های میوه و سبزیجات

در این پروژه میزان کبالت موجود در ۲ نمونه از میوه‌ها و سبزیجات، شامل خیار و کلم سفید به

روش پیشنهادی اندازه‌گیری شد. روش کار به صورت زیر بود:

ابتدا نمونه‌های کلم سفید و خیار شسته شدند و به قطعات نازک تبدیل شدند. سپس به مدت ۱ هفته در مجاورت هوا خشک شدند. در مرحله‌ی بعد، نمونه‌ها در آون در دمای 45°C به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند تا تمامی آب موجود در بافت آنها تبخیر شده و به وزن ثابتی برسند. سپس نمونه‌های خشک شده به وسیله آسیاب پودر شدند. $1/50$ گرم از هر نمونه به طور جداگانه توزین و به آن $5/0$ میلی‌لیتر نیتریک اسید غلیظ اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت یک ساعت در دمای 100°C بر روی یک دستگاه گرمکن مجهز به همزن مغناطیسی حرارت داده شد. سپس مجدداً $5/0$ میلی‌لیتر نیتریک اسید غلیظ و $2/0$ میلی‌لیتر هیدروژن پروکسید به آن اضافه گردید و به مدت ۱ ساعت به آهستگی همراه با هم زدن حرارت داده شد تا حجم آن نصف گردد. بعد از سرد شدن محلول با کاغذ صافی واتمن صاف گردید. محلول زیر صافی به یک بالن 250 میلی‌لیتری منتقل و پس از خنثی سازی pH توسط افزایش قطره قطره سدیم هیدروکسید ۳ مولار با آب دوبار تقطیر به حجم

رسانده شد [۶۱]. ۴۰/۰ میلی لیتر از محلول آماده شده به بالن ۵۰ میلی لیتر منتقل شد و پس از افزودن ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی pH=۶/۵، به حجم رسانده شد و تحت شرایط بهینه، بر روی حجم های ۱۰/۰ میلی لیتری پیش تغلیظ انجام شد و سیگنال تجزیه ای اندازه گیری گردید. برای آزمایش بازیابی، مقادیر مشخصی از یون کبالت به حجم ۴۰/۰ میلی لیتر از نمونه های آماده شده اضافه گردید و پس از افزودن ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی pH=۶/۵ و به حجم رساندن در بالن ۵۰ میلی لیتری، تحت شرایط بهینه، حجم های ۱۰/۰ میلی لیتری نمونه های حاصل به روش پیشنهادی پیش تغلیظ و جذب آنها اندازه گیری شد. هر اندازه گیری ۴ بار تکرار شد. در اندازه گیری ها از روش افزایش استاندارد استفاده گردید که نتایج حاصل از اندازه گیری ها برای خیار و کلم سفید در جدول (۳-۱۹) آورده شده است.

جدول (۳-۱۹) - اندازه گیری کبالت (II) در نمونه های میوه و سبزیجات

نمونه	غلظت کبالت اضافه شده (میلی گرم بر لیتر)	غلظت کبالت اندازه گیری شده (میلی گرم بر لیتر)	مقدار t محاسبه شده	درصد بازیابی	میکروگرم کبالت در هر گرم نمونه خشک
کلم	-	0.0002 ± 0.0040	-	-	0.04 ± 0.85
کلم	۰/۰۱	0.0007 ± 0.0150	۲/۸۵	٪۱۰۸	
خیار	-	0.0005 ± 0.0050	-	-	0.10 ± 0.06
خیار	۰/۰۱	0.0007 ± 0.0160	۲/۸۵	٪۱۰۸	

* انحراف استاندارد ۴ اندازه گیری تکراری

۳-۱۶-۴- اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌ی آمپول ویتامین

در این پروژه همچنین به اندازه‌گیری مقدار کبالت در آمپول B₁₂ به روش پیشنهادی پرداخته شد. روش کار بصورت زیر بود:

ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر از آمپول B₁₂ به یک بشر ۵۰ میلی‌لیتری منتقل و ۱۰/۰ میلی‌لیتر مخلوط اسید نیتریک و اسید سولفوریک غلیظ با نسبت‌های حجمی ۱ به ۱۰ به هر کدام از آن‌ها اضافه شد. محلول حاصل روی یک دستگاه گرمکن تا نزدیک خشک شدن حرارت داده سپس باقیمانده با هیدروکسید سدیم خنثی شده و با آب دوبار تقطیر تا حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رقیق شد [۶۲]. ۴۰/۰ میلی‌لیتر از محلول آماده شده به بالن ۵۰ میلی‌لیتر منتقل شد و پس از افزودن ۲/۰ میلی‌لیتر بافر فسفاتی pH=۶/۵، به حجم رسانده شد و تحت شرایط بهینه، بر روی حجم‌های ۱۰/۰ میلی‌لیتری پیش‌تغلیظ انجام شد و سیگنال تجزیه‌ای اندازه‌گیری گردید. برای آزمایش بازیابی، مقادیر مشخصی از یون کبالت به حجم ۴۰/۰ میلی‌لیتر از نمونه‌ی آماده شده اضافه گردید و پس از افزودن ۲/۰ میلی‌لیتر بافر فسفاتی pH=۶/۵ و به حجم رساندن در بالن ۵۰ میلی‌لیتری، تحت شرایط بهینه، حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتری نمونه حاصل به روش پیشنهادی پیش‌تغلیظ و جذب آن اندازه‌گیری شد. هر اندازه‌گیری ۴ بار تکرار شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری‌ها برای آمپول B₁₂ در جدول (۳-۲۰) آورده شده است.

جدول (۳-۲۰) - اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌ی آمپول

نمونه	غلظت کبالت اضافه شده (میلی گرم بر لیتر)	غلظت کبالت/اندازه‌گیری شده (میلی گرم بر لیتر)	مقدار t محاسبه شده	درصد بازیابی	میکروگرم کبالت در هر آمپول
B_{12}	-	0.0008 ± 0.0003	-	-	0.01 ± 0.04
	۰/۰۲	0.0009 ± 0.0005	۲/۲۲	٪۱۰۵	

* انحراف استاندارد برای ۴ اندازه‌گیری

هر آمپول (۱ml) حاوی: (۱۰۰ μ g) ویتامین B_{12} معادل ۴/۳۵ میکروگرم کبالت

فصل چهارم:

بحث و نتیجه گیری

۴-۱- ارقام شایستگی روش

بررسی‌ها نشان داد در محدوده‌ی غلظتی ۰/۱۵۰۰ - ۰/۰۰۲۰ میلی گرم بر لیتر کبالت برای حجم پیش تغلیظ ۱۰/۰ میلی لیتر، بین غلظت کبالت و سیگنال تجزیه‌ای رابطه‌ی خطی وجود دارد. معادله‌ی مربوطه و ضریب همبستگی در بخش (۳-۸) آمده است. مقادیر انحراف استاندارد نسبی برای اندازه‌گیری‌های تکراری برای غلظت‌های ۰/۰۱۰، ۰/۰۵۰، ۰/۱۰ و ۰/۱۴ میلی گرم بر لیتر کبالت با حجم پیش تغلیظ ۱۰/۰ میلی لیتر به ترتیب ۴/۴٪، ۲/۰٪، ۰/۸٪ و ۱/۴٪ به دست آمد که نشان دهنده‌ی دقت خوب روش است. مقادیر درصد بازیابی بدست آمده در جدول (۳-۱۶) بیانگر صحت روش است. میزان حد تشخیص برای حجم پیش تغلیظ ۱۰/۰ میلی لیتر، ۱/۳۰ میکروگرم بر لیتر به دست آمد.

نتایج و محاسبات نشان می‌دهد که ستون حاوی ۱۰۰ میلی گرم پلیمر عامل‌دار شده قادر به بازداری ۷۸/۵ میکرو گرم کبالت می‌باشد، بنابراین ظرفیت بازداری ستون ۷۸۵ میکروگرم کبالت به ازای هر گرم پلیمر عامل‌دار شده به دست می‌آید. از طرفی ستون مورد نظر، کارایی حداقل ۱۰۰۰ اندازه‌گیری را داراست که نشان دهنده‌ی پایداری خیلی خوب پلیمر عامل‌دار شده در محیط‌های اسیدی و بازی می‌باشد. لازم به ذکر است که به جز در موقع بهینه کردن طول ستون، طی تمام اندازه‌گیری‌ها در بهینه سازی پارامترها و سایر مطالعات از یک ستون استفاده شد.

فاکتور پیش تغلیظ و درصد بازیابی روش تحت شرایط بهینه به ترتیب ۴۰ و ۸۸٪ به دست آمد. فرکانس نمونه برداری برای حجم پیش تغلیظ ۱۰/۰ میلی لیتر (با زمان پیش تغلیظ ۱۲۰ ثانیه، زمان شستشو با آب دوبار تقطیر ۱ دقیقه، زمان شویش ۶۰ ثانیه و زمان خنثی کردن بستر ۱ دقیقه)، ۱۲ نمونه در ساعت به دست آمده است. نتایج حاصل از اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌های حقیقی میوه و سبزیجات و همچنین نمونه‌های سنتزی تهیه شده از آب شهر شاهرود و آب شرکت دارو سازی پارس دارو و همچنین نمونه‌ی آمپول ویتامین در جدول‌های (۳-۱۷) تا (۳-۲۰) آمده است. این نتایج نشان می‌دهد که روش پیشنهادی دقت و صحت خوبی در اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌های حقیقی دارد.

۲-۴ - مقایسه‌ی روش با سایر روش‌های انجام شده

این روش کارایی سیستم پیش‌تغلیظ بر- خط کوپل شده با اسپکترومتری جذب اتمی شعله با استفاده از یک ستون پر شده با پلی‌وینیل کلرید اصلاح شده با لیگاند ۳-(۲'-تiazolil آزو)-۲،۶-دی‌آمینوپیریدین که از طریق پیوندهای شیمیایی بر روی پلی‌وینیل کلرید تثبیت شده است را برای اندازه‌گیری کبالت در نمونه‌های مختلف آبی، میوه و سبزیجات و آمپول به خوبی نشان می‌دهد. رزین سنتز شده جدید در تمامی بررسی‌های انجام شده پایداری شیمیایی خیلی خوبی نشان می‌دهد و مشکلاتی نظیر متورم شدن جاذب و افزایش حجم آن که باعث ایجاد فشار زیادی در ستون می‌شود را ندارد، به‌طوری که می‌توان بدون تعویض ستون یا استفاده از جاذب جدید، آزمایشات زیادی را انجام داد. کار انجام شده، یک روش موثر برای بهبود حساسیت جذب اتمی برای اندازه‌گیری کبالت است. سیستم به کار گرفته شده بسیار ساده، سریع، دارای شرایط استفاده آسان، خودکار و دارای حساسیت و انتخاب‌پذیری خوبی برای اندازه‌گیری کبالت است. در جدول (۴-۱) مقایسه بین روش پیشنهادی با تعدادی دیگر از روش‌های موجود که در آن‌ها از جاذب‌های اصلاح شده با لیگاندهای مختلف که از طریق پیوند شیمیایی بر روی جاذب تثبیت شده‌اند، نشان داده شده است. ویژگی‌های تجزیه‌ای مختلف نظیر فاکتور پیش‌تغلیظ، حد تشخیص و حجم محلول نمونه برای مقایسه‌ی این روش‌ها در جدول (۴-۱) آورده شده است.

لازم به ذکر است که نمی‌توان بطور مستقیم از ستونی که در آن حد تشخیص روش‌های مختلف آورده شده است برای مقایسه‌ی حد تشخیص روش پیشنهادی با سایر روش‌های گزارش شده استفاده کرد، زیرا حجم‌های پیش‌تغلیظ شده (حجم نمونه) برای روش‌های گزارش شده با روش پیشنهادی متفاوت است. همچنین مقایسه‌ی فاکتور پیش‌تغلیظ روش پیشنهادی با سایر روش‌های گزارش شده امکان‌پذیر نمی‌باشد زیرا حجم نمونه‌های پیش‌تغلیظ شده برای روش‌های گزارش شده با روش پیشنهادی متفاوت است.

با توجه به اینکه فاکتور پیش تغلیظ در حجم‌های متفاوت گزارش شده است، به‌همین منظور پارامتر ضریب مصرف هر روش محاسبه و در جدول (۴-۱) آورده شد تا بهتر بتوان روش پیشنهادی را با سایر روش‌ها مقایسه نمود. لازم به ذکر است روشی برتر است که دارای ضریب مصرف کوچک‌تر باشد. داده‌ها در این ستون نشان می‌دهد که ضریب مصرف روش پیشنهادی نسبت به کلیه روش‌های گزارش شده به جز روش‌های گزارش شده در مراجع [۱۱]، [۱۲] و [۶۳] بهتر است.

جدول (۴-۱) - روش‌های پیش تغلیظ بر- خط کبالت با استفاده از جاذب‌های اصلاح شده شیمیایی

مرجع	DL ($\mu\text{g L}^{-1}$)	PF	حجم نمونه (mL)	CI (mL)	لیگاند	جاذب
۱۱	۳/۲	۱۷/۲	۳/۲۵	۰/۱۸	^۱ -nitroso-2-naphthol	C ₁₈
۱۲	۰/۰۲	۱۲۵	۲۵	۰/۲۰	^۲ - Nitroso- 1-naphthol	Alumina
۱۴	۰/۰۲	۵۰	۱۰۰۰	۲۰	^۱ QADEAA	C ₁₈
۱۵	۰/۴۳	۲۰۰	۱۰۰۰	۵/۰	^۲ DCQ	Styrene-EGDMA polymer
۱۶	۰/۸	۳۳۰	۱۶۵۰	۵/۰	^۳ DTO	Activated carbon
۱۷	۴۰	۳۳/۳	۵۰۰	۱۵/۰۱	^۴ APDC	Chromosorb 102
۲۰	۰/۱	۲۰۰	۶۰۰	۳/۰	^۵ PAR	Amberlite XAD-7
۲۱	۱/۹۳	۴۴۴/۴	۵۰-۲۰۰۰	۰/۱۰-۴/۵	indane-1,2,3-trione 1,2-dioxime	^۶ SDS
۲۲	۰/۰۱	-	۲۵۰	-	^۷ IIDE	C ₁₈
۲۳	۰/۷۸	۵۰	۱۰۰	۲/۰	^۸ PAN	Silver nanoparticle
۲۴	۰/۶	۹۴	۳۳۰	۳/۵	^۹ PDM	Silica
۶۳	۳/۱	۱۰۰	۱۰۰۰	۱۰/۰	^{۱۰} BTAHQ	C ₁₈
۶۴	۱/۰۷	۶۰۶/۷	۵/۰	۰/۰۰۸	Kerosene	Aliquat 336
کار ارائه شده	۱/۳۰	۴۰	۱۰	۰/۲۵	TADAP	PVC

^۱. 2-(2-Quinolylazo)-5-diethylaminoaniline^۲. 5,7-Dichloroquinoline-8-ol^۳. Dithioamide^۴. Ammonium pirrolidine dithio carbamate^۵. 4-(2-pyridyl-azo) resorcinol^۶. Sodium dodecyl sulfate^۷. Isopropyl 2-[(isopropoxy carbothioyl) disulfanyl] ethanethioate^۸. [1-(2-Pyridylazo)-2-naphthol]^۹. Pyridine-2,6-dimethanol^{۱۰}. 5-(2-Benzothiazolylazo)-8-hydroxyquinolene

۴-۳- آینده نگری

- ۱- بررسی امکان انجام فرآیند پیش‌تغلیظ میدانی با به کارگیری روش ارائه شده پیشنهاد می‌شود. با توجه به اینکه در برخی مواقع امکان دسترسی سریع به دستگاه جذب اتمی شعله و اندازه‌گیری دقیق وجود ندارد، همچنین به دلیل جذب سطحی شدید نمونه با مقادیر کم بر دیواره ظرف انتقال نمونه، در چنین مواردی می‌توان پمپ و ستون را به محل نمونه برداری انتقال و عمل پیش‌تغلیظ تحت شرایط بهینه را انجام داد.
- ۲- با توجه به خصوصیات فیزیکی و شیمیایی قابل قبول برای پلی‌وینیل کلرید به عنوان فاز جامد می‌توان با تثبیت عوامل کمپلکس دهنده‌ی دیگری بر روی آن کارایی این پلیمر را با سایر لیگاندها برای پیش‌تغلیظ کاتیون‌ها بررسی نمود.
- ۳- بررسی امکان کاربرد این پلیمر اصلاح شده با TADAP برای پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری سایر فلزات سنگین پیشنهاد می‌شود.

مراجع

- [1]. N. Ahalya, T. V. Ramachandra, R. D. Kanamadi. "Biosorption of heavy metals", *Research Journal of chemistry and Enviromental*, (2003), Vol.7, 71-79.
- [2]. Y. G. Viraraghavan, "Heavy- metal removal from aqueous solution by fungus mucor rouxi", *Water Research*, (2003), Vol.37, 4486-4496.
- [3]. www.Alchem.blogfa.com
- [4]. www.Chemistrykivi.blogfa.com
- [5]. pirun.ku.ac.th/~fsciass/PDF/journal20PDF/journal9.pdf
- [۶]. آرزو افروغه " اندازه گیری مقادیر کم کبالت با اسپکترومتری جذب اتمی شعله‌ای بعد از پیش‌تغلیظ با روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی"، دانشگاه صنعتی شاهرود، (۱۳۹۰)، ص ۲.
- [۷]. داریوش درویشی " ترمودینامیک استخراج حلالی کبالت توسط حلال‌های ارگانوفسفروس"، دانشکده مهندسی و علم مواد، دانشگاه صنعتی شریف، (۱۳۸۵)
- [8]. [www. Daneshju. ir](http://www.Daneshju.ir)
- [9]. www. Chemistrybahonar.blogfa.com
- [۱۰]. لیلا نیکوکار، " استخراج فاز جامد و اندازه گیری پیوسته مقادیر کم مس در نمونه‌های حقیقی به روش اسپکترومتری جذب اتمی شعله"، دانشگاه صنعتی شاهرود، (۱۳۹۰)، ص ۶.
- [11]. Y. Yingxue, A. Ali, Y. Xuefeng. "Cobalt determination with FI-FAAS after on-line sorbent", *Talanta*, (2002), Vol.57, 945–951.
- [12]. A. M. Haji Shabani, S. Dadfarnia, K. Dehghan. "On-line preconcentration and determination of cobalt by chelating microcolumns and flow injection atomic spectrometry", *Talanta*, (2003), Vol.59, 719-725.
- [13]. S. Cerutti , S. Moyano , J. A. Gasquez , J. Stripeikis , R. A. Olsina, L. D. Martinez. "On-line preconcentration of cobalt in drinking water using a minicolumn packed with activated carbon couple to electrothermal atomic absorption spectrometric determination", *Spectrochimica Acta Part B*, (2003), Vol.58, 2015–2021.
- [14]. H. Qiufen , Y. Guangyu, D. Xuechang, Y. Jiayuan. "Study on the Solid Phase Extraction and spectrophotometric Determination of cobalt with 2-(2-Quinolylazo)-5-Diethylaminoaniline", *Turkish Journal of Chemistry*, (2004), Vol.28, 611 – 619.

- [15]. R.S. Praveen, S. Daniel, T. Prasada Rao. "Solid phase extraction preconcentration of cobalt and nickel with 5,7-dichloroquinone-8-ol embedded styrene-ethylene glycol dimethacrylate polymer particles and determination by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) ", *Talanta*, (2005), Vol. 66, 513–520.
- [16]. M. Ghaedia, F. Ahmadib, M. Soylak. "Preconcentration and separation of nickel, copper and cobalt using solid phase extraction and their determination in some real samples", *Journal of Hazardous Materials*, (2007), Vol.147, 226–231.
- [17]. M. Khadem, F. Golbabaie, A. Rahimi-Froushani, S. J. Shahtaheri. "Optimization of Solid Phase Extraction for Trace Determination of Cobalt (II) Using Chromosorb 102 in Biological Monitoring", *International Journal of occupational hygiene*, (2008), Vol.23, 5435.
- [18]. G. Yang, W. Fen, C. Lei, W. Xiao, H. Sun. "Study on solid phase extraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry for the determination of nickel, silver, cobalt, copper, cadmium and lead with MCI GEL CHP 20Y as sorbent", *Journal of Hazardous Materials*, (2009), Vol.162, 44–49.
- [19]. V. A. Lemos, L.Novaes Santos, M. Almeida Bezerra. "Determination of cobalt and manganese in food seasonings absorbtion spectrometry after preconcentration with 2-hydroxyacetophenone-functionalized polyurethane foam", *Journal of food Composition and analysis*, (2010), Vol.23, 177-281.
- [20]. M. Ince, G. Kaya, M. Yaman. "Solid phase extraction and preconcentration of cobalt in mineral waters with PAR-loaded Amberlite XAD-7 and flame atomic absorption spectrometry", *Environmental Chemistry Letters*, (2010), Vol.8, 283–288.
- [21]. M. Hossein, N. Dalali, A. karimi, K. Dastanra. "Solid phase extraction of copper, nickel, and cobalt in water samples using surfactant coated alumina modified with indane-1,2,3-trione 1,2-dioxime and determination by flame atomic absorption spectrometry", *Turkish Journal of Chemistry*, (2010), Vol.34, 805 – 814.
- [22]. A. Moghimi, S. Ghammamy, R. Ghiasi. "A study on the solid phase extraction of CO(II)-IIDE chelate with C18 disk and its application to the determination of trace cobalt", *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, (2011), Vol. 5(6), 149-154.

- [23]. M. Khajeh, E. Sanchooli, "Synthesis and evaluation of silver nanoparticles material for solid phase extraction of cobalt from water samples", *Applied Nanoscience Journal*, (2011), vol.1, 205-209.
- [24]. R. Saha, A. Sahana, S. Dasa, C. J. Pastorb, E. Torres Lopezb, D. Das. "Solid phase pre-concentration of cobalt(II) using pyridine–thiocyanate reagents: X-ray crystal structure of the extracted ternary cobalt(II) complex", *Chemical Engineering Journal*, (2011), vol. 174, 58-67.
- [25]. Y. Wang, X. Luo, J. Tang, X. Hu, Q. Xu, C. Yang. "Extraction and preconcentration of trace levels of cobalt using functionalized magnetic nanoparticles in a sequential injection lab-on-valve system with detection by electrothermal atomic absorption spectrometry", *Analytica Chimica Acta*, (2012), vol.713, 92-96.
- [۲۶]. علی مخلصیان، " استخراج فاز جامد و اندازه گیری پیوسته مقادیر کم مس در نمونه‌های حقیقی به روش اسپکترومتری جذب اتمی شعله"، دانشگاه صنعتی شاهرود، (۱۳۸۹)، ص ۱۶.
- [27]. R. A. Smith, "Befor the injection-modern method of sample preparation for techniques", *Journal of Chromatography. A*, (2003), Vol.1000, 3-27.
- [۲۸]. ندا بهداروند، " استخراج فاز جامد نیکل و بیسموت بصورت کمپلکس با متیل تیمول بلو بر روی ستون جاذب نفتالین و اندازه گیری با دستگاه جذب اتمی شعله ای " دانشگاه سیستان و بلوچستان، (۱۳۸۴)، ص ۳-۱.
- [29]. V. Camel, "Solid phase extraction of trace elements" *Spectrochimca. Acta, Part B*, (2003), Vol.58, 1177-1233.
- [30]. C. F. Poole, "Solid-phase extraction". *Encyclopedia of Separation Science*, 3, Academic Press, (2000), Vol.2000, 1405-1409.
- [31]. C. F. Poole, "Solid-phase extraction with disks". *Encyclopedia of Separation Science*, Academic Press, (2000), Vol.9, 41-44.
- [32]. G. A. Junk, M. J. Avery, J. J. Richard, "Interferences in solid-phase extraction Using C-18 bonded porous silica cartridges", *Anaytical Chemistry*, (1988), Vol. 60, 1347-1350.

[33]. O. Evans, B. J. Jacobs, A. L. Cohen, "Liquid-solid extraction of tributyltin from marine sediments", *Analyst*, (1991), Vol. 116, 15-19.

[34]. D. F. Hagen, C.G. Markell, G.A. Schmitt, D.D. Blevins, "Membrane approach to solid-phase extractions". *Analytica Chimica Acta*, (1990), Vol. 236, 157-164.

[۳۵]. فریتز ج.، ترجمه اکبری، ب.، قریشی، م.، وحید دستجردی، "استخراج فاز جامد تجزیه ای" جهاد دانشگاهی واحد صنعتی اصفهان، (۱۳۸۱).

[36]. R. E. Majors, "Sample preparation for HPLC and gas chromatography using solid-phase extraction". *LG-GC*, (1989), Vol.4, 972-975.

[37]. R. E. Sturgeon, S.S. Berman, A. Desaulniers, D. S. Russell, "Pre- concentration of trace metals from sea-water for determination by graphite-fumace atomic-absorption spectrometry". *Talanta*, (1980), Vol.27, 85-94.

[38]. D. M. Sanchez, R. Martin, R. Morante, J. Marin, M. L. Munuera, "Preconcentration speciation method for mercury compounds in water samples using solid phase extraction followed by reversed phase high performance liquid chromatography", *Talanta*, (2000), Vol.52, 671-679.

[39]. M. C. Yebra, N. Carro, M. F. Enriquez, A. Moreno-Cid, A. Garcia, " Field sample pre-concentration of copper in sea water using chelating minicolumns subsequently incorporated on a flow-injection-flame atomic absorption spectrometry system". *Analyst*, (2001), Vol.126, 933-937.

[40]. E. Castillo, J. L. Cortina, J. L. Beltran, M. D. Prat, M. Granados "Simultaneous determination of Cd(II), Cu(II) and Pb(II) in surface waters by solid phase extraction and flow injection analysis with spectrophotometric detection". *Analyst*, (2001), Vol.126, 1149-1153.

[41]. M. Shamsipur, A. R. Ghiasvand, H. Sharghi, H. Naeimi, "Solid phase extraction of ultra trace copper(II) using octadecyl silica membrane disks modified by a naphthol-derivative Schiff's base". *Analytica Chimica Acta*, (2000), Vol.408, 271-277.

[42]. E. Gonzalez Toledo, M. Benzi, R. Compano, M. Granados, "Prat, Speciation of organotin compounds in shellfish by liquid chromatography-fluorimetric detection". *Analytica Chimica Acta*, (2001), Vol.443, 183-190.

- [43]. O. Keil, J. Dahmen, D. A. Volmer, "Automated matrix separation and pre-concentration for the trace level determination of metal impurities in ultrapure inorganic salts by high-resolution ICP-MS" *Fresenius journal of Analytical Chemistry*, (1999), Vol.364, 694-699.
- [44]. S. Olsen, L. C. R. Pessenda, J. Ruzicka, E. H. Hansen, "Combination of flow injection analysis with flame atomic absorption spectrophotometry: determination of trace amounts of heavy metals in polluted seawater". *Analyst*, (1983), Vol.108, 905-913.
- [45]. Z. Fang, J. Ruzicka, E. H. Hansen, "An efficient flow injection system with on-line ion-exchange preconcentration for the determination of trace amounts of heavy metals by atomic absorption spectrometry". *Analytica Chimica Acta*, (1984), Vol.164, 23-39.
- [46]. Z. Fang, Z. Zhu, S. Zhang, S. Xu, L. Guo, L. Sun(1988) "Online separation and preconcentration in flow injection analysis". *Analytica Chimistry Acta*, Vol.214, 41-55.
- [۴۷]. محمدرضا الماسیان، "اندازه‌گیری تلوریم به روش تزریق در جریان پیوسته" دانشگاه تربیت مدرس، (۱۳۷۴)، ص ۱-۳۵.
- [48]. J. Ruzika and E. H. Hansen, "Flow injection analyses : Part I. A new concept of fast continuous flow analysis". *Analytica chimica Acta*, (1975) , Vol.78, 145 – 157.
- [49]. B. Karlberg, G. E. pacey, " Flow injection analysis, A partical guide ".*Elsevier science publishers*, (1989), Vol.25, 13-90.
- [50]. R. Kellender, M. Mermet, M. Otto, M. Varcacel and H. M. Widmer, *Analytical Chemistry*, (2004), Vol.23, 224-225
- [51]. J. Ruzika, and E. H. Hansen, "Flow injection Analyses: part I. A new concept of fast continuous flow analysis", *Analytica chimica Acta*, (1987), Vol.78, 145-157.
- [۵۲]. نوروز اصل، "مطالعه فلزات سنگین در تالاب انزلی به روش اسپکتروسکوپی جذب اتمی و کروماتوگرافی"، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پایه، پایان نامه کارشناسی ارشد، (۱۳۷۲).

- [۵۳]. داگلاس ای. اسکوگ، جیمز جی لری، (۱۳۸۰)، " اصول تجزیه دستگاهی"، جلد اول، ترجمه ژیل آزاد، کارگشا، چاپ اول، مرکز نشر دانشگاهی تهران، ص ۱۷۰-۱۵۸.
- [54]. F. Garc'1, A. Montel Ongo, V. Gonza'lez Di'az, C. R. Tello Gonza'lez "Analytical Applications of 3-(2'-Thiazolylazo)-2,6-diaminopyridin : Spectrophotomet ric Determination of Palladium". *Microchemica Acta*, (1982), Vol.27, 194-199.
- [55]. R. Saavedra, C. Soto, J. Yanez, M. I. Toral, "Determination of Pd(II) content in catalysts and tap water samples via photoacoustic spectroscopy analysis .of pd(II)-3-(2'-Thiazolylazo)-2,6- diaminopyridine complex on solid phase". *Journal of Hazardous Materials*, (2009), Vol.167, 970-975.
- [56]. F. Ismail, M. R. Anjum, A. N. Mamon, T. G. Kazi "Trace Metal Contents of Vegetables and Fruits of Hyderabad Ratail Market". *Pakistan Jornal of Nutrition*, (2011), Vol. 10(4), 365-372.
- [57]. P. A. Nikulshin, A. V. Mozhaev a, A. A. Pimerzin, V.Victor. "CoMo/Al₂ O₃ catalysts prepared on the basis of Co₂Mo₁₀ –heteropolyacid and cobalt citrate: Effect of Co/Mo ratio". *Journal Fuel*, (2012), Vol.100, 24-33.
- [58]. D. A. Skoog, F. J. Holler, T. A.Nieman, "Principles of Instrumental analysis", 5th edition, *Saunders college pub*, (1998), Vol.65, 13.
- [59]. C. G. Pinto, J. L. P. Pavon, B. M. Cordero, E. R. Beato, and S. J. Sanches. "Cloud point preconcentration and flame atomic absorption spectrometric: application to the determination of cadmium", *Journal of Analytical Spectrometry A*, (1996), Vol.9611, 37-41.
- [60]. K. P, K. K, "on line sorption- based systems for determination of cadmium with atomic spectrometry detectors", *Water Res*,(1998), Vol.41, 2839-2851
- [61]. F. Ismail, M. R. Anjum, A. N. Mamom, T. G. Kazi, "Trace metal contents of vegetables and fruits of Hyderabad ratail market". *Pakistan Journal of Nutrition*, (2000), Vol.10(4), 365-372.
- [62]. N. Baghban, A. Mohammad , S. Dadfarnia, A. Jafari, "Flame Atomic Absorption Spectrometric Determination of Trace Amounts of Cobalt after Cloud Point Extraction as 2-[(2- Mercaptophenylimino) methyl]phenol Complex" *Journal of Brazzil Chemistry society*, (2009), Vol.20, 832-838

- [63]. A. S. Amin, "Study on the solid phase extraction and spectrophotometric determination of cobalt with 5-(2-benzothiazolylazo)-8-hydroxyquinolene", *Arabian Journal of Chemistry*, (2011), Vol.36, 1878-1889.
- [64]. A. A. Nayl, "Extraction and separation of Co(II) and Ni(II) from acidia sulfate solutions using Aliquat 336", *Journal of Hazardous Materials*, (2009), Vol.57, 1224-1233.

Abstract

This work reports a simple and sensitive on-line solid phase extraction system for preconcentration and determination of trace amount of Co (II) by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) . The method is based on the on-line retention of cobalt at pH=6.5 with poly vinyl chloride modified by 3-(2-thiazolylazo)-2,6-diaminopyridine (TADAP). The retained Co (II) was eluted with 1.0 mol L⁻¹ HCL and introduced directly in to the nebulizer of AAS for its determination. The influence of chemical and flow variables on the sensitivity were optimized for the quantitative preconcentration of cobalt (II) and the interference of various ions on the on-line determination of Co (II) was also stadied. At optimized conditions, the calibration graph was obtained linear over the concentration rang of 2-150 µg L⁻¹, for preconcentration of 10.0 ml sample solution. The relative standard deviation (n=6) at 0.01, 0.05, 0.10 and 0.14 mg L⁻¹ level for cobalt were 5.2%, 3.0%, 1.8% and 1.8%, respectively. The 3 δ limit of detection and enrichment factor were 1.3 µg L⁻¹ and 40, respectively. The method was applied to the determination of trace levels of Co (II) in different real sample with satisfactory results.

Keywords: cobalt (II), On-line solid phase extraction, Flame atomic absorption spectrometry.



Shahrood University of Technology

Faculty of Chemistry

M.Sc. Thesis in Analytical Chemistry

**Determination of Co (II) by flame atomic absorption spectrometry
after its preconcentration on modified poly vinyl chloride with
3- (2-thiazolylazo)-2,6-diaminopyridine**

By:

Tahere Zarnoushe Farahani

Supervisor:

Dr. Gh. Bagherian Dehaghi

Advisor:

Dr. M. Arab Chamjangali

Febuary 2013