

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده شیمی

گروه شیمی تجزیه

پایان نامه کارشناسی ارشد

اندازه گیری مقادیر کم کبالت با اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای بعد از پیش تغلیظ با روش

میکرواستخراج مایع - مایع پخشی

دانشجو :

آرزو افروغه

استاد راهنما :

دکتر ناصر گودرزی

استاد مشاور :

دکتر قدمعلی باقریان دهقی

بهمن ماه ۱۳۹۰



دانشگاه صنعتی شاهرود

دانشکده شیمی

پایان نامه کارشناسی ارشد

آرزو افروغه

رشته شیمی تجزیه

تحت عنوان

اندازه گیری مقادیر کم کبالت (II) با طیف سنجی جذب اتمی بعد از پیش تغلیظ با

میکرواستخراج مایع - مایع پخشی

در تاریخ ۱۳۹۰/۱۱/۱۵ توسط کمیته تخصصی زیر جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد رشته شیمی تجزیه

مورد ارزیابی و با درجه عالی مورد پذیرش قرار گرفت.

امضاء	مرتبه علمی	نام و نام خانوادگی	اعضای هیأت داوران
	دانشیار	ناصر گودرزی	استاد راهنمای اول
		--	استاد راهنمای دوم
	دانشیار	قدمعلی باقریان دهقی	استاد مشاور
	استادیار	زهرا کلانتر کههدمی	نماینده شورای تحصیلات تکمیلی
	دانشیار	منصور عرب چم جنگلی	استاد ممتحن
	استادیار	فاطمه مصدرالامور	استاد ممتحن

تقدیم به:

سایبانان آرامش،

به فرشته زندگانیم،

به آن عزیزی که قلبم به یاریش در نهایت دلتنگی تپیدن گرفت.

به بهترین واژه های سخن، مادر عزیزم

همسر عزیزم که همیشه همراهم بود

روح پاک پدرم که شیفته علم و دانش

بود

خواهران محبوبم، (زیتا و لیلی

و

گل باغ همیشه سبز زندگی مان :

امیرعلی

که قشنگ ترین بهانه برای زندگی شیرین

ما می باشد.

سپاسگزاری:

سپاس بی کران خداوند یکتا را که باغ وجود ما را به ضیا دانایی و پرتو روشنایی بخش آگاهی، زینت و طراوت بخشید.

خداوند متعال را شاکرم که با لطف و عنایات بی پایان خویش تحمل سختیها و مرارتها را در مسیر تحقیق برایم آسان ساخت و امید به موفقیت را در من زنده نگه داشت و انجام این تحقیق را برایم ممکن ساخت. من در نوشتن این اثر تحقیقی، مدیون همه آموزگاران، دبیران و استادان بزرگواری هستم که در مقاطع مختلف تحصیلی از خرمن دانش ایشان خوشه چینی کردم و بیش از همه بر خود لازم می دانم مراتب سپاس و قدردانی خویش را از زحمات استاد گرانقدرم جناب آقای دکتر ناصر گودرزی ابراز دارم که از ابتدا تا انتهای این پژوهش همواره مرا با راهنماییهای ارزشمند خود هدایت نمودند.

از جناب آقای دکتر قدمعلی باقریان دهقی بخاطر کمکهایشان در امر مشاوره پایان نامه تشکر می نمایم. از جناب آقای دکتر منصور عرب چم جنگلی و سرکار خانم دکتر فاطمه مصدراامور که زحمت داوری و بازخوانی این پایان نامه را تقبل فرمودند بی نهایت سپاسگزارم.

از زحمات کارکنان محترم دانشکده شیمی، جناب آقای اللهیاری، سرکار خانم جعفری، جناب آقای مهندس کلی، جناب آقای مهندس مومنی و سرکار خانم مهندس برنجی که نهایت همکاری را با اینجانب داشتند کمال قدردانی و سپاسگزاری را دارم.

از همکاری کادر محترم دبیرستان فرزانتگان، دبیرستان نمونه دولتی الزهرا (س) و عفاف شاهرود، سرکار خانمهای حمیده محبی، رویا ذوالفقاری، فاطمه صالحان، مریم اجدادی، گلچهره محمدی و فرحناز کلباسی تشکر و سپاسگزاری می کنم.

از همکاری کارشناسان محترم آزمایشگاه شیمی دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، سرکار خانم پیراسته نوروزی، سرکار خانم داور دوست و سرکار خانم فضلی کمال تشکر و سپاسگزاری را دارم.

همچنین از دوستان خوبم، دانشجویان کارشناسی ارشد شیمی ۸۸ و ۸۹ کمال قدردانی را دارم.

تعهد نامه

اینجانب دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته

دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه
نامی: ...

تحت راهنمایی متعهد می شوم .

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است .
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است .
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است .
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید .
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا یافتههای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است .
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .

تاریخ ۹۰/۱۲/۲۲

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج ، کتاب ، برنامه های رایانه ای ، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد . این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود .
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

* متن این صفحه نیز باید در ابتدای نسخه های تکثیر شده پایان نامه وجود داشته باشد .

تعیین مقادیر کم کبالت با استفاده از اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای بعد از میکرواستخراج

مایع - مایع پخشی

چکیده

در این پایان نامه یک روش ساده و حساس میکرواستخراج مایع- مایع پخشی برای پیش تغلیظ کبالت (II) قبل از اندازه گیری آن با اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای ارائه شده است. روش تجزیه ای بر اساس تشکیل کمپلکس کبالت (II) با لیگاند هیدروکسی نفتول بلو (HNB) می باشد که پس از استخراج کمپلکس تشکیل شده با کربن تتراکلرید به عنوان حلال استخراج و اتانول به عنوان حلال پخش کننده، غلظت کبالت در قطره حلال به روش اسپکترومتری جذب اتمی تعیین مقدار می گردد. تاثیر پارامترهایی مانند pH، نوع و حجم بافر، نوع و حجم حلال استخراج کننده، نوع و حجم حلال پخش کننده، نوع و حجم حلال رقیق کننده، حجم فازآبی، غلظت لیگاند، قدرت یونی، زمان استخراج و سرعت سانتریفیوژ بررسی شده است. همچنین تاثیر یونهای مزاحم بر کارایی روش مورد بررسی قرار گرفت. تحت شرایط بهینه، دامنه خطی منحنی کالیبراسیون در گسترده ۰/۱ - ۰/۰۰۲ میلی گرم برلیتر، حد تشخیص ۰/۱۴۹ میکروگرم بر لیتر و فاکتور پیش تغلیظ ۴۴/۲ بدست آمد. انحراف استاندارد نسبی برای شش اندازه گیری تکراری با غلظت های ۰/۰۲، ۰/۰۳ و ۰/۰۴ به ترتیب ۴/۹۵٪، ۳/۴۵٪ و ۴/۸۷٪ بدست آمده است. این روش برای اندازه گیری کبالت در نمونه های حقیقی و سنتزی با موفقیت بکار برده شده است.

کلمات کلیدی: لیگاند هیدروکسی نفتول بلو، میکرواستخراج مایع - مایع پخشی و اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای.

مقالات مستخرج از این پایان نامه:

۱- اندازه گیری مقادیر کم کادمیم با روش اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای بعد از پیش تغلیظ با روش میکرواستخراج مایع - مایع پخشی، پنجمین سمینار روز جهانی محیط زیست، دانشگاه تهران، اردیبهشت ۱۳۹۰.

۲- کاربرد میکرواستخراج مایع - مایع پخشی - طیف سنجی جذب اتمی شعله ای برای اندازه گیری مقادیر کم کبالت در نمونه های حقیقی، پانزدهمین سمینار شیمی ایران، دانشگاه بوعلی سینا همدان، شهریور ۱۳۹۰.

۳- کاربرد میکرواستخراج مایع - مایع پخشی - طیف سنجی جذب اتمی شعله ای برای اندازه گیری مقادیر کم سرب در نمونه های آبی، پنجمین سمینار ملی شیمی و محیط زیست، دانشگاه شهید چمران اهواز، دی ۱۳۹۰.

فهرست

چکیده

۱	فصل اول	۱
۱ - ۱	اهمیت و کاربرد کبالت	۱
۱ - ۱ - ۱	تاریخچه	۱
۱ - ۱ - ۲	مشخصات کبالت	۱
۱ - ۱ - ۳	کاربردهای کبالت	۲
۱ - ۱ - ۴	تأثیرات بیولوژیکی و زیست محیطی کبالت	۳
۱ - ۱ - ۵	منابع آلودگی	۴
۱ - ۱ - ۵ - ۱	هشدارها	۳
۱ - ۲	مروری بر کارهای انجام شده در زمینه اندازه گیری کبالت	۴
۹	فصل دوم	۹
۹ - ۲	آماده سازی نمونه	۹
۹ - ۲ - ۲	استخراج	۱۰
۹ - ۲ - ۲ - ۱	استخراج مایع - مایع (LLE)	۱۱
۹ - ۲ - ۲ - ۲	استخراج بر روی فاز جامد (SPE)	۱۲
۹ - ۲ - ۳	تقسیم بندی روشهای میکرو استخراج	۱۳
۹ - ۲ - ۳ - ۱	میکرو استخراج با فاز جامد (SPME)	۱۴
۹ - ۲ - ۳ - ۲	میکرو استخراج با فاز مایع (LPME)	۱۵
۹ - ۲ - ۳ - ۳ - ۱	حالت ایستا	۱۶
۹ - ۲ - ۳ - ۳ - ۲	حالت پویا	۱۷
۹ - ۲ - ۳ - ۳ - ۲ - ۳	میکرو استخراج در فاز مایع با کمک فیبر تو خالی (HF/LPME)	۱۸
۹ - ۲ - ۳ - ۳ - ۲ - ۴	میکرو استخراج در فضای فوقانی فاز مایع (HS/LPME)	۲۰
۹ - ۲ - ۳ - ۳ - ۲ - ۵	میکرو استخراج با حلال همراه با استخراج برگشتی (BE/LPME)	۲۱
۹ - ۲ - ۳ - ۳ - ۲ - ۶	میکرو استخراج با حلال آلی توسط میله ای از جنس فیبر متخلخل (SBME)	۲۲
۹ - ۲ - ۳ - ۳ - ۲ - ۷	میکرو استخراج با حلال در نمونه در حال جریان (CFME)	۲۳

۲۴ ۲-۳-۸ - استخراج درون یک قطره (SDME)
۲۵ ۲-۳-۸-۱ - استخراج قطره در قطره (DDSME)
۲۶ ۲-۳-۸-۲ - میکرو استخراج مستقیم توسط یک قطره (DSDME)
۲۷ ۲-۳-۹ - میکرو استخراج مایع - مایع پخشی (DLLME)
۲۹ ۲-۳-۹-۱ - روابط تئوری در میکرو استخراج مایع - مایع پخشی
۳۱ ۲-۴-۴ - طیف سنجی جذب اتمی
۳۱ ۲-۴-۱ - دستگاهوری جذب اتمی
۳۲ ۲-۴-۲ - اصول اندازه گیری در طیف سنجی جذب اتمی
۳۳ فصل سوم
۳۴ ۳-۱-۱ - تعیین مقادیر کم کبالت (II) با طیف سنجی جذب اتمی بعد از پیش تغلیظ با میکرواستخراج مایع - مایع پخشی
۳۴ ۳-۱-۱-۱ - محلولهای مورد استفاده و طرز تهیه آنها
۳۶ ۳-۱-۲ - وسایل و دستگاههای لازم
۳۷ ۳-۱-۳ - طیف جذبی کمپلکس
۳۹ ۳-۱-۴ - بررسی و بهینه سازی متغیر های موثر بر پیش تغلیظ و اندازه گیری کبالت
۴۰ ۳-۱-۵ - روش کار در بهینه سازی متغیرهای موثر بر حساسیت روش DLLME- FAAS جهت اندازه گیری کبالت
۴۱ ۳-۱-۵-۱ - بررسی اثر pH
۴۴ ۳-۱-۵-۲ - بررسی اثر نوع بافر
۴۶ ۳-۱-۵-۳ - بررسی حجم بافر
۴۸ ۳-۱-۵-۴ - بررسی اثر نوع حلال رقیق کننده
۵۰ ۳-۱-۵-۵ - بررسی اثر حجم حلال رقیق کننده
۵۱ ۳-۱-۵-۶ - بررسی اثر نوع حلال استخراج کننده
۵۶ ۳-۱-۵-۷ - بررسی اثر حجم حلال استخراج کننده
۵۹ ۳-۱-۵-۸ - بررسی اثر نوع حلال پخش کننده
۵۸ ۳-۱-۵-۹ - بررسی اثر حجم حلال پخش کننده
۶۱ ۳-۱-۵-۱۰ - بررسی اثر غلظت لیگاند
۶۳ ۳-۱-۵-۱۱ - بررسی اثر قدرت یونی

۶۵ ۳- ۱- ۵- ۱۲ - بررسی اثر حجم فاز آبی
۶۷ ۳- ۱- ۵- ۱۳ - بررسی اثر زمان استخراج
۶۹ ۳- ۱- ۵- ۱۴ - بررسی اثر سرعت سانتریفوژ
۷۱ ۳- ۱- ۶ - شرایط بهینه میکرو استخراج مایع - مایع پخشی
۷۲ ۳- ۱- ۷ - رسم منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ
۷۵ ۳- ۱- ۸ - بررسی اثر مزاحمت
۷۷ ۳- ۱- ۹ - حد تشخیص
۷۸ ۳- ۱- ۱۰ - دقت و صحت
۷۸ ۳- ۱- ۱۱ - تعیین درصد باز یابی
۸۱ ۳- ۱- ۱۲ - تعیین فاکتور پیش تغلیظ
۸۱ ۳- ۱- ۱۳ - کاربرد روش
۸۱ ۳- ۱- ۱۳ - ۱ - اندازه گیری کبالت در نمونه های آب
۸۲ ۳- ۱- ۱۳ - ۲ - اندازه گیری کبالت در نمونه های خاک
۸۳ ۳- ۱- ۱۳ - ۳ - اندازه گیری کبالت در نمونه های میوه و سبزی
۸۶ ۳- ۱- ۱۳ - ۴ - اندازه گیری کبالت در خون

۸۹ فصل چهارم

۹۰ ۴- ۱ - سیستم مورد استفاده
۹۱ ۴- ۲ - ارقام شایستگی روش
۹۲ ۴- ۳ - مقایسه اندازه گیری کبالت با میکرواستخراج مایع - مایع پخشی و اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای با سایر روشها
۹۳ ۴- ۴ - نتیجه گیری
۹۴ ۴- ۵ - آینده نگری
۹۵ مراجع

چکیده

پیوست

فهرست جداول

جدول ۱ - ۱	ویژگیهای عمومی کبالت	۲
جدول ۲ - ۱	روشهای جداسازی	۱۰
جدول ۳ - ۱	مواد شیمیایی مورد استفاده	۳۵
جدول ۳ - ۲	شرایط پارامترهای دستگاهی برای اندازه گیری کبالت	۳۶
جدول ۳ - ۳	نتایج حاصل از بررسی pH	۴۳
جدول ۳ - ۴	نتایج حاصل از بررسی اثر نوع بافر	۴۵
جدول ۳ - ۵	نتایج حاصل از بررسی حجم بافر	۴۷
جدول ۳ - ۶	نتایج حاصل از بررسی اثر نوع حلال رقیق کننده	۴۹
جدول ۳ - ۷	نتایج حاصل از بررسی حجم حلال رقیق کننده	۵۱
جدول ۳ - ۸	نتایج حاصل از بررسی نوع حلال استخراج کننده	۵۳
جدول ۳ - ۹	نتایج حاصل از بررسی حجم حلال استخراج کننده	۵۵
جدول ۳ - ۱۰	نتایج حاصل از بررسی اثر حجم حلال پخش کننده	۵۸
جدول ۳ - ۱۱	نتایج حاصل از بررسی نوع حلال پخش کننده	۶۰
جدول ۳ - ۱۲	نتایج حاصل از بررسی غلظت لیگاند	۶۲
جدول ۳ - ۱۳	نتایج حاصل از بررسی اثر قدرت یونی	۶۴
جدول ۳ - ۱۴	نتایج حاصل از بررسی حجم فاز آبی	۶۶
جدول ۳ - ۱۵	نتایج حاصل از بررسی اثر زمان استخراج	۶۸
جدول ۳ - ۱۶	نتایج حاصل از بررسی اثر سرعت سانتریفوژ	۷۰
جدول ۳ - ۱۷	شرایط بهینه میکرو استخراج مایع - مایع پخشی محلول آبی کبالت	۷۲
جدول ۳ - ۱۸	سیگنالهای تجزیه ای بدست آمده برای غلظت های مختلف کبالت در محدوده ۰/۱۵ - ۰/۰۰۲	۷۴
جدول ۳ - ۱۹	نتایج حاصل از بررسی اثر گونه های مزاحم در اندازه گیری یون کبالت با غلظت ۰/۰۵ میلی گرم بر لیتر	۷۶
جدول ۳ - ۲۰	نتایج حاصل از دقت و صحت روش	۷۸
جدول ۳ - ۲۱	سیگنالهای مستقیم بدست آمده غلظت های ۰/۵۰ - ۰/۵ میلی گرم بر لیتر کبالت (II)	۷۹
جدول ۳ - ۲۲	نتایج محاسبه درصد بازیابی کبالت (II)	۸۰
جدول ۳ - ۲۳	نتایج حاصل از بررسی نمونه های آب	۸۲
جدول ۳ - ۲۴	نتایج حاصل از بررسی نمونه های خاک	۸۳

۸۵	جدول ۳- ۲۵ نتایج حاصل از بررسی اندازه گیری کبالت در نمونه های میوه و سبزی
۸۸	جدول ۳- ۲۶ نتایج حاصل از بررسی اندازه گیری کبالت در خون
۹۳	جدول ۴- ۱ مقایسه روش پیشنهادی با روش های پیش تغلیظ کبالت با اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای

فهرست اشکال

۱۳	۱-۲ نمودار طبقه بندی روشهای میکرو استخراج
	۲-۲ نمونه هایی از تجهیزات SPME
	۳-۲ دستگاه SME ساخته شده کانت ول
۱۷	۴-۲ میکرو استخراج در حالت ایستا فاز مایع
۱۸	۵-۲ مراحل استخراج در فیلم نازک از حلال آلی درون میکروسرنج
۱۹	۶-۲ استخراج درون قطره با حمایت فیبر توخالی (حالت ایستا)
۱۹	۷-۲ استخراج درون قطره با حمایت فیبر توخالی (حالت پویا)
۲۰	۸-۲ استخراج در یک قطره در فضای فوقانی فاز مایع
۲۱	۹-۲ نمایی از سیستم (BE/LPME)
۲۲	۱۰-۲ نمایی از روش استخراج توسط روش SBME
۲۳	۱۱-۲ مراحل استخراج بوسیله روش استخراج با حلال از نمونه در حل جریان
۲۴	۱۲-۲ سیستم استخراج درون یک قطره
۲۵	۱۳-۲ استخراج به روش قطره در قطره
	۱۴-۲ دستگاه استخراج بروش DSDME
۲۹	۱۵-۲ مراحل مختلف DLLME
۳۸	۱-۳ طیف جذبی محلول کمپلکس کبالت با لیگاند HNB
۳۸	۲-۳ طیف جذبی محلول شاهد
۳۹	۳-۳ بررسی اثر زمان بر کامل شدن واکنش کبالت با لیگاند HNB
۴۴	۴-۳ بررسی اثر pH بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS
۴۶	۵-۳ بررسی نوع بافر بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS
۴۸	۶-۳ بررسی اثر حجم بافر بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS
۴۹	۷-۳ بررسی اثر نوع حلال رقیق کننده بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS
۵۱	۸-۳ بررسی اثر حجم حلال رقیق کننده بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS
۵۳	۹-۳ بررسی اثر نوع حلال استخراج کننده بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS

- ۳- ۱۰ بررسی اثر حجم حلال آلی بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME – FAAS ۵۶
- ۳- ۱۱ بررسی اثر حجم حلال پخش کننده بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME – FAAS ۵۸
- ۳- ۱۲ بررسی اثر نوع حلال پخش کننده بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME – FAAS ۶۰
- ۳- ۱۳ بررسی اثر غلظت لیگاند بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME – FAAS ۶۲
- ۳- ۱۴ بررسی اثر قدرت یونی بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME – FAAS ۶۴
- ۳- ۱۵ بررسی اثر حجم فاز آبی بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME – FAAS ۶۶
- ۳- ۱۶ بررسی اثر حجم فاز آبی بر راندمان استخراج با روش DLLME – FAAS ۶۷
- ۳- ۱۷ بررسی اثر زمان استخراج بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME – FAAS ۶۹
- ۳- ۱۸ بررسی اثر سرعت سانتریفوژ بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME – FAAS ۷۱
- ۳- ۱۹ منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ برای کبالت ۷۵
- ۳- ۲۰ منحنی سیگنال مستقیم کبالت (II) ۷۹
- ۴- ۱ ساختار گسترده ی لیگاند HNB ۹۰
- ۴- ۲ نمایش پروتونه شدن الكل و تشکیل زوج یون با گروههای سولفونات ۹۲

فصل اول

مقدمه

۱-۱- اهمیت و کاربرد کبالت

۱-۱-۱- تاریخچه

کبالت و ترکیبات آن از زمان های قدیم برای ایجاد رنگ آبی در شیشه سازی و سفالگری به کار می رفته است. در سال ۱۷۳۵ یک دانشمند سوئدی به نام جورج براندت^۱ برای اولین بار فلز کبالت را به صورت یک نمونه ی ناخالص با احیا کردن از کانسنگ آن جدا کرد.

در سال ۱۷۸۰ ت. ا. برگمان^۲ نشان داد که این فلز در واقع یک عنصر است. استفاده از کبالت به عنوان یک فلز به سال ۱۹۰۷ برمی گردد. در سال ۱۹۳۰ مشاهده شد که افزودن کبالت به آلیاژهای خاصی از آهن، نیکل و آلومینیوم ویژگی آنها را به عنوان آهنربای دائم افزایش می دهد.

استخراج کانی های کبالت، نیکل، طلا و نقره در سال ۱۹۳۲ در مراکش آغاز شد. تولید کبالت از کانه های مس زامبیا در سال ۱۹۳۳ انجام گرفت. گلن سیبرگ^۳ و جان لیونگود^۴ در سال ۱۹۳۸ کبالت ۶۰ را کشف کردند. در سال ۱۹۴۰ نیز شرکت بین المللی نیکل، روش جدیدی را برای بازیافت کبالت از کانه های نیکل معرفی کرد.

۱-۱-۲- مشخصات کبالت

نام کبالت از واژه آلمانی Cobalt یا Kobald گرفته شده است که به معنی روح شیطان^۵ است. این نام را کارگران معدن به علت سمی و دردسر ساز بودن این عنصر برای آن انتخاب کردند (کبالت سایر عناصر معدن را آلوده و کم عیار می کند). کبالت سی و دومین عنصر از نظر فراوانی در پوسته زمین است که مقدار آن نیز ۰/۰۰۲ درصد است.

¹ George Brandt

² T. A. Bregman

³ Glenn Seaborg

⁴ John livingood

⁵ Evil Sprit

فصل اول - مقدمه

کبالت فلزی نادر، به رنگ سفید تا خاکستری رنگ یا سفید - نقره ای با نماد Co می باشد. این عنصر بصورت فلز آزاد وجود ندارد و از لحاظ ژئوشیمیایی نیز مشابه نیکل است و کانی های آن همراه کانی های نیکل یافت می شود. کبالت با منشا طبیعی دارای یک ایزوتوپ پایدار ^{59}Co است، که بصورت طبیعی یافت شده و دارای ۲۲ ایزوتوپ رادیو اکتیو بوده که فراوانترین آنها به ترتیب، ^{60}Co با نیمه عمر ۵/۲۷۱۴ سال، ^{57}Co با نیمه عمر ۲۷۱/۷۹ سال، ^{56}Co با نیمه عمر ۷۷/۲۷ روز و ^{59}Co با نیمه عمر ۷۰/۸۶ روز می باشد [۱]. کبالت به دو حالت اکسایش (II) و (III) وجود دارد و معمولاً حالت‌های با عدد اکسایش بالاتر پایدار نیستند. برخی ویژگیهای عمومی کبالت در جدول (۱-۱) آمده است.

جدول (۱-۱): ویژگیهای عمومی کبالت

۲۷	عدداً اتمی
۵۸/۹۳۳	وزن اتمی (g/mol)
۸/۹	وزن مخصوص (g/cm^3)
۱۴۹۵	نقطه جوش ($^{\circ}\text{C}$)
۲۸۷۰	نقطه ذوب ($^{\circ}\text{C}$)
$[\text{Ar}]_{18}, 3d^7, 4s^2$	آرایش الکترونی

۱-۱-۳- کاربردهای کبالت

کبالت دارای کاربردهای متنوعی است که در زیر به برخی از آنها اشاره می شود :

- آلیاژهای مغناطیسی برای آهنربای دائمی قوی

- کاتالیزور در صنایع شیمیایی و نفتی

- تولید رنگ های روغنی

- استریلیزه کردن غذاها با روش تابشی

۱-۱-۴- تاثیرات بیولوژیکی و زیست محیطی کبالت

در سیستم های بیولوژی کبالت به عنوان یک عنصر جزئی در مقیاس میلی گرم و میکروگرم بوده و بیشتر در اعمال آنزیمی دخالت دارد. تمامی موجودات زنده (حتی انسان ها) به مقادیر کمی از نمکهای کبالت نیاز دارند به نحوی که ppm ۱۳-۳۰ کبالت در خاک، سلامتی جانوران را تامین می کند. کبالت هسته اصلی ویتامین کوبالامین^۶ یا B_{۱۲} می باشد که این ویتامین در خون سازی و حفظ سلامت اعصاب نقش دارد.

۱-۱-۵- منابع آلودگی

کارخانه های تولید کننده فرآورده های کبالت می توانند از مهم ترین منابع آلودگی کبالت باشند. کبالت از طریق منابع طبیعی، سوختن زغال یا نفت و یا تولید آلیاژهای کبالت وارد طبیعت می شود. باطله های صنعتی و همچنین صنایع ریخته گری نیز از منابع آلودگی کبالت به شمار می آیند.

۱-۱-۵-۱- هشدارها

برخی بیماریهای ناشی از قرار گرفتن در معرض کبالت عبارتند از:

- بیماریهای ریوی و قلبی
- بیماریهای پوستی در اثر تماس پوست با محلولهای حاوی کبالت.
- ورود مقدار زیاد کبالت به بدن می تواند باعث برونشیت حاد شود.
- موسسه بین المللی تحقیقات سرطان، این عنصر را سرطان زای احتمالی معرفی نموده است.

⁶ Cobalamine

۲-۱- مروری بر کارهای انجام شده در زمینه اندازه گیری کبالت

با توجه به موارد ذکر شده، اندازه گیری مقادیر بسیار کم کبالت اهمیت زیادی دارد. با استفاده از طیف سنجی جذب اتمی الکتروترمال، شعله و دیگر روش های اسپکترومتری می توان مقدار کبالت را در آب های محیطی و فاضلاب ها را تعیین نمود. اما از آن جایی که تعیین مقادیر بسیار کم کبالت در آب از طریق اندازه گیری مستقیم امکان پذیر نیست، بایستی از روش های پیش تغلیظ و جداسازی قبل از اندازه گیری استفاده کرد. در اینجا به ارائه گزارش هایی که در آنها اندازه گیری کبالت توسط پیش تغلیظ به صورت میکرو استخراج مایع - مایع جفت شده با طیف سنجی جذب اتمی شعله ای انجام شده است، می پردازیم.

در سال ۲۰۰۱، جیانرونگ چن^۷ و همکارانش از روش استخراج نقطه ابری و اسپکترومتری جذب اتمی شعله برای پیش تغلیظ و تعیین مقادیر کم کبالت و نیکل، در نمونه های مختلف آب استفاده نمودند. این کار بعد از تشکیل کمپلکس با لیگاند ۱- (۲- تیاژولیل آزو) ۲- نفتول (TAN) صورت گرفته است. برای آنالیز از اسپکترومتری جذب اتمی شعله استفاده شده است و Triton x-114 نیز به عنوان سورفاکتانت بکار رفته است. تحت شرایط بهینه حد تشخیص ۰/۲۴ میکرو گرم برلیتر برای کبالت بدست آمد [۲].

در سال ۲۰۰۲ زئوفن ین^۸ و همکارانش از روش FI-FAAS برای اندازه گیری مقادیر کم کبالت استفاده کردند. این کار بعد از تشکیل کمپلکس با لیگاند ۲- نیتروز ۱- نفتول صورت گرفته است. تحت شرایط بهینه حد تشخیص ۳/۲ میکروگرم بر لیتر و فاکتور پیش تغلیظ ۱۷/۲ برای کبالت بدست آمد. [۷۱].

در سال ۲۰۰۳، کلیسیه^۹ و همکارانش از روش استخراج نقطه ابری بر اساس فاز مایسلی و اسپکتروسکوپی جذب اتمی شعله برای پیش تغلیظ و تعیین مقادیر کم کبالت استفاده نمودند. این روش با استفاده از ترتیون X-۱۱۴ و سدیم دو دسیل سولفات^{۱۰} (SDS) به عنوان محیط مایسلی، زمانیکه جداسازی در حضور اسید کلریدریک یا کلرید سدیم اضافی قرار می گیرد، انجام می شود. حد تشخیص روش

¹ Jianrong Chen

⁸ Xuefeng Yin

³ Clesia

⁴ Sodium dodecylsulfate

فصل اول - مقدمه

۱/۱ میکروگرم بر لیتر زمانیکه کلرید سدیم استفاده شده و ۱/۶ میکروگرم بر لیتر زمانیکه از هیدروکلریک اسید استفاده شده و گستره ی خطی برای هر دو محیط ۲۰۰-۲۵ میکرو گرم بر لیتر گزارش شده است. [۳] در سال ۲۰۰۳، منظوری و همکارانش از روش استخراج نقطه ابری و اسپکترومتری جذب اتمی برای پیش تغلیظ و تعیین مقادیر کم کبالت در نمونه های بیولوژیکی استفاده نمودند. در این روش آب از فاز غنی از سورفاکتانت رقیق شده زدوده شده است. در فرآیند استخراج نتایج نشان داده است که زدودن آب از این فاز باعث افزایش فاکتور غنی سازی تا ۴ برابر شود. PAN و اکتیل فنوکسی پلی اتوکسی اتانول (تریتون X- ۱۱۴) به عنوان لیگاند آگریز و سورفاکتانت غیر یونی استفاده شده است. فاکتور پیش تغلیظ ۱۱۵ برای کبالت استخراج شده از ۱۰ میلی لیتر نمونه گزارش شده است. حد تشخیص روش نیز ۰/۳۸ میکروگرم بر لیتر گزارش شده است [۴].

در سال ۲۰۰۶ جورج. ال. دناتی^۱ و همکارانش از روش استخراج نقطه ابری و اسپکترومتری جذب اتمی برای پیش تغلیظ و تعیین مقادیر کم کبالت در نمونه های بیولوژیکی استفاده نمودند. بهترین حساسیت با بکار بردن آمونیوم پیرولیدین دی تیو کاربامات (APDC) و تریتون X-۱۱۴ به عنوان سورفاکتانت، بدست آمده است. حد تشخیص بدست آمده ۲/۲ میکروگرم بر لیتر و انحراف استاندارد ۵/۸٪ با تعداد ۱۰ اندازه گیری گزارش شده است [۵].

در سال ۲۰۰۷، جمالی و همکارانش یک روش استخراج مایع- مایع همگن برای تعیین تعدادی از فلزات از جمله کبالت در نمونه های آب با استفاده از تشکیل کمپلکس با ۴- بنزیل بی پیریدیل دی سیتو کربومات پتاسیم (K-4BPDC) ارائه دادند. در این روش آب، یون تترا بوتیل آمونیوم و کلروفرم به عنوان یک سیستم سه تایی استفاده شده است. پدیده ی جداسازی فاز با تشکیل زوج یون جدید (TBA⁺) و یون پرکلرات صورت گرفته است. بعد از بهینه کردن شرایط، فاکتور تغلیظ ۲۰۰ برای ۱۰ میلی لیتر نمونه وگستره خطی ۱۵۰۰-۲۰ میکروگرم بر لیتر وحد تشخیص ۱۰ میکروگرم بر لیتر بدست آمده است [۶].

¹ George L. Donati

فصل اول - مقدمه

در سال ۲۰۰۷، موهارم اینسه^{۱۲} و همکارانش یک روش استخراج با فاز جامد و اسپکترومتری جذب اتمی شعله برای پیش تغلیظ کبالت ارائه دادند. در این روش پیش تغلیظ کبالت بر روی فاز جامد آمبرلیت ^{۱۳}XAD7 صورت گرفته است. تحت شرایط بهینه، حد تشخیص ۰/۱ نانو گرم بر میلی لیتر و گستره خطی ۳/۵-۰/۵ نانو گرم بر میلی لیتر برای کبالت گزارش شده است [۷].

یک روش سریع و ساده با عنوان میکرواستخراج مایع-مایع پخشی برای پیش تغلیظ کبالت توسط قره باقی و همکارانش در سال ۲۰۰۸ ارائه شده است. در این روش جدید، مقادیر کم کلروفرم به عنوان حلال استخراج کننده در اتانول خالص که به عنوان حلال پخش کننده است، حل شده است. سپس مخلوط دو تایی به وسیله ی سرنگ به داخل نمونه آبی شامل یونهای کبالت که با لیگاند ۱- (۲- پیریدیل آزو) ۲- نفتول (PAN) تشکیل کمپلکس داده اند، وارد می شود، سپس یک محلول ابری تشکیل شده و کمپلکس Co-PAN به داخل قطره کلروفرم استخراج می شود. بعد از سانتریفوژ قطره ها در ته لوله آزمایش مخروطی ته نشین شده و سپس اندازه گیری انجام می شود. حد تشخیص ۰/۵ میکرو گرم بر لیتر و انحراف استاندارد برای غلظت ۵۰ میکرو گرم بر لیتر و برای ۵ اندازه گیری ۲/۵٪ گزارش شده است [۸].

در سال ۲۰۰۹ یک روش میکرو استخراج مایع - مایع پخشی همراه با جذب اتمی شعله ای برای اندازه گیری مقادیر کم کبالت توسط پاتریسیا ژاور بالیزیه^{۱۴} و همکارانش ارائه شده است. در این روش از Br- TAO به عنوان عامل کمپلکس دهنده استفاده گردیده است. همچنین در این روش از کربن تترا کلرید به عنوان حلال استخراج و از متانول به عنوان حلال پخش کننده استفاده شده است. حد تشخیص این روش ۰/۹ میکروگرم بر لیتر و فاکتور پیش تغلیظ ۱۶ گزارش شده است [۹].

در سال ۲۰۰۹، گودرزی یک روش میکرواستخراج حلال همراه با طیف سنجی جذب اتمی شعله برای اندازه گیری کبالت ارائه نمود. در این روش از لیگاند ۲- نیتروز-۱ - نفتول و دکانول بترتیب بعنوان عامل کمپلکس دهنده و حلال استخراج کننده استفاده شدند. در شرایط بهینه، گستره ۱۰-۴۰۰ میکروگرم برلیتر، حد تشخیص ۰/۲۰ میکروگرم بر لیتر و فاکتور پیش تغلیظ ۲۵/۸۳ گزارش شده است [۱۰].

² Muharrem Ince

¹³ Amberlite

¹⁴ Patrícia Xavier Baliza

فصل اول - مقدمه

در سال ۲۰۱۰ نیز روش میکرو استخراج مایع-مایع پخشی برای اندازه گیری کبالت با جذب اتمی شعله توسط رمضانی و همکارانش ارائه شده است. در این روش از ۲- نیتروز ۱- نفتول^{۱۵} به عنوان عامل کمپلکس دهنده استفاده شده است و از شناور سازی قطره بصورت فاز جامد استفاده شده است. در این روش از استون به عنوان حلال پخش کننده واز دکانول به عنوان حلال استخراج کننده استفاده شده است. حد تشخیص این روش ۶ میکروگرم بر لیتر و انحراف استاندارد نسبی و فاکتور پیش تغلیظ برای این روش بترتیب ۲/۶۴٪ و ۶۸ گزارش شده است [۱۱].

در سال ۲۰۱۰ یک روش میکرو استخراج مایع - مایع پخشی با جذب اتمی برای اندازه گیری کبالت در نمونه های آبی توسط عبدالمحمدزاده ارائه شده است. در این روش از مایع یونی هگزیل پیریدیوم هگزا فلورئور فسفات [C₆Py] [PF₆] به عنوان حلال استخراج کننده استفاده شده است. در این روش از ۱- فنیل ۳- متیل ۴- بنزوئیل ۵- پیریدازول (PMBP) بعنوان عامل کمپلکس دهنده استفاده شده است. حد تشخیص این روش و فاکتور پیش تغلیظ به ترتیب ۰/۷ میکروگرم بر لیتر و ۶۰ بدست آمده است، انحراف استاندارد نسبی برای این روش برای ۶ اندازه گیری ۲/۳۶٪ و گستره ی خطی غلظت نیز ۱۶۶-۲ میکروگرم بر لیتر گزارش شده است [۱۲].

در سال ۲۰۱۱ یک روش میکرو استخراج مایع-مایع پخشی با اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای مجهز به تصحیح زیمان توسط جینگ ونگ ژانگ^{۱۶} و همکارانش برای اندازه گیری مقادیر کم کبالت ارائه شده است. در این روش کبالت با آمونیوم پیرولیدین دی تیو کربامات (APDC) تشکیل کمپلکس داده است. از اتانول به عنوان حلال پخش کننده و از ۱- ان دکانول به عنوان حلال استخراج کننده استفاده شده است. حد تشخیص این روش ۰/۳۵ میکرو گرم بر لیتر و گستره ی خطی این روش ۱۱۰-۱/۱۵ میکروگرم بر لیتر بدست آمده است. انحراف استاندارد نسبی این روش نیز ۳/۲۶٪ و فاکتور پیش تغلیظ ۱۶۰ برای این روش گزارش شده است [۱۳].

¹ 2- nitroso 1- naphthol

² Jing-Weng Zhang

فصل دوم

تئوری

۲-۱- آماده سازی نمونه

بیشتر وسایل و دستگاه های اندازه گیری در شیمی تجزیه قادر نیستند آنالیت مورد نظر را بطور مستقیم از بافت نمونه جدا کرده و مقدار آن را اندازه گیری نمایند، در نتیجه معمولاً در تمامی آزمایشات به یک مرحله آماده سازی نمونه همواره نیازمند خواهیم بود. مفهوم اساسی آماده سازی، تبدیل بافت واقعی به نوعی از نمونه است که برای تجزیه مناسب باشد.

آماده سازی به دلایل زیر انجام می گیرد [۱۴].

- تبدیل گونه به فرم مناسب تر برای جداسازی و تشخیص بهتر
 - حذف مزاحمتها بخصوص مزاحمتهای ناشی از بافت نمونه در مراحل جداسازی و تشخیص نمونه که این کار گزینش پذیری روش را افزایش می دهد.
 - تغلیظ آنالیت به منظور اندازه گیری مقادیر کم آن.
 - دست یابی به یک روش مناسب تکرار پذیر که مستقل از تغییرات بافت نمونه عمل نماید.
- تجهیزات مورد نیاز برای جداسازی و یا پیش تغلیظ بستگی به روش انتخابی و به نوع نمونه مورد بررسی دارد. به هر حال اگر تنها یکی از شاخصهای فیزیکی یا شیمیایی گونه تجزیه شونده یا سایر ترکیبات موجود در بافت نمونه متفاوت باشد، می توان آنها را از هم جدا کرد. در جدول (۲-۱) به تعدادی از روشهای جداسازی اشاره شده است [۱۴].

یکی از روشهای پیش تغلیظ که بطور گسترده ای مورد استفاده قرار می گیرد روش استخراج است که بطرق مختلفی از قبیل استخراج مایع- مایع، استخراج جامد در مایع و صورت می پذیرد. که در زیر حالت کلی استخراج و انواع روشهای استخراج مایع- مایع را به طور خلاصه شرح داده می شود.

فصل دوم - تئوری

جدول (۲-۱): روش های جداسازی [۱۴]

اساس جداسازی	جداسازی بوسیله گرما	جداسازی به وسیله واکنشگرهای شیمیایی مختلف	جداسازی به وسیله مایع	استفاده از غیر یکنواختی غلظت به عنوان اساس جداسازی
فراریت	تقطیر	-	-	-
ضریب توزیع	-	کروماتوگرافی گاز- مایع استخراج با حلال کروماتوگرافی توزیعی ^{۱۷}	-	-
تعادل تعویضی ^{۱۸} (تبادلی)	-	تعویض یون	-	-
فعالیت سطحی	-	کروماتوگرافی جذب سطحی کروماتوگرافی گاز- جامد	-	-
هندسه مولکولی	-	-	ژل صافی دیالیز الکترودیالیز	-
مهاجرت الکتریکی	-	-	-	الکتروفورز

۲-۲- استخراج

مرحله آماده سازی نمونه در یک روش تجزیه ای معمولاً شامل یک فرایند استخراج است که منجر به تغلیظ گونه های مورد نظر وجداسازی آنها از بافت نمونه می شود. استخراج می تواند در میزان گزینش پذیری، سرعت و سهولت متفاوت باشد. روش های متعددی از قبیل استخراج توسط حلال از جامدات^{۱۹} و

¹ partition chromatography

² Exchange equilibrium

³ Solid phase extraction

فصل دوم - تئوری

استخراج مایع - مایع^{۲۰} از محلول ها مورد استفاده قرار می گیرند. حلال های مورد استفاده نیز بطور معمول، شامل مایعات آلی و سیالات فوق بحرانی می باشند.

با تغییر دادن شرایط فشار، دما، pH و انتخاب صحیح حلال می توان گزینش پذیری روش استخراج را بهبود بخشید. کلیه روش های استخراج از مفاهیم اساسی مشابهی برای تغلیظ گونه و متمرکز کردن آن در یک فاز بهره می جویند. هر گونه بر اساس پارامترهایی نظیر ضریب توزیع، دما و حجم نسبی فازها بین دو فاز توزیع می شود.

۲-۲-۱- استخراج مایع-مایع (LLE)

این روش بر اساس توزیع یک گونه بین دو حلال غیر قابل امتزاج استوار است. معمولاً در این روش یک فاز آبی و فاز دیگر از نوع حلال آلی است و گونه مورد نظر که در هر دو این فازها قابل حل شدن است، بین آنها توزیع می شود. در این روش ترکیبات مورد نظر می توانند به صورت گزینشی از محلولهای آبی به حلالهای آلی و یا بالعکس استخراج گردند. در این روش راندمان استخراج به ضریب توزیع، نسبت حجمی فازها و تعداد دفعات استخراج بستگی دارد و همچنین انتخاب نوع حلال نیز به نوع گونه ها بستگی دارد [۱۴-۱۵]. مشکل بسیار مهم این روش، استفاده از مقادیر بسیار زیاد از حلالهای آلی است که علاوه بر هزینه زیاد به دلیل سمی بودن و مصرف حجم زیاد از حلالهای خالص، گران قیمت و همچنین تبخیر و دور ریختن حجم زیادی از این حلالهای سمی و قابل اشتعال، باعث خطرات جدی در آزمایشگاه و همچنین برای فرد آزمایش کننده خواهد شد. از طرف دیگر، مواد زاید خطرناکی را نیز بوجود خواهد آورد که از بین بردن خود این مواد زاید و یا تبدیل آنها به مواد کم خطر نیز بسیار هزینه بر بوده و در نهایت خود کار نمودن روش مشکل است [۱۵-۱۷]

¹ Liquid- liquid extraction

۲-۲-۲- استخراج بر روی فاز جامد (SPE)

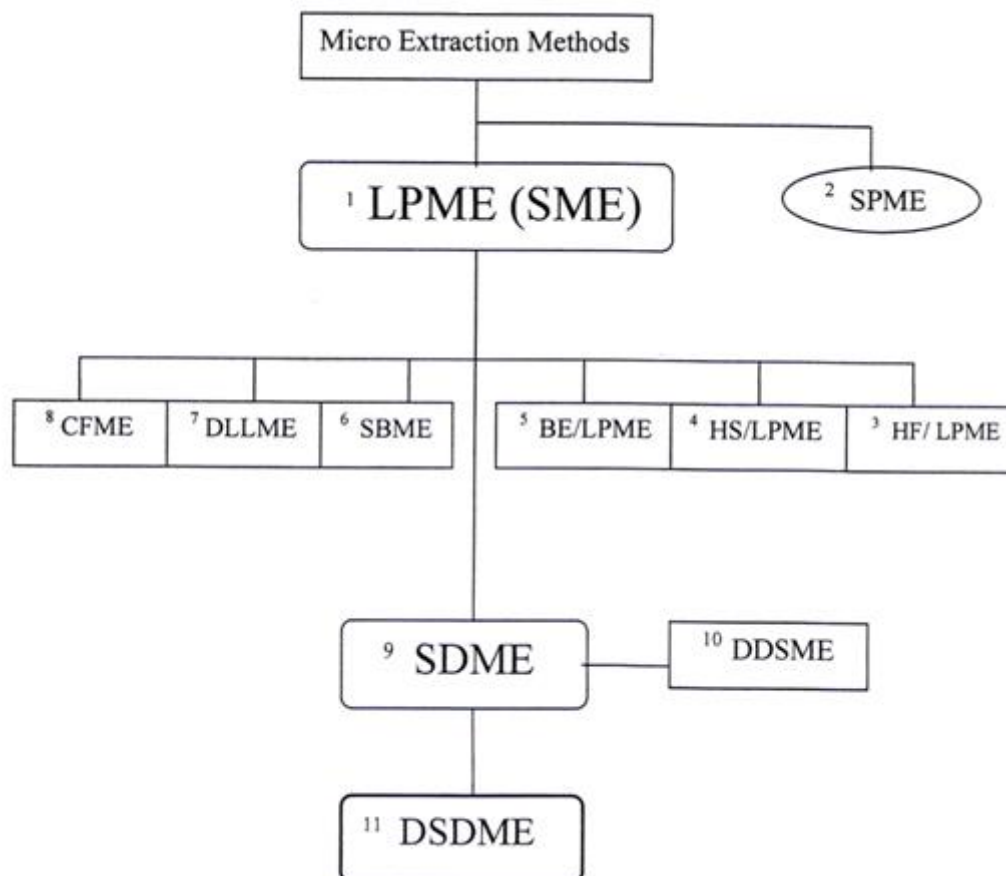
SPE نیز یکی از روش های جداسازی است که از سال ۱۹۷۰ رواج پیدا کرد. در این روش حل شونده ها از یک فاز مایع به درون یک فاز جامد استخراج می گردند. این روش شامل ذراتی کوچک و متخلخل از جنس سیلیکا است که با یک فاز یا پلیمر آلی پیوند یافته است. فاز ساکن در این روش به صورت دانه های ماده جاذب (کارتریج) یا دیسکهای مسطح هستند که بر روی ذرات سیلیکا تثبیت گشته اند و در مرحله بعد درون تیوپ های کوچک قرار داده می شوند. نمونه حاوی آنالیت که درون فاز متحرک هستند از درون این تیوپها عبور داده شده و آنالیت بر روی فاز ساکن تغلیظ می گردد [۱۸].

از مزایای این روش می توان به سرعت، کاربرد آسان، استفاده از حجم های کم حلالهای آلی، تغلیظ خوب، خودکار شدن روش و سازگاری بیشتر با محیط را نام برد. از طرفی در مواردی گونه ها به دلیل جذب سطحی قوی براحتی از روی فاز جامد جدا نمی گردند و برای جداسازی به چند مرحله شویش و در مورد دستگاه اندازه گیری GC به دماهای بالاتر احتیاج است. از معایب دیگر آن می توان به هزینه بر بودن و عمر محدود فاز های ساکن اشاره نمود [۱۹].

از مهمترین مسائلی که همواره ذهن دانشمندان را به خود مشغول داشته است، دست یابی به روشی است که در آن نمونه سریع تر، ساده تر و ارزان تر، به صورت تکرارپذیر و دارای سازگاری بیشتر با محیط زیست آماده سازی گردد. در دو دهه اخیر، به منظور غلبه بر مشکلاتی که در روش های استخراج LLE و SPE وجود داشت، تکنیک های جدیدی ارائه شده است که در آن ها آماده سازی نمونه با سرعت، سهولت و کارایی بالاتری انجام می شود. این روش های جدید، روش های میکرو استخراج نامیده می شوند [۱۹].

۳-۲- تقسیم بندی روش های میکرو استخراج

دیاگرام صفحه بعد تقسیم بندی تعدادی از مهم ترین روشهای ریز استخراج را به صورت ساده نشان می دهد که در قسمت های بعد بطور خلاصه شرح داده می شوند.



(۱-۲) : نمودار طبقه بندی روشهای میکرو استخراج

¹Liquid phase microextraction (Solvent microextraction)

² Solid phase microextraction

³ Hollow fiber liquid phase microextraction

⁴ Head space liquid phase microextraction

⁵ Back / liquid phase microextraction

⁶ Solvent bar microextraction

⁷ Dispersive liquid- liquid microextraction

⁸ Continous flow microextraction

⁹ Single drop microextraction

¹⁰ Drop in Drop solvent microextraction

¹¹ Directly single drop solvent microextraction

فصل دوم - تئوری

تقسیم بندی روش های میکرو نیز به دو دسته اصلی میکرواستخراج با فاز جامد و میکرو استخراج با فاز مایع انجام می گیرد.

۲-۳-۱- میکرو استخراج با فاز جامد (SPME)^۱

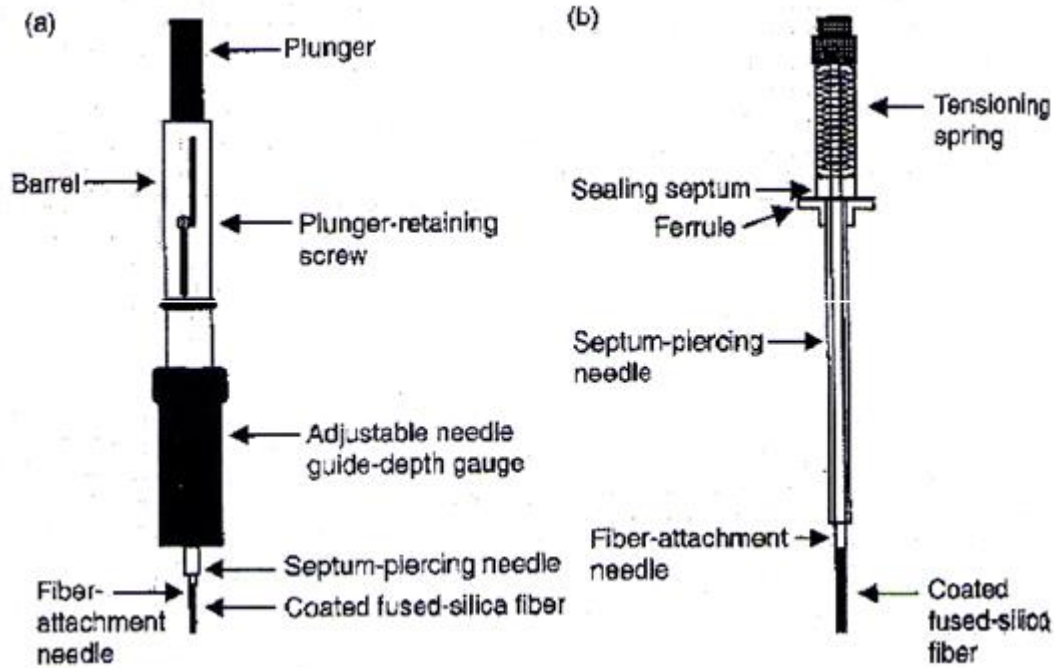
در روش میکرو استخراج با فاز جامد، یک فاز جامد استخراج کننده با حجم بسیار کوچک بر روی فیبر هایی از جنس سیلیکا نشانده می شود. در شکل (۲-۱) دو نمونه از تجهیزاتی که در SPME استفاده می شود، نشان داده شده است [۱۹].

روش SPME معمولاً از سه الی چهار مرحله متوالی تشکیل شده است. ابتدا جاذب جامد توسط یک حلال مناسب آماده سازی می شود. این مرحله بسیار ضروری است زیرا سبب مرطوب شدن مواد پر کننده شده و گروههای عاملی را حلال پوشی کرده و ناخالصی های موجود در مواد جاذب حذف می شوند. مرحله دوم عبور نمونه از داخل فاز جامد است. بسته به نوع سیستم مورد استفاده، حجم های نمونه می تواند بین یک میلی لیتر تا یک لیتر تغییر کند. نمونه ممکن است با استفاده از نیروی جاذبه، پمپ کردن و با ایجاد خلا از داخل ستون عبور نماید.

مرحله سوم ممکن است شستن جامد جاذب با یک حلال مناسب و دارای قدرت شویش پایین باشد. اجزای بافت جذب شده بر روی فاز جامد توسط حلال شسته می شوند بدون اینکه آنالیت ها واجذب شوند. همچنین اگر آب در آنالیز آنالیت استخراج شده مشکل ساز باشد آنگاه یک مرحله خشک کردن جهت حذف آب از سطح فاز جامد توصیه می شود.

مرحله نهایی شستن آنالیت های مورد نظر با حلال مناسب است بدون اینکه اجزای بافت باز داری شده و جذب شوند. حجم حلال شوینده باید طوری انتخاب شود تا باز یافت کمی آنالیت ها همراه با حداقل رقیق سازی امکان پذیر شود. بعلاوه سرعت جریان شوینده برای اطمینان از شویش کامل باید با دقت تنظیم شود [۲۰].

¹Solid phase microextraction



شکل (۱-۲): نمونه هایی از تجهیزات SPME [۱۹]

۲-۳-۲- میکرو استخراج با فاز مایع (LPME)^{۲۲}

در سال ۱۹۷۹ موری^{۲۳} با استفاده از ۲۰۰ میکرولیتر حلال آلی یک سیستم میکرواستخراج با GC ارائه داد [۲۱]. پس از آن تلاش های زیادی برای کاهش بیشتر حجم آلی صورت گرفت تا اینکه در سال ۱۹۹۵ جین نات^{۲۴} و کانت ول با بکار گیری اصول استخراج مایع - مایع توانستند سیستمی ابداع کنند که در آن حجم حلال آلی به ۸/۰ میکرولیتر کاهش یافته بود. کاهش حجم حلال به مقادیر بسیار کم و توافق بین ضرایب انتشار تجربی و تئوری بر اعتبار این روش افزود. در ادامه مطالعات سیستم به صورت تئوری، جین نات و همکارانش از این روش برای آنالیز یک ماکرو مولکول استفاده نمودند و نتایج حاصل در مقایسه با فاز جامد نشان داد که این روش کارایی مناسبی دارد. LPME شامل دو حالت مختلف ایستا^{۲۵} و پویا^{۲۶} می باشد [۲۲].

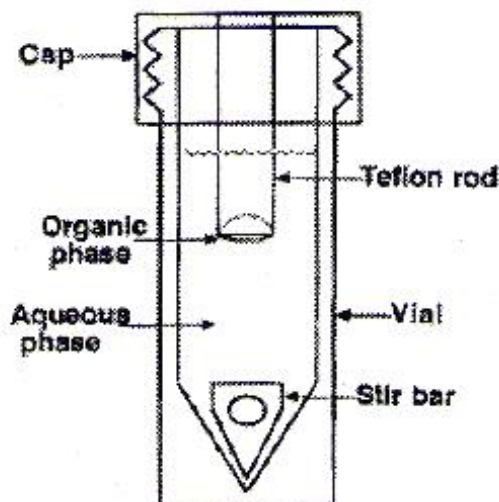
¹ Liquid phase microextraction

² Murray

³Jean not

¹Static

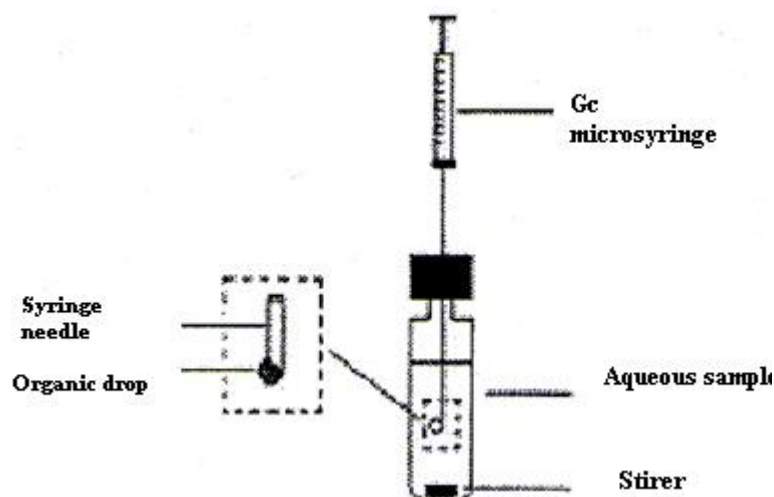
² Dynamic



شکل (۲-۲) : دستگاه SME ساخته شده کانت ول [۲۲]

۲-۳-۱-۲- حالت ایستا

در این حالت با استفاده از یک سرنگ، قطره آلی درون فاز آبی تشکیل می شود و فاز آبی نیز در حال هم خوردن است. بعد از دادن زمان کافی برای انجام عمل استخراج، قطره دوباره به داخل سرنگ کشیده می شود و به دستگاه اندازه گیری تزریق می گردد. مشکل اصلی در حالت ایستا این است که قطره آویخته از سوزن میکروسرنگ به دلیل هم زدن فاز آبی به راحتی از سوزن جدا می شود. در کل حالت ایستا در نمونه هایی که بافت تمیز دارند بهتر عمل می نماید زیرا ذرات معلق و همچنین حباب هوا می تواند با ناپایدار نمودن قطره بر روی استخراج اثر بگذارد. دو عامل بسیار مهم بر ناپایداری قطره، سرعت هم زدن فاز آبی و زمان استخراج می باشند. نمایی از حالت ایستا در روش LPME در شکل (۳-۲) نشان داده شده است [۲۳].

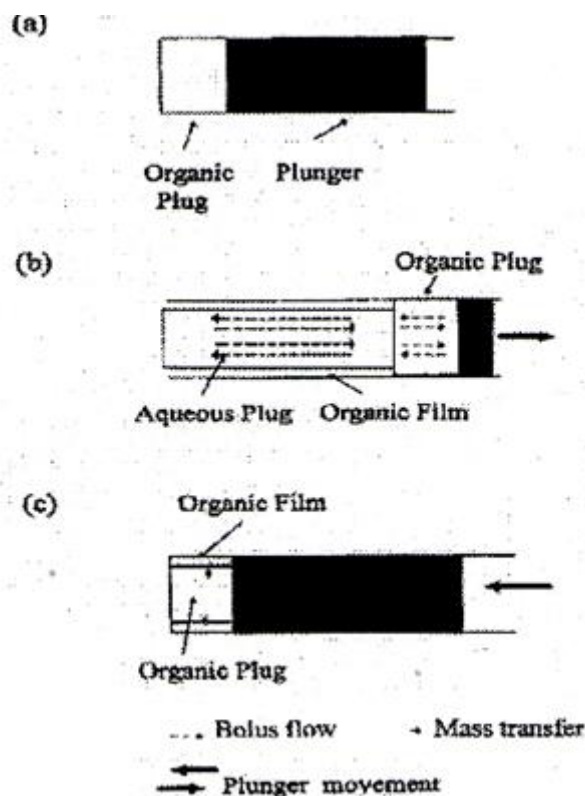


شکل (۳-۲) : میکرو استخراج در حالت ایستا فاز مایع [۲۳]

۲-۲-۳-۲- حالت پویا

در این حالت، بعد از اینکه حلال آلی داخل سرنگ کشیده شد، به دنبال آن فاز آبی نیز به داخل سرنگ کشیده می شود و برای یک مدت زمان کوتاه در مجاورت و تماس با میکرو فیلم هایی از حلال قرار می گیرد که در هنگام کشیده شدن فاز آبی به داخل سرنگ، بر دیواره ی آن ایجاد می شوند. در مرحله بعد فاز آبی خارج شده و میکروفیلم های حلال آلی به درون توده حلال بر می گردند. این عمل چندین بار تکرار می شود بدین معنی که فاز آبی قبلی خارج شده و فاز آبی جدید وارد سرنگ می شود. طرح شماتیک این روش در شکل (۴-۲) نشان داده شده است [۲۳].

بررسی های انجام گرفته نشان می دهد که حالت پویا در LPME دارای فاکتور پیش تغلیظ بهتر و زمان استخراج کوتاهتری نسبت به حالت ایستا است، در حالیکه حالت ایستا از مزیت تکرارپذیری بهتر، برخوردار می باشد [۲۳].



شکل (۲-۴): مراحل استخراج در فیلم نازک از حلال آلی درون میکروسرنگ [۲۳]

۲-۳-۳- میکرو استخراج در فاز مایع با کمک فیبر توخالی (HF/LPME)^{۲۸}

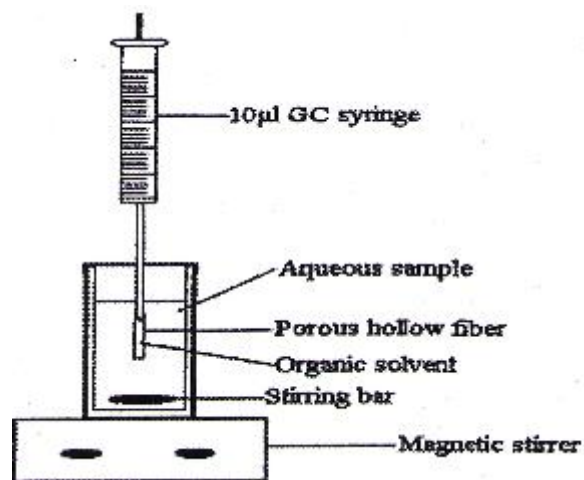
این روش برای اولین بار توسط راسموسن^{۲۹} در سال ۲۰۰۰ معرفی گردید [۲۴]. در این روش از یک فیبر توخالی متخلخل استفاده می شود. قبل از به کار بردن فیبر، آن را برای چند ثانیه درون حلال استخراج کننده قرار می دهند تا حفرات آن از حلال پر شود. سپس یک انتهای فیبر با حرارت بسته شده و حلال آلی توسط میکروسرنگ به داخل آن تزریق می شود و بعد آن را به داخل نمونه وارد می کنند، به صورتی که طرف بسته فیبر به سمت پایین و داخل محلول قرار می گیرد. با استفاده از این فیبر در مقایسه با روش های قبل می توان مقادیر بیشتری از حلال را به کار برد و سرعت هم زدن را نیز می توان افزایش داد که باعث افزایش تغلیظ می شود. بعد از سپری شدن زمان استخراج، حلال استخراج کننده ی داخل فیبر، توسط یک

¹ Hollow fiber liquid phase microextraction

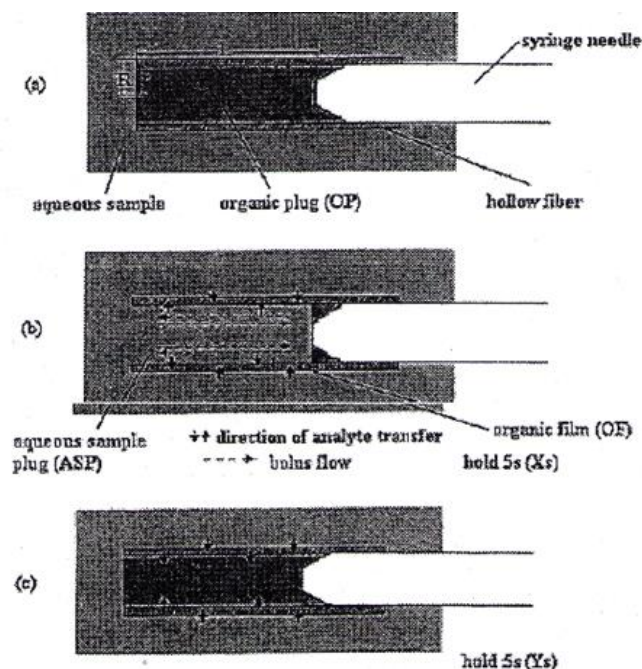
² Rasmussen

فصل دوم - تئوری

میکروسرنگ به دستگاه جهت اندازه گیری آنالیت منتقل می شود. این روش نیز می تواند به دو حالت ایستا و پویا انجام شود که شمای آنها را می توان در شکل های (۲-۵) و (۲-۶) مشاهده نمود [۲۵].



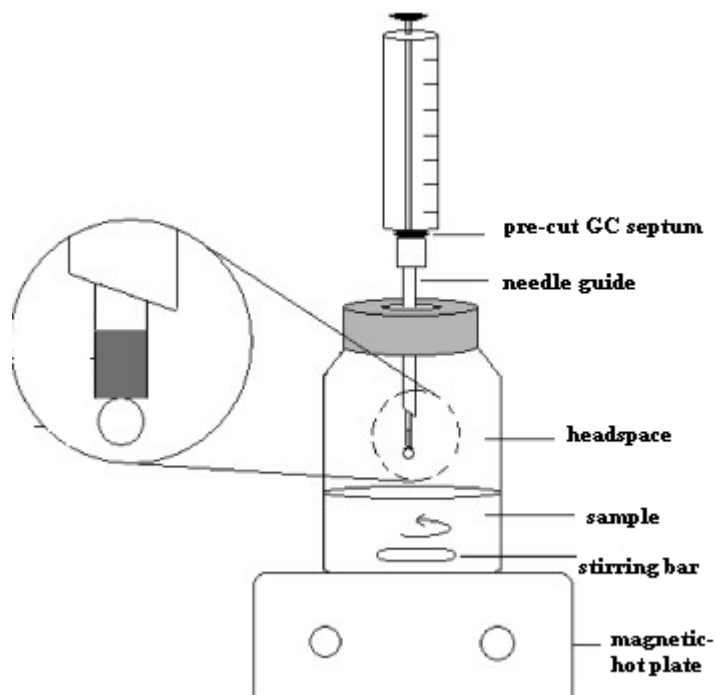
شکل (۲-۵): استخراج درون قطره با حمایت فیبر تو خالی (حالت ایستا) [۲۵]



شکل (۲-۶): استخراج درون قطره با حمایت فیبر تو خالی (حالت پویا) [۲۵]

۲-۳-۴- میکرو استخراج در فضای فوقانی فاز مایع (HS/LPME) ۳۰

این تکنیک معمولاً برای تعیین ترکیبات فرار و نیمه فرار استفاده می‌شود و به دلیل اینکه فاز استخراج کننده در تماس مستقیم با بافت نمونه قرار ندارد برای نمونه‌هایی با بافت پیچیده قابل کاربرد است. در این روش فاز حاوی آنالیت درون یک ظرف مهر و موم شده و فاز استخراج کننده در بالای فاز آبی در حل هم زدن قرار می‌گیرد. در مرحله بعد، نمونه تا جایی که ترکیبات فرار در فاز گازی به تعادل برسند حرارت داده می‌شوند. بعد از سپری شدن زمان استخراج، گونه مورد نظر که به حالت فرار در آمده است، در حلال آلی استخراج گشته و سپس قطره به داخل میکرو سرنگ کشیده شده و به دستگاه اندازه گیری تزریق می‌شود. شمایی از این روش استخراج در شکل (۷-۲) نشان داده شده است [۲۶].



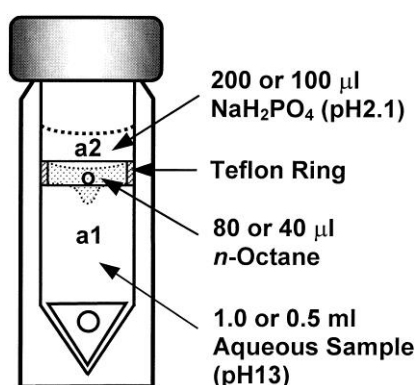
شکل (۷-۲): استخراج در یک قطره در فضای فوقانی فاز مایع [۲۷]

¹ Head space liquid phase microextraction

فصل دوم - تئوری

۲-۳-۵- میکرو استخراج با حلال همراه با استخراج برگشتی (BE/LPME)^{۳۱}

کانت ول و ما^{۳۲} این سیستم را در سال ۱۹۹۸ معرفی کردند که می تواند در یک زمان کوتاه استخراج رفت و برگشتی همزمان را انجام داده و گونه را استخراج کند. در این روش که در شکل (۲-۷) نشان داده شده است، فاز آلی با حجم ۴۰ تا ۸۰ میکرولیتر داخل یک واشر تفلونی در بالای یک فاز آبی حاوی نمونه با حجم ۰/۵ تا ۱/۰ میلی لیتر قرار گرفته است و بالای فاز آلی نیز یک فاز آبی دریافت کننده با حجم ۱۰۰ تا ۲۰۰ میکرولیتر قرار داده شده است. گونه های یونی با اعمال pH مناسب در فاز آبی نمونه و استخراج کننده وارد سیستم حلال آلی می شوند و سپس وارد محلول آبی دوم می گردند. با هم زدن محلول نمونه این سیر در فاز آلی و آبی استخراج کننده القا می گردد. پس از اتمام زمان استخراج، مقداری از فاز استخراج کننده (a₂) به صورت مستقیم برای آنالیز به HPLC تزریق می شود. این تکنیک برای گونه های کامل یونیزه مناسب می باشد. با انتخاب pH مناسب در فاز آبی (a₁) گونه به صورت خنثی درآمده تا توانایی عبور از غشا را داشته باشد سپس برای جلوگیری از بازگشت مجدد گونه از فاز در یافت کننده (a₂) به فاز آلی، شرایط pH در فاز آبی پذیرنده طوری انتخاب می شود که گونه به فرم یونی باشد [۲۸].



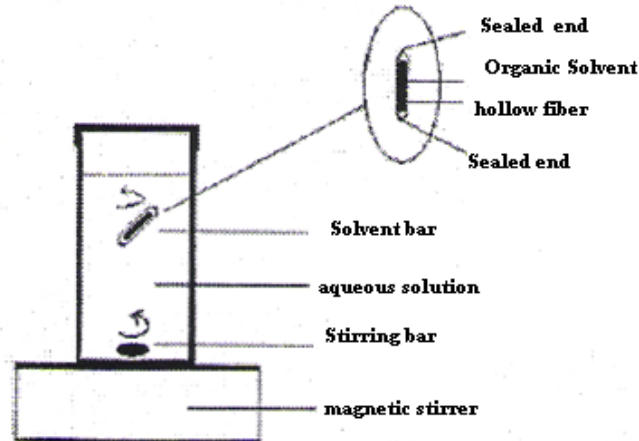
شکل (۲-۸) : نمایی از سیستم (BE/LPME) [۲۸]

¹ Back extraction/ Liquid phase microextraction

² Ma

۲-۳-۶- میکرو استخراج با حلال آلی توسط میله ای از جنس فیبر متخلخل (SBME)^{۳۳}

این روش توسط جیانگ^{۳۴} و لی^{۳۵} در سال ۲۰۰۴ معرفی شد که در آن حلال آلی استخراج کننده درون فیبری تو خالی با جنس پلی دی متیل سیلوکسان (PDMS)^{۳۶} که از دو طرف مهر و موم شده است قرار می گیرد. در این روش ابتدا یک انتهای فیبر توسط حرارت بسته شده و بعد توسط یک میکروسرنگ حلال آلی به داخل آن منتقل می شود. سر دیگر فیبر نیز بسته شده و سپس در فاز آبی در حال هم زدن رها می شود. بعد از سپری شدن زمان استخراج فیبر از داخل فاز آبی خارج شده و حلال داخل آن توسط میکروسرنگ به دستگاه اندازه گیری تزریق می شود. نمونه ای از این روش استخراج در شکل (۲-۹) نشان داده شده است. در این روش به علت انتقال جرم مناسب که ناشی از حرکات شدید فیبر حاوی حلال آلی است، استخراج بخوبی انجام گرفته و به دلیل شکل خاص آن در نمونه های با ذرات معلق مانند نمونه های دوغابی قابل استفاده است [۲۹].



شکل (۲-۹): نمایی از روش استخراج توسط روش SBME [۲۹]

¹ Solvent bar microextraction

² Jiang

³ Lee

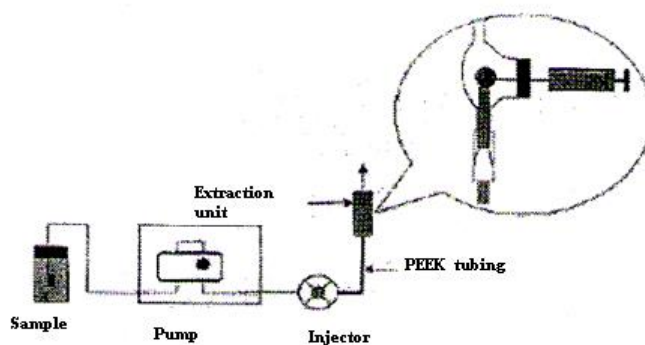
⁴ Poly dimethylsiloxane

فصل دوم - تئوری

۲-۳-۷- میکرواستخراج با حلال در نمونه در حال جریان (CFME) ^{۳۷}

این روش اولین بار در سال ۲۰۰۰ توسط لیو^{۳۸} و لی معرفی شد. در این روش نمونه آبی بطور پیوسته با جریان ثابت از طریق یک لوله از جنس پلی اتراترکتون^{۳۹} وارد یک اتاقتک شیشه ای با حجم ۰/۵ میلی لیتر می شود. قطره آلی از طریق یک شیر تزریق معمولی HPLC وارد سیستم شده و همراه جریان به سمت بیرون لوله (PEEK) حرکت کرده ولی رفتاری خلاف رفتار فاز آبی از خود نشان می دهد. به این صورت که فاز آبی از مکان خروج تعبیه شده در محفظه استخراج خارج می گردد ولی حلال آلی نزدیک سر لوله (PEEK) جمع شده و یک قطره حلال آلی را تشکیل می دهد که در نهایت توسط میکروسرنج از داخل محفظه خارج می گردد.

چون در این روش فاز آبی که حاوی محلول نمونه است بطور پیوسته در اطراف قطره پمپ می شود و فاز آبی جدید جایگزین فاز آبی قبلی می شود، فاکتور پیش تغلیظ بدست آمده از آن بسیار بالا خواهد بود [۳۰].



شکل (۲-۱۰): مراحل استخراج بوسیله روش استخراج با حلال از نمونه در حال جریان [۳۰]

¹ Continous flow microextraction

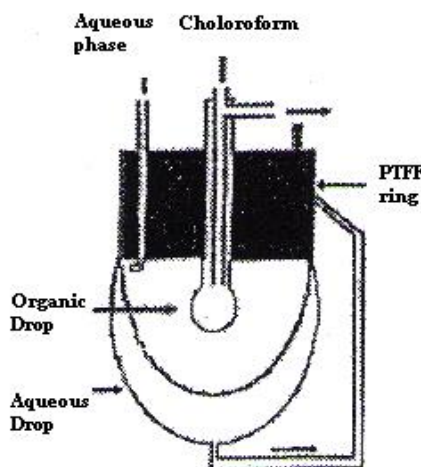
² Liu

³ Poly ether ether ketone (PEEK)

فصل دوم - تئوری

۲-۳-۸- استخراج درون یک قطره (SDME)

این روش در سال ۱۹۶۶ توسط لیو و داسگوپتا^{۴۰} برپایه اصول استخراج مایع - مایع بنا شده است. در این روش از یک ریز قطره ۱/۳ میکرولیتری برای استخراج سدیم دو دسیل سولفات بهره گرفته شد. استخراج از قطره به داخل ریز قطره به طور اتوماتیک انجام شده و آشکارسازی نوری در محل صورت می گیرد. در این روش قطره آبی توسط یک مجرای خارجی به محفظه نمونه وصل بوده و این قطره پیوسته از یک سمت به داخل محفظه نمونه وارد شده و از سمت دیگر خارج می گردد که در شکل (۲-۱۱) آمده است. پس از سپری شدن زمان استخراج و تغلیظ شدن گونه در قطره حلال آلی، سیگنال جذبی این قطره توسط آشکارساز مناسب اندازه گیری شده و از این طریق غلظت گونه مشخص می گردد. از مزایای این روش می توان به سادگی، سرعت، نسبت کوچک حجم فاز آلی به فاز آبی، مصرف ناچیز حلال آلی، ترکیب مراحل استخراج، پیش تغلیظ و تزریق به دستگاه اندازه گیری و کم هزینه بودن روش اشاره کرد [۳۱].



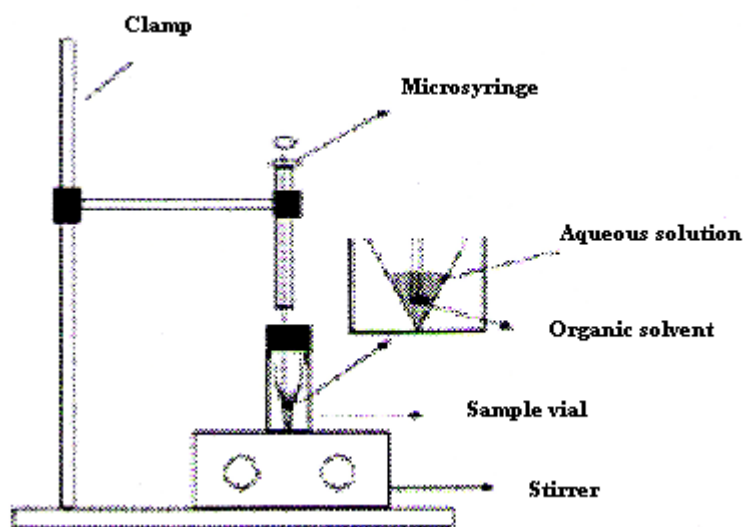
شکل (۲-۱۱) : سیستم استخراج درون یک قطره [۳۱]

¹ Dasgupta

۲-۳-۸-۱- استخراج قطره در قطره (DDSME)

در این روش همانطور که در شکل (۱۱-۲) مشاهده می شود، درون یک ظرف مخصوص که حد اکثر ۰/۱ میلی لیتر گنجایش آن است، ۷ میکرولیتر از فاز آبی وارد شده، و در مرحله بعد از یک میکروسرنگ برای تشکیل قطره ای به حجم ۰/۵ میکرولیتر استفاده می گردد. این قطره بصورت آویخته درون فاز آبی قرار می گیرد که بعد از سپری شدن زمان استخراج به داخل سرنگ برگردانده شده و به دستگاه اندازه گیری تزریق می شود [۳۲].

به دلیل مزایای روش های ریز استخراج در قطره، این روش برای تعیین بسیاری از ترکیبات مورد استفاده قرار گرفته است [۳۳-۴۲].



شکل (۲-۱۲): استخراج به روش قطره در قطره [۳۲]

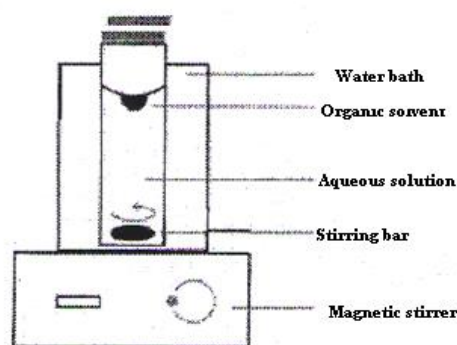
۲-۳-۸-۲- میکرو استخراج مستقیم توسط یک قطره (DSDME)^{۴۱}

این تکنیک یک روش جدید نمونه برداری است که اولین بار توسط یانگ چنگ^{۴۲} و همکارانش در سال ۲۰۰۶ معرفی شد. در این روش قطره ای از حلال که حکم فاز آلی را دارد، بر روی سطح فاز آبی نمونه بطور آزادانه و بدون کمک هیچ وسیله ای قرار می گیرد. در این روش از یک ظرف استوانه ای استفاده شده که در انتهای ظرف نیز مگنت قرار داده شده که با قرار گرفتن ظرف بر روی همزن مغناطیسی، هم زدن محلول بصورت متقارن انجام خواهد شد. باید در نظر داشت که مگنت مورد استفاده باید با قطر داخلی ظرف نمونه متناسب باشد تا بتواند آزادانه بچرخد و حالت گردابی حاصل از آن تا حدی که امکان دارد بصورت متقارن باشد. این حالت گردابی متقارن باعث می شود قطره در مرکز ظرف قرار گرفته و با دیواره ها تماس پیدا نکند، از طرفی قرار دادن و برداشتن قطره در حالت گردابی متقارن نیز راحت تر است.

در این روش حالت ایده آل آن است که حلال بر روی سطح پخش شود، زیرا قطره در سطح فاز آبی تشکیل شده و نقل و انتقال آن راحت تر انجام می گیرد^[۴۳]. در مقایسه با روش های ریز استخراج با حلال، این روش وسعت انتخاب بیشتر و عملکرد راحت تری در بهینه سازی پارامترها دارد. بخصوص در مورد پارامترهای حجم حلال آلی و سرعت هم زدن محدودیتی وجود ندارد. به دلیل وسعت انتخاب در مورد حجم حلال آلی این روش به یک تکنیک مناسب برای استفاده در دستگاههای اندازه گیری مانند GC , HPLC تبدیل شده است. شکل (۲-۱۳) شمایی از دستگاه استفاده شده در روش DSDME را نشان می دهد^[۴۳].

¹Directly single drop microextraction

² Yangchenge



شکل (۲-۱۳): دستگاه استخراج بروش DSDME [۴۳]

۲-۳-۹- میکرو استخراج مایع- مایع پخشی (DLLME)^{۴۳}

این روش برای اولین بار در سال ۲۰۰۶ توسط دکتر اسدی در دانشگاه علم و صنعت ابداع شد [۴۴]. این روش تاکنون جهت جداسازی و اندازه گیری ترکیبات آلی آلاینده آب های طبیعی از قبیل هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای [۴۵]، آفت کشتهای ارگانو فسفره [۴۶] و کلروبنزن ها [۴۷] به کار برده شده است و نتایج رضایت بخشی از آنالیز این نمونه ها با کروماتوگرافی گازی حاصل شده است. اخیراً این روش برای پیش تغلیظ یونهای فلزی مانند کادمیم در نمونه های آبی و اندازه گیری آن با اسپکترومتری جذب اتمی الکتروترمال استفاده شده است. این روش به علت مصرف حجم کم حلال آلی استخراج کننده، دارای فاکتور تغلیظ بالایی بوده در نتیجه جهت آنالیز مقادیر خیلی کم ترکیبات در نمونه های آبی نیز کارایی بالایی دارد.

به طور کلی در روش میکرو استخراج مایع - مایع پخشی؛ سه جزء حلال آبی، حلال آلی استخراج کننده و حلال پخش کننده به گونه ای با هم مخلوط می شوند که حلال آلی استخراج کننده به صورت قطرات بسیار ریز در بین فاز آبی پخش شود. اندازه این قطرات بحدی است که جرم این قطرات توانایی غلبه بر نیروهای بین مولکولی آب را نداشته و نمی توانند بدون حضور یک نیروی خارجی به یکدیگر متصل شده و ته نشین

¹ Dispersive liquid- liquid microextraction

فصل دوم - تئوری

شوند. البته لازم بذکر است که نیروهای جاذبه کوچک برهمکنش‌های مولکولی حلال آب با مولکول‌های حلال استخراج‌کننده نیز در پایداری این سیستم تأثیرگذار است.

بر اثر پخش حلال آلی استخراج‌کننده در درون فاز آبی، سطح تماس مولکول‌های آب و حلال آلی استخراج‌کننده به میزان بسیار زیادی در مقایسه با استخراج مایع - مایع معمولی افزایش می‌یابد و این امر باعث می‌شود که زمان لازم برای به تعادل رسیدن گونه استخراج شونده (که یا ذاتاً آب‌گریز است و یا به کمک فرایندهای کمپلکس‌کردن و یا مشتق‌سازی آب‌گریز شده است) بین آب و حلال آلی کاهش یابد. به طور کلی مراحل انجام میکرو استخراج مایع - مایع پخشی بدین شکل می‌باشد که ابتدا یک محلول همگن از حلال آلی استخراج‌کننده و حلال آلی پخش‌کننده با نسبت معینی تهیه گردیده و سپس حجم مشخصی از این محلول به کمک یک سرنگ به سرعت به درون محلول آبی حاوی آنالیت تزریق می‌گردد. در نتیجه، محلول کدر (ابری) می‌شود که این حالت به علت پخش ذرات ریز حلال استخراج‌کننده در درون محلول آبی می‌باشد. این مخلوط تا حدود زیادی پایدار بوده و می‌تواند ساعت‌ها به همین حالت باقی بماند. سپس این مخلوط سانتریفیوژ گردیده و در نتیجه ذرات ریز حلال استخراج‌کننده که دارای دانسیته بیشتری نسبت به آب هستند، ته‌نشین می‌گردند. سپس این فاز ته‌نشین شده که حاوی آنالیت استخراج شده می‌باشد جهت آنالیز با روش‌های دستگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مراحل مختلف استخراج DLLME در شکل (۱۶) - (۲) نشان داده شده است.

اصول کلی توزیع ماده بین دو فاز غیر قابل اختلاط همانند استخراج مایع - مایع معمولی است با این تفاوت که سطح تماس بسیار افزایش یافته است. در ضمن مقدار ضرایب توزیع آنالیت‌ها نیز احتمالاً متفاوت از ضرایب توزیع بین دو حلال آلی و آب به تنهایی است زیرا وجود حلال پخش‌کننده باعث تغییراتی هر چند کوچک در خواص حلال آبی و آلی گردیده و بنابراین محیطی جدید برای آنالیت‌ها به وجود می‌آید.

فصل دوم - تئوری

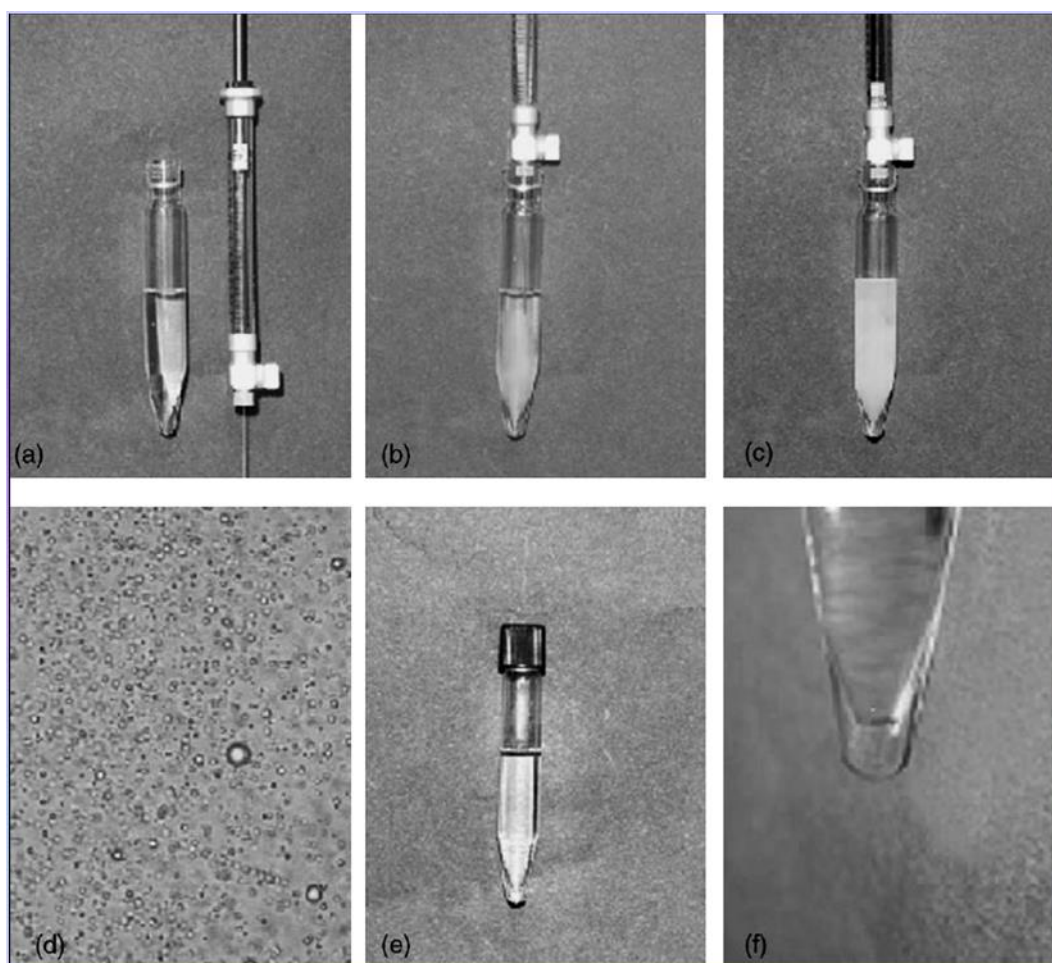
۲-۳-۹-۱- روابط تئوری در میکرواستخراج مایع - مایع پخشی [۴۸]

مقدار ماده استخراج شده در فاز ته‌نشین شده، n_{sed} را می‌توان از روابط ریاضی استخراج

مایع - مایع، بدست آورد:

$$n_{tot} = n_{sed} + n_{aq} \quad (1-2)$$

$$n_{sed} = C_o V_{aq} - C_{aq} V_{aq} \quad (2-2)$$



شکل (۲-۱۴): مراحل مختلف DLLME. (a) قبل از تزریق حلال پخش کننده (استون) و حلال استخراج کننده (CCl_4) به درون محلول نمونه (b) شروع تزریق. (c) پایان تزریق. (d) تصویر میکروسکوپی نوری با بزرگنمایی ۱۰۰۰ برابر که ذرات ریز CCl_4 را در حالت ابری نشان می‌دهد. (e) بعد از سانتریفوژ و (f) بزرگنمایی فاز رسوب کرده [۴۷]

فصل دوم - تئوری

که در این روابط n_{aq} معادل مقدار ماده در فاز آبی، n_{tot} مقدار کل ماده در نمونه، n_{sed} مقدار ماده در فاز ته نشین شده، C_{sed} غلظت ماده استخراج شده در فاز ته نشین شده، C_{aq} غلظت ماده در فاز آبی، C_o غلظت آنالیت در نمونه، V_{aq} حجم نمونه آبی و V_{sed} حجم فاز ته نشین شده می باشند. همچنین ضریب توزیع به صورت غلظت ماده استخراج شده در فاز آلی به غلظت آنالیت در فاز آبی پس از تعادل تعریف می شود، که با K_D نشان داده شده است.

$$n_{sed} = C_o \cdot V_{aq} - \frac{C_{sed}}{K_D} \cdot V_{aq} \quad (3-2)$$

$$n_{sed} = C_{sed} \cdot V_{sed} \quad (4-2)$$

با جایگذاری رابطه (4-2) در (3-2)، رابطه زیر بدست می آید..

$$n_{sed} = C_o \cdot V_{aq} - \frac{n_{sed}}{V_{sed} \cdot K_D} \cdot V_{aq} \quad (5-2)$$

$$n_{sed} = \frac{C_o \cdot V_{aq}}{1 + \frac{V_{aq}}{V_{sed} \cdot K_D}} \quad (6-2)$$

$$n_{sed} = \frac{K_D \cdot V_{sed} \cdot C_o \cdot V_{aq}}{V_{aq} + K_D \cdot V_{sed}} \quad (7-2)$$

معادله (7-2) نشان می دهد که یک رابطه مستقیم بین غلظت نمونه و مقدار ماده استخراج شده وجود دارد. این موضوع اساس اندازه گیری کمی را تشکیل می دهد.

فاکتور تغلیظ^{۴۴} در این روش به صورت نسبت غلظت آنالیت در فاز ته نشین شده به غلظت آنالیت در نمونه است [۴۸].

$$EF = \frac{C_{Sed}}{C_o} \quad (8-2)$$

راندمان استخراج^{۴۵} به صورت درصد کل آنالیت استخراج شده به فاز ته نشین شده است که از رابطه زیر بدست می آید:

¹ Enrichment factor (EF)

$$ER = \frac{n_{sed}}{n_o} \cdot 100 = \frac{C_{sed} \cdot V_{sed}}{C_o \cdot V_{aq}} \cdot 100 \quad (9-2)$$

$$ER = \frac{V_{sed}}{V_{aq}} \cdot EF \cdot 100 \quad (10-2)$$

اگر راندمان استخراج ۱۰۰٪ باشد، در آن صورت فاکتور تغلیظ برابر نسبت حجم فاز آبی به حجم فاز ته‌نشین شده می‌باشد [۴۸].

۲-۴- طیف سنجی جذب اتمی

تجزیه‌ی مقادیر کم با پیشرفت علم و تکنولوژی روز به روز اهمیت بیشتری پیدا کرده و روش‌ها و دستگاه‌های ویژه‌ای را برای تجزیه‌ی سریع و حساس تر غلظت‌های پایین فلزات در محلول‌های آبی می‌طلبند. روش جذب اتمی با شعله و یا کوره گرافیتی یکی از این تکنیک‌ها بوده و می‌تواند برای تجزیه حدود ۷۰ عنصر با دقت و حساسیت عالی و انحراف استاندارد بهتر از ۱٪ به کار رود [۴۹].

۲-۴-۱- دستگاه‌وری جذب اتمی

اجزای سازنده دستگاه‌های اسپکتروسکوپی جذب اتمی عبارت‌اند از [۵۰-۵۱]:

- ۱- منبع تابش
- ۲- نگهدارنده نمونه
- ۳- طول موج‌گزین
- ۴- آشکار ساز
- ۵- یک تقویت کننده
- ۶- پردازشگر علامت و قرائت

¹Extraction recovery (ER)

فصل دوم - تئوری

۲-۴-۲- اصول اندازه گیری در طیف سنجی جذب اتمی

فرایند تجزیه ای در طیف سنجی جذب اتمی شامل تبدیل مولکولها یا یون ها به اتم های آزاد و سپس اندازه گیری میزان جذب تابش به وسیله ی این اتم های آزاد می باشد. بر اساس رابطه (۲-۱۱) جذب در اتم ها از قانون بیر پیروی می کند :

$$I_t = I_0 e^{-abc} \quad (۲-۱۱)$$

در این رابطه I_t مقدار نور خارج شده از یک محلول ، I_0 شدت نور تابیده شده به محلول ، a ضریب جذب ، b طول مسیر نور ، c غلظت محلول می باشند . اگرچه اصول پایه ای قانون بیر - لامبرت در طیف سنجی جذب اتمی به کار برده می شود، در عمل به کار بردن این رابطه به صورتی که هست برای اندازه گیری غلظت آنالیت امکان پذیر نمی باشد. این بدان جهت است که در طیف سنجی مولکولی محلول های مورد تجزیه یکنواخت بوده و غلظت مولکولی در تمام طول مسیر جذب نور ثابت می باشد. لیکن در یک سیستم از اتم های آزاد، غلظت اتم های آزاد در طول مسیر جذب نور ثابت نمی ماند. به این دلیل قانون بیر - لامبرت را نمی توان مستقیماً برای تعیین غلظت اتم های آزاد شده از محلول نمونه به کار برد. تعداد اتم ها در مسیر نور در حالت تعادل ترمودینامیکی با محلول نمونه و با محصولات احتراق می باشد. این تعداد اتم های آزاد به غلظت فلزی که در نمونه تعیین می شود، بستگی دارد. بنابراین می توان یک منحنی استاندارد که میزان جذب را به غلظت ارتباط می دهد رسم کرد. در درجه حرارت هایی که معمولاً در اتم کننده های شعله ای با آن مواجه هستیم، قسمت اعظم اتم های آزاد در حالت پایدار به سر می برند. حتی اگر تعداد اتم های برانگیخته شده شدیداً افزایش یابد، تعداد کل اتم های غیر برانگیخته تقریباً به طور غیر محسوسی تغییر می کند. برای یک مجموعه داده شده از اتم ها، حالت پایدار پرجمعیت ترین حالت بوده و در محدوده ی خطای تجربی مستقل از درجه حرارت می باشد [۴۹].

فصل سوم

بخش تجربی

۳-۱- تعیین مقادیر کم کبالت (II) با طیف سنجی جذب اتمی شعله ای بعد از پیش تغلیظ با میکرو استخراج مایع - مایع پخشی

با توجه به تاثیرات بیولوژیکی و زیست محیطی کبالت و اهمیت آن که در فصل اول به آن اشاره گردید، ارائه روشی ساده و گزینش پذیر برای اندازه گیری مقادیر بسیار کم آن لازم به نظر می رسد. در این بخش نتایج حاصل از بکار بردن روش میکرواستخراج مایع- مایع پخشی برای پیش تغلیظ مقادیر کم یون کبالت (II) و اندازه گیری آن بوسیله طیف سنجی جذب اتمی شعله ای ارائه خواهد شد.

۳-۱-۱- محلولهای مورد استفاده و طرز تهیه آن ها

در تهیه ی تمام محلول ها از آب دو بار تقطیر و مواد شیمیایی با خلوص تجزیه ای استفاده شده است که نام، فرمول شیمیایی و شرکت سازنده آنها در جدول (۳-۱) آمده است.

محلول کبالت (II) با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر از انحلال ۰/۴۹۳۸ گرم از نمک کبالت نیترات (II) شش آبه، در بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری تهیه شد. محلولهای رقیق تر نیز، هر روز با رقیق سازی از محلول غلیظ تهیه می شد.

محلول لیگاند هیدروکسی نفتول بلو (HNB) $10^{-3} \times 6/5$ مولار با انحلال ۰/۴۰۳۲ گرم از آن در بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری در آب دو بار تقطیر تهیه شد. محلولهای رقیق تر نیز، هر روز با رقیق سازی از محلول غلیظ تهیه می شد.

محلول بافر استاتی با $pH = 5/5$ از اختلاط حجم های معین از محلولهای ۱/۰ مولار استیک اسید و ۱/۰ مولار سدیم هیدروکسید، محلول بافر فسفاتی ۱/۰ مولار با pH های ۷/۰ تا ۸/۰ از اختلاط حجم های معینی از سدیم دی هیدروژن فسفات دی هیدرات ۱/۰ مولار و دی پتاسیم هیدروژن فسفات ۱/۰ مولار، محلول بافر سیتراتی ۱/۰ مولار از اختلاط حجمهای معینی از سیتریک اسید ۱/۰ مولار و تری سدیم سیترات دی هیدرات ۱/۰ مولار و همچنین بافر فتالاتی ۱/۰ مولار از اختلاط حجمهای معینی از

فصل سوم – بخش تجربی

هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار و پتاسیم هیدرو فتالات ۱/۰ مولار تهیه و pH دقیق همه این محلولهای بافری توسط pH متر تنظیم شد.

جدول (۱-۳) : مواد شیمیایی مورد استفاده

ماده	فرمول	شرکت سازنده
کبالت نیترات شش آبه	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	مرک ^{۴۶}
نیتریک اسید	HNO_3	مرک
استیک اسید	CH_3COOH	مرک
سدیم هیدروکسید	NaOH	مرک
هیدروکسی نفتول بلو ^{۴۷}	$\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{O}_{11}\text{N}_2\text{S}_3\text{Na}_3$	مرک
اتانول	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	مرک و شرکت کیان کاوه آزما
متانول	CH_3OH	مرک
استون	$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$	مرک
استون نیتریل	CH_3CN	مرک
کربن تترا کلرید	CCl_4	مرک
کلروفرم	CHCl_3	مرک
ارتو دی کلرو بنزن	$\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2$	مرک
متا دی کلروبنزن	$\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2$	مرک

۳-۱-۲- وسایل و دستگاههای لازم

تمامی اندازه گیریها توسط دستگاه طیف سنجی جذب اتمی شعله شیمادزو AA-670^{۴۸} مجهز به لامپ کاتد تو خالی کبالت و شعله هوا- استیلن انجام شد. پارامترهای دستگاهی مطابق با جدول (۲-۳) تنظیم گردید.

برای تنظیم pH محلولهای بافری از دستگاه pH متر مدل ۷۴۴ ساخت شرکت متر اهم^{۴۹} مجهز به یک الکتروود غشاء شیشه ای ترکیبی استفاده شد.

⁴⁶ Merck

⁴⁷ Hydroxy naphthol blue

⁴⁸ Shimadzo AA 670

فصل سوم – بخش تجربی

جدول (۳-۲): شرایط پارامترهای دستگاهی برای اندازه گیری کبالت

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

برای ثبت طیف های جذبی در ناحیه مرئی و فرابنفش از دستگاه اسپکتروفتومتر شیمادزو UV-160^{۴۹} استفاده شد.

برای برداشتن حجم مشخصی از حلال آلی از یک میکروپیپت ساخت شرکت اپندرف^{۵۱} استفاده شد.

۳-۱-۳- طیف جذبی کمپلکس

به منظور بررسی تشکیل کمپلکس کبالت با لیگاند HNB طیف جذبی از محصول ایجاد شده ثبت و مورد بررسی قرار گرفت. برای ثبت طیف جذبی کمپلکس مورد نظر به این ترتیب عمل شد که در یک بالن ۱۰ میلی لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی لیتر محلول کبالت (II) با غلظت ۲۰ میلی گرم برلیتر، ۱/۰ میلی لیتر محلول لیگاند HNB با غلظت $10^{-3} \times 4/0$ مولار و ۲/۰ میلی لیتر بافر استاتی با $pH = 5/5$ اضافه گردید. سپس محلول حاصل تا حجم ۱۰ میلی لیتر با آب مقطر رقیق گردید. پس از یکنواخت کردن محلول، مقدار معینی از آن به داخل سل اسپکتروفتومتر منتقل و طیف جذبی آن در ناحیه ۴۰۰-۸۰۰ نانومتر، ثبت شد. طیف جذبی کمپلکس کبالت با لیگاند HNB در شکل (۳-۱) نشان داده شده است. در طیف این کمپلکس یک ماکزیمم جذبی در طول موج ۵۸۰ نانومتر قابل مشاهده است. برای گرفتن طیف جذبی شاهد، نیز به همان ترتیب عمل شد با این تفاوت که کبالت (II) اضافه نگردید. همانطور

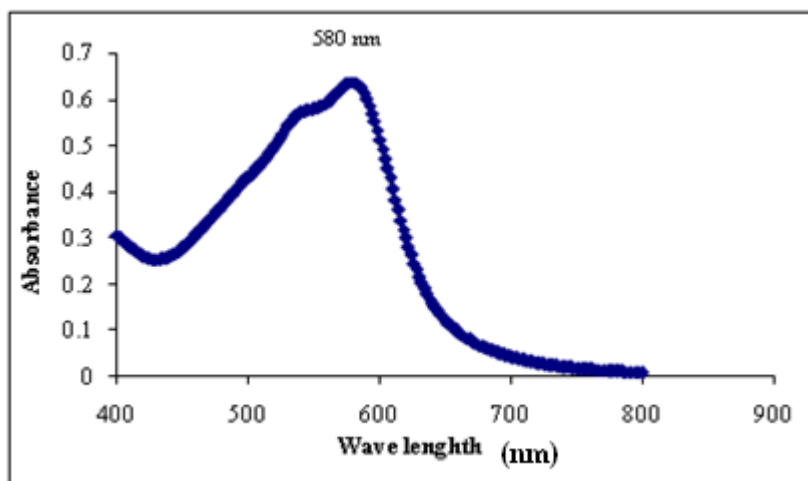
⁴⁹ Metrohm

⁵⁰ Shimadzo UV- 160

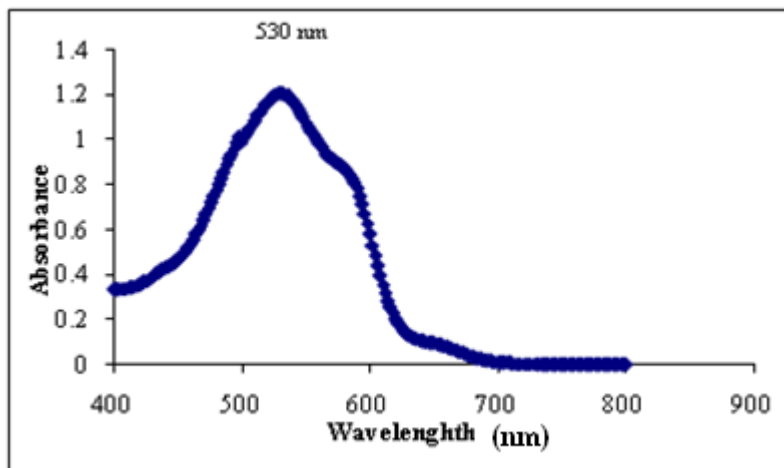
⁵¹ Eppendorf

فصل سوم – بخش تجربی

که در شکل (۲-۳) مشخص است، طیف جذبی شاهد دارای یک ماکزیمم جذبی در طول موج ۵۳۰ نانومتر می باشد. بررسی طیف جذبی کمپلکس نشان می دهد که ماکزیمم جذب کمپلکس نسبت به ماکزیمم جذب لیگاند به اندازه ۵۰ نانومتر جا به جا شده است که این امر نشان دهنده ی تشکیل کمپلکس است. همچنین از کمپلکس ساخته شده با شرایط بالا برای بررسی تاثیر زمان بر کامل شدن واکنش بین کبالت و لیگاند HNB استفاده گردید. نحوه ی کار بدین صورت بود که مقدار معینی از محلول نمونه به داخل سل اسپکتروفوتومتر منتقل شد و طیف جذبی آن در عرض ۶۰۰ ثانیه پس از آغاز واکنش در طول موج ماکزیمم ۵۸۰ نانومتر ثبت شد. نتایج حاصل از شکل (۳-۳) نشان می دهد که با افزایش زمان مقدار جذب کمپلکس تغییر محسوسی نداشته و بنابراین زمان بر روی تشکیل کمپلکس بی اثر است.

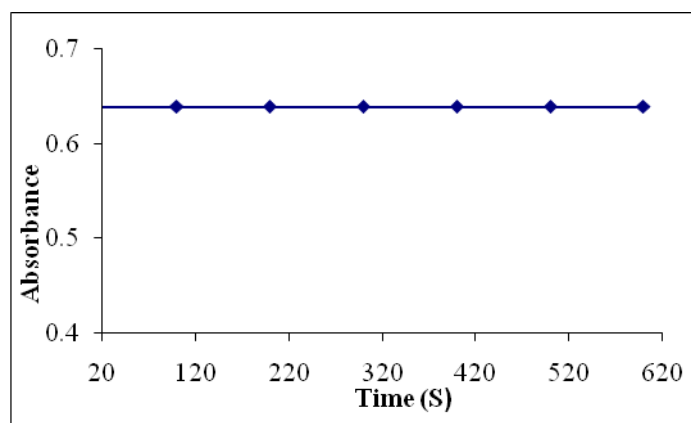


شکل (۱-۳) طیف جذبی محلول کمپلکس کبالت با لیگاند HNB. شرایط: محلول ۲/۰ میلی گرم بر لیتر Co(II) ، محلول لیگاند HNB با غلظت $4/0 \times 10^{-4}$ مولار، محلول بافر استاتی با $\text{pH} = 5/5$ ، دما ۲۵/۰ درجه سانتیگراد.



فصل سوم - بخش تجربی

شکل (۳-۲) طیف جذبی محلول شاهد، شرایط: محلول لیگاند HNB با غلظت $4/0 \times 10^{-4}$ مولار، بافر استاتی با $\text{pH} = 5/5$ دما $25/0$ درجه سانتیگراد



شکل (۳-۳) بررسی اثر زمان بر کامل شدن واکنش کبالت با لیگاند HNB، شرایط: محلول $2/0$ میلی گرم بر لیتر Co(II) ، محلول لیگاند HNB با غلظت $4/0 \times 10^{-4}$ مولار، محلول بافر استاتی با $\text{pH} = 5/5$ ، دما $25/0$ درجه سانتیگراد.

۳-۱-۴- بررسی و بهینه سازی متغیرهای موثر بر پیش تغلیظ و اندازه گیری کبالت

به منظور بدست آمدن شرایط بهینه جهت اندازه گیری کبالت با بهترین حساسیت، اثر پارامترهای مختلف بر سیگنال تجزیه ای مورد بررسی قرار گرفتند. برای بهینه سازی از روش یک متغیر در یک زمان^{۵۲} استفاده گردید. در این روش تمام متغیرها ثابت در نظر گرفته شده و متغیری که بایستی بهینه شود تغییر داده تا مقدار بهینه آن مشخص گردد. متغیرهایی که مورد بررسی قرار گرفتند به ترتیب عبارتند از:

۱- pH نمونه

۲- نوع بافر

۳- حجم بافر

۴- نوع حلال رقیق کننده

۵- حجم حلال رقیق کننده

۶- نوع حلال استخراج کننده

⁵² One at time

۷- نوع حلال پخش کننده

۸- حجم حلال استخراج کننده

۹- حجم حلال پخش کننده

۱۰- غلظت لیگاند

۱۱- قدرت یونی

۱۲- حجم محلول آبی

۱۳- زمان استخراج

۱۴- سرعت سانتریفوژ

۳-۱-۵- روش کار در بهینه سازی متغیرهای موثر بر حساسیت روش DLLME-FAAS جهت

اندازه گیری کبالت

برای بهینه سازی تمام متغیرها به صورت زیر عمل شد:

محلول نمونه مورد آزمایش با رقیق سازی از محلول کبالت (II) ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر، افزودن مقدار مشخصی از لیگاند HNB و افزودن ۲/۰ میلی لیتر محلول بافر در pH مورد نظر در بالون حجمی ۱۰ میلی لیتری تهیه شد.

حلال استخراج کننده و حلال پخش کننده با یک نسبت مشخص در یک بالون ۱۰ میلی لیتری مخلوط شدند. محلول نمونه به یک لوله آزمایش به طول ۱۰ سانتی متر و قطر ۲ سانتی متر منتقل شد سپس ۱/۰ میلی لیتر از مخلوط حلال پخش کننده و استخراج کننده با نسبت حجمی مشخص توسط سرنگ به سرعت به لوله آزمایش حاوی نمونه تزریق شد، که در اثر این تزریق محلول ابری شده و سپس محلول ابری با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس قطره که همان فاز آلی شامل نمونه استخراج شده است به کمک میکروپیپت به داخل یک ویال منتقل و سپس با مخلوط اتانول و

فصل سوم - بخش تجربی

نیتریک اسید ۱٪ با نسبت حجمی ۱:۱ تا حجم ۲۰۰ میکرولیتر رقیق شد. در این مرحله محلول به دستگاه جذب اتمی وارد و جذب آن مطابق با شرایط ذکر شده در جدول (۲-۳) اندازه گیری شد. محلول شاهد نیز همانند روش فوق تهیه شد با این تفاوت که به محلول شاهد کبالت (II) اضافه نمی شد و جذب آن نیز همانند شرایط نمونه اندازه گیری شد. قابل ذکر است که سیگنال نهایی از تفاوت سیگنال تجربی مربوط به نمونه و شاهد بدست آمد. در تمامی پارامترها هر اندازه گیری سه بار تکرار گردید و از میانگین اندازه گیریها به عنوان سیگنال تجزیه ای استفاده شد که این سیگنال متناسب با غلظت کبالت استخراج شده درون قطره می باشد.

۳-۱-۵-۱- بررسی اثر pH

ابتدا اثر pH بر روی سیگنال تجزیه ای در محدوده ۲/۲-۸/۰ بررسی شد. در این بررسی روش کار به شیوه زیر بود:

۱/۰ میلی لیتر محلول ۰/۵۰ میلی گرم بر لیتر کبالت (II) به همراه ۱/۰ میلی لیتر محلول لیگاند HNB با غلظت 10^{-5} مولار و ۱/۳ میلی لیتر محلول بافر فتالاتی در pH = ۲/۲ و محلول بافر استاتی در محدوده pH = ۳/۰-۶/۰ و محلول بافر فسفاتی در محدوده pH = ۷/۰-۸/۰ وارد بالون ۱۰ میلی لیتری شد و محلول موردنظر با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد. سپس محلول نمونه به یک لوله آزمایش منتقل و بوسیله ی سرنگ ۱/۰ میلی لیتر از مخلوط کربن تتراکلرید (حلال استخراج کننده) و اتانول (حلال پخش کننده) با نسبت حجمی یک به چهار به سرعت به محلول درون لوله آزمایش تزریق شد و پس از تشکیل محلول ابری، محلول با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتیفوژ شد. در مرحله بعد توسط میکرو پیپت ۱۰۰ میکرولیتر از فاز آلی ته نشین شده به یک ویال انتقال داده شد و با ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط اتانول و نیتریک اسید ۱٪ (با نسبت حجمی ۱:۱) رقیق گردید. نمونه آماده شده به دستگاه جذب اتمی شعله ای وارد گردید و جذب مربوط به اتم کبالت در طول موج ۲۴۰/۷ نانومتر و در شرایط دستگاهی ذکر شده در جدول (۲-۳) اندازه گیری شد. سیگنال مربوط به شاهد نیز همانند شرایط بالا در

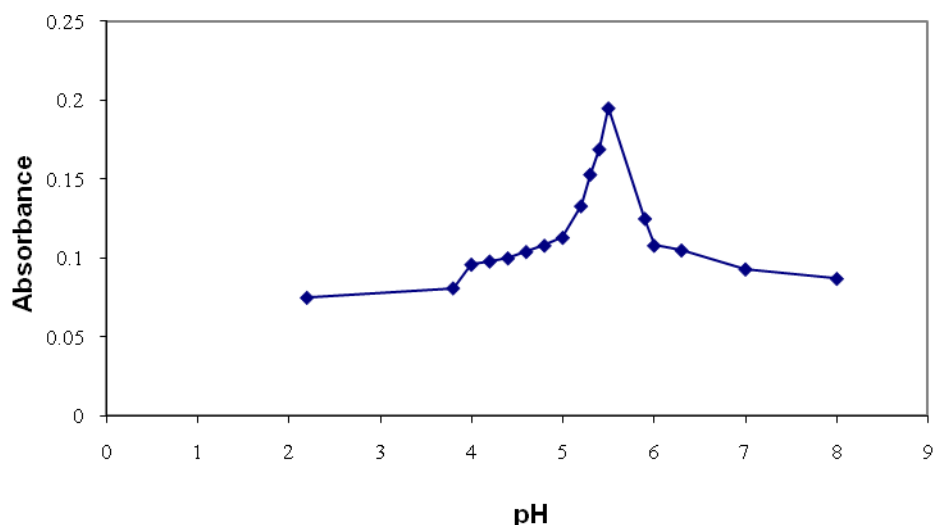
فصل سوم – بخش تجربی

غیاب یون کبالت بدست آمد و سیگنال تجزیه ای نیز از تفاوت سیگنال نمونه و شاهد بدست آمد. نتایج در جدول (۳-۳) و شکل (۳-۴) نشان داده شده است. نتایج نشان می دهد که در $pH = 5/5$ مقدار استخراج آنالیت به بیشترین مقدار خود می رسد و در نتیجه حساسیت بیشتری ایجاد می گردد. لذا $pH = 5/5$ بعنوان pH بهینه برای بررسی های بعدی انتخاب گردید.

علت این امر را می توان بدین صورت توجیه نمود که در pH های بسیار پایین به دلیل پروتونه شدن نقاط کئوردینه دهنده لیگاند، میزان تشکیل کمپلکس کاهش یافته و در نهایت غلظت کمپلکس استخراج شده نیز کاهش خواهد یافت، در نتیجه سیگنال تجزیه ای تا $pH = 5/5$ روند افزایشی را نشان می دهد. همچنین در pH های بالاتر از $5/5$ امکان رقابت گروه های هیدروکسیل با لیگاند جهت واکنش با کبالت زیاد شده و لذا امکان تشکیل کمپلکس کم می شود. لذا $pH = 5/5$ بعنوان pH بهینه انتخاب شد.

جدول (۳-۳): نتایج حاصل از بررسی اثر pH بر سیگنال تجزیه ای کبالت

درصد بازیابی	جذب کبالت	pH
٪۳۵/۱۶	۰/۰۷۵	۲/۲
٪۳۷/۸۰	۰/۰۸۱	۳/۸
٪۴۴/۴۰	۰/۰۹۶	۴/۰
٪۴۵/۲۷	۰/۰۹۸	۴/۲
٪۴۶/۱۵	۰/۱	۴/۴
٪۴۷/۹۱	۰/۱۰۴	۴/۶
٪۴۹/۶۷	۰/۱۰۸	۴/۸
٪۵۱/۸۷	۰/۱۱۳	۵/۰
٪۶۰/۶۵	۰/۱۳۳	۵/۲
٪۶۹/۴۵	۰/۱۵۳	۵/۳
٪۷۶/۴۸	۰/۱۶۹	۵/۴
٪۸۷/۹۱	۰/۱۹۵	۵/۵
٪۵۷/۱۴	۰/۱۲۵	۵/۹
٪۴۹/۶۷	۰/۱۰۸	۶/۰
٪۴۸/۳۵	۰/۱۰۵	۶/۳
٪۴۳/۰۷	۰/۰۹۳	۷/۰
٪۴۰/۴۴	۰/۰۸۷	۸/۰



شکل (۳-۴) بررسی اثر pH بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS: غلظت آنالیت ۰/۵ میلی گرم بر لیتر، غلظت لیگاند $10^{-6} \times 1/3$ مولار، بافر فتالاتی در $pH = 2/2$ ، بافر استاتی در $pH = 3/8 - 6/3$ ، بافر فسفاتی در $pH = 7/0 - 8/0$.

۳-۱-۵-۲- بررسی اثر نوع بافر

پس از بررسی pH محلول، برای دستیابی به حساسیت بیشتر نوع بافر شامل بافرهای استاتی، فتالاتی و سیتراتی مورد بررسی قرار گرفت که روش کار نیز به صورت زیر بود:

۱/۰ میلی لیتر محلول ۰/۵۰ میلی گرم بر لیتر کبالت (II) به همراه ۱/۰ میلی لیتر محلول لیگاند HNB با غلظت $10^{-5} \times 1/3$ مولار و ۱/۰ میلی لیتر محلول بافر، یکبار از نوع استاتی با $pH = 5/5$ ، بار دیگر از نوع فتالاتی با $pH = 5/5$ و در نهایت از بافر سیتراتی با $pH = 5/5$ وارد بالون ۱۰ میلی لیتری شد و محلول مورد نظر با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد. سپس محلول نمونه به درون لوله آزمایش وارد گردید و بوسیله ی سرنگ ۱/۰ میلی لیتر مخلوط کربن تترا کلرید و اتانول (بترتیب به عنوان محلول استخراج کننده و پخش کننده) با نسبت حجمی یک به چهار به سرعت تزریق شد. پس از تشکیل محلول ابری، محلول به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. در مرحله بعد توسط میکروپیپت ۱۰۰ میکرولیتر از فاز آلی ته نشین شده به یک ویال منتقل شد و با ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط

فصل سوم – بخش تجربی

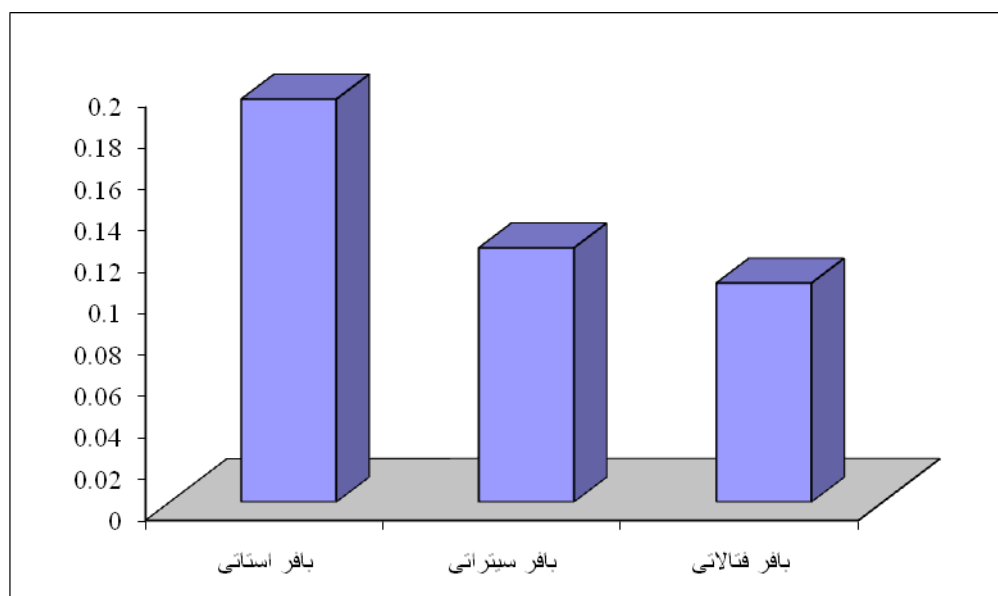
اتانول و نیتریک اسید ۱٪ (با نسبت حجمی ۱:۱) رقیق گردید. نمونه آماده شده به دستگاه جذب اتمی شعله ای وارد گردید و سیگنال جذبی کبالت اندازه گیری شد. جذب محلول شاهد همانند نمونه اندازه گیری شد، با این تفاوت که به آن کبالت افزوده نشد.

نتایج در جدول (۳-۴) و شکل (۳-۵)، نشان داده شده است. نتایج نشان می دهد که در محیط بافری استاتی مقدار استخراج آنالیت به بیشترین مقدار خود می رسد. لذا بافر استاتی بعنوان بافر بهینه برای مراحل بعدی انتخاب شد.

برای توجیه این پدیده می توان گفت که در حضور یونهای سیترات، فتالات و استات با توجه به بالا بودن غلظت آنها نسبت به غلظت لیگاند با در نظر گرفتن مقدار ثابت تشکیل، احتمال واکنش کبالت با فتالات از بقیه بیشتر است و در نتیجه باعث کاهش میزان تشکیل کمپلکس کبالت با لیگاند شده و سیگنال تجزیه ای کاهش می یابد [۵۲]. با توجه به اینکه سیترات نیز یک عامل پوشاننده برای کبالت است، بنابراین بافر استاتی برای بررسی های بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

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

نوع بافر	جذب کبالت	درصد بازیابی
بافر سیتراتی	۰/۱۲۳	٪۵۶/۲۶
بافر فتالاتی	۰/۱۰۶	٪۴۸/۷۹
بافر استاتی	۰/۱۹۵	٪۸۷/۹۱



شکل (۳-۵) بررسی نوع بافر بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS شرایط : غلظت آنالیت ۰/۰۵ میلی گرم بر لیتر ، غلظت محلول لیگاند HNB $10^{-6} \times 1/3$ مولار، $pH = 5/5$ ، ۲۰۰ میکرولیتر کربن تترا کلرید، ۸۰۰ میکرولیتر حلال پخش کننده اتانول، سرعت سانتریفوژ: ۵۰۰۰ دور بر دقیقه.

۳-۵-۱-۳- بررسی حجم بافر

اثر حجم بافر استاتی با $pH = 5/5$ در محدوده ۰-۳/۵ میلی لیتر از بافر مورد بررسی قرار گرفت و روش کار نیز بصورت زیر بود :

۱/۰ میلی لیتر محلول کبالت (II) با غلظت ۰/۵۰ میلی گرم بر لیتر، ۱/۰ میلی لیتر محلول لیگاند HNB با غلظت $10^{-5} \times 1/3$ مولار و حجم های مختلف از محلول بافر استاتی با $pH = 5/5$ وارد بالون حجمی ۱۰ میلی لیتری شد و محلول مورد نظر با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد. سپس محلول نمونه به درون لوله آزمایش وارد گردید و بوسیله ی سرنگ ۱/۰ میلی لیتر مخلوط کربن تترا کلرید و اتانول بترتیب به عنوان محلول استخراج کننده و پخش کننده با نسبت حجمی یک به چهار به سرعت به درون محلول نمونه تزریق شد. پس از تشکیل محلول ابری، محلول به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. در مرحله بعد توسط میکروپیپت ۱۰۰ میکرولیتر از فاز آلی ته نشین شده به یک ویال

فصل سوم – بخش تجربی

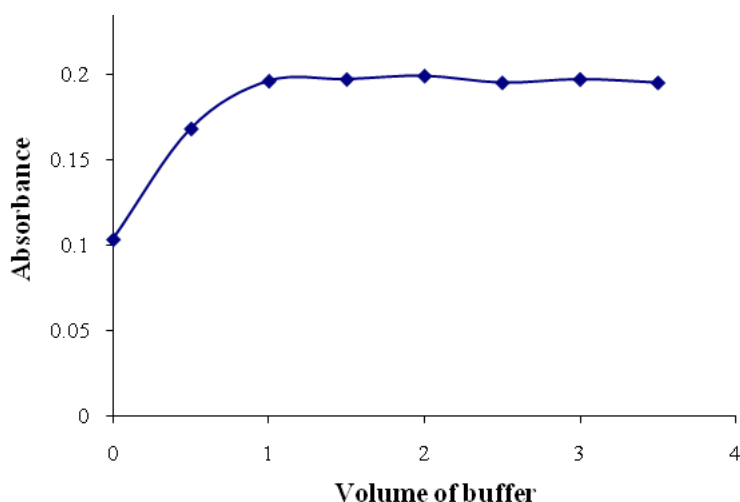
منتقل شد و با ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط اتانول نیتریک اسید ۱٪ با نسبت حجمی ۱:۱ رقیق گردید. نمونه آماده شده به دستگاه جذب اتمی شعله ای وارد گردید و جذب کبالت اندازه گیری شد. سیگنال مربوط به محلول شاهد نیز همانند شرایط بالا در غیاب یون کبالت بدست آمد و سیگنال تجزیه ای از تفاوت سیگنال نمونه و شاهد بدست آمد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۵) نشان داده شده است. این نتایج نشان می دهد که میزان سیگنال تجزیه ای در حجم های بین ۰-۱ افزایش پیدا می کند و سپس ثابت شده است. بنا براین حجم ۲/۰ میلی لیتر از بافر برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

علت این پدیده را می توان بدین صورت توجیه نمود که افزایش ابتدایی در شدت جذب امری طبیعی است، چون با افزایش حجم بافر pH محیط استخراج ثابت شده و لذا استخراج افزایش پیدا می کند. افزایش حجم از ۱/۰ میلی لیتر به بعد نیز تغییر قابل توجهی در جذب ها مشاهده نمی شود و به نظر می رسد که ۱/۰ میلی لیتر از محلول بافری برای تثبیت pH محلول کافی است. برای اطمینان بیشتر از تثبیت pH، حجم ۲/۰ میلی لیتر برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

جدول (۳-۵) : نتایج حاصل از بررسی حجم بافر

درصد بازیابی	جذب کبالت	حجم بافر (میلی لیتر)
٪۴۷/۴۷	۰/۱۰۳	۰
٪۷۶/۰۴	۰/۱۶۸	۰/۵
٪۸۸/۳۵	۰/۱۹۶	۱/۰
٪۸۸/۷۹	۰/۱۹۷	۱/۵
٪۸۹/۶۷	۰/۱۹۹	۲/۰
٪۸۷/۹۱	۰/۱۹۵	۲/۵
٪۸۸/۷۹	۰/۱۹۷	۳/۰
٪۸۷/۹۱	۰/۱۹۵	۳/۵

فصل سوم - بخش تجربی



شکل (۳-۶) بررسی اثر حجم بافر بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS، شرایط: محلول کبالت (II) با غلظت ۰/۰۵ میلی گرم بر لیتر، لیگاند HNB با غلظت $10^{-6} \times 1/3$ مولار، بافر استاتی با $\text{pH}=5/5$ ، ۲۰۰ میکرولیتر کربن تترا کلرید، ۸۰۰ میکرولیتر اتانول، سرعت سانتریفوژ ۵۰۰۰ دور بر دقیقه.

۳-۱-۴- بررسی اثر نوع حلال رقیق کننده

پارامتر بعدی که مورد بررسی قرار گرفت اثر نوع حلال رقیق کننده بود، که حلالهای اتانول، متانول، استون و مخلوط نیتریک اسید ۱٪ و اتانول (با نسبت حجمی ۱:۱) مورد بررسی قرار گرفت و روش کار نیز به صورت زیر بود.

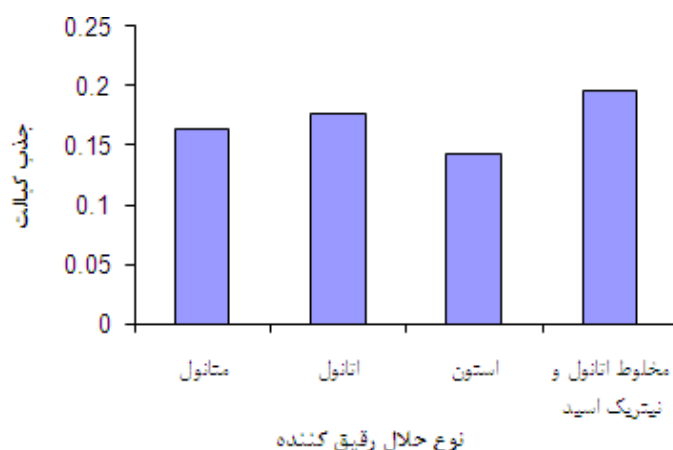
۱/۰ میلی لیتر محلول کبالت (II) ۰/۵۰ میلی گرم بر لیتر به همراه ۱/۰ میلی لیتر محلول لیگاند HNB با غلظت $10^{-5} \times 1/3$ مولار و ۲/۰ میلی لیتر محلول بافر استاتی با $\text{pH} = 5/5$ وارد یک بالون به حجم ۱۰ میلی لیتر شد و با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد. سپس مخلوطی از کربن تترا کلرید و اتانول با نسبت حجمی یک به چهار بوسیله یک سرنگ ۱/۰ میلی لیتری به سرعت به محلولهای نمونه تزریق شدند. پس از تشکیل محلول ابری، محلول به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. در مرحله بعد ۱۰۰ میکرولیتر از فاز آلی ته نشین شده به یک ویال منتقل شد و با ۱۰۰ میکرولیتر از حلال های رقیق کننده مذکور به طور جداگانه رقیق شد و جذب آن با دستگاه جذب اتمی شعله ای اندازه گیری شد. سیگنال مربوط به محلول شاهد نیز همانند شرایط بالا در غیاب یون کبالت بدست آمد و سیگنال

فصل سوم - بخش تجربی

تجزیه ای از تفاوت سیگنال نمونه و شاهد بدست آمد. نتایج در جدول (۳-۶) و شکل (۳-۷) نشان داده شده است. نتایج نشان می دهد که سیگنال جذبی شاهد در رقیق کننده مخلوط اتانول و نیتریک اسید کوچکتر است، لذا مخلوط اتانول و نیتریک اسید بعنوان حلال رقیق کننده بهینه انتخاب شد.

جدول (۳-۶): نتایج حاصل از بررسی اثر نوع حلال رقیق کننده

نوع حلال رقیق کننده	سیگنال نمونه	سیگنال شاهد	سیگنال تجزیه ای کبالت	درصد بازیابی
متانول	۰/۱۹۵	۰/۰۳۱	۰/۱۶۴	٪۷۴/۲۹
اتانول	۰/۱۹۹	۰/۰۲۲	۰/۱۷۷	٪۸۰/۰۰
استون	۰/۱۸۷	۰/۰۴۴	۰/۱۴۳	٪۶۵/۰۵
مخلوط نیتریک اسید ۱٪ و اتانول	۰/۲۰۳	۰/۰۰۷	۰/۱۹۶	٪۸۸/۳۵



شکل (۳-۷) بررسی اثر نوع حلال رقیق کننده بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS شرایط: محلول Co(II) ۰/۰۵ میلی گرم بر لیتر، لیگاند HNB با غلظت $10^{-6} \times 1/3$ مولار، بافر استاتی $pH = 5/5$ ، حلال استخراج کننده: کربن تتراکلرید، حلال پخش کننده: اتانول، سرعت سانتریفوژ: ۵۰۰۰ دور بر دقیقه.

۳-۱-۵-۵- بررسی اثر حجم حلال رقیق کننده

پارامتر بعدی که مورد بررسی قرار گرفت حجم حلال رقیق کننده بود که در محدوده ۳۰۰-۵۰ میکرولیتر مورد بررسی قرار گرفت که روش کار نیز به صورت زیر بود.

فصل سوم – بخش تجربی

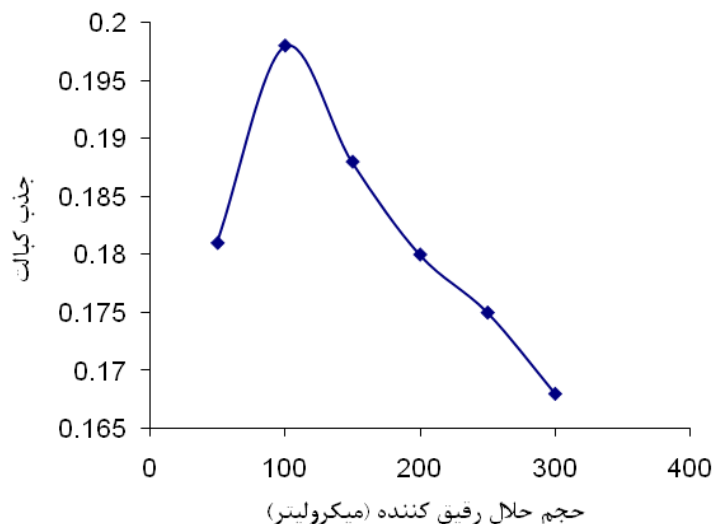
۱/۰ میلی لیتر محلول Co (II) ۰/۵۰ میلی گرم بر لیتر به همراه ۱/۰ میلی لیتر محلول لیگاند HNB با غلظت $10^{-5} \times 3/1$ مولار و ۲/۰ میلی لیتر محلول بافر استاتی با $pH = 5/5$ وارد یک بالون به حجم ۱۰ میلی لیتر گردید و با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد و به یک لوله آزمایش منتقل شد. سپس مخلوطی از کربن تترا کلرید و اتانول با نسبت حجمی یک به چهار بوسیله یک سرنگ ۱/۰ میلی لیتری به سرعت به محلول نمونه تزریق شدند. پس از تشکیل محلول ابری، محلول با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. در مرحله بعد توسط میکروپیپت ۱۰۰ میکرولیتر از فاز آلی ته نشین شده به یک ویال منتقل شد و با حجمهای مختلف از مخلوط اتانول و نیتریک اسید ۱٪ با نسبت حجمی ۱:۱ رقیق شد. نمونه آماده شده به دستگاه جذب اتمی شعله ای وارد گردید و جذب کبالت به دست آمد. سیگنال مربوط به محلول شاهد نیز همانند شرایط بالا در غیاب یون کبالت بدست آمد. سیگنال تجزیه ای از تفاوت سیگنال نمونه و شاهد بدست آمد. نتایج در جدول (۷-۳) و شکل (۸-۳) نشان داده شده است.

نتایج نشان می دهد که با افزایش حجم حلال رقیق کننده تا ۱۰۰ میکرولیتر جذب افزایش پیدا میکند و سپس روند کاهش پیدا می کند. علت این روند می تواند به این دلیل باشد که اگر حجم حلال رقیق کننده در ویال کمتر از ۱۰۰ میکرولیتر باشد به علت کوتاه بودن زمان مکش دستگاه جذب اتمی، حجم محلول برای خواندن سیگنال کافی نیست. همچنین با افزایش حجم حلال رقیق کننده بیشتر از ۱۰۰ میکرولیتر، سیستم به سمت دو فازی شدن پیش رفته در نتیجه سیگنال های جذبی کاهش پیدا می کند. بنابراین حجم ۱۰۰ میکرولیتر از حلال رقیق کننده در بررسی های بعدی استفاده شد.

جدول (۷-۳): نتایج حاصل از بررسی حجم حلال رقیق کننده

درصد بازیابی	جذب کبالت	حجم حلال رقیق کننده (μl)
۰/۸۱/۷۶	۰/۱۸۱	۵۰
۰/۸۹/۲۳	۰/۱۹۸	۱۰۰
۰/۸۴/۸۴	۰/۱۸۸	۱۵۰
۰/۸۱/۳۲	۰/۱۸	۲۰۰
۰/۷۹/۱۲	۰/۱۷۵	۲۵۰
۰/۷۱/۳۴	۰/۱۶۸	۳۰۰

فصل سوم - بخش تجربی



شکل (۳-۸) : بررسی اثر حجم حلال رقیق کننده بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS، شرایط : محلول کبالت (II) 0.050 میلی گرم بر لیتر، لیگاند HNB با غلظت $10^{-6} \times 1/3$ مولار، $2/0$ میلی لیتر محلول بافر استاتی با $pH = 5/5$ ، حلال استخراج کننده : کربن تتراکلرید و حلال پخش کننده : اتانول، دور سانتریفوژ 5000 دور بر دقیقه.

۳-۱-۵-۶- بررسی اثر نوع حلال استخراج کننده

پس از بهینه کردن حجم حلال رقیق کننده به بررسی اثر چهار نوع حلال استخراج کننده شامل کربن تتراکلرید، کلروفرم، اورتو دی کلروبنزن، متا دی کلروبنزن بر روی راندمان استخراج پرداخته شد. روش کار نیز بصورت زیر بود.

$1/0$ میلی لیتر محلول کبالت (II) با غلظت 0.050 میلی گرم بر لیتر، $1/0$ میلی لیتر محلول لیگاند HNB با غلظت $10^{-5} \times 1/3$ مولار و $2/0$ میلی لیتر از محلول بافر استاتی با $pH = 5/5$ وارد بالون حجمی 10 میلی لیتری شد و محلول مورد نظر با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد و درون لوله آزمایش منتقل شد. در مرحله ی بعد هریک از حلالهای استخراج کننده به طور جداگانه با اتانول (حلال پخش کننده) در یک بالون 10 میلی لیتری با نسبت حجمی یک به چهار مخلوط شدند. سپس $1/0$ میلی لیتر از مخلوط آنها به سرعت به نمونه آبی تزریق شد. پس از تشکیل محلول ابری، محلول به مدت 5 دقیقه با سرعت 5000 دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. در مرحله بعد توسط میکروپیت 100 میکرولیتر از فاز آلی ته نشین شده به یک ویال انتقال داده شد و با 100 میکرولیتر از مخلوط اتانول و نیتریک اسید 1% با نسبت حجمی $1:1$

فصل سوم - بخش تجربی

رقیق گردید. نمونه آماده شده به دستگاه جذب اتمی شعله ای وارد گردید و جذب کبالت اندازه گیری شد. سیگنال مربوط به محلول شاهد نیز همانند شرایط بالا در غیاب یون کبالت بدست آمد و سیگنال تجزیه ای از تفاوت سیگنال نمونه و شاهد بدست آمد.

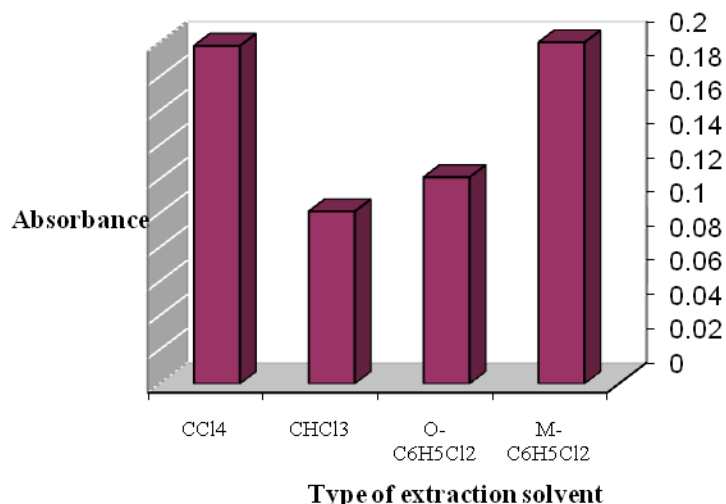
نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۸) و شکل (۳-۹) نشان داده شده است. بررسی نتایج نشان می دهد که ماکزیمم سیگنال تجزیه ای برای حلالهای کربن تترا کلرید و متا دی کلرو بنزن بدست می آید. علت این پدیده را میتوان اینگونه توجیه کرد:

انتخاب حلال آلی مناسب نیز یکی از پارامترهای مناسب در روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی است که بطور کلی باید ویژگیهای زیر را دارا باشد:

- ۱- با آب امتزاج پذیر نباشد یا حداقل حلالیت را در آب داشته باشد.
 - ۲- داشتن دانسیته بیشتر از فاز آبی، برای جداسازی از فاز آبی به وسیله سانتریفوژ
 - ۳- داشتن ظرفیت استخراج برای گونه مورد نظر (بر همکنش مناسب جهت انحلال کمپلکس (Co-HNB).
- کلروفرم و اورتو دی کلروبنزن به علت تشکیل قطرات کوچک داری جذب و درصد بازیابی کوچکتري هستند. متا دی کلرو بنزن و کربن تترا کلرید نسبت به دو حلال دیگر دارای سیگنال جذبی بالاتری هستند ولی متا دی کلرو بنزن به دلیل درجه سمیت و ویسکوزیته بالا کنار گذاشته شد. لذا کربن تترا کلرید بعنوان حلال استخراج انتخاب شد.

جدول (۳-۸): نتایج حاصل از نوع حلال استخراج کننده

نوع حلال استخراج کننده	حجم فاز آلی ته نشین شده (میکرولیتر)	جذب کبالت	درصد بازیابی
متادی کلروبنزن	۲۰۰	۰/۲۰۰	٪۹۰/۱۰
اورتو دی کلرو بنزن	۱۵۰	۰/۱۲۱	٪۵۵/۳۸
کلروفرم	۱۲۰	۰/۱۰۱	٪۴۶/۵۹
کربن تترا کلرید	۲۰۰	۰/۱۹۸	٪۸۹/۲۳



شکل (۳-۹) بررسی اثر نوع حلال استخراج کننده بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS، شرایط: محلول کبالت (II) با غلظت ۰/۵۰ میلی گرم بر لیتر، لیگاند HNB با غلظت $1/3 \times 10^{-6}$ مولار، ۲/۰ میلی لیتر بافر استاتی با $\text{pH} = 5/5$ ، حلال پخش کننده: اتانول، سرعت سانتریفوژ: ۵۰۰۰ دور بر دقیقه.

۳-۱-۵-۷- بررسی اثر حجم حلال استخراج کننده

در این مرحله حجم کربن تترا کلرید به عنوان حلال استخراج کننده در محدوده (۱۴۰/۰ - ۱۰/۰) میکرولیتر مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی ۱/۰ میلی لیتر محلول کبالت (II) با غلظت ۰/۵۰ میلی گرم بر لیتر، ۱/۰ میلی لیتر محلول لیگاند HNB با غلظت $1/3 \times 10^{-5}$ مولار و ۲/۰ میلی لیتر محلول بافر استاتی با $\text{pH} = 5/5$ وارد بالون حجمی ۱۰ میلی لیتری شد و محلول مورد نظر با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد و به یک لوله آزمایش منتقل شد. سپس حجم های متفاوتی از کربن تتراکلرید در محدوده ۱۰/۰-۱۴۰/۰ میکرولیتر با ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول مخلوط و با سرنگ به هر لوله آزمایش تزریق شد. پس از تشکیل محلول ابری، محلول به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد، در مرحله بعد توسط میکروپیپت، فاز آلی ته نشین شده به یک ویال انتقال داده شد و تا حجم ۲۰۰ میکرولیتر با مخلوط اتانول نیتریک اسید ۱٪ با نسبت حجمی ۱:۱ رقیق گردید و جذب آن با دستگاه جذب اتمی شعله ای اندازه گیری شد. سیگنال مربوط به محلول شاهد نیز همانند شرایط بالا در غیاب یون کبالت بدست آمد و

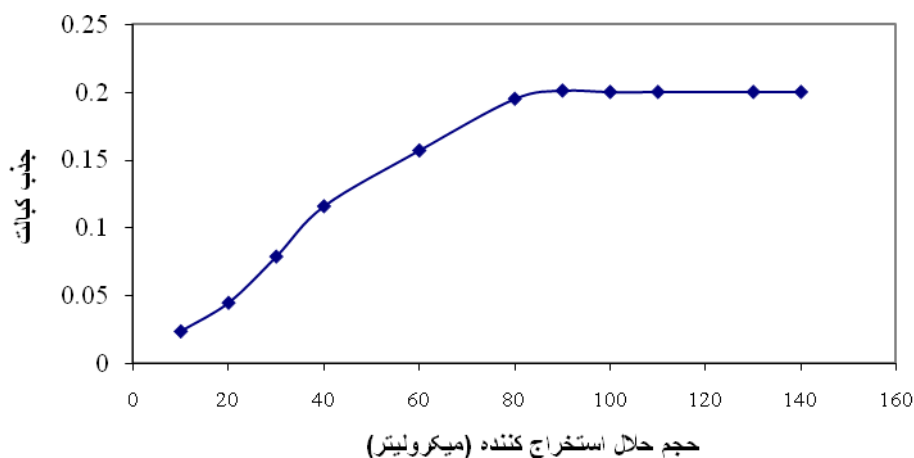
فصل سوم – بخش تجربی

سیگنال تجزیه ای از تفاوت سیگنال نمونه و شاهد بدست آمد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۹) و شکل (۳-۱۰) نشان داده شده است. نتایج نشان می دهد که با افزایش حجم حلال استخراج کننده تا ۹۰ میکرولیتر سیگنال تجزیه ای افزایش می یابد و در حجمهای بیشتر آن، سیگنال تجزیه ای ثابت می شود. علت این پدیده را می توان اینگونه توجیه کرد:

در حجمهای کمتر از ۹۰ میکرولیتر بدو علت سیگنال تجزیه ای کم می باشد. دلیل آن این است که چون حجم حلال استخراج شده کم می باشد لذا حجم فاز ته نشین شده جدا شده نیز کم می باشد که ممکن است حلال استخراج کننده از کمپلکس اشباع شده و مقدار کمتری از کبالت استخراج گردد، بنابراین راندمان استخراج و در نتیجه سیگنالهای تجزیه ای در حجمهای کم کمتر از حجمهای زیاد می باشد. برای اینکه هم حجم حلال استخراج کننده برای استخراج کبالت کافی باشد و هم از لحاظ زیست محیطی حداقل حجم حلال آلی برای استخراج بکار برده شود، حجم ۹۰ میکرولیتر کربن تترا کلرید برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

جدول (۳-۹) : نتایج حاصل از بررسی حجم حلال استخراج کننده

بازیابی	درصد	کبالت	جذب	حجم حلال استخراج کننده (میکرولیتر)
	٪۱۲/۷۵		۰/۰۲۴	۱۰
	٪۲۱/۹۸		۰/۰۴۵	۲۰
	٪۳۶/۹۲		۰/۰۷۹	۳۰
	٪۵۳/۱۹		۰/۱۱۶	۴۰
	٪۷۱/۲۱		۰/۱۵۷	۶۰
	٪۸۷/۹۱		۰/۱۹۵	۸۰
	٪۹۰/۵۵		۰/۲۰۱	۹۰
	٪۹۰/۱۱		۰/۲۰۰	۱۰۰
	٪۹۰/۱۱		۰/۲۰۰	۱۱۰
	٪۹۰/۱۱		۰/۲۰۰	۱۳۰
	٪۹۰/۱۱		۰/۲۰۰	۱۴۰



شکل (۳-۱۰) بررسی اثر حجم حلال آلی بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS، شرایط: محلول کبالت (II) با غلظت ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر، لیگاند HNB با غلظت $10^{-6} \times 1/3$ مولار، ۲/۰ میلی لیتر محلول بافر استاتی با $\text{pH} = 5/5$ ، دور سانتریفوژ ۵۰۰۰ دور بر دقیقه، ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول به عنوان حلال پخش کننده.

۳-۱-۵-۸- بررسی اثر حجم حلال پخش کننده

در این بررسی حجم اتانول به عنوان حلال پخش کننده در محدوده ۵۰۰/۰-۱۸۰۰/۰ میکرولیتر مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی یک میلی لیتر از محلول کبالت (II) با غلظت ۰/۵ میلی گرم بر لیتر، یک میلی لیتر محلول لیگاند HNB با غلظت $10^{-5} \times 1/3$ مولار، ۲ میلی لیتر بافر استاتی با $\text{pH} = 5/5$ وارد یک بالون ۱۰ میلی لیتری شدند و با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شدند. سپس محلول نمونه به یک لوله آزمایش منتقل گردید. در مرحله ی بعد ۹۰ میکرولیتر کربن تترا کلرید با حجمهای متفاوت از اتانول، در محدوده ۱۸۰۰-۵۰۰ میکرولیتر، مخلوط و به طور جداگانه به محلول نمونه، به وسیله سرنگ ۲/۰ میلی لیتری به سرعت تزریق شد. پس از تشکیل محلول ابری، محلول با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. در مرحله بعد توسط میکروپیت ۹۰ میکرولیتر از فاز آلی ته نشین شده به یک ویال منتقل شد و با ۱۱۰ میکرولیتر از مخلوط اتانول و نیتریک اسید ۱٪ با نسبت حجمی ۱:۱ رقیق گردید. نمونه آماده شده به دستگاه جذب اتمی شعله ای وارد گردید و جذب کبالت به دست آمد. سیگنال مربوط به محلول

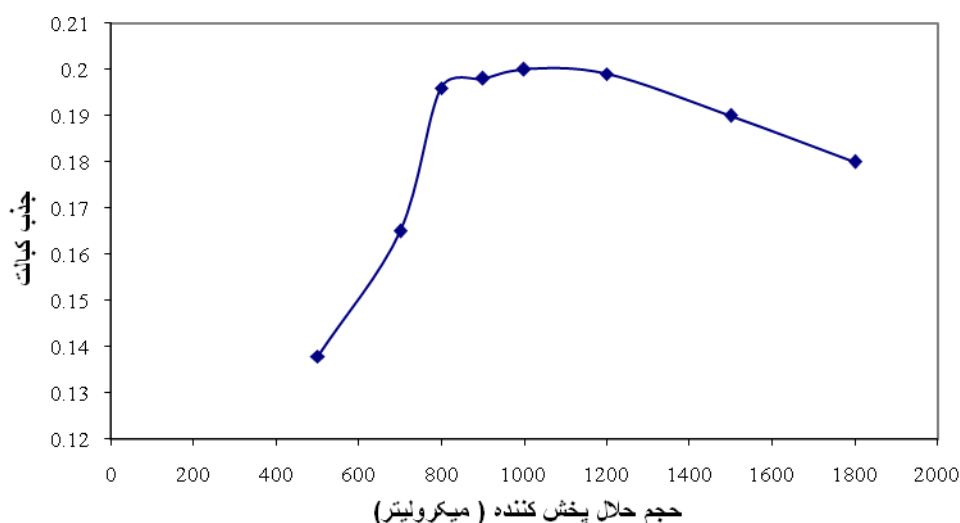
فصل سوم – بخش تجربی

شاهد نیز همانند شرایط بالا در غیاب یون کبالت بدست آمد و سیگنال تجزیه ای از تفاوت سیگنال نمونه و شاهد بدست آمد.

نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۰) و شکل (۳-۱۱) نشان داده شده است. نتایج نشان می دهد که با افزایش حجم اتانول از ۵۰۰ تا ۹۰۰ میکرولیتر سیگنال تجزیه ای افزایش می یابد. در محدوده ۹۰۰ تا ۱۲۰۰ میکرولیتر حلال پخش کننده اتانول سیگنال ثابت و بیشترین مقدار را دارد و در حجمهای بیشتر از ۱۲۰۰ میکرولیتر سیگنال تجزیه ای کاهش می یابد. علت این روند را میتوان به این دلیل توجیه نمود که در حجمهای کمتر از ۹۰۰ میکرولیتر اتانول، به علت تشکیل قطرات درشت حلال استخراج کننده در مخلوط سه تایی حلالها (حلال آبی - حلال استخراج کننده - حلال پخش کننده)، سطح تماس حلال استخراج کننده با محلول آبی کم می باشد، لذا راندمان استخراج و سیگنال تجزیه ای کم می شود. در حجمهای ۹۰۰ تا ۱۲۰۰ میکرولیتر حلال پخش کننده، با تشکیل قطرات ریز حلال استخراج کننده، سیگنال تجزیه ای بزرگ و ثابت می شود. در حجمهای بیشتر از ۱۲۰۰ میکرولیتر اتانول به علت کم شدن فاز آلی ته نشین شده و افزایش جذب شاهد، سیگنال تجزیه ای کاهش می یابد. لذا حجم ۱۰۰۰/۰ میکرولیتر از حلال پخش کننده اتانول برای بررسی های بعدی در نظر گرفته شد.

جدول (۳-۱۰): نتایج حاصل از بررسی حجم حلال پخش کننده

حجم اتانول(میکرولیتر)	جذب نمونه	جذب شاهد	جذب آنالیت	درصد بازیابی
۵۰۰	۰/۱۴۴	۰/۰۰۶	۰/۱۳۸	٪۶۲/۸۶
۷۰۰	۰/۱۷۱	۰/۰۰۶	۰/۱۶۵	٪۷۴/۷۳
۸۰۰	۰/۲۰۳	۰/۰۰۷	۰/۱۹۶	٪۸۸/۳۵
۹۰۰	۰/۲۰۵	۰/۰۰۷	۰/۱۹۸	٪۸۹/۲۳
۱۰۰۰	۰/۲۰۷	۰/۰۰۷	۰/۲۰۰	٪۹۰/۱۱
۱۲۰۰	۰/۲۰۸	۰/۰۰۹	۰/۱۹۹	٪۸۹/۶۷
۱۵۰۰	۰/۲۰۱	۰/۰۱۱	۰/۱۹۰	٪۸۵/۷۱
۱۸۰۰	۰/۱۹۲	۰/۰۱۲	۰/۱۸۰	٪۸۱/۳۲



شکل (۳-۱۱) بررسی اثر حجم حلال پخش کننده بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS شرایط : محلول (II) Co با غلظت ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر ، محلول لیگاند HNB با غلظت $10^{-6} \times 1/3$ مولار، بافر استاتی با $pH = 5/5$ ، ۹۰ میکرولیتر کربن تترا کلرید، اتانول به عنوان حلال پخش کننده.

۳-۱-۵-۹- بررسی اثر نوع حلال پخش کننده

پارامتر بعدی که مورد بررسی قرار گرفت، نوع حلال پخش کننده بود که در این بررسی حلالهای اتانول، متانول، استون و استونیتریل مورد مطالعه قرار گرفتند. در این بررسی ۱/۰ میلی لیتر از محلول کبالت (II) با غلظت ۰/۵۰ میلی گرم بر لیتر، ۱/۰ میلی لیتر محلول لیگاند HNB با غلظت $10^{-5} \times 1/3$ مولار، ۲/۰ میلی لیتر بافر استاتی با $pH = 5/5$ ، وارد یک بالون ۱۰ میلی لیتری شدند و با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شدند. سپس محلول نمونه به یک لوله آزمایش منتقل شد. در مرحله ی بعد مخلوطی از ۹۰ میکرولیتر کربن تترا کلرید و ۱۰۰۰ میکرولیتر از حلالهای پخش کننده ی مذکور به طور جداگانه به نمونه های آبی به وسیله ی یک سرنگ ۲ میلی لیتری به سرعت تزریق شد. پس از تشکیل محلول ابری، محلول با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. در مرحله بعد توسط میکروپیپت ۹۰ میکرولیتر از فاز آلی ته نشین شده به یک ویال منتقل شد و با ۱۱۰ میکرولیتر از مخلوط اتانول و نیتریک اسید ۱٪ با نسبت حجمی ۱:۱ رقیق گردید و جذب آن اندازه گیری شد. آمد و یادداشت شد. سیگنال مربوط به محلول

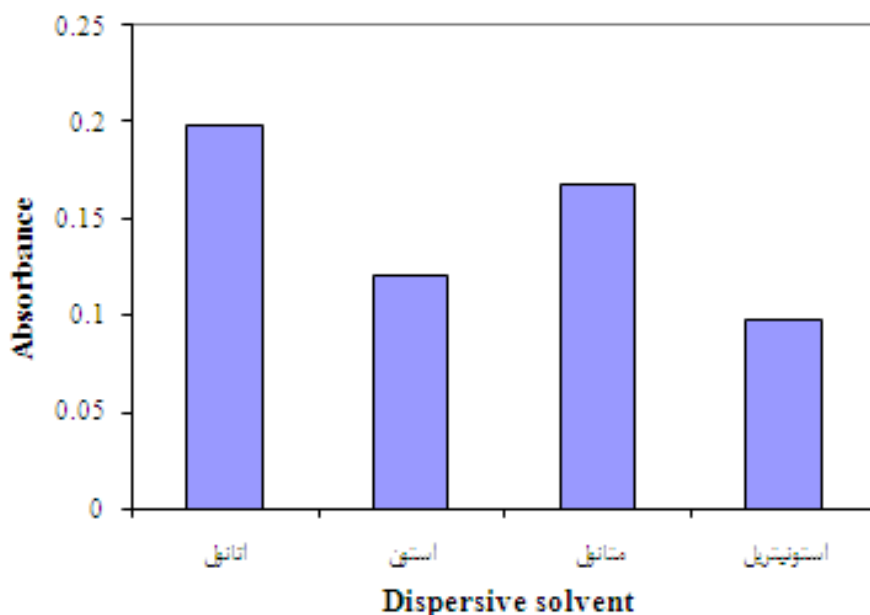
فصل سوم – بخش تجربی

شاهد نیز همانند شرایط بالا در غیاب یون کبالت بدست آمد و سیگنال تجزیه ای از تفاوت سیگنال نمونه و شاهد بدست آمد.

نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۱) و شکل (۳-۱۲) نشان داده شده است. بررسی نتایج نشان می‌دهد که ماکزیمم سیگنال تجزیه ای مربوط به اتانول می باشد. آزمایشات نشان داد که میزان ابری شدن محیط با اتانول بیشتر از سه حلال دیگر است، در نتیجه سطح تماس آنالیت با قطره آلی بیشتر و استخراج بهتر صورت می گیرد. بنابراین اتانول به عنوان حلال پخش کننده برای بررسی های بعدی در نظر گرفته شد.

جدول (۳-۱۱) بررسی اثر نوع حلال پخش کننده بر جذب کبالت

نوع حلال پخش کننده	جذب کبالت	درصد بازیابی
اتانول	۰/۱۹۸	٪۹۸/۲۳
استون	۰/۱۲۱	٪۵۵/۳۸
متانول	۰/۱۶۸	٪۷۶/۰۴
استون نیتریل	۰/۰۹۸	٪۴۵/۲۷



شکل (۳-۱۲) بررسی اثر نوع حلال پخش کننده بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS، شرایط: محلول Co(II) با غلظت ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر، محلول لیگاند HNB با غلظت $10^{-6} \times 1/3$ مولار، بافر استاتی با $\text{pH} = 5/5$ ، ۹۰ میکرولیتر حلال کربن تترا کلرید، ۱۰۰۰ میکرولیتر از حلالهای پخش کننده.

۳-۱-۵-۱۱- بررسی اثر غلظت لیگاند

بعد از بهینه کردن حجم حلال پخش کننده به بررسی اثر غلظت لیگاند در محدوده $10^{-6} \times 1/44 - 0$ مولار پرداخته شد. روش کار به این ترتیب بود که ۱/۰ میلی لیتر محلول کبالت (II) با غلظت ۰/۵۰ میلی گرم بر لیتر، و ۲/۰ میلی لیتر محلول بافر استاتی با $\text{pH} = 5/5$ وارد بالون حجمی ۱۰ میلی لیتری شد و با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد. سپس محلول نمونه به یک لوله آزمایش منتقل شد. سپس مخلوطی از ۹۰ میکرولیتر کربن تترا کلرید و ۱۰۰۰/۰ میکرولیتر اتانول بوسیله یک سرنگ ۲ میلی لیتری به سرعت به محلولهای نمونه تزریق شد. پس از تشکیل محلول ابری، محلول با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. در مرحله بعد توسط میکروپیپت ۹۰ میکرولیتر از فاز آلی ته نشین شده به یک ویال منتقل شد و با ۱۱۰ میکرولیتر از مخلوط اتانول و نیتریک اسید ۱٪ با نسبت حجمی ۱:۱ رقیق گردید. نمونه آماده شده به دستگاه جذب اتمی شعله ای وارد گردید و سیگنال جذبی کبالت به دست آمد.

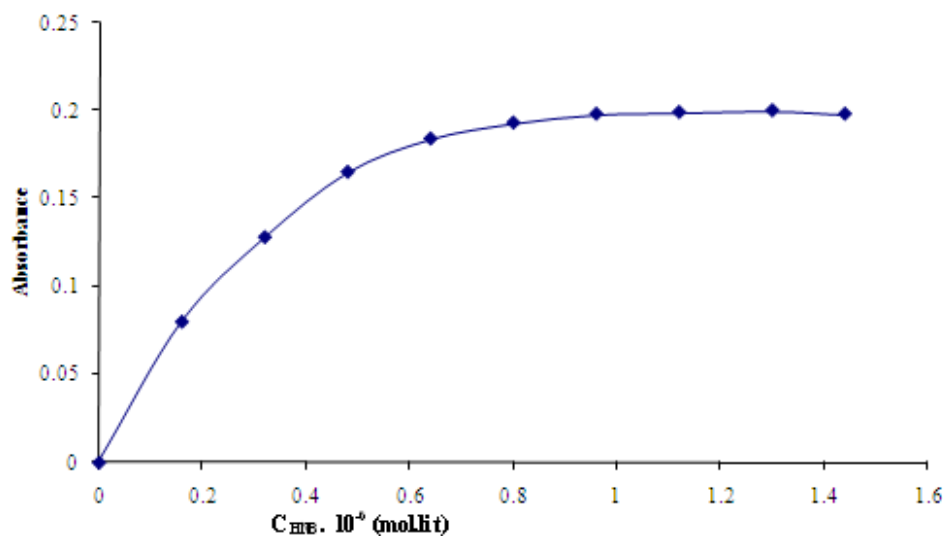
فصل سوم – بخش تجربی

سیگنال مربوط به محلول شاهد نیز همانند شرایط بالا در غیاب یون کبالت بدست آمد و سیگنال تجزیه ای از تفاوت سیگنال نمونه و شاهد بدست آمد.

نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۲) و شکل (۳-۱۳) نشان داده شده است. این نتایج نشان می دهد که با افزایش غلظت لیگاند تا 10^{-7} مولار مقدار سیگنال تجزیه ای افزایش یافته و پس از آن ثابت باقی می ماند. افزایش ابتدایی در استخراج، امری کاملاً طبیعی است، زیرا با افزایش غلظت لیگاند، میزان تشکیل کمپلکس در فاز آبی افزایش می یابد و در نتیجه باعث افزایش غلظت کمپلکس در فاز آلی می شود. سپس با افزایش غلظت لیگاند به علت مستقل شدن تشکیل کمپلکس از غلظت لیگاند و کامل شدن واکنش تشکیل کمپلکس، مقدار استخراج ثابت باقی می ماند. برای اینکه غلظت لیگاند برای مقادیر بیشتر کبالت (II) کافی باشد از غلظت 10^{-6} مولار لیگاند HNB در بررسی های بعدی استفاده شد.

جدول (۳-۱۲): نتایج حاصل از بررسی غلظت لیگاند بر جذب کبالت

درصد باز یابی	جذب کبالت	غلظت لیگاند $\times 10^{-6}$ (مول بر لیتر)
۰	۰	۰
٪۳۷/۳۶	۰/۰۸۰	۰/۱۶
٪۵۸/۴۶	۰/۱۲۸	۰/۳۲
٪۷۴/۷۳	۰/۱۶۵	۰/۴۸
٪۸۳/۰۸	۰/۱۸۴	۰/۶۴
٪۸۷/۰۳	۰/۱۹۳	۰/۸۰
٪۸۹/۲۳	۰/۱۹۸	۰/۹۶
٪۸۹/۶۷	۰/۱۹۹	۱/۱۲
٪۹۰/۱۱	۰/۲۰۰	۱/۳۰
٪۸۹/۲۳	۰/۱۹۸	۱/۴۴



شکل (۳-۱۳) بررسی اثر غلظت لیگاند بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS، شرایط: محلول Co (II) با غلظت ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر، ۲ میلی لیتر محلول بافر استاتی با pH = ۵/۵، ۹۰ میکرولیتر کربن تترا کلرید، ۱۰۰۰/۰ میکرولیتر اتانول، مدت سانتریفوژ ۵ دقیقه.

۳-۱-۵-۱۲- بررسی اثر قدرت یونی

تأثیر قدرت یونی بر حساسیت و جذب محلول استخراج شده با افزایش پتاسیم نیترات در ناحیه ی غلظتی ۰/۵۰ - ۰/۱۰۰ مولار (برای تثبیت قدرت یونی) مورد بررسی قرار گرفت. روش کار نیز به صورت زیر بود.

۱/۰ میلی لیتر محلول کبالت (II) با غلظت ۰/۵۰ میلی گرم بر لیتر، ۱/۰ میلی لیتر محلول لیگاند HNB با غلظت $10^{-5} \times 1/3$ مولار و ۲/۰ میلی لیتر محلول بافر استاتی با pH = ۵/۵ به همراه غلظت های مختلف نمک پتاسیم نیترات در گستره ی غلظتی (۰/۵۰ - ۰/۱۰۰) مولار در بالون حجمی ۱۰ میلی لیتری با آب دو بار تقطیر به حجم رسید. بعد از به حجم رساندن و یکنواخت کردن، محلول نمونه به درون یک لوله آزمایش منتقل شد. سپس مخلوطی از ۹۰ میکرولیتر کربن تترا کلرید و ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول بوسیله یک سرنگ ۲ میلی لیتری به سرعت به محلول نمونه تزریق شدند. پس از تشکیل محلول ابری، محلول به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. در مرحله بعد توسط میکروپیت ۹۰ میکرولیتر از فاز آلی ته نشین شده به یک ویال منتقل شد و با ۱۱۰ میکرولیتر از مخلوط اتانول و اسید نیتریک ۱٪ با

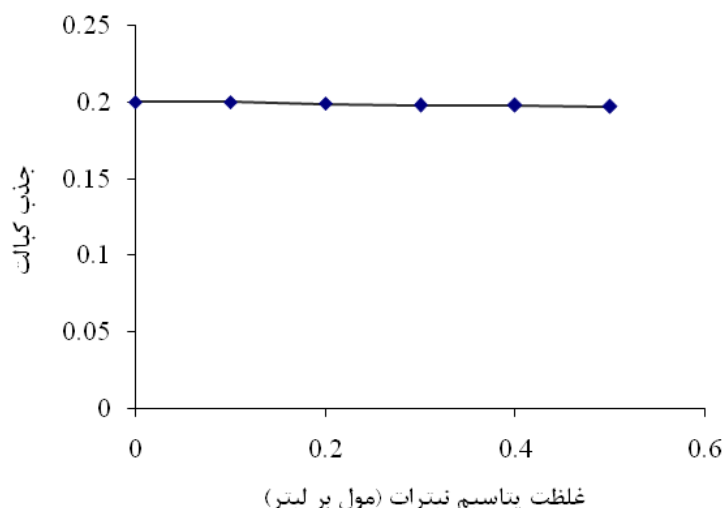
فصل سوم – بخش تجربی

نسبت حجمی ۱:۱ رقیق گردید. نمونه آماده شده به دستگاه جذب اتمی شعله ای وارد گردید و سیگنال جذبی کبالت اندازه گیری شد. سیگنال مربوط به محلول شاهد نیز همانند شرایط بالا در غیاب یون کبالت و نمک پتاسیم نیترات بدست آمد و سیگنال تجزیه ای از تفاوت سیگنال نمونه و شاهد بدست آمد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۳) و شکل (۳-۱۴) نشان داده شده است. نتایج حاصل از این بررسی نشان می دهد که با تغییر قدرت یونی سیگنال تجزیه ای تغییر قابل ملاحظه ای نمی کند. قدرت یونی می تواند بر روی سینتیک تشکیل کمپلکس، تعادل تشکیل کمپلکس و تعادل استخراج موثر باشد. با توجه به اینکه تشکیل کمپلکس از نظر سینتیک بسیار سریع می باشد (۳-۱-۴) و همچنین بالا بودن غلظت بافر قدرت یونی تاثیری بر روی استخراج ندارد. بنابراین آزمایش ها بدون افزودن نمک انجام شدند.

جدول (۳-۱۳) نتایج حاصل از بررسی اثر قدرت یونی

غلظت پتاسیم نیترات (مول بر لیتر)	جذب کبالت	درصد باز یابی
۰/۰۰	۰/۲۰۰	٪۹۰/۱۱
۰/۱۰	۰/۲۰۰	٪۹۰/۱۱
۰/۲۰	۰/۱۹۹	٪۸۹/۶۷
۰/۳۰	۰/۱۹۸	٪۸۹/۲۳
۰/۴۰	۰/۱۹۸	٪۸۹/۲۳
۰/۵۰	۰/۱۹۷	٪۸۸/۷۹

فصل سوم - بخش تجربی



شکل (۳-۱۴) بررسی اثر قدرت یونی بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS: محلول Co(II) با غلظت ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر، محلول لیگاند HNB با غلظت $1/3 \times 10^{-6}$ مولار، محلول بافر استاتی با $\text{pH} = 5/5$ ، ۹۰ میکرولیتر کربن تترا کلرید، ۱۰۰۰/۰ میکرولیتر اتانول، مدت سانتیفریوژ ۵ دقیقه.

۳-۱-۵-۱-۱۰- بررسی اثر حجم فاز آبی

پارامتر بعدی که مورد بررسی قرار گرفت، حجم فاز آبی بود که در محدوده ۴/۰-۱۵/۵ میلی لیتر مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی ۱/۰ میلی لیتر از محلولهای Co(II) با غلظت ۰/۵ میلی گرم بر لیتر و ۱/۰ میلی لیتر محلول لیگاند HNB با غلظت $1/3 \times 10^{-5}$ مولار به همراه ۱۰/۰ میلی لیتر بافر استاتی با $\text{pH} = 5/5$ وارد بالون حجمی ۵۰ میلی لیتری شد و با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد. در مرحله ی بعد حجمهای متفاوتی از محلول های نمونه در محدوده ۴/۰-۱۵/۵ وارد لوله های آزمایش شد. سپس مخلوطی از ۹۰ میکرولیتر کربن تترا کلرید و ۱۰۰۰/۰ میکرولیتر اتانول بوسیله یک سرنگ ۲ میلی لیتری به سرعت به محلولهای نمونه تزریق شدند. محلول ابری حاصل به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتیفریوژ شد. در مرحله بعد توسط میکروپیت ۹۰ میکرولیتر از فاز آلی ته نشین شده به یک ویال انتقال داده شد و با ۱۱۰ میکرولیتر از مخلوط اتانول و اسید نیتریک ۱٪ با نسبت حجمی ۱:۱ رقیق گردید. نمونه آماده شده به دستگاه جذب اتمی شعله ای وارد گردید و جذب کبالت به دست آمد. سیگنال

فصل سوم – بخش تجربی

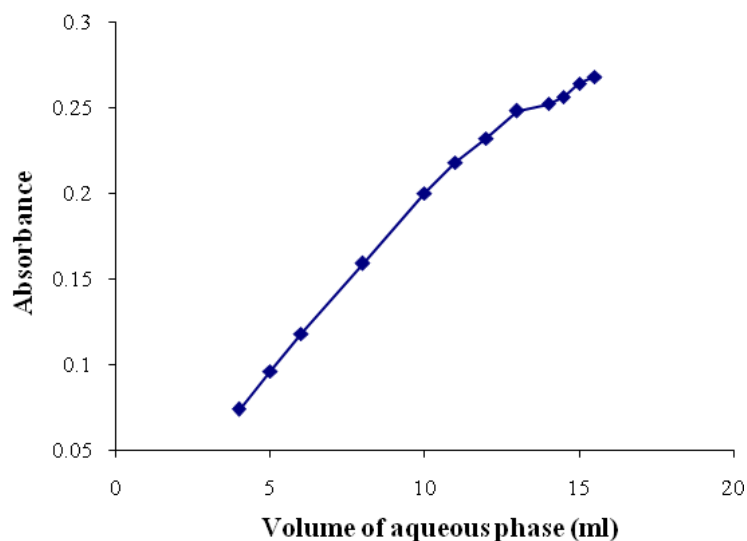
مربوط به محلول شاهد نیز همانند شرایط بالا در غیاب یون کبالت بدست آمد و سیگنال تجزیه ای از تفاوت سیگنال نمونه و شاهد بدست آمد.

نتایج حاصل از این بررسی در نمودار (۳-۱۴)، شکل (۳-۱۵) و شکل (۳-۱۶) نشان داده شده است. هنگامی که حجم فاز آبی از ۴/۰ میلی لیتر تا ۸/۰ میلی لیتر افزایش پیدا می کند، میکرو گرمهای بیشتری از کبالت استخراج می شود، در نتیجه سیگنال تجزیه ای افزایش و درصد باز یابی نیز افزایش پیدا می کند. با افزایش حجم از ۱۱/۰ تا ۱۵/۵ میلی لیتر نسبت حجمی فاز آلی به فاز آبی کاهش پیدا می کند و به نظر می رسد که فاز آلی تزریق شده برای استخراج آنالیت کافی نیست در نتیجه درصد بازیابی نیز کاهش پیدا می کند. لذا حجم ۱۰ میلی لیتر از فاز آبی به عنوان حجم بهینه در نظر گرفته شد.

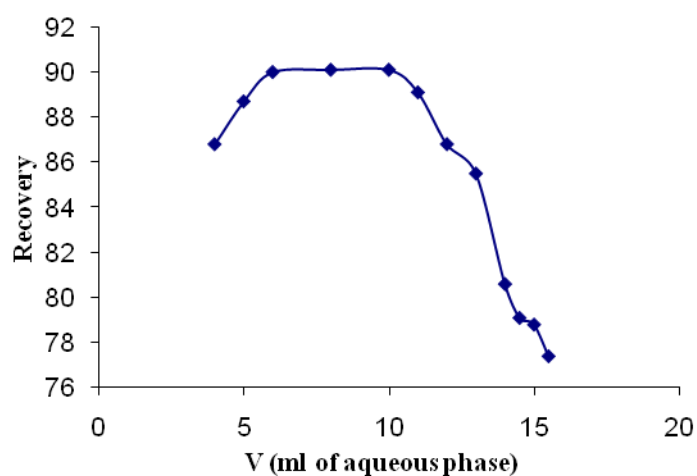
جدول (۳-۱۴): نتایج حاصل از بررسی حجم فاز آبی

درصد بازیابی	جذب کبالت	حجم فاز آبی (ml)
٪۸۶/۸۱	۰/۰۷۴	۴
٪۸۸/۷۹	۰/۰۹۶	۵
٪۹۰/۱۰	۰/۱۱۸	۶
٪۹۰/۱۱	۰/۱۵۹	۸
٪۹۰/۱۱	۰/۲۰۰	۱۰
٪۸۹/۱۱	۰/۲۱۸	۱۱
٪۸۶/۸۱	۰/۲۳۲	۱۲
٪۸۵/۵۴	۰/۲۴۸	۱۳
٪۸۰/۶۹	۰/۲۵۲	۱۴
٪۷۹/۱۲	۰/۲۵۶	۱۴/۵
٪۷۸/۸۲	۰/۲۶۴	۱۵
٪۷۷/۴۲	۰/۲۶۸	۱۵/۵

فصل سوم – بخش تجربی



شکل (۳-۱۵) بررسی اثر حجم فاز آبی بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS، شرایط: محلول کبالت (II) با غلظت ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر، لیگاند HNB با غلظت $1/3 \times 10^{-6}$ مولار، بافر استاتی با $pH = 5/5$ ، ۹۰ میکرولیتر کربن تترا کلرید ، ۱۰۰۰/۰ میکرولیتر اتانول، سرعت سانتریفوژ: ۵۰۰۰ دور بر دقیقه.



شکل (۳-۱۶) بررسی اثر حجم فاز آبی بر راندمان استخراج با روش DLLME-FAAS، شرایط: محلول کبالت (II) با غلظت ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر، لیگاند HNB با غلظت $1/3 \times 10^{-6}$ مولار، بافر استاتی با $pH = 5/5$ ، ۹۰ میکرولیتر کربن تترا کلرید ، ۱۰۰۰/۰ میکرولیتر اتانول، سرعت سانتریفوژ: ۵۰۰۰ دور بر دقیقه.

۳-۱-۵-۱۳- بررسی اثر زمان استخراج

پس از بررسی اثر حجم فاز آبی، زمان استخراج در محدوده ۳۰-۲ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی روش کار به صورت زیر بود.

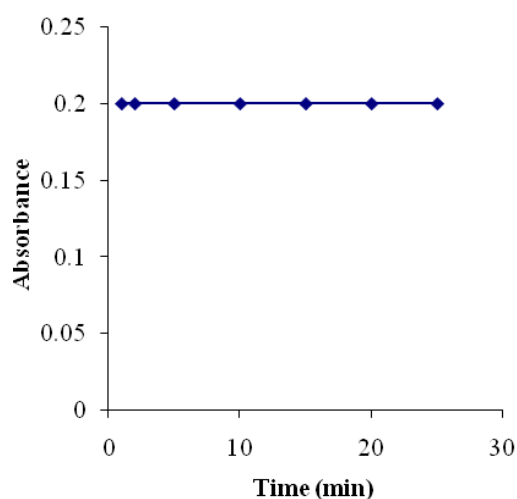
۱/۰ میلی لیتر محلول Co (II) ۰/۵۰ میلی گرم بر لیتر به همراه ۱/۰ میلی لیتر محلول لیگاند HNB با غلظت $10^{-5} \times 1/3$ مولار و ۲/۰ میلی لیتر بافر با $pH = 5/5$ وارد یک بالن به حجم ۱۰ میلی لیتر شد پس از به حجم رساندن با آب دو بار تقطیر به لوله آزمایش منتقل شد. سپس مخلوطی از ۹۰ میکرولیتر کربن تترا کلرید و ۱۰۰۰/۰ میکرولیتر اتانول بوسیله یک سرنگ ۲ میلی لیتری به سرعت به محلولهای نمونه تزریق شدند. پس از تزریق مخلوط استخراج کننده و پخش کننده، ۲ تا ۳۰ دقیقه به آن فرصت داده شد تا استخراج کمپلکس کبالت انجام شود سپس به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. سپس بوسیله میکروپیت ۹۰ میکرولیتر از فاز آلی ته نشین شده به یک ویال منتقل شد و با ۱۱۰ میکرولیتر از مخلوط اتانول و اسید نیتریک ۱٪ رقیق گردید. نمونه آماده شده به دستگاه جذب اتمی شعله ای وارد گردید و سیگنال جذبی کبالت به دست آمد. سیگنال مربوط به محلول شاهد نیز همانند شرایط بالا در غیاب یون کبالت بدست آمد و سیگنال تجزیه ای از تفاوت سیگنال نمونه و شاهد بدست آمد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۵) و شکل (۳-۱۷) نشان داده شده است. نتایج نشان می دهد که طولانی شدن زمان استخراج بر جذب نمونه بی اثر است و با گذشت زمان مقدار استخراج نمونه تغییری نمی کند.

علت آن این است که حلال استخراج کننده می تواند بعد از تشکیل محلول ابری به طور یکنواخت پخش شده و انتقال از فاز نمونه به فاز استخراج خیلی سریع انجام شود و حالت تعادل خیلی سریع برقرار گردد. در نتیجه برای رسیدن به تعادل به زمان بسیار کوتاه نیاز است. لذا زمان ۲ دقیقه برای آزمایش های بعدی انتخاب گردید.

فصل سوم – بخش تجربی

جدول (۳-۱۵) : نتایج حاصل از بررسی اثر زمان استخراج

درصد باز یابی	جذب کبالت	زمان استخراج (min)
٪۹۰/۱۱	۰/۲۰۰	۲
٪۹۰/۱۱	۰/۲۰۰	۵
٪۹۰/۱۱	۰/۲۰۰	۱۰
٪۹۰/۱۱	۰/۲۰۰	۱۵
٪۹۰/۱۱	۰/۲۰۰	۲۰
٪۹۰/۱۱	۰/۲۰۰	۲۵



شکل (۳-۱۷) بررسی اثر زمان استخراج بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS، شرایط : غلظت آنالیت ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر، غلظت لیگاند HNB $10^{-6} \times 1/3$ مولار ، بافر استاتی با $pH = 5/5$ ، ۹۰ میکرو لیتر کربن تترا کلرید و ۱۰۰۰/۰ میکرو لیتر اتانول، مدت سانتریفوژ ۵ دقیقه.

۳-۱-۵-۱۴- بررسی اثر سرعت سانتریفوژ

پس از بررسی اثر زمان استخراج سرعت سانتریفوژ در محدوده ۸۰۰۰-۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. این بررسی به صورت زیر انجام گرفت.

۱/۰ میلی لیتر محلول کبالت (II) ۰/۵۰ میلی گرم بر لیتر به همراه ۱/۰ میلی لیتر محلول لیگاند HNB با غلظت $10^{-5} \times 1/3$ مولار و ۲/۰ میلی لیتر محلول بافر استاتی با $pH = 5/5$ وارد یک بالن به

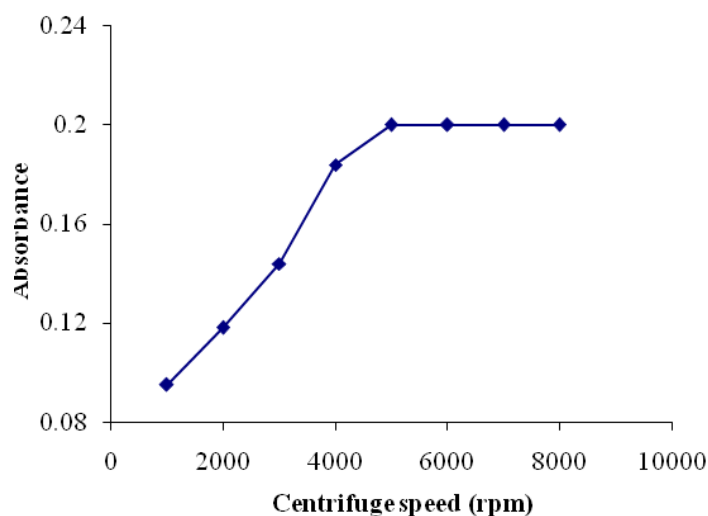
فصل سوم – بخش تجربی

حجم ۱۰ میلی لیتر شد و با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد. سپس مخلوطی از ۹۰ میکرولیتر کربن تترا کلرید و ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول بوسیله یک سرنگ ۲ میلی لیتری به سرعت به محلولهای نمونه تزریق شدند. مخلوط ابری شده با سرعت در محدوده ۸۰۰۰ - ۱۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس توسط میکروپیپت فاز آلی ته نشین شده به یک ویال منتقل شد و با مخلوط اتانول و اسید نیتریک ۱٪ با نسبت حجمی ۱:۱ تا حجم ۲۰۰ میکرولیتر رقیق گردید. نمونه آماده شده به دستگاه جذب اتمی شعله ای وارد گردید و جذب کبالت اندازه گیری شد. سیگنال مربوط به محلول شاهد نیز همانند شرایط بالا در غیاب یون کبالت بدست آمد و سیگنال تجزیه ای از تفاوت سیگنال نمونه و شاهد بدست آمد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۶) و شکل (۳-۱۸) نشان داده شده است. نتایج نشان می دهد که استخراج آنالیت از سرعت ۱۰۰۰ تا ۵۰۰۰ دور بر دقیقه افزایش می یابد و سپس ثابت می ماند. .

با افزایش سرعت تا ۵۰۰۰ دور بر دقیقه، مقدار فاز آلی ته نشین شده بیشتر شده و در نتیجه میزان استخراج افزایش پیدا می کند و در نتیجه سیگنالهای تجزیه ای افزایش پیدا میکند. با افزایش سرعت سانتریفوژ از ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به بالا، مقدار فاز آلی ته نشین شده ثابت باقی مانده و در نتیجه مقدار سیگنالهای تجزیه ای ثابت باقی می ماند. به همین دلیل در آزمایشهای بعدی سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه انتخاب گردید.

جدول (۳-۱۶): بررسی اثرنتایج حاصل از سرعت سانتریفوژ

سرعت سانتریفوژ (دور بر دقیقه)	فاز آلی ته نشین شده	جذب کبالت	درصد بازیابی
۱۰۰۰	۳۵	۰/۰۹۵	٪۴۳/۹۶
۲۰۰۰	۴۰	۰/۱۱۸	٪۵۴/۰۶
۳۰۰۰	۵۵	۰/۱۴۴	٪۶۵/۴۹
۴۰۰۰	۷۵	۰/۱۸۴	٪۸۳/۰۸
۵۰۰۰	۹۰	۰/۲۰۰	٪۹۰/۱۱
۶۰۰۰	۹۰	۰/۲۰۰	٪۹۰/۱۱
۷۰۰۰	۹۰	۰/۲۰۰	٪۹۰/۱۱
۸۰۰۰	۹۰	۰/۲۰۰	٪۹۰/۱۱



شکل (۳-۱۸): بررسی اثر سرعت سانتریفوژ بر اندازه گیری کبالت با روش DLLME-FAAS، شرایط: غلظت آنالیت ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر، غلظت لیگاند HNB $10^{-6} \times 1/3$ مولار، بافر استاتی با $\text{pH} = 5/5$ ، ۹۰ میکرو لیتر کربن تترا کلرید و ۱۰۰۰/۰ میکرو لیتر اتانول، مدت سانتریفوژ ۵ دقیقه.

۳-۱-۶- شرایط بهینه میکرواستخراج مایع - مایع پخشی

با توجه به بررسی وبهینه سازی پارامترهای موثر بر میکرواستخراج مایع- مایع پخشی محلول آبی کبالت، شرایط بهینه ذکر شده در جدول (۳-۱۷) انتخاب شد و در رسم منحنی کالیبراسیون مورد استفاده قرار گرفت

فصل سوم - بخش تجربی

جدول (۳-۱۷) : شرایط بهینه میکرواستخراج مایع- مایع پخشی محلول آبی کبالت

۵/۵۰	pH
استاتی	نوع بافر استفاده شده
۲/۰ میلی لیتر	حجم بافر
مخلوط اتانول و نیتریک اسید ۱٪	نوع حلال رقیق کننده
۱۱۰ میکرولیتر	حجم حلال رقیق کننده
کربن تتراکلرید	نوع حلال استخراج کننده
۹۰ میکرولیتر	حجم حلال استخراج کننده
اتانول	نوع حلال پخش کننده
۱۰۰۰ میکرولیتر	حجم حلال پخش کننده
۱۰/۰ میلی لیتر	حجم فاز آبی
$10^{-6} \times 1/3$ مولار	غلظت لیگاند HNB
۲ دقیقه	زمان استخراج
۵۰۰۰ دور بر دقیقه	سرعت سانتریفوژ

۳-۱-۷- رسم منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ

پس از بهینه کردن پارامترهای مختلف، منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ برای اندازه گیری یون کبالت بدست آمد و روش کار نیز بصورت زیر بود.

محلول هایی با غلظت های متفاوت از یون کبالت در گستره ی غلظتی ۱۵/۰ - ۰/۰۰۲۰ میلی گرم بر لیتر تهیه گردید. تمامی این محلول ها در حضور ۱/۰ میلی لیتر محلول لیگاند HNB با غلظت $10^{-5} \times 1/3$ مولار و ۲/۰ میلی لیتر محلول بافر استاتی با pH= ۵/۵ در بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری تهیه شد. سپس استخراج تحت شرایط بهینه برای هر کدام از غلظت ها صورت گرفت و به دستگاه جذب اتمی شعله ای وارد گردید و جذب کبالت اندازه گیری شد. سیگنال مربوط به محلول شاهد نیز همانند شرایط بالا در غیاب یون کبالت بدست آمد و سیگنال تجزیه ای از تفاوت سیگنال نمونه و شاهد بدست آمد. سپس

فصل سوم - بخش تجربی

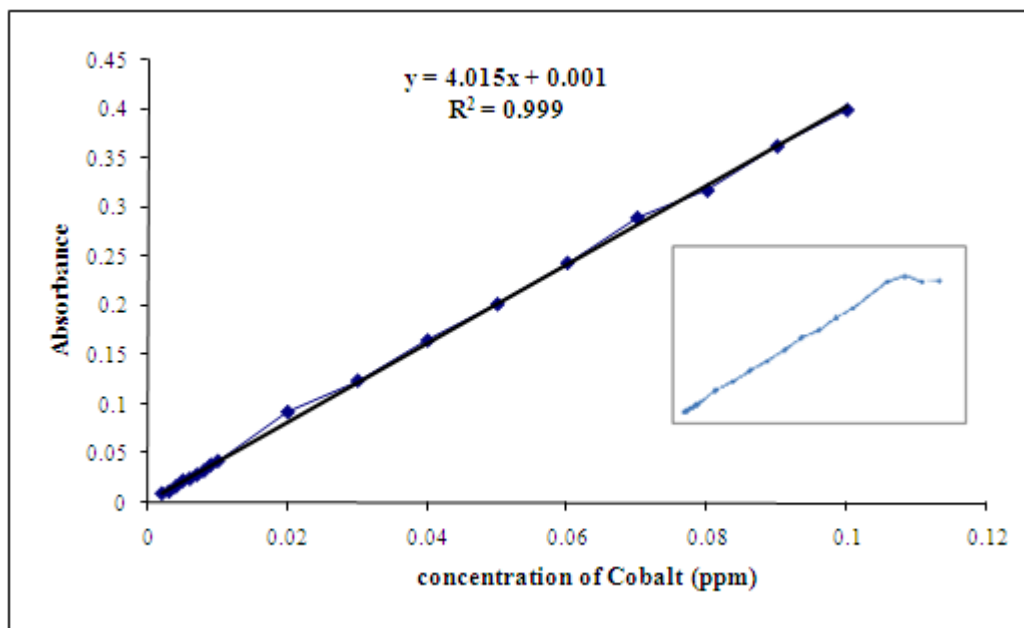
سیگنال تجزیه ای حاصله بر حسب غلظت اولیه گونه در فاز آبی رسم گردید. نتایج بدست آمده از این بررسی در جدول (۱۸-۳) و شکل (۱۹-۳) نشان می دهد که در گستره ی غلظتی ۰/۰۰۲۰-۰/۱۰ میلی گرم بر لیتر، رابطه ی خطی بین سیگنال تجزیه ای و غلظت کبالت در محلول وجود دارد. معادله بهترین خط از روش رگرسیون حداقل مربعات برای مقادیر غلظت و سیگنال تجزیه ای مربوط به استخراج یون کبالت بصورت زیر بدست آمد.

$$A = 4/015 C_{Co} + 0/001 \quad r = 0/999 \quad (1-3)$$

C_{Co} : غلظت Co (II) در فاز آبی بر حسب میلی گرم بر لیتر
 A: سیگنال جذبی در طول موج ۲۴۰/۷ نانومتر

جدول (۱۸-۳): سیگنالهای تجزیه ای بدست آمده برای غلظت های مختلف کبالت در محدوده ۰/۰۰۲۰-۰/۱۵ میلی گرم بر لیتر

یون کبالت (mg/L)	جذب
۰/۰۰۲۰	۰/۰۰۹
۰/۰۰۳۰	۰/۰۱۱
۰/۰۰۴۰	۰/۰۱۶
۰/۰۰۵۰	۰/۰۲۲
۰/۰۰۶۰	۰/۰۲۴
۰/۰۰۷۰	۰/۰۲۸
۰/۰۰۸۰	۰/۰۳۲
۰/۰۰۹۰	۰/۰۳۸
۰/۰۱۰	۰/۰۴۲
۰/۰۲۰	۰/۰۹۲
۰/۰۳۰	۰/۱۲۴
۰/۰۴۰	۰/۱۶۵
۰/۰۵۰	۰/۲۰۲
۰/۰۶۰	۰/۲۴۴
۰/۰۷۰	۰/۲۹۰
۰/۰۸۰	۰/۳۱۸
۰/۰۹۰	۰/۳۶۳
۰/۱۰	۰/۴۰۰
۰/۱۲	۰/۵۰۰
۰/۱۳	۰/۵۲۱
۰/۱۴	۰/۴۹۸
۰/۱۵	۰/۵۰۱



شکل (۳-۱۹): منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ برای کبالت : غلظت محلول لیگاند HNB $10^{-6} \times 1/3$ مولار، بافر استاتی با $pH = 5/5$ ، سرعت سانتریفوژ ۵۰۰۰ دور بر دقیقه، ۹۰ میکرولیتر کربن تترا کلرید و ۱۰۰۰/۰ میکرولیتر اتانول.

۳-۱-۸- بررسی اثر مزاحمت

برای بررسی قابلیت کاربرد روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی، در اندازه گیری کبالت (II) در نمونه های حقیقی، اثر مزاحمت های احتمالی کاتیون ها و آنیون های مختلف در پیش تغلیظ عنصر کبالت با استفاده از این روش و اندازه گیری آن توسط اسپکتروسکوپی جذب اتمی شعله ای مورد بررسی قرار گرفت. روش کار در بررسی اثر مزاحمت ها به صورت زیر بود :

ابتدا سیگنال محلول نمونه در غیاب گونه مزاحم اندازه گیری شد. به این صورت که در یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری، ۱/۰ میلی لیتر محلول کبالت (II) با غلظت ۰/۵۰ میلی گرم بر لیتر، ۱/۰ میلی لیتر محلول لیگاند HNB با غلظت $10^{-5} \times 1/3$ مولار و ۲/۰ میلی لیتر محلول بافر استاتی با $pH = 5/5$ اضافه گردید و با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد. در مرحله بعد عمل استخراج بر روی این محلول ها و تحت شرایط بهینه انجام گرفت. سیگنال تجزیه ای بدست آمده ۶ بار اندازه گیری شد و میانگین سیگنال ها \bar{A} و انحراف استاندارد (S) محاسبه شد. محدوده قابل قبول برای نوسان سیگنال، با توجه به رابطه

فصل سوم – بخش تجربی

$\bar{A} \pm 3S$ بدست آمد. سپس برای بررسی اثر مزاحمت احتمالی هر گونه، یون مورد نظر با نسبت ۱۰۰۰۰ برابر وزنی - وزنی، نسبت به یون کبالت (II) به محلول اولیه اضافه شد. در مرحله بعد بر روی این محلول عمل استخراج صورت گرفت و سیگنال تجزیه ای مربوط به آن بدست آمد. اگر سیگنال تجزیه ای بدست آمده در حضور گونه مزاحم در دامنه $\bar{A} \pm 3S$ قرار می گرفت، به این معنا بود که یون مورد نظر با نسبت موجود، مزاحم نیست. در غیر این صورت نسبت وزنی گونه ی مزاحم آنقدر کاهش داده می شد تا سیگنال تجزیه ای در دامنه $\bar{A} \pm 3S$ قرار گیرد. نتایج حاصله در جدول (۳-۱۹) نشان داده شده است. نتایج نشان می دهد که اکثر گونه ها در غلظتهای بالا نسبت به کبالت در اندازه گیری آن ایجاد مزاحمت نمی کند.

جدول (۳-۱۹): نتایج حاصل از بررسی اثر گونه های مزاحم در اندازه گیری یون کبالت با غلظت ۰/۰۵۰ میلی گرم بر لیتر

گونه مورد بررسی	حد مجاز گونه مزاحم (W/W)
CH_3COO^- , HCOO^- , $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$, NO_3^- , K^+ , NO_2^- , $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$	۱۰۰۰۰
HPO_4^{2-} , ClO_3^- , Cl^- , HSO_4^- , Ba^{2+} , F^- , Na^+ , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Pb^{2+} , Mg^{2+} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, PO_4^{3-} , Cr^{3+} , Cr^{6+} , SO_3^{2-} , SCN^- , CN^- , Br^- , SO_4^{2-} , Li^+ , I^-	۱۰۰۰
IO_4^- , HCO_3^- , Al^{3+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Hg^{2+} , Ag^+ , سیترات، CO_3^{2-} ,	۸۰۰
Fe^{2+} , Fe^{3+}	۶۰۰

۳-۱-۹- حد تشخیص

حد تشخیص تئوری روش را می توان با استفاده از معادله کیزر^{۵۳} (۳-۱) بدست آورد. [۵۳]

$$LOD = \frac{KS_b}{m} \quad (۳-۲)$$

که در این معادله K ضریب اطمینان، S_b انحراف استاندارد سیگنال های تکراری اندازه گیری شده برای محلول شاهد و m نیز شیب منحنی کالیبراسیون است. کیزر نشان داد که مقدار منطقی برای K برابر ۳ است. برای بدست آوردن حد تشخیص بصورت زیر عمل شد.

به یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری، ۱/۰ میلی لیتر محلول لیگاند HNB با غلظت $10^{-5} \times 1/3$ مولار و ۲/۰ میلی لیتر محلول بافر استاتی با $pH = 5/5$ منتقل شد و با آب دو بار تقطیر به حجم رسید. این محلول به یک لوله آزمایش منتقل شد. سپس بوسیله سرنگ ۲ میلی لیتری مخلوط ۹۰ میکرولیتر کربن تترا کلرید و ۱۰۰۰/۰ میکرولیتر اتانول بسرعت به محلول شاهد تزریق شد مخلوط ابری شده با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس توسط میکروپیت ۹۰ میکرولیتر فاز آلی ته نشین شده و به یک ویال منتقل و با مخلوط اتانول و نیتریک اسید ۱٪ با نسبت حجمی ۱:۱ رقیق شد. در این مرحله محلول به دستگاه جذب اتمی وارد و سیگنال شاهد ۱۰ بار اندازه گیری شد. سپس با استفاده از معادله (۳-۲) انحراف استاندارد شاهد بدست آمد و مقدار حد تشخیص روش با استفاده از رابطه ی (۳-۲) محاسبه گردید که مقدار ۰/۱۴۹ میکروگرم بر لیتر بدست آمد.

$$S_b = \sqrt{\frac{\sum (X_i - X)^2}{n-1}} \quad 10 \times 2 S_b = \quad (۳-۳)$$

در این رابطه X_i سیگنال تجزیه ای اندازه گیری شده، X میانگین

سیگنالهای تجزیه ای و n تعداد اندازه گیریها می باشد.

۳-۱-۱۰- دقت و صحت

برای بررسی دقت و صحت روش، غلظت های متفاوتی از کبالت در محدوده دامنه خطی منحنی کالیبراسیون انتخاب و محلول های مورد نظر تهیه و عمل استخراج، در شرایط بهینه بر روی آن ها انجام گرفت. برای هر یک از غلظت های انتخاب شده ۶ بار اندازه گیری تکراری انجام گرفت و با استفاده از سیگنالهای تجزیه ای بدست آمده برای هر نمونه و با استفاده از معادله منحنی کالیبراسیون، مقدار کبالت معادل با هر سیگنال تجزیه ای محاسبه شد. نتایج حاصله در جدول (۲۰-۳) نشان داده شده است. آزمون t و مقادیر درصد بازیابی نشان دهنده ی صحت خوب روش است. مقدار t در سطح اطمینان ۹۵٪ برای ۵ درجه آزادی برابر ۲/۵۷ می باشد.

جدول (۲۰-۳): نتایج حاصل از دقت و صحت روش

میزان کبالت موجود (میلی گرم بر لیتر)	مقدار کبالت اندازه گیری شده (میلی گرم بر لیتر)	RSD% n= 6	نتایج آزمون t	درصد بازیابی
۰/۰۲۰	۰/۰۲۰۲ ± ۰/۰۰۱*	۴/۹۵	۰/۴۸۹	٪۱۰۱
۰/۰۳۰	۰/۰۲۹ ± ۰/۰۰۱	۳/۴۵	۲/۴۵	٪۹۶/۷
۰/۰۴۰	۰/۰۴۱ ± ۰/۰۰۲	۴/۸۷	۱/۲۲	٪۱۰۲/۵

* انحراف استاندارد برای شش اندازه گیری

۳-۱-۱۱- تعیین درصد بازیابی

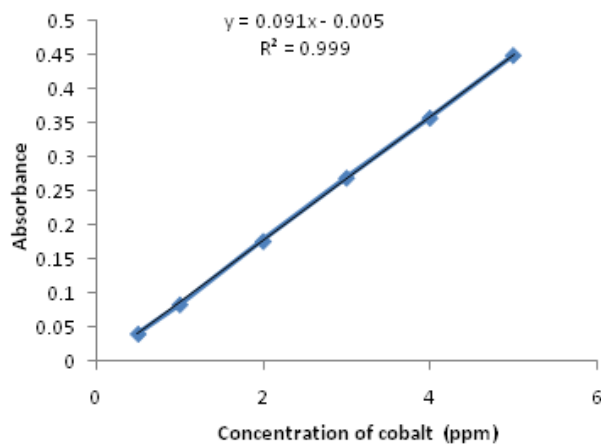
برای تعیین مقدار فاکتور پیش تغلیظ (غنی سازی) به یک منحنی درجه بندی مستقیم نیاز است. برای این کار ابتدا با رقیق سازی از محلول ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر کبالت (II) محلول هایی با غلظت متفاوت تهیه شد. سپس ۲۰ میکرولیتر از محلول های فوق برای تهیه محلول هایی در محدوده ی

فصل سوم – بخش تجربی

۰/۵۰ - ۵/۰ میلی گرم برلیتر برداشته شد و به یک ویال ۱/۵ میلی لیتری منتقل گردید. بمنظور یکسان بودن شرایط این محلولهای استاندارد با قطره حلال آلی، ۹۰ میکرولیتر کرین تتراکلرید نیز به آن اضافه و با مخلوط اتانول و نیتریک اسید ۱٪ با نسبت حجمی ۱:۱ تا حجم ۲۰۰ میکرولیتر رقیق گشت. سپس سیگنال جذبی هر یک از محلول ها توسط دستگاه اندازه گیری شد. سیگنال شاهد هم مثل نمونه اندازه گیری شد با این تفاوت که به آن کبالت افزوده نشد. منحنی سیگنال آنالیت بر حسب غلظت کبالت (II) رسم گردید. نتایج در جدول (۳-۲۱) و شکل (۳-۲۰) آمده است.

جدول (۳-۲۱) : سیگنالهای مستقیم بدست آمده غلظت های ۰/۵۰ - ۵/۰ میلی گرم برلیتر کبالت (II)

کبالت (mg/lit)	جذب
۰/۵۰	۰/۰۴۱
۱/۰	۰/۰۸۴
۲/۰	۰/۱۷۷
۳/۰	۰/۲۷۰
۴/۰	۰/۳۵۸
۵/۰	۰/۴۵۰



(۳-۲۰) : منحنی سیگنال مستقیم کبالت (II)

فصل سوم – بخش تجربی

(۴-۳)

$$A = 0.091C_{Co} - 0.005$$

$$r = 0.999$$

C_{Co} : غلظت $Co(II)$ در فاز آبی بر حسب میلی گرم بر لیتر

A: سیگنال جذبی کبالت در طول موج ۲۴۰/۷ نانومتر

برای بدست آوردن درصد بازیابی روش نیز به این صورت عمل شد که غلظت های متفاوتی از کبالت در محدوده دامنه خطی منحنی کالیبراسیون انتخاب و محلول های مورد نظر تهیه و عمل استخراج، در شرایط بهینه بر روی آن ها انجام گرفت. برای هر یک از غلظت های انتخاب شده ۶ بار اندازه گیری تکراری انجام گرفت. با قرار دادن میزان سیگنال تجزیه ای بعد از پیش تغلیظ در معادله منحنی درجه بندی مستقیم، میزان غلظت کبالت (II) بدست آمد. سپس مقدار میکروگرم کبالت بعد از پیش تغلیظ و در محلول اولیه محاسبه شد. از تقسیم مقدار نمونه بازیافت شده به مقدار اولیه، درصد بازیابی محاسبه شد. نتایج حاصله در جدول (۳-۲۲) نشان داده شده است.

جدول (۳-۲۲): نتایج محاسبه درصد بازیابی کبالت (II)

درصد بازیابی	میکروگرم بازیافت شده	میکروگرم اولیه	غلظت کبالت (II) (میلی گرم بر لیتر)
٪۹۴/۶	۰/۲۸۴	۰/۳	۰/۰۳
٪۹۳/۴	۰/۳۷۴	۰/۴	۰/۰۴
٪۹۸/۳	۰/۰۵۹	۰/۰۶	۰/۰۰۶
٪۹۹	۰/۰۹۹	۰/۱	۰/۰۱
٪۱۰۰	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۰۷
٪۹۵/۲	۰/۰۵۷	۰/۰۶	۰/۰۰۶

میانگین درصد بازیابی = ۹۶/۸

۳-۱-۱۲- تعیین فاکتور پیش تغلیظ (EF)

بعد از رسم این منحنی درجه بندی بمنظور محاسبه فاکتور پیش تغلیظ، شیب منحنی پیش تغلیظ به شیب منحنی درجه بندی تقسیم گردید [۵۷]. در رابطه (۳-۳) m_1 شیب منحنی کالیبراسیون پیش تغلیظ و m_2 شیب منحنی کالیبراسیون مستقیم است. با استفاده از این رابطه مقدار فاکتور پیش تغلیظ $44/2$ بدست آمد.

$$EF = \frac{m_1}{m_2} = 44/2 \quad (3-5)$$

با توجه به رابطه (۱۰-۲) و فاکتور پیش تغلیظ و حجمهای فاز آبی و آلی می توان بطور تئوری درصد بازیابی را بصورت زیر محاسبه کرد:

$$ER = \frac{EF \times V_{sed} \times 100}{vaq} = \frac{44.2 \times 0.2 \times 100}{10} = 88.4\%$$

که مقدار تئوری درصد بازیابی $88/4\%$ با مقدار عملی آن $96/8\%$ تطابق خوبی دارد.

۳-۱-۱۳- کاربرد روش

۳-۱-۱۳-۱- اندازه گیری کبالت در نمونه های آب

برای بررسی کارایی روش پیشنهادی در اندازه گیری کبالت از نمونه های سنتزی استفاده شد. برای تهیه این نمونه ها از آب شهر شاهرود، آب چاه در اطراف شهر گرگان و آب دریای مازندران استفاده شد. روش کار به این صورت بود که مقادیر مشخصی از یون کبالت به حجم ثابتی از نمونه های بالا اضافه گردید تا نمونه های سنتزی تهیه شوند. لازم به ذکر است که نمونه های آب چاه و آب دریا، به علت داشتن گل ولای و ناخالصی، با کاغذ صافی واتمن صاف گردیدند. ۸ میلی لیتر از نمونه های حاصل به روش پیشنهادی استخراج و اندازه گیری کبالت صورت گرفت و هر آزمایش سه بار تکرار شد. در اندازه گیری از روش افزایش استاندارد استفاده گردید. نتایج حاصل از بررسی در جدول (۳-۲۳) نشان داده شده است. مقدار t بحرانی در سطح اطمینان 95% برای ۳ اندازه گیری $4/30$ می باشد.

فصل سوم - بخش تجربی

جدول (۳-۲۳) : نتایج حاصل از بررسی نمونه های آب

نمونه آب	کبالت اضافه شده (میلی گرم برلیتر)	کبالت اندازه گیری شده (میلی گرم برلیتر)	RSD n=3	نتایج آزمون t	درصد بازیابی	مقدار کبالت در نمونه های آب (mg/lit)
آب شهر	-	<LOD	-	-	-	-
آب شهر	۰/۰۵	۰/۰۴۹ ± ۰/۰۰۱*	۲/۰۴	۱/۷۳	%۹۸	-
آب شهر	۰/۰۹	۰/۰۸۹ ± ۰/۰۰۴	۴/۴۹۴	۰/۴۳۳	%۹۸/۸	-
آب چاه	-	<LOD	-	-	-	-
آب چاه	۰/۰۱	۰/۰۰۹۸ ± ۰/۰۰۰۳	۳/۰۶	۱/۱۵۴	%۹۸	-
آب چاه	۰/۰۵	۰/۰۴۹ ± ۰/۰۰۱	۲/۰۴	۱/۷۳	%۹۸	-
آب دریا	-	۰/۰۰۴۱ ± ۰/۰۰۰۲	۴/۸۸	-	-	۴/۰۰ × ۱۰ ^{-۳}
آب دریا	۰/۰۱	۰/۰۱۴۲ ± ۰/۰۰۰۲	۱/۴۱	۱/۷۳	%۱۰۱	-
آب دریا	۰/۰۵	۰/۰۵۴۳ ± ۰/۰۰۰۸	۱/۴۸	۰/۴۳۳	%۱۰۰/۴	-

*انحراف استاندارد برای ۳ اندازه گیری

۳-۱-۱۳-۲- اندازه گیری کبالت در نمونه های خاک

حدود ۲۰ گرم از نمونه های خاک توزین و در آون خشک شد. سپس ۱۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر، ۴/۰ میلی لیتر نیتریک اسید غلیظ و ۳/۰ میلی لیتر پر اکسید هیدروژن ۳۰ درصد افزوده شد سپس به آهستگی همراه همزدن حرارت داده شد تا حجم آن نصف گردد. بعد از سرد شدن محلول بوسیله ی کاغذ صافی (واتمن شماره یک) صاف گردیده و به یک بالون حجمی ۵۰۰ میلی لیتری منتقل گردید [۵۴]. سپس ۸ میلی لیتر از نمونه با روش پیشنهادی پیش تغلیظ و بوسیله جذب اتمی شعله، مقدار کبالت آنها اندازه گیری شد. هر اندازه گیری سه بار تکرار شد. در اندازه گیریها از روش افزایش استاندارد استفاده گردید. نتایج حاصل از بررسی در جدول (۳-۲۴) نشان داده شده است. مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۹٪ برای ۳ اندازه گیری ۹/۹۲ می باشد.

فصل سوم – بخش تجربی

جدول (۳-۲۴): نتایج حاصل از بررسی نمونه های خاک

نمونه خاک	کبالت اضافه شده (میلی گرم بر لیتر)	کبالت اندازه گیری شده (میلی گرم برلیتر)	RSD (n=3)	نتایج آزمون t	درصدبازایی	مقدار کبالت در کل نمونه های خاک (μg/g)
* خاک (A)	-	۰/۰۱۴ ± ۰/۰۰۱ *	۷/۱۴	-	-	۰/۴۲۵
خاک (A)	۰/۰۱۰	۰/۰۲۲ ± ۰/۰۰۲	۹/۰۹	۱/۷۳	٪۸۰	
خاک (A)	۰/۰۵۰	۰/۰۵۴ ± ۰/۰۰۱	۱/۸۵	۱/۸۳	٪۸۰	
** خاک (B)	-	۰/۰۳۵ ± ۰/۰۰۱	۲/۸۶	-	-	۰/۸۷۵
خاک (B)	۰/۰۱۰	۰/۰۴۵ ± ۰/۰۰۲	۴/۶۵	۰	۰/۱۰۰	
خاک (B)	۰/۰۵۰	۰/۰۸۸ ± ۰/۰۰۱	۱/۴۷	۵/۱۹	٪۱۰۶	

* نمونه خاک (A): خاک باغچه ** نمونه خاک (B): خاک اطراف کارخانه سیمان شاهرود * انحراف استاندارد

برای ۳ اندازه گیری

۳-۱-۱۳-۳ - اندازه گیری کبالت در نمونه های میوه و سبزی

نمونه های میوه و سبزیجات تازه به مدت یک هفته در مجاورت هوا خشک شدند. در مرحله ی بعد نمونه ها در آون در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند تا تمامی آب موجود در بافت آنها تبخیر شده و به وزن ثابتی برسند. سپس نمونه های خشک شده بوسیله ی آسیاب پودر شدند. ۲/۰ گرم از هر نمونه به طور جداگانه توزین و به آن ۲۰ میلی لیتر نیتریک اسید غلیظ اضافه گردید. مخلوط حاصل بمدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد بر روی یک دستگاه گرمکن مجهز به همزن مغناطیسی حرارت داده شد. سپس مجدداً ۲۰ میلی لیتر نیتریک اسید غلیظ و ۸ میلی لیتر هیدروژن پراکسید به آن اضافه گردید و بمدت یک ساعت به آهستگی همراه با همزدن حرارت داده شد تا حجم آن نصف گردد. بعد از سرد شدن، محلول با کاغذ صافی واتمن صاف گردید و به یک بالن ۱۰۰ میلی لیتری منتقل و با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد [۵۵]. در این مرحله ۸ میلی لیتر از نمونه با روش پیشنهادی پیش تغلیظ و بوسیله جذب اتمی شعله، مقدار کبالت آنها اندازه گیری شد. هر اندازه گیری سه بار تکرار شد و در اندازه گیریها نیز از روش افزایش استاندارد استفاده گردید. نتایج حاصل از بررسی در جدول (۳-۲۵) نشان داده شده است. مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۹٪، ۹/۹۲ می باشد.

فصل سوم - بخش تجربی

جدول (۳-۲۵): نتایج حاصل از بررسی اندازه گیری کبالت در نمونه های میوه وسبزی

مقدار کبالت در نمونه (میکروگرم بر گرم)	درصد بازیابی	نتایج آزمون t	RSD n= 3	غلظت کبالت اندازه گیری شده (میلی گرم بر لیتر)	کبالت اضافه شده (میلی گرم بر لیتر)	نمونه
۳/۸۴	-	-	۶/۲۵	۰/۰۱۶ ± ۰/۰۰۱*	-	نعنا
	%۹۰	۱/۷۳	۴/۰۰	۰/۰۲۵ ± ۰/۰۰۱	۰/۰۱۰	نعنا
۴/۸۰	-	-	۵/۰۰	۰/۰۲۰ ± ۰/۰۰۱	-	شوید
	%۸۰	۴/۳۳	۵/۰۰	۰/۰۶۰ ± ۰/۰۰۳	۰/۰۵۰	شوید
۷/۶۸	-	-	۶/۲۵	۰/۰۳۲ ± ۰/۰۰۲	-	کلم
	%۱۱۰	۱/۷۳	۲/۳۳	۰/۰۴۳ ± ۰/۰۰۱	۰/۰۱۰	کلم
۶/۷۲	-	-	۳/۵۷	۰/۰۲۸ ± ۰/۰۰۱	-	خیار
	%۱۱۵/۹	۳/۴۶	۲/۵۶	۰/۰۳۹ ± ۰/۰۰۱	۰/۰۱۰	خیار
۳/۸۴	-	-	۶/۲۵	۰/۰۱۶ ± ۰/۰۰۱	-	هویج
	%۱۰۰	۰	۲/۷۸	۰/۰۳۶ ± ۰/۰۰۱	۰/۰۲۰	هویج
۳/۸۴	-	-	۶/۲۵	۰/۰۱۶ ± ۰/۰۰۱	-	کدوسبز
	%۱۰۰	۰	۳/۸۵	۰/۰۲۶ ± ۰/۰۰۱	۰/۰۱۰	کدوسبز
۵/۷۶	-	-	۴/۱۶	۰/۰۲۴ ± ۰/۰۰۱	-	کاهو
	%۱۱۰	۱/۷۳	۲/۸۶	۰/۰۳۵ ± ۰/۰۰۱	۰/۰۱۰	کاهو
۱/۹۲	-	-	۲/۵۰	۰/۰۰۸ ± ۰/۰۰۰۲	-	آلو سیاه
	%۱۰۰	۰	۵/۵۶	۰/۰۱۸ ± ۰/۰۰۱	۰/۰۱۰	آلو سیاه
۱/۹۲	-	-	۱/۰۰	۰/۰۱۰ ± ۰/۰۰۰۱	-	پرتقال
	%۱۱۰	۱/۷۳	۴/۷۶	۰/۰۲۱ ± ۰/۰۰۱	۰/۰۱۰	پرتقال
۴/۸۰	-	-	۱/۰۰	۰/۰۲۰ ± ۰/۰۰۰۲	-	کیوی
	%۱۰۰	۰	۳/۳۳	۰/۰۳۰ ± ۰/۰۰۱	۰/۰۱۰	کیوی
۳/۸۴	-	-	۶/۲۵	۰/۰۱۶ ± ۰/۰۰۱	-	سیب
	%۹۰	۰/۸۶۶	۸/۰۰	۰/۰۲۵ ± ۰/۰۰۲	۰/۰۱۰	سیب

* انحراف استاندارد برای ۳ اندازه گیری

۳-۱-۱۳-۴- اندازه گیری کبالت در خون

خون بافت مایعی است که عوامل شیمیایی گوناگون و فراوانی در آن محلول بوده و میلیون ها سلول مختلف در آن وجود دارند. بخش مایع خون را پلاسما و بخش دیگر را عناصر سلولی یا CBC^{۵۴} خون می نامند. اگر مقداری خون را در لوله آزمایش بریزیم چون فاکتور ضد انعقاد در داخل لوله وجود ندارد سلولهای قرمز خون لخته شده و در ته لوله قرار می گیرند و مایع زرد رنگ درون لوله که فاقد فاکتورهای ضدانعقادی است را سرم خون می نامند. بنابراین فرق اصلی سرم با پلاسما در اینست که بر خلاف پلاسما، سرم خون فاقد پروتئینهای انعقادی مانند فیبرینوژن است [۵۶-۵۷].

برای از بین بردن بهتر اثرات بافت در اندازه گیری کبالت، پیش تغلیظ و اندازه گیری کبالت در سه بخش : CBC، پلاسما و سرم به طور جداگانه صورت گرفت..

در ابتدا نمونه ی CBC مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ۲ میلی لیتر از این نمونه در داخل یک بشر ۵۰ میلی لیتری ریخته شد و به آن ۱۰ میلی لیتر محلول نیتریک اسید غلیظ اضافه گردید. بشر بر روی یک هیتر مجهز به همزن قرار داده شد و با دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد حرارت داده شد پس از نیم ساعت محلول حاصل را از روی هیتر برداشته تا به دمای محیط برسد. در مرحله بعد به آن، با دقت ۱ میلی لیتر سولفوریک اسید غلیظ و سپس ۱ میلی لیتر محلول پر کلریک اسید ۷۰٪ اضافه شد و آنقدر حرارت داده شد تا محلول تقریباً بیرنگ شود. بعد از اتمام واکنش محلول تا دمای محیط سرد و با کاغذ صافی واتمن صاف شد. سپس محلول حاصل با محلول آمونیاک ۵۰٪ حجمی در حضور محلول EDTA ۰/۰۱٪ (w/v) خنثی شد. محلول حاصل مجدداً با کاغذ صافی واتمن صاف گردید و به یک بالن ۱۰۰ میلی لیتری منتقل و با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد [۵۸]. ۸ میلی لیتر از این نمونه با روش پیشنهادی پیش تغلیظ و بوسیله جذب اتمی شعله، مقدار کبالت آن اندازه گیری شد. هر اندازه گیری سه بار تکرار شد و در اندازه گیریها از روش افزایش استاندارد استفاده گردید. نتایج حاصل از بررسی در جدول (۲۵-۳) نشان داده شده است.

⁵⁴Cells blood counter

فصل سوم – بخش تجربی

اندازه گیر یهای بعدی در سرم و پلاسما انجام گرفت. برای تهیه نمونه پلاسما بدین صورت عمل شد که به ۳ میلی لیتر از خون، ۰/۳ میلی لیتر سدیم سیترات ۳/۲٪ وزنی - حجمی اضافه شد، سپس مخلوط حاصل به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. فاز پایین لوله سلولهای قرمز خون^{۵۵} و فاز بالایی لوله پلاسما می باشد. آماده سازی پلاسما و سرم همانند محلول CBC صورت گرفت [۵۹].

محلول های حاصل از آماده سازی نمونه های سرم و پلاسما به طور جداگانه به دو بالن ۱۰۰ میلی لیتری منتقل و با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شدند. سپس ۸ میلی لیتر از نمونه های حاصل با روش پیشنهادی پیش تغلیظ و بوسیله جذب اتمی شعله، مقدار کبالت آنها اندازه گیری شد. در اندازه گیریها نیز از روش افزایش استاندارد استفاده گردید. نتایج حاصل از بررسی در جدول (۳-۲۶) نشان داده شده است. نتایج آزمون t و درصد انحراف استاندارد نسبی نشان می دهد که روش پیشنهادی با صحت و دقت خوبی برای تعیین مقدار کبالت در نمونه خون قابل کاربرد است. مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای ۳ اندازه گیری ۴/۳۰ می باشد.

فصل سوم – بخش تجربی

جدول (۳-۲۶): نمودار نتایج حاصل از بررسی اندازه گیری کبالت در خون

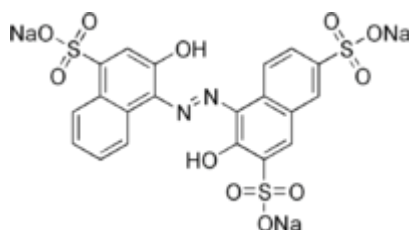
مقدار کبالت در نمونه (mg/lit)	درصد بازیابی	نتایج آزمون ^۱	RSD	کبالت اندازه گیری شده (میلی گرم بر لیتر)	کبالت اضافه شده (میلی گرم بر لیتر)	نمونه
۰/۷۲	-	-	۰/۶۹۴	۰/۰۱۴۴ ± ۰/۰۰۰۱*	-	CBC
	%۱۰۰	۰	۰/۸۱۹	± ۰/۰۰۰۲ ۰/۰۲۲۴	۰/۰۱۰	CBC
-	-	-		<LOD	-	پلاسما
	%۱۰۱	۳/۴۶	۰/۴۹۵	± ۰/۰۰۰۱ ۰/۰۲۰۲	۰/۰۲۰	پلاسما
-	-	-	-	<LOD	-	سرم
	%۹۹	۲/۴۵	۰/۶۰۶	۰/۰۴۹۵ ± ۰/۰۰۰۳	۰/۰۵۰	سرم

فصل چهارم

بحث و نتیجه گیری

۴-۱- سیستم شیمیایی مورد استفاده

در این پروژه از روش میکرو استخراج مایع - مایع پخشی در محلول کوپل شده با طیف سنجی جذب اتمی شعله برای اندازه گیری مقادیر کم کبالت استفاده شده است. لیگاند مورد استفاده در این روش هیدروکسی نفتول بلو (HNB) می باشد که ساختار گسترده ی آن در شکل (۴-۱) نشان داده شده است. در ساختار این ترکیب دو گروه عاملی آزو و هیدروکسیل مشاهده می شود که قابلیت تشکیل کمپلکس با کاتیونهای فلزی را دارد.



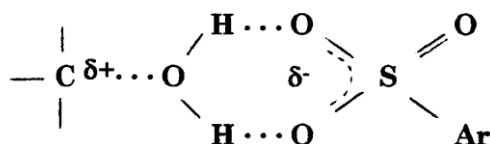
شکل (۴-۱): ساختار گسترده ی لیگاند HNB [۶۱]

HNB یک لیگاند غیر ویژه است که با بسیاری از کاتیونهای فلزی نظیر مس (II) ، کبالت (II) ، سرب (II)، کادمیم (II)، کلسیم ، آلومینیم در pH های مختلف تشکیل کمپلکس می دهد. لیگاند HNB در دامنه pH ۲/۰ تا ۸/۰ با Co (II) کمپلکس تشکیل می دهد. نسبت استوکیو متری کبالت (II) با لیگاند HNB به صورت ۲ : ۱ = M:L می باشد. این لیگاند به علت دارا بودن گروههای سولفونات می تواند در آب بخوبی حل شود، که این یکی از مزیت های این لیگاند در این روش می باشد [۶۸-۶۰].

بررسی طیف جذبی کمپلکس کبالت - HNB نشان می دهد که ماکزیمم جذب این کمپلکس در طول موج ۵۸۰ نانومتر می باشد که نسبت به ماکزیمم جذب لیگاند HNB ۵۰ نانومتر به سمت طول موجهای بلند تر جابه جا شده است. پس از تشکیل کمپلکس در فاز آبی استخراج به درون حلال آلی مناسب انجام گرفت و با استفاده از یک میکروپیپت حجم معینی از حلال را برداشته و با مخلوط اتانول و نیتریک اسید ۱٪ با نسبت حجمی ۱:۱ رقیق گردید. سپس محلول به دستگاه جذب اتمی وارد و جذب مربوط به عنصر کبالت اندازه گیری شد.

فصل چهارم - بحث و نتیجه گیری

با توجه به اینکه کمپلکس حاصله دارای گروههای سولفونات بوده و بنظر می رسد با توجه به بارهای این گروهها کمپلکس نتواند وارد حلال آلی شود، ولی بخاطر حضور اتانول و سولواته شدن کمپلکس توسط این حلال، کمپلکس بحالت عایق در آمده و بنابراین کمپلکس می تواند وارد حلال آلی شود. در این فرآیند اتانول با آب پروتونه می شود و با گروههای سولفونات تشکیل زوج یون می دهد [۶۹-۷۱].



شکل ۴-۲: پروتونه شدن الکل و تشکیل زوج یون با گروه سولفونات [۶۹]

۴-۲- ارقام شایستگی روش

بررسی ها نشان داد که در محدوده ی غلظتی ۰/۱۰ - ۰/۰۰۲۰ میلی گرم بر لیتر کبالت، بین غلظت کبالت (II) و سیگنال تجزیه رابطه ی خطی وجود دارد. گستره ی دینامیک وسیع (حدود دو مرتبه بزرگی^{۵۶}) معادلات مربوطه و مقادیر ضریب همبستگی در بخش (۳-۱-۷) آمده است. مقادیر انحراف استاندارد برای ۶ اندازه گیری برای غلظت های ۰/۰۲۰، ۰/۰۳۰ و ۰/۰۴۰ میلی گرم بر لیتر به ترتیب برابر با ۴/۹۵، ۳/۴۵ و ۴/۸۷ می باشد که نشان دهنده ی دقت خوب روش است. مقادیر درصد های باز یابی نشان داده شده در جدول (۳-۲۲) بیانگر صحت روش است.

نتایج نشان داده شده در جدول (۳-۱۹) بیان می کند که بیشتر کاتیون ها و آنیونها حتی در غلظت های ۶۰۰ برابر در اندازه گیری کبالت مزاحم نیستند و روش از گزینش پذیری خیلی بالایی برخوردار است. فاکتور پیش تغلیظ روش پیشنهادی ۴۴/۲ بدست آمد. نتایج حاصل از اندازه گیری کبالت در نمونه های سنتزی آب، خاک، سبزی، میوه و خون در جدولهای (۳-۲۳)، (۳-۲۴)، (۳-۲۵) و (۳-۲۶) آمده

⁵⁶ Two order of magnitude

فصل چهارم - بحث و نتیجه گیری

است. این نتایج نشان می دهد که روش پیشنهادی را با دقت و صحت خوبی می توان در اندازه گیری کبالت در نمونه های حقیقی مختلف بکار برد.

۴-۳- مقایسه اندازه گیری کبالت با روش FAAS - DLLME با سایر روشها

همانطور که ذکر شد، میکرو استخراج مایع- مایع پخشی از جمله زیرگروههای استخراج مایع- مایع پخشی می باشد ولی تا حدود زیادی معایب روش استخراج مایع- مایع را بر طرف می سازد. اساس این روش همانند استخراج مایع- مایع بر پایه تمایل نسبی آنالیت بین دو حلال غیر قابل اختلاط با هم می باشد ولی به علت افزایش سطح تماس بین دو حلال و کاهش حجم حلال آلی مصرفی، معایب روش استخراج مایع - مایع را ندارد. این روش دارای شباهتهایی با برخی روش های از استخراج مایع - مایع مثل استخراج مایع- مایع همگن [۷۷-۷۳] و استخراج نقطه ابری [۷۲] می باشد.

در روش میکرواستخراج مایع- مایع همگن، حلال استخراج کننده و آب به کمک یک ماده سوم، یک سیستم تعادلی همگن را فراهم می کنند که در نتیجه حلال استخراج کننده به طور یکنواخت در درون آب توزیع می گردد به طوری که حد فاصل مشخصی برای آنها قابل تشخیص نیست. سپس به کمک یک عامل خارجی مانند تغییر pH، تغییر دما و افزودن نمک سیستم به حالت دو فازی تبدیل می شود. ضمن دو فازی شدن سیستم، انتقال آنالیت بین آب و حلال استخراج کننده انجام می گیرد ولی هر یک از این سیستم های دو فازی شده دارای معایبی می باشند. در مواردی که pH عامل دو فازی شدن است، در نوع آنالیت و پایداری آن با توجه به غلظت پروتون در محیط محدودیت ایجاد می گردد. زمانیکه تغییر دما باعث دو فازی شدن می شود، تنها برای آنالیت های پایدار مناسب می باشند و در مواردی که از افزودن نمک استفاده می گردد، غلظت بالای نمک در محیط، استفاده از روش های دستگاهی جهت آنالیز نمونه را دچار مشکل می کند. بنابراین میکرواستخراج مایع- مایع پخشی در مقایسه با استخراج مایع- مایع همگن دارای محدودیت های کمتری است ولی از لحاظ فاکتور تغلیظ بالا، عدم نیاز به همزدن محلول، این دو روش دارای شباهت های زیادی می باشند.

فصل چهارم – بحث و نتیجه گیری

روش میکرواستخراج مایع- مایع پخشی با استخراج نسبت به روش نقطه ابری، می توان برتری هایی را مشاهده کرد. بعنوان مثال، نیاز به شرایط دمایی خاص جهت ابری شدن محلول سورفاکتانت، ثابت توزیع کوچک برای برخی گونه ها با آب گریزی کمتر و زمان آنالیز طولانی تر به علت مراحل گرم کردن، سرد کردن، نمونه هایی از معایب استخراج به روش نقطه ابری می باشند. همچنین عدم سازگاری فاز غنی از سورفاکتانت با روش های آنالیز دستگامی از جمله کروماتوگرافی گازی نیز جز این موارد محسوب می شود. از این رو در مقایسه با این روش، روش میکرواستخراج به روش مایع – مایع پخشی تا حدود زیادی این معایب را برطرف میسازد. در جدول (۴-۱)، نتایج حاصل از برخی روشهای اندازه گیری کبالت با روش مورد نظر در این نشان داده شده است. شده است.

جدول (۴-۱): مقایسه روش پیشنهادی با روشهای پیش تغلیظ کبالت با اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای

مرجع	لیگاند	حد تشخیص (میکروگرم برلیتر)	فاکتور پیش تغلیظ	نام روش
[۹]	Br-TAO	۰/۹۰	۱۶	DLLME- FAAS
[۱۰]	۲- نیتروز ۱- نفتول	۰/۲۰	۲۵/۸۳	SDME - FAAS
[۷۸]	۲- نیتروز ۱- نفتول	۳/۲	۱۷/۲	Fi - FAAS
-	هیدروکسی نفتول بلو	۰/۱۴۹	۴۴/۱	DLLME- FAAS

با توجه به نتایج ارائه شده در جدول (۴-۱) مشاهده می شود که روش پیشنهادی نسبت به سایر روشهای گزارش شده تاکنون هم دارای حدتشخیص پایینتر و هم دارای فاکتور پیش تغلیظ بالاتری می باشد.

۴-۴- نتیجه گیری

تاکنون هیچ گونه گزارش مبنی بر اندازه گیری کبالت با روش میکرواستخراج مایع - مایع پخشی و اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای با لیگاند HNB ارائه نشده است. در این پروژه، یک روش آماده سازی نمونه بسیار راحت، ساده، ارزان قیمت و بدون نیاز به وسیله خاص می باشد که می تواند فاکتور تغلیظ بالا و حد تشخیص پایینی را فراهم کند. محدوده خطی روش نسبتاً زیاد است. این روش به علت دارا بودن ماتریکس بسیار ساده، با اکثر روش‌های دستگاهی سازگاری مناسبی دارد. بعنوان مثال در روش‌هایی همچون کروماتوگرافی گازی، کروماتوگرافی مایع، اسپکتروفتومتری مرئی-فرابنفش، طیف سنجی جذب اتمی شعله ای و الکتروترمال می توان به طور مستقیم، حلال آلی را جهت آنالیز به دستگاه وارد کرد. کوتاه بودن زمان استخراج نیز از مزایای مهم میکرو استخراج مایع - مایع پخشی می باشد.

۴-۵- آینده نگری

پیش بینی می شود که میکرو استخراج مایع - مایع پخشی خیلی سریع در زمینه های زیر توسعه می یابد:

- (۱) این روش می تواند برای اندازه گیری سایر عناصر با مقادیر کم بکار برده شود.
- (۲) از این روش می توان برای اندازه گیری همزمان دو یا چند عنصر استفاده نمود.
- (۳) از این روش میتوان با بکار بردن لیگاند ویژه برای اندازه گیری کبالت استفاده نمود.
- (۴) امکان بر خط کردن این روش با دستگاه اسپکترومتری جذب اتمی شعله ای.

References:

- [1]-[http:// www. nedgir. ir/ PDeafaul.asp](http://www.nedgir.ir/PDeafaul.asp).
- [2]- J. Chen, K. chuan teo. (2001) "Determination of cobalt and nickle in water samples by flame atomic absorption spectrometry after cloud point extraction" *Anal. Chim. Acta*, 126, pp 534- 537.
- [3] – C. Clesia, Nascents, M. Aurelio and Z. Arruda. (2003) "Cloud point formation based on mixed micelles in the presence of electrolytes for cobalt extraction and preconcentration" *Talanta*, 61, pp 759-768.
- [4] J. Manzoori, L. Karim-Nezha. (2003)"Sensetive and simple cloud point preconcentration atomic absorption spectrometry: Application to the determination of cobalt in urine samples" *Anal. Sci.*, 19, pp. 579-583.
- [5] – G. L. Donati, C. Nascents , A. Noguera ,Z. Arruda and A. Noberga. (2006) "Acid extraction and cloud point preconcentration as sample preparation strategis for cobalt determination in biological materials by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry " *Microchem. J.*, 82, pp 189-195.
- [6] – M. Jamali, Y. Assadi and F. Shemirani. (2007) "Homogeneous liquid-liquid extraction and determination of cobalt, copper and nickle in water samples by flame atomic absorption spectrometry" *Sep. Sci. Technol.*, 42, pp 3503-3515.
- [7] –M. Ince, G. Kaya, M. Yaman. (2007) "Solid phase extraction and preconcentration of cobalt in mineral waters with PAR-loaded Amberlite XAD-7 and flame atomic absorption spectrometry" *Environ. Chem. Lett.*, 8, pp 283–288.
- [8] - M. Gharebaghi, F. Shemirani and M. Baghdadi. (2008) "Dispersive liquid- liquid microextraction and spectrophotometric determination of cobalt in water samples" *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 88, pp 513-523.
- [9]-P. Xavier Balizia, L. Valferdo, A. Lemo. "A procedure for determination of cobalt in water samples after dispersive liquid–liquid microextraction A procedure for determination of cobalt in water samples after dispersive liquid–liquid microextraction" *Microchem. J.*, 93, pp 220-224.
- [۱۰]- الف. صدیقی، (۱۳۸۷)، *پایان نامه کارشناسی ارشد*: "تعیین مقادیر کم کبالت با طیف سنجی جذب اتمی شعله ای بعد از پیش تغلیظ با ریز استخراج حلال"، دانشکده شیمی، دانشگاه صنعتی شاهرود.
- (2010)" Dispersive liquid–liquid microextraction based . [11]- M. Ramezani and S. Rahmani on solidification of floating Organic drop combined with flame atomic absorption

- spectrometry for Determination trace amount of cobalt in water samples " *J. Iran. Chem. Res.*, 3, pp 279-286.
- [12] –H. Abdolmohammad-Zadeh and E. Ebrahimzadeh. (2010) "Determination of cobalt in water samples by atomic absorption spectrometry after pre concentration with a simple ionic –liquid based dispersive liquid- liquid microextraction " *Chem. Matter.*, 8, PP 617-625.
- [13] – J. Zhang, K. Xiao – Jing, W.Yu –Kung, X. Du, J. Ma and J. Li. (2011) "Development of liquid –liquid microextraction based on solidification of floating organic drop for determination of trace cobalt in water samples" *J. Chin. Chem. Soc.*, 5, pp 58-63.
- [14] – John A. Dean." Chemical separation methods " published by Van Nostrand. Reinhold company .New York.
- [15]- Z. Zhang, M. J. Yang, J. Pawliszyn. (1994) "Solid phase microextraction". *J. Chromatogr.*, 736, pp 219-228.
- [16]- T. Akumara, K. Imamara, Y. Nishikawa. (1996) "Analysis of organochlorine pesticides using solid-phase microextraction" *J. Chromatogr. Sci.*, 34, pp 190-194.
- [17]- E. Psillakis, N. Kalogerakis, (2003) "Development in liquid phase microextraction" *Trends Anal. Chem.*, 22, pp 565-574.
- [18]- J. S. Fritz. (1999) "Analytical solid –phase extraction" Published by Willy – VCH, New York,. 1-3, pp 197-199.
- [19]- H. Prosen, L. Zupancic. (1999) "Sampling and preconcentration techniques for determination of volatile organic compounds in air samples" *Anal. Chem.*, 18, pp 272- 276.
- [20]- V. Camel. (2003) "Solid phase extraction of trace elements" *Spectrochim. Acta. B.*, 58, PP 1177-1233.
- [21]- D. A. J Murray. (1979) "Ozone, chlorine dioxide and chloramines as alternatives ciprofloxacin in biological materials by capillary electrophoresis" *J. Chromatogr.*, 177, pp 134-141.
- [22]- M. A. Jeannot, F. Cantwell. (1996) "Solvent microextraction into a single drop" *Anal. Chem.*, 68, pp 2236-2240.
- [23]- Y. He, H. Lee. (1997) "Liquid –phase microextraction in a single drop of organic solvent by using a convential microsyring" *Anal. Chem.*, 69, pp 4634- 4640.
- [24]- K. E. Rusmussen, S. Pederson, M. Krough, H. G.Vgland, T. Gronhaug. (2000) "Liquid phase microextraction with hollow fiber as a sample preparation technique prior to gas chromatography/ mass spectrometry" *J. Chromatogr A.*, 10, pp 837 – 844.

- [25]- L. Zhao, H. Lee. (2002) "Liquid- phase microextraction combined with hollow fiber as a sample preparation technique prior to gas chromatography / Mass Spectrometry" *Anal. Chem.*, 74, pp 2486-2492.
- [26] – Y. Guo, J. Zhang, D. Liu, H. Fu. (2006) "Determination of n-octanol- water partition coefficients by hollow fiber membrane solvent microextraction coupled with HPLC ". *Bioanal. Chem.*, 386, pp 2193- 2198.
- [27]- Y. He, A.Vargas, Y. Kang. (2007) "Headspace liquid- phase microextraction of methamphetamine and amphetamine in urine by an aqueous drop" *Anal. Chim. Acta*, 589, pp 225-230.
- [28]- M. Ma, F. Cantwell. (1999) "Solvent microextraction with simultaneous back-extraction for sample clean up and preconcentration: preconcentration in to a single microdrop" *Anal. Chem.*, 70, PP 3912- 3919.
- [29]- X. Jiang, H. Lee. (2004) "Solvent Bar Microextraction" *Anal. Chem.* 76, pp 5591-5596.
- [30]- W. Liu, H. Lee. (2000) "Continuous – flow microextraction exceeding 1000- fold concentration of dilute analytcs", *Anal. Chem*, 72, pp 4462 - 4467.
- [31]- H. Liu, P. K. Dasgupta. (1996) " Analytical chemistry in a drop: Solvent extraction in a microdrop" *Anal. Chem.*, 68, PP 1817-1821.
- [32] – H. Fen, W. Hao, Y. Chin. (2006) " Combining drop to drop solvent microextraction with gas chromatography / mass spectrometry using electronic ionization and self ion /molecule reaction method to determine methoxy acetophenoe isomers in one drop of water " *Anal. Chem.*, 78, PP 1707-1712.
- [33]- L. Xia, H. Jiang, Z. Yunli, W. Li and L. Chen. (2005)" 8-Hydroxy quinoline chloroform single drop microextraction and electrothermal vaporization ICP-MS for the fraction of aluminum in natural waters and drinks" *Anal. At Spectrom.*, 20, pp 441-446.
- [34] – J. L. Manzoori, M. Amjadi, J. Abulhassani. (2008) "Ionic liquid based single drop microextraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry for the determination of manganese in water samples" *Talanta*, 79, pp 1941-1945.
- [35]- L. Xia, H. Jiang, Z. Yunli and W. Liang. (2004) "Single drop microextraction combined with low temperature electro thermal vaporization ICPMS for the determination of trace Be, Co, Pd and Cd in biological samples" *Anal. Chem.*, 76, PP 2910-2915.

- [36]- Z. Fan. (2007) "Determination of antimony (III) and total antimony by single drop microextraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry" *Anal. Chim. Acta*, 585, pp 300-304.
- [37]- P. Liang, R. Liu, J. Cao. (2008) "Single drop microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry for determination of lead in biological samples" *Microchim. Acta*, 160, pp 135-139.
- [38]- L. Li, B. Hu, L. Xia, Z. Jiang. (2006) "Determination of trace Cd and Pb in environmental and biological samples by ETV-ICP-MS after single drop microextraction" *Talanta*, 70, PP 468- 473.
- [39]- Z. Fan, W. Zhou. (2006) "Dithizone – chloroform single drop extraction system combined with electrothermal atomic absorption spectrometry using Ir as permanent modifier for the determination of Cd in water and biological samples" *Spectrochim. Acta. B.*, 61, PP 870-874.
- [40]- T. Ligor, B. Buszewski. (2000) "Extraction of trace organic pollutants from aqueous samples by a single drop method" *Chrom. S. Sym.*, 51, pp 279-282.
- [41]- R. Zalieckaite, E. Adomaviciute, V. Vickackaite. (2007) "Single drop microextraction for the determination of phthalate esters" *Chemija. A.*, 18, pp 25-29.
- [42]- C. Stalikas. (2007) "Single – drop microextraction followed by in-drop derivatization for the analysis of organic compounds by gas chromatography", *Pak. J. Anal. Environ. Chem.*, 8, pp 72-74.
- [43]- L. Yangcheng, L. Quan, L. Guangsheng, D. Youyuan. (2006) "Directly suspended droplet microextraction" *Anal. Chem. Acta*, 566, pp 259-264.
- [44]- M. Rezaee, Y. Assadi, M. R. Hosseini, E. Aghaee, F. Ahmadi and S. Berijani. (2006) "Development and evaluation of a dispersive liquid-liquid microextraction based test method for quantization of total anionic surfactants: advantages against reference methods" *J. Chromatogr. A*, 1116, pp 1-9.
- [45]- B. Zhaol, H. K. Lee. (2002) "Low toxic dispersive liquid–liquid microextraction using halosolvents for extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples" *Anal. Chem.*, 74, pp 2486 -2492.
- [46] - L. S. Jager, A. R. J. Andrews. (2002) " A Hollow Fiber Solvent Microextraction Approach to Measure Drug–Protein Binding " *Anal. Chim. Acta.*, 458, pp 311-320.

- [47] - S. Berijani, Y. Assadi, M. Anbia, M.R. Milani Hosseini, E. Aghaee. (2006) "**Determination of chlorophenols in water samples using simultaneous dispersive liquid-liquid microextraction and derivatization followed by Chromatography-electron-capture detection**" *J. Chromatogr. A.*, 1123, pp 1-9.
- [48] - M. Rezaee, Y. Yamini, M. Faraji. (2010) "Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method" *J. Chromatogr. A.*, 1217, pp 2342-2357.
- [۴۹] - ج.د. رابینسون (۱۳۷۱)، "اسپکتروسکوپی جذب اتمی"، ترجمه ن. پور رضا، دانشگاه اهواز.
- [۵۰] - د.اسکوک، د.م. وست (۱۳۶۹)، "اصول تجزیه دستگاهی"، ترجمه ژآزاد، ع. سلاجقه، م. شمسی پور، ک. کارگشا، مرکز نشر دانشگاهی تهران.
- [51] – K. Pyrzynska, K. Kilian. (2007) "On line sorption- based systems for the determination of cadmium with atomic spectrometry detectors" *Water. Res.*, 41, pp 2839-2851.
- [52]- P. Lumme, E. Kari. (1975) " phthalic acid as a reagent in organic qualitative analysis of metal ions . part IV. Thermodynamics of the complexiation of phthalate ion with divalent copper, nickel and cobalt ions in aqueous sodium perchlorate solution" *Acta. Chem. Scand.*, 29, pp 125 – 135.
- [53]- H. Z. Kaisor (1965) *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 209, pp 1-18.
- [54]- M. Ghaedi, F. Ahmadi. (2007) "Preconcentration and separation of nickle ,copper and cobalt using solid phase extraction and their determination in some real samples" *J. Hazard. Mater.*, 147, pp 226-331.
- [55]- F. Ismail, M. R. Anjum, A. N. Mamon and T. G. Kazi. (2011) "Trace metal contents of vegetables and fruits of Hyderabad Retail Market" *Pakistan. J. Sci. Ind. R.*, 10, pp 365- 372.
- [56]- [http:// www. Biology weblog of Tonekabon University.](http://www.BiologyweblogofTonekabonUniversity)
- [57]- دکتر مرتضی زمانی، عبدالوهاب احسانی (۱۳۷۰) **بیوشیمی برای پرستار.**
- [58]- M. Jamaluddin Ahmed and K. Jakir Hossan. (2008) "A rapid spectrophotometric method for the determination of cobalt in Industrial, Environmental, Biological, Pharmaceutical and Soil sample using Bi (5- bromosalicylaldehyde) orthophenylendamine" *J. Iran .chem.Soc.*, 5, PP 677-688.
- [59] – N. Todorovska, I. Karadjova, S. Arradjan and T. Stafafilov. (2003) "Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of cobalt in human serum and urine" *Acta. pharm.*, 53, pp 83-90.
- [60] – Y. Hung, Y.Tsai and T. Hsienlin. (1999) "Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of cobalt and nickle with deproteinization technique" *Anal. Sci.*, 15, pp 79-82.
- [61]- HNB- Wikipedia, the free encyclopedia.htm.

- [62]- C. Isabel, S. Fraga, k. Ohrab Aniy and P. A. M. Farias. (2008) "Square wave Stripping voltammetry of Cobalt Based on Adsorptive accumulation of its Hydroxy naphthol Blue (HNB) Complex at the Static Mercury Drop Electrode" *Anal. Lett.*, 33, pp 905-918.
- [63]- W. Kunhiro, S. Manami, N. Fumio, I. Masayuki. (1999)" Effect of temperature on the decomposition reaction of hydroxy naphthol blue in the presence of cobalt (II) and hydrogen peroxide " *Sci. link. Jpn.*, 48, PP 413-419.
- [64]- H. G. Brittain. (2001) " The use of hydroxy naphthol blue in the ultramicro-determination of alkaline earth and lanthanide elements: an improved method." *Anal. Chim. Acta.*, 96, PP 165-170.
- [65]- A. M Pérci Farias , A. K. Ohara, I. Takase, L. Sergio, C. Ferreira, Jon S. Gold. (1993) "adsorptive stripping voltammetry of nickel complexed with hydroxyl naphthol blue at a static mercury drop electrode" *Talanta*, 40, pp 1167-1171.
- [66]-, L. Sergio, C. Ferreira, O. Neide, L. Alailson, F. Dantas, B. de Andrade Jailson, A. C. Spinola Costa."Spectrophotometric and derivative spectrophotometric determination of aluminium with Hydroxynaphthol Blue" *Talanta*, 41, 1994, pp 1631-1636.
- [67]- L. Sergio, C. Ferreira, F. Bruno, S. Jailson, B. de Andrade, and A. C. Spinola Costa. (1996) "Spectrophotometric and Derivative with Hydroxy naphthol Blue" *Mikrochim. Acta*, 122, pp 109-115.
- [68] - A. L. Theis, A. J. Waldack, S. M. Hansen, M. A. Jeannot. (2001) "Importance of extracting solvent vapor pressure in headspace liquid-phase microextraction" *Anal. Chem.*, 73, pp 182-185.
- [69] - D. Gousi. (1995) "Solvolysis of sulfonates in ternary mixtures of ethanol, TFE and CHCl₃ or CCl₄" San Jose State University , *SJSU Scholar Works.*, pp 1-7.
- [70] - J. Milton Harris and S. P. McManus. (1987) "Introduction to Nucleophilic Reactivity" (Advances in Chemistry), 215, pp 1-20.
- [71]- T. W. Bentley. (1987) "Nucleophilicities of Aqueous, Alcoholic, and Acidic Media ". (Advances in Chemistry), 215, pp 255- 268.
- [72] - M. A. Jeannot, F. F.Cantwell. (1996) " Rapid determination of panaxynol in a traditional Chinese medicine of Saposhnikovia divaricata by pressurized hot water extraction followed by liquid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry". *Anal. Chem.*, 68, pp 2236 - 2240
- [73] - M. A. Jeannot, F. F.Cantwell. (1997) "Single-Drop Extraction versus Solid-Phase Microextraction." *Anal. Chem.*, 69, pp 381-411.

- [74] - Y. C. Fan, Z. L. Hu, M. L. Chen, C. S. Tu, Y. Zhu, Chin. (2009) "Determination of triclosan, triclocarban and methyl-triclosan in aqueous samples by dispersive liquid-liquid microextraction combined with rapid liquid chromatography" *J. Chromatogr. A.*, 1216, pp 5086-5091.
- [75] - M. B. Milwaukie, M. R. Fuh. (2008) "Developments of Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Technique." *Chem. Lett.*, 19, pp 985- 987.
- [76] - Q. Wu, C. Wang, Z. Liu, C. Wu, X. Zeng, J. Wen, Z. Wang. (2006) "Determination of Hexabromocyclododecane Diastereoisomers and Tetrabromobisphenol A in Water and Sediment by Liquid Chromatography/Mass Spectrometry" *J. Chromatogr. A.*, 22, pp 216-220.
- [77] - M. Craz-Vera, R. Lucena, S. Cardenas, M. Valcarcel. (2009) "One-step in-syringe ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction." *J. Chromatogr. A.*, 1216, pp 6459-6465.
- [78]- Y. Ye, A. Xuefeng Yin. (2002) "Cobalt determination with FI-FAAS after on-line sorbent preconcentration using 1-nitroso-2-naphthol" *Talanta*, 57, pp 945-951.

Determination of trace amounts of cobalt by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) after dispersive liquid – liquid microextraction

Abstract

In this study a simple and sensitive method of dispersive liquid- liquid microextraction (DLLME) for preconcentration of cobalt prior to ,it's determination by flame atomic absorption spectrometry was proposed. The analytical procedure based on the formation of a complex between Co (II) with hydroxy naphthol blue (HNB) as a complexing agent. After extraction of the complex by carbon tetrachloride as extraction solvent , cobalt concentration in organic phase was determined by flame atomic absorption spectrometry. The effect of different parameters such as pH, kind and volume of buffer, kind and volume of extraction solvent, kind and volume of disperser solvent, kind and volume of dilution solvent, concentration of ligand, volume of aqueous phase, extraction time, ionic strength and rate of centrifuge were investigated. Also, the effects of foreign ions were investigated. Under the optimized conditions, a linear calibration curve in the range of 0.002- 0.1 mg.L⁻¹, with detection limit of 0/149 µg.L⁻¹ and enrichment factor of 44.2 were achieved. The relative standard deviation for six replicate determinations of 0.020, 0.030 and 0.040 mg.L⁻¹ of cobalt (II) were %4.95, %3.45 and %4.87, respectively. This method was successfully applied for determination of cobalt(II) in the spiked water samples

Keywords: Cobalt, hydroxy naphthol blue, Dispersive liquid-liquid microextraction, Flame atomic absorption spectrometry.



Shahrood University of technology
Faculty of chemistry

**Determination of trace amounts of cobalt by flame atomic
absorption spectrometry (FAAS) after dispersive
liquid – liquid microextraction**

Arezoo Afrougheh

Supervisor:
Dr. N. Goudarzi

Febraury 2012