بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده شیمی

گروه شیمی تجزیه

پایان نامه کارشناسی ارشد

کاربرد میکرو استخراج مایع-مایع پخشی به همراه اسپکتروسکوپی جذب اتمی شعله برای تعیین مقادیر بسیار کم پالادیم (II) در نمونه‌های محیطی

دانشجو:

محسن پویان

استاد راهنما:

دکتر قدمعلی باقریان دهقی

استاد مشاور:

دکتر ناصر گودرزی

پاییز ۹۱

تقدیم به:

دستهای زحمتکش پدرم

و

محبتهای بیدریغ مادرم

تقدیر و تشکر

حمد و سپاس پروردگار یکتا را که لطف و کرم بی کرانش اینجانب را نیز در بر گرفت تا به وسع توان خویش گامی کوچک در گستره علم و معرفت بردارم و میسر گشت تا از مزرعه دانش و تجربه بزرگان و نیک اندیشان خوشه چینی کرده باشم. شاکرم که به من فرصتی داد تا از محضر اساتید بزرگوار بهره گیرم و گامی هرچند کوچک در گستره بیکران علم و معرفت بردارم.

از جناب آقای دکتر قدمعلی باقریان دهقی استاد راهنمای فرهیخته و بزرگوارم که اولین روشنی بخش و راهنمای این راه بودند و بدون رهنمودهای ارزنده ایشان، به پایان رساندن این تحقیق ممکن نبود کمال تشکر و سپاسگزاری را دارم. همچنین از آقای دکتر گودرزی که در انجام این پایان نامه کمال همکاری را با بنده داشته اند تشکر و قدردانی می کنم. از تمام اساتیدی که در دوران تحصیل در مقطع کارشناسی و کارشناسی ارشد به نحوی افتخار شاگردی در محضرشان را داشتم کمال تشکر را دارم. از کارکنان محترم دانشکده شیمی آقای مهندس کلی، خانم مهندس برنجی، آقای مؤمنی و آقای الهیاری، همچنین خانم جعفری و خانم اکبری که همکاری های صمیمانه ای را با اینجانب داشته اند تشکر می نمایم. از دوستان عزیزم آقایان شریعتی ایوری، قوچانی مقدم، دانشی نژاد و پوربهرامیان که در مراحل انجام این تحقیق کمک و همراه بنده بودند نهایت سپاسگزاری را داشته و برای همه این عزیزان آرزوی سلامتی و سعادت می نمایم. از خانواده بزرگوارم که علی رغم مشکلات فراوان همیشه همراه من بودند و مرا تحمل نمودند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

تعهد نامه

اینجانب **محسن پویان** دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته **شیمی تجزیه** دانشکده **شیمی** دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه **کاربرد میکرو استخراج مایع-مایع پخشی به همراه اسپکتروسکوپی جذب اتمی شعله برای تعیین مقادیر بسیار کم پالادیم (II) در نمونه‌های محیطی** تحت راهنمائی **دکتر قدمعلی باقریان دهقی** 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 نتایح 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 بافتهای 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

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.**

چکیده فارسی

در این پایان‌نامه یک روش ساده و قابل اعتماد برای استخراج گزینشی و سریع مقادیر بسیار کم یون‌های پالادیم(II)، بوسیله پیش‌تغلیظ با روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی (DLLME) و اندازه‌گیری توسط طیف‌سنجی جذب اتمی شعله‌ای (FAAS) ارائه شده است. در روش ارائه شده از لیگاند ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول (MBI) به عنوان عامل کی‌لیت‌دهنده، که قادر به تشکیل کمپلکس هیدروفوب با یون‌های پالادیم(II) است، استفاده شده است. همچنین از استون و کلروفرم به ترتیب به عنوان حلال پخش‌کننده و استخراج‌کننده استفاده شده است. تاثیر متغیرهایی مانند pH، نوع و حجم

بافر، نوع و حجم حلال استخراج‌کننده، نوع و حجم حلال پخش‌کننده، غلظت لیگاند، زمان استخراج، زمان سانتریفیوژ و قدرت یونی بررسی و بهینه شدند. همچنین تاثیر یون‌های مزاحم، بررسی شد. تحت شرایط بهینه، منحنی کالیبراسیون در محدوده ۱۱۰۰-۱۵ میکروگرم بر لیتر، حد تشخیص ۸ میکروگرم بر لیتر و فاکتور پیش‌تغلیظ ۲۰/۷ به دست آمده است. مقادیر انحراف استاندارد نسبی برای ۶ اندازه‌گیری تکراری در غلظت‌های ۰/۰۲۰، ۰/۰۵۰، ۰/۲۰، ۰/۵۰ و ۰/۹۰ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب برابر با ۴/۸، ۲/۹، ۰/۹۱، ۰/۴۲ و ۰/۲۶ درصد بدست آمده است. این روش به طور موفقیت‌آمیزی برای اندازه‌گیری یون‌های پالادیم(II) در نمونه‌های آب، خاک و مواد غذایی به کار برده شده است.

کلمات کلیدی: پالادیم(II)، ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول (MBI) ، اسپکترومتری جذب اتمی شعله‌ای، میکرواستخراج مایع-مایع پخشی.

فهرست مطالب

فصل اول: ۱
۱-۱- مقدمه ۲
۱-۲- خواص پالادیم ۲
۱-۳- کاربردهای پالادیم ۳
۱-۴- اثرات پالادیم ۴
۱-۴-۱- اثرات بیولوژیکی پالادیم ۴
۱-۴-۲- اثرات محیطی پالادیم ۵
۱-۵- کارهای انجام شده به روش DLLME بر روی پالادیم ۶
فصل دوم: **تئوری** ۱۰

۲-۱- مقدمه‌ای بر روش‌های آماده‌سازی نمونه ۱۱
۲-۲- استخراج ۱۲
۲-۲-۱- استخراج نمونه‌های محلول ۱۳
۲-۲-۱-۱- استخراج مایع – مایع (LLE) ۱۳
۲-۲-۱-۲- استخراج با فاز جامد (SPE) ۱۴
۲-۲-۱-۳- استخراج نقطه ابری (CPE) ۱۵
۲-۲-۲- روش‌های میکرواستخراج ۱۶
۲-۲-۲-۱- روش‌های میکرواستخراج با فاز مایع ۱۶
۲-۲-۲-۱-۱- میکرو استخراج مایع-مایع پخشی ۱۷
۲-۲-۲-۱-۱-۱- عوامل موثر بر بازده میکرواستخراج مایع- مایع پخشی ۲۱
۲-۲-۲-۱-۱-۲- نمونه‌های قابل استخراج به روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی ۲۳
۲-۲-۲-۱-۱-۳- سازگاری روش DLLME با تکنیک‌های دستگاهی ۲۴
۲-۲-۲-۱-۱-۴ مقایسه روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی با روش‌های مشابه ۲۴
فصل سوم: تجربی ۲۷
۳-۱ مقدمه ۲۸
۳-۲-بخش تجربی ۲۸
۳-۲-۱-محلول‌های مورد استفاده و طرز تهیه آن‌ها ۲۸
۳-۲-۲-دستگاه‌ها و وسایل مورد استفاده ۲۹
۳-۲-۳-طیف جذبی بررسی تشکیل کمپلکس ۳۰
۳-۲-۴-مطالعات اولیه برای بررسی سیستم استخراج ۳۳
۳-۲-۵-روش کار ۳۳
۳-۲-۶- بررسی و بهینه‌سازی متغیرهای موثر بر حساسیت روش اندازه‌گیری پالادیم ۳۴
۳-۲-۷-بررسی و بهینه‌سازی متغیرهای موثربر حساسیت روش ۳۶
۳-۲-۷-۱-بررسی اثر pH فازآبی ۳۸
۳-۲-۷-۲-بررسی اثر نوع بافر ۴۰
۳-۲-۷-۳-بررسی اثر حجم بافر ۴۲
۳-۲-۷-۴-بررسی اثر نوع حلال استخراج‌کننده ۴۴
۳-۲-۷-۵-بررسی نوع حلال پخش‌کننده ۴۶
۳-۲-۷-۶-بررسی حجم حلال استخراج‌کننده ۴۸
۳-۲-۷-۷- بررسی حجم حلال پخش‌کننده ۵۰
۳-۲-۷-۸-بررسی اثر غلظت لیگاند ۵۲
۳-۲-۷-۹-بررسی زمان استخراج ۵۴
۳-۲-۷-۱۰-بررسی اثر نمک (قدرت یونی) بر راندمان استخراج ۵۶
۳-۲-۷-۱۱-بررسی اثر زمان سانتریفیوژ ۵۸
۳-۲-۷-۱۲-بررسی اثر حجم استون به عنوان حلال برای حل کردن جامد باقی‌مانده ۶۰
۳-۲-۸-شرایط بهینه میکرواستخراج مایع- مایع پخشی پالادیم ۶۴
۳-۳-رسم منحنی کالیبراسیون پیش‌تغلیظ ۶۵
۳-۴ -بررسی اثر مزاحمت ۶۷

۳-۵-سایر ارقام شایستگی روش ۶۹
۳-۵-الف-حد تشخیص ۶۹
۳-۵-ب-دقت و صحت ۷۰
۳-۵-ج-محاسبه فاکتور غنی‌سازی و درصد بازیابی روش ۷۱
۳-۵-د-ضریب مصرف ۷۲
۳-۶-اندازه‌گیری پالادیم در نمونه‌های حقیقی ۷۳
فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری ۷۸
۴-۱- سیستم شیمیایی مورد استفاده ۷۹
۴-۲- بحث ۸۰
۴-۲-۱- ارقام شایستگی روش ۸۰
۴-۲-۲- مقایسه روش پیشنهادی با برخی روش‌های موجود ۸۰
۴-۳- نتیجه‌گیری ۸۲
۴-۴-آینده‌نگری ۸۳
مراجع ۸۴
چکیده انگلیسی

فهرست جداول

جدول ۱- ۱ ۳

جدول ۳- ۱ پارامترهای دستگاهی برای اندازه‌گیری جذب پالادیم ۲۹
جدول ۳- ۲ جذب پالادیم در محیط استون-آب ۳۷
جدول ۳- ۳ بررسی اثر PH بر میزان استخراج ۳۹
جدول ۳- ۴ بررسی اثر نوع بافر ۴۱
جدول ۳- ۵ بررسی اثر حجم بافر ۴۳
جدول ۳- ۶ بررسی نوع حلال استخراج‌کننده ۴۵
جدول ۳- ۷ بررسی نوع حلال پخش‌کننده ۴۷

جدول ۳- ۸ بررسی اثر حجم حلال استخراج‌کننده ۴۹
جدول ۳- ۹ بررسی اثر حجم حلال پخش‌کننده ۵۱
جدول ۳- ۱۰ بررسی اثر غلظت لیگاند ۵۳
جدول ۳- ۱۱ بررسی اثر زمان استخراج ۵۵
جدول ۳- ۱۲ بررسی اثر قدرت یونی ۵۷
جدول ۳- ۱۳ بررسی زمان سانتریفیوژ ۵۹
جدول ۳-۱۴ بررسی اثر حجم استون مصرفی برای حل کردن کمپلکس ۶۱
جدول ۳- ۱۷ نتایج مربوط به رسم منحنی کالیبراسیون پیش‌تغلیظ ۶۶
جدول ۳- ۱۸ نتایج حاصل از بررسی اثر گونه‌های مزاحم در اندازه‌گیری یون پالادیم با غلظت ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر ۶۹
جدول ۳- ۱۹ نتایج حاصل از دقت و صحت روش ۷۱
جدول ۳- ۲۰ برخی پارامترهای تجزیه‌ای در اندازه‌گیری پالادیم برای ۱۰/۰ میلی‌لیتر حجم نمونه آبی ۷۳
جدول ۳- ۲۱ نتایج حاصل از اندازه‌گیری پالادیم در آب ۷۴
جدول ۳- ۲۲ نتایج حاصل از اندازه‌گیری پالادیم در خاک ۷۶
جدول ۳- ۲۳ نتایج حاصل از اندازه‌گیری پالادیم در سیر کوهی ۷۷

جدول ۴- ۱ مقایسه روش پیشنهادی با برخی روش‌های گزارش شده برای تعیین مقدار پالادیم با DLLME ۸۱

فهرست شکل‌ها و تصاویر

شکل ۲- ۱مراحل میکرواستخراج مایع-مایع پخشی ۱۹

شکل ۳- ۱ طیف جذبی (A) محلول شاهد و (B) محلول نمونه ۳۲
شکل ۳- ۲ بررسی اثر زمان بر کامل شدن واکنش پالادیم با لیگاند ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول ۳۲
شکل ۳- ۳ نمودار کالیبراسیون پالادیم در مخلوط همگن استون-آب ۳۸
شکل ۳- ۴ بررسی اثر PH فاز آبی بر سیگنال تجزیه‌ای ۴۰
شکل ۳- ۵ بررسی اثر نوع بافر ۴۱
شکل ۳- ۶ بررسی اثر حجم بافر ۴۳
شکل ۳- ۷ بررسی اثر نوع حلال استخراج‌کننده ۴۵
شکل ۳- ۸ بررسی نوع حلال پخش‌کننده ۴۷

شکل ۳- ۹ بررسی حجم حلال استخراج‌کننده ۴۹
شکل ۳- ۱۰ بررسی حجم حلال پخش‌کننده ۵۱
شکل ۳- ۱۱ بررسی اثر غلظت لیگاند ۵۳
شکل ۳- ۱۲ بررسی اثر زمان استخراج ۵۵
شکل ۳- ۱۳ بررسی تاثیر قدرت یونی بر فرایند استخراج ۵۷
شکل ۳- ۱۴ بررسی اثر زمان سانتریفیوژ ۵۹
شکل ۳- ۱۵ بررسی حجم استون به عنوان حلال برای حل کردن کمپلکس به صورت جامد باقی‌مانده ۶۱
شکل ۳- ۱۶ منحنی کالیبراسیون پیشتغلیظ ۶۷

شکل ۴- ۱ ساختار گسترده لیگاند ۲- مرکاپتو بنزایمیدازول ۷۹

فصل اول:

مقدمه

۱-۱- مقدمه

گسترش صنایع و استفاده روز افزون از فلزات سبب انتشار وسیع آن‌ها در محیط زیست گشته است، به طوری‌که این فلزات از راه‌های گوناگون قادر به ورود به زنجیره غذایی و در نهایت سیستم‌های بیولوژیکی می‌باشند. افزایش عناصر فلزی بالاخص فلزات واسطه سنگین در محیط زیست حتی در مقادیر بسیار اندک، آثار زیان‌باری را بر سلامتی انسان‌ها و دیگر جانداران در پی دارد. از این رو، شناسایی و اندازه‌گیری این عناصر در جهت کنترل و جلوگیری از افزایش نامطلوب آن‌ها امری ضروری است. یکی از این فلزات سنگین پالادیم می‌باشد که در این قسمت از پایان‌نامه به بررسی خصوصیات و اثرات پالادیم پرداخته می‌شود.

۱-۲- خواص پالادیم

پالادیم در سال ۱۸۰۳ توسط ویلیام هید ولاستون[1] کشف شد. منابع اقتصادی مهم پالادیم در روسیه، آفریقای جنوبی، استرالیا و آمریکا است. با این حال، اکثر پالادیم مصرفی بدلیل صرفه اقتصادی از معادن نیکل و مس در آفریقای جنوبی استخراج می‌شود[۱, ۲].

پالادیم از عنصرهای شیمیایی جدول تناوبی است. نشانه کوتاه آن Pd و عدد اتمی آن ۴۶ است. پالادیم یک فلز سفید و نرم است که شبیه پلاتین بوده، در مجاورت هوا سیاه نمی‌شود. این فلز با چگالی اندک خود، پایین‌ترین نقطه ذوب را در میان فلزات گروه پلاتین دارد. پالادیم به‌شدت با ترکیبات گوگردی و اسید نیتریک ترکیب شده، به‌آرامی در اسید هیدروکلریک حل می‌شود. همچنین این فلز در دماهای معمولی با اکسیژن ترکیب نمی‌شود. این فلز به طرز بسیار غیرمعمول و عجیب خاصیت جذب هیدروژن را تا ۹۰۰ برابر حجم خود در دمای اطاق را دارد که احتمالا به دلیل تشکیل پالادیم هیدرید می‌باشد، اما هنوز ترکیب شمیایی واقعی آن آشکار نیست[۱]. حالت‌های معمولی

[1] William Hyde Wollaston

اکسیداسیون پالادیم صفر، ۲+ و ۴+ می‌باشد. اخیرا ترکیبات پالادیم که در آن، این عنصر عدد اکسایش ۶+ را دارد هم گزارش شده است[۳].

پالادیم دارای ایزوتوپ‌های مختلفی است. پایدارترین ایزوتوپ‌های رادیواکتیو آن ^{107}Pd با نیمه عمر ۶/۵ میلیون سال، ^{103}Pd با نیمه عمر ۱۷ روز و ^{100}Pd با نیمه عمر ۳/۶۳ روز می‌باشند. سایر ایزوتوپ‌های رادیواکتیو آن نیمه عمری کمتر از نیم ساعت دارند، به غیر از ^{101}Pd که نیمه عمرش ۸/۴۷ ساعت، ^{109}Pd که نیمه عمرش ۱۳/۷ساعت و ^{112}Pd که نیمه عمرش ۲۱ ساعت است[۴]. تعدادی از خواص عمومی پالادیم در جدول (۱-۱) ذکر شده است.

جدول ۱- ۱

وزن اتمی	۱۰۶/۴۲
آرایش الکترونی	$[Kr],3d^{10},4s^{0}$
نقطه ذوب (^{o}C)	۱۵۵۴/۹
نقطه جوش (^{o}C)	۲۹۶۳
دانسیته در ۲۰^{o}C (Kg/m^3)	۱۲/۰۲۳
مغناطیس	پارا مغناطیس

۱-۳- کاربردهای پالادیم

تقاضای جهانی برای فلزات گران‌بها بخصوص پالادیم در حال افزایش است. پالادیم و آلیاژهای آن به دلیل ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی فوق‌العاده‌ای که دارند توجه بسیاری را در زمینه‌های مختلف به خود جلب کرده‌اند. از پالادیم در دندانپزشکی برای ساخت تاج، پل و ایمپلنت دندان[1] استفاده می‌شود. همچنین پالادیم به عنوان کاتالیزور در فرایندهای شیمیایی گوناگون کاربرد دارد. آلیاژ آن، در جواهرسازی استفاده می‌شود[۵, ۶]. پالادیم در صنایع خودروسازی در ساخت مبدل‌های

[1] Dental implant

کاتالیزوری[1] به کار می‌رود. مبدل‌های کاتالیزوری از سال ۱۹۷۰ با الزام اجرای قوانین سختگیرانه آلایندگی مطرح شدند و امروزه از مفیدترین روش‌ها و وسایل برای کاهش آلاینده‌های خروجی از موتور به شمار می‌روند[۷]. همچنین از ^{103}Pd به دلیل خاصیت رادیواکتیو آن در درمان سرطان استفاده می‌شود[۸].

از دیگر کاربردهای پالادیم می‌توان به موارد زیر اشاره کرد[۵]:

- استفاده در تجهیزات و سیستم‌های مخابراتی
- ساخت ساعت
- ساخت ابزار جراحی
- در صنایع الکتریکی و الکترونیک

۱-۴- اثرات پالادیم

۱-۴-۱- اثرات بیولوژیکی پالادیم

روزگاری ترکیب پالادیم کلراید برای درمان مرض سل به میزان ۰/۰۶۵ گرم در روز تجویز می‌شد. این ترکیب، عوارض جانبی زیادی نداشت، ولی بعدا داروهای موثر دیگر جایگزین آن شدند.

پالادیم و ترکیبات آن در حد کم یا متوسط، در صورت بلعیده شدن مسمومیت ایجاد می‌کنند (بستگی به میزان حل شدنشان دارد). تعدادی از نمک‌های پالادیم موجب ناراحتی‌های پوستی و چشمی می‌شوند. مطالعات اپیدمیولوژیک[2] نشان داده است که پالادیم از جمله شایع‌ترین فلزات

[1] Catalytic Converters
[2] Epidemiologic

حساسیت زا است (بعد از نیکل در رتبه دوم قرار دارد). افراد مبتلا به حساسیت[1] نیکل اغلب به پالادیم نیز حساسیت نشان می‌دهند. آلیاژهای دندان و جواهرات منابع بالقوه حساسیت پالادیم برای افراد به شمار می‌آیند[۲، ۹،۱۰].

خطر ابتلا به سرطان در اثر در معرض قرار گرفتن با ترکیبات پالادیم به درستی معلوم نیست. تنها دو آزمایش حیوانی با محدودیت‌های قابل توجهی انجام شده است، که گزارش‌ها افزایش بروز تومورهای بدخیم در موش را از طریق مصرف آب آشامیدنی حاوی ترکیبات پالادیم در دراز مدت (طول مدت عمر) نشان می‌دهد[۲].

۱-۴-۲- اثرات محیطی پالادیم[۲]

علایم مسمومیت حاد ناشی از نمک‌های مختلف پالادیم در برخی پستانداران از قبیل موش و خرگوش، شامل مرگ، کاهش در جذب آب و غذا، لاغری، راه رفتن نوک پنجه، تشنج‌های تونیک و کلونیک[2]، اثرات قلبی و عروقی و تغییرات بیوشیمیایی مثل تغییر در فعالیت آنزیم‌های کبد و غیره می‌باشد. پالادیم در غلظت‌های زیر ۱ میلی‌گرم بر لیتر نیز بر مهره‌داران و بی‌مهرگان دریایی و گیاهان آبزی تاثیر نامطلوبی دارد، به طوری که بیشترین حساسیت مربوط به گونه جلبک سبز[3] است که در اثر قرار گرفتن در معرض پالادیم، حتی در غلظت‌های کمتر از ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر تکثیر سلولی این گونه متوقف می‌شود.

برای گیاهان خشکی نیز زمانی که در معرض پالادیم قرار می‌گیرند، اثرات نامطلوبی مثل عقب ماندگی و توقف رشد مشاهده شده است.

[1] Allergy
[2] Clonic and tonic convulsions
[3] Green alga

۱-۵- کارهای انجام شده به روش DLLME[1] بر روی پالادیم

با توجه به افزایش کاربردهای پالادیم از یک سو و سمیت ترکیبات آن برای پستانداران، آبزیان و اغلب گیاهان از سوی دیگر، جداسازی و اندازه‌گیری پالادیم در نمونه‌های محیطی حائز اهمیت است.

چندین روش طیف‌سنجی، شامل طیف‌سنجی جذب اتمی شعله‌ای (FAAS)[2][۱۱]، طیف‌سنجی جذب اتمی الکتروترمال (ETAAS)[3][۱۲]، طیف‌سنجی نشر اتمی با پلاسمای جفت شده القائی (ICP-AES)[4][۱۳]، طیف‌سنجی جرمی با پلاسمای جفت شده القائی (ICP- MS)[5] [۱۴] و طیف‌سنجی مرئی- ماورابنفش (UV–Vis)[۱۵] برای تعیین مقادیر کم پالادیم در نمونه‌های محیطی مختلف پیشنهاد شده است[۱۶].

از آن‌جایی که تعیین مقادیر کم پالادیم در نمونه‌های محیطی به دلیل غلظت پایین آن و اثرات زمینه مشکل است، بنابراین بایستی از روش‌های جداسازی و پیش‌تغلیظ قبل از اندازه‌گیری استفاده کرد. چندین روش شامل استخراج مایع-مایع (LLE)[6] ، استخراج فاز جامد (SPE)[7] و استخراج نقطه ابری (CPE)[8] برای جداسازی و پیش‌تغلیظ یون‌های پالادیم گزارش شده است. اما داشتن معایبی از قبیل وقت‌گیر بودن، فاکتور پیش‌تغلیظ پایین و استفاده از مقادیر زیاد حلال آلی باعث شده که روش‌های میکرواستخراج توسعه پیدا کنند[۱۷].

در زیر خلاصه‌ای از کارهای انجام شده برای تعیین مقدار پالادیم به روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی آورده شده است.

[1] Dispersive liquid liquid microextraction
[2] Flame atomic absorption spectroscopy
[3] Electrothermal atomic absorption spectrometry
[4] Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry
[5] Inductively coupled plasma mass spectrometry
[6] Liquid-liquid extraction
[7] Solid-phase extraction
[8] Cloud point extraction

در سال ۲۰۰۷ شمیرانی و همکارانش پالادیم و کبالت را به طور همزمان پس از پیش‌تغلیظ با میکرواستخراج مایع-مایع پخشی توسط تکنیک اسپکترومتری تشخیص آرایه خطی فیبر نوری[1] اندازه‌گیری کردند. در این روش از اتانول و ۱و۲-دی‌کلروبنزن به ترتیب به عنوان حلال پخش‌کننده و حلال استخراج‌کننده استفاده شده است. همچنین از ۱-(۲-پیریدیل‌آزو)-۲- نفتول[2] (PAN) به عنوان عامل کی‌لیت کننده استفاده شده است. ۰/۴ میلی‌لیتر اتانول حاوی ۷۰ میکرولیتر ۱و۲-دی-کلروبنزن با سرعت به داخل محلول نمونه تزریق شده است. پس از سانتریفیوژ محلول نمونه، ۵۰ میکرولیتر از فاز ته‌نشین شده برای اندازه‌گیری به داخل میکرو سل منتقل شده است. در شرایط بهینه برای حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر نمونه، محدوده خطی ۲ تا۱۰۰ میکروگرم بر لیتر، حد تشخیص ۰/۲۵ میکروگرم بر لیتر و فاکتور پیش‌تغلیظ ۱۶۲ برای پالادیم بدست آمده است. همچنین انحراف استاندارد نسبی ۴٪ برای ۵ اندازه گیری تکراری گزارش شده است[۱۸].

شمسی پور و همکارانش در سال ۲۰۰۹ از روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی جفت شده با اسپکترومتری جذب اتمی کوره گرافیتی برای پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری مقادیر بسیار کم پالادیم استفاده کردند. در این روش از ۲-آمینو-۱-سیکلوهگزن-۱-دی تیوکربوکسیلیک اسید به عنوان عامل کی‌لیت کننده، تتراکلریدکربن به عنوان حلال استخراج‌کننده و استون به عنوان حلال پخش‌کننده استفاده شده است. ۰/۸ میلی‌لیتر استون شامل ۴۰ میکرولیتر تتراکلریدکربن با سرعت به داخل محلول نمونه تزریق شده است. پس از سانتریفیوژ محلول نمونه، ۱۰ میکرولیتر از فاز ته‌نشین شده برای آنالیز به داخل کوره تزریق شده است. در شرایط بهینه برای حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر نمونه فاکتور پیش‌تغلیظ ۳۵۰، محدوده خطی ۰/۰۲تا ۰/۶ میکروگرم بر لیتر و حد تشخیص ۰/۰۰۷ میکروگرم بر لیتر بدست آمده است. همچنین انحراف استاندارد نسبی ۴/۲٪ برای روش گزارش شده است[۱۹].

---
[1] Fiber optic-linear array detection spectrophotometry
[2] 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol

در سال ۲۰۰۹ لیانگ[1] و همکارانش پالادیم را پس از پیش‌تغلیظ با استفاده از روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی توسط اسپکترومتری جذب اتمی کوره گرافیتی اندازه‌گیری کردند. در این روش از دی-اتیل-دی-تیو کربامات[2](DDTC) به عنوان عامل کی‌لیت کننده، تتراکلریدکربن به عنوان حلال استخراج‌کننده و اتانول به عنوان حلال پخش‌کننده استفاده شده است. ۰/۵ میلی‌لیتر اتانول حاوی ۴۰ میکرولیتر تتراکلریدکربن با سرعت به داخل محلول نمونه تزریق شده است. پس از سانتریفیوژ محلول نمونه، ۲۰ میکرولیتر از فاز ته‌نشین شده برای آنالیز به داخل کوره تزریق شده است. در شرایط بهینه برای حجم ۵/۰ میلی‌لیتر نمونه آبی حد تشخیص و فاکتور پیش‌تغلیظ روش به ترتیب ۲/۴ نانوگرم بر لیتر و ۱۵۶ و انحراف استاندارد نسبی برای ۷ اندازه‌گیری تکراری ۴/۳٪ بدست آمده است. همچنین محدوده خطی روش ۰/۱تا ۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر برای این روش بدست آمده است[۲۰].

در سال ۲۰۰۹ توسط فرهادی و احمدزاده از روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی جفت شده با اسپکترومتری جذب اتمی شعله‌ای برای پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری مقادیر کم پالادیم استفاده شده است. در این روش از تیوریدازین[3](TRH) HCl به عنوان عامل کی‌لیت کننده، کلروفرم به عنوان حلال استخراج‌کننده و اتانول به عنوان حلال پخش‌کننده استفاده شده است. ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول به همراه ۱۵۰ میکرولیتر کلروفرم با سرعت به داخل محلول نمونه تزریق شده است. پس از سانتریفیوژ محلول نمونه، فاز ته‌نشین شده به طور کامل برداشته و به یک ویال منتقل شده است. سپس اجازه داده شده تا حلال در دمای اتاق تبخیر شود. جامد باقی‌مانده (کمپلکس) در ۵۰ میکرولیتر استون حل و تا حجم ۰/۵ میلی‌لیتر با آب مقطر رقیق شده است. سپس محلول برای اندازه‌گیری به داخل دستگاه اسپکترومتری جذب اتمی شعله‌ای اسپری شده است. در شرایط بهینه برای حجم ۵/۰ میلی‌لیتر نمونه آبی منحنی کالیبراسیون در محدوده ۱۰۰ تا ۲۰۰۰ میکروگرم بر لیتر خطی بوده است. همچنین

---

[1] Liang
[2] diethyldithiocarbamate
[3] Thioridazine HCl

انحراف استاندارد نسبی برای ۵ اندازه‌گیری تکراری ۰/۷٪ و حد تشخیص ۹۰ میکروگرم بر لیتر بدست آمده است [۲۱].

در سال ۲۰۱۰ محمدی و همکارانش مقادیر کم پالادیم را پس از پیش‌تغلیظ با استفاده از میکرواستخراج مایع-مایع پخشی بدون استفاده از لیگاند[1] (LL-DLLME) توسط اسپکترومتری جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری کردند. در این روش از تتراکلریدکربن و اتانول به ترتیب به عنوان حلال استخراج‌کننده و حلال پخش‌کننده استفاده شده است. ۲ میلی‌لیتر اتانول حاوی ۱۵ میکرولیتر تتراکلریدکربن با سرعت به داخل محلول نمونه تزریق شده است. پس از سانتریفیوژ محلول نمونه، فاز ته‌نشین شده به طور کامل برداشته شده است و پس از انتقال به یک ویال توسط ۰/۵ میلی‌لیتر نیتریک اسید ۰/۵ مولار در اتانول رقیق شده است. سرانجام محلول برای اندازه‌گیری به داخل دستگاه اسپکترومتری جذب اتمی شعله‌ای اسپری شده است. در شرایط بهینه برای ۱۰/۰ میلی‌لیتر محلول حاوی نمونه محدوده خطی ۱۵ تا ۷۰۰۰ میکروگرم بر لیتر، حد تشخیص ۱/۴ میکروگرم بر لیتر و انحراف استاندارد نسبی ۱/۵٪ بدست آمده است [۱۷].

[1] Ligandless dispersive liquid liquid microextraction

فصل دوم: تئوری

روش‌های آماده‌سازی نمونه

۲-۱- مقدمه‌ای بر روش‌های آماده‌سازی نمونه

هر روش تجزیه‌ای شامل سه مرحله اساسی است که عبارت‌اند از: آماده‌سازی نمونه، اندازه‌گیری نمونه و پردازش وتفسیر داده‌ها، که مجموعه این مراحل چرخه آنالیز نامیده می‌شوند.

با وجود پیشرفت‌های زیادی که طی چند دهه اخیر در تکنیک‌های اندازه‌گیری صورت گرفته است و علی‌رغم وجود ابزارهای بسیار دقیق تجزیه‌ای، یکی از مهمترین مشکلات تجزیه‌گرها عدم امکان ارائه مستقیم نمونه و ماتریکس آن به دستگاه‌های اندازه‌گیری است. به همین خاطر آماده‌سازی نمونه مرحله مهم و ضروری در هر روش تجزیه‌ای است.

اهداف عمومی روش‌های آماده‌سازی نمونه به شرح زیر است:

- تغلیظ نمونه به منظور اندازه‌گیری مقادیر کم و افزایش انتخابگری روش
- حذف مزاحمت‌های ناشی از ماتریکس نمونه در مراحل جداسازی و شناسایی نمونه و در نتیجه افزایش انتخابگری
- در صورت لزوم تبدیل آنالیت‌ها به فرم مناسب‌تر برای تشخیص و جداسازی بهتر
- فراهم کردن یک روش تکرارپذیر و کارآمد که مستقل از تغییرات ماتریکس نمونه باشد.

مفهوم اساسی روش آماده‌سازی نمونه تبدیل بافت واقعی به نوعی از نمونه است که برای تجزیه مناسب باشد.

به دلیل اهمیت بالای تکرارپذیری روش، روش‌های تجزیه‌ای خودکار که در آن‌ها اندازه‌گیری نمونه بدون دخالت فرد صورت می‌گیرد به طور روزافزون در حال گسترش است. روش‌های متفاوتی در این زمینه وجود دارد، مهمترین نکات مورد توجه شیمی‌دانان در این فرایندها که کاربردهای زیادی در فرایندهای تجزیه‌ای دارند به قرار زیر می‌باشند:

- استفاده از نمونه‌های اولیه با ابعاد کوچک جهت تجزیه مقادیر بسیار کم
- گزینش پذیری بیشتر در استخراج
- افزایش توانمندی بالقوه جهت خودکار نمودن روش
- یافتن روش‌های سازگارتر با محیط زیست با مصرف کمتر مواد آلاینده و حلال‌های آلی[۲۲].

۲-۲- استخراج

یکی از اساسی‌ترین مراحل آماده‌سازی نمونه که در اکثر روش‌های تجزیه‌ای دیده می‌شود مرحله استخراج است. استخراج منجر به تغلیظ گونه‌های مورد نظر و جداسازی آن‌ها از بافت نمونه می‌گردد.

روش استخراج ایده‌آل، روشی است که سریع، ساده، تکرارپذیر و ارزان باشد و بازیافت ترکیبات مورد نظر را به طور کمی و بدون اتلاف و یا تخریب آن‌ها ممکن سازد. همچنین نیاز به حلال آلی کمی برای استخراج داشته باشد، تا به این ترتیب نیازی به تغلیظ و کاهش حجم فاز استخراجی نباشد و در نتیجه میزان ضایعات در آن به حداقل برسد. روش‌های متعددی از جمله استخراج با حلال از فاز جامد، استخراج با حلال از یک فاز مایع و استخراج از فاز گازی می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند[۲۳].

در اینجا، برخی از روش‌های مورد استفاده جهت استخراج آنالیت‌ها از نمونه‌های محلول را به طور اجمالی مورد مطالعه و بررسی قرار می‌دهیم.

۲-۱-۲- استخراج نمونه‌های محلول

ترکیبات شیمیایی مختلف، دارای خواص فیزیکی (جرم ملکولی، نقطه‌ی جوش و قطبیت) متفاوتی هستند که بر اساس آن‌ها تقسیم‌بندی می‌شوند. لذا بر اساس این تقسیم‌بندی و همچنین بافت گونه مورد نظر می‌توان برای هر دسته از این ترکیبات یک روش استخراج مناسبی را معرفی نمود. به عنوان مثال، ساده‌ترین روش استخراج ترکیبات آلی غیرقطبی محلول، استفاده از حلال‌های استخراج‌کننده غیرقطبی با استفاده از یک قیف جداکننده می‌باشد. بعضی از روش‌های استخراج از نمونه‌های مایع، دارای معایبی نظیر، استفاده از حجم‌های زیاد حلال‌های آلی، تکرار مراحل استخراج جهت افزایش بازده و غیره می‌باشند. ولی اخیرا روش‌های بهبود یافته‌ای جهت غلبه بر این مشکلات توسعه یافته‌اند که در ادامه به بررسی این روش‌ها خواهیم پرداخت.

۲-۱-۲-۱- استخراج مایع – مایع (LLE)

اساس این روش، اختلاف حلالیت یک جزء در دو حلال غیر قابل حل در یکدیگر و با دانسیته-های متفاوت می‌باشد. معمولاً استخراج مایع-مایع با استفاده از حلال‌های فرار انجام می‌گیرد، تا پس از انجام استخراج، با کمی حرارت حلال تبخیر شده و به این ترتیب آنالیت‌های استخراج شده تغلیظ گردند. برای انجام استخراج در این روش، از یک قیف جداکننده استفاده می‌گردد. این روش به دلیل سادگی و قابلیت استفاده از آن در مقیاس‌های بزرگ، در صنعت بسیار گسترش یافته است. به رغم کاربرد بسیار زیاد، این روش دارای معایبی نیز می‌باشد. از جمله، استفاده از حجم‌های زیاد از حلال‌های آلی با درجه خلوص بالا که اغلب گران‌قیمت و بسیار سمی هستند. علاوه بر آن، طی مرحله کاهش حجم و تغلیظ فاز استخراجی، مقادیر زیادی از حلال‌های آلی وارد فضای اطراف می‌گردند، که به عنوان آلاینده‌های محیط زیست، برای سلامتی انسان و همچنین محیط زیست مضر می‌باشند. این مشکلات باعث شده، که این روش به تدریج با روش‌هایی که در آن‌ها مقادیر بسیار کمتری از

حلال‌های آلی استفاده می‌شود و یا اصولا هیچ حلالی مورد استفاده قرار نمی‌گیرد، جایگزین گردد [۲۴, ۲۵].

۲-۲-۱-۲- استخراج با فاز جامد (SPE)

استخراج از طریق جذب آنالیت بر روی بسترهای جامد، یکی از روش‌های استخراج و پیش‌تغلیظ ترکیبات آلی موجود در نمونه‌های مایع می‌باشد[۲۶, ۲۷]. این روش، نسبت به استخراج مایع- مایع سریع‌تر، ساده‌تر و ارزان‌تر می‌باشد. در این روش، همانند روش LLE، فرآیند استخراج بر اساس توزیع آنالیت‌ها در بین دو فاز می‌باشد، با این تفاوت که در اینجا فاز استخراج‌کننده جامد است. اساس استخراج بر این اصل استوار است که ترکیبات هدف تمایل دارند بر روی دانه‌های جاذب موجود در یک ستون کوچک (کارتریج) و یا بر روی یک دیسک مسطح، جذب و از بافت نمونه جدا شوند. با این روش می‌توان آنالیت‌ها و یا گونه‌های مزاحم را از بافت نمونه جدا و بر روی فاز جامد جمع آوری نمود. پس از شست و شوی ناخالصی‌ها و خشک کردن، گونه‌های استخراج شده با حجم کمی از یک حلال مناسب، از روی جاذب شسته و جمع آوری می‌گردند. از آن‌جایی که حجم حلال مورد استفاده جهت شست و شو نسبت به حجم نمونه‌ی اولیه بسیار کم است، لذا فاکتورهای تغلیظ بزرگتری نسبت به روش استخراج مایع-مایع بدست می‌آید. البته، این روش دارای محدودیت‌هایی از قبیل گرفتگی ستون یا دیسک نیز می‌باشد که بر اثر استخراج نمونه‌های خیلی آلوده صورت می‌گیرد. با این وجود، استخراج با فاز جامد، کاربرد زیادی در زمینه استخراج و اندازه‌گیری آلاینده‌ها و ترکیبات شیمیایی دیگر، در نمونه‌های مختلف نظیر آب، مایعات بیولوژیکی و همچنین مواد غذایی دارا می‌باشد[۲۸-۳۲].

۲-۲-۱-۳- استخراج نقطه ابری (CPE)

در روش آماده‌سازی نمونه بر اساس استفاده از استخراج نقطه ابری، از ترکیباتی به نام مواد فعال سطحی[1] (سورفکتانت) استفاده می‌گردد، که دارای یک سر آبدوست و یک سر آبگریز می‌باشند. یک ماده فعال سطحی دارای ساختار R-X می‌باشد که R یک زنجیر کربنی با تعداد ۱۸-۸ اتم کربن و X یک یون قطبی و آبدوست می‌باشد. طبقه‌بندی این مواد بر اساس طبیعت گروه آبدوست آن‌ها می‌باشد که به چهار گروه غیر یونی، کاتیونی، آنیونی و یون دو قطبی تقسیم می‌گردند. از نقطه نظر تجزیه‌ای یکی از مهم‌ترین خواص مواد فعال سطحی، ظرفیت بالای آن‌ها برای حل کردن گونه‌های مختلف می-باشد که اجازه می‌دهد ماده‌ای با حلالیت ناچیز و نامحلول در آب، به راحتی در آب حل گردد. ملکول-های فعال سطحی می‌توانند در محلول‌های آبی تجمع یافته و مایسل‌ها را ایجاد نمایند. کمترین غلظت مورد نیاز از آن‌ها برای تولید مایسل، غلظت بحرانی مایسلی[2] (CMC) نامیده می‌شود. هنگامی که محلولی شامل غلظت بحرانی از یک ماده فعال سطحی غیر یونی، حرارت داده می‌شود، در یک محدوده دمایی خاص شروع به کدر شدن می‌کند که به آن دمای نقطه ابری می‌گویند و در حقیقت، محلول به دو فاز تبدیل می‌گردد. یک فاز غنی از سورفکتانت، که حجم کمی دارد و فاز آبی، که غلظت سورفکتانت در آن نزدیک نقطه بحرانی می‌باشد. بنابراین، حجم کمی از ماده فعال سطحی غلیظ این امکان را می‌دهد که آنالیت‌ها در یک مرحله تغلیظ گردند[۱۳، ۳۳, ۳۴]. استفاده از نقطه ابری برای استخراج و تغلیظ مواد آلی و یون‌های موجود در آب، پیش از آنالیز نهایی با جذب اتمی، کروماتوگرافی گازی، کروماتوگرافی مایع و غیره می‌باشد.

---
[1] Surface active agent
[2] Critical micellar concentration

۲-۲-۲- روش‌های میکرواستخراج

بیشتر روش‌های مرسوم نمونه‌برداری و آماده‌سازی نمونه بر اساس فناوری‌های قرن نوزدهم پایه‌گذاری شده‌اند. این روش‌ها اغلب وقت‌گیر بوده و به دلیل چند مرحله‌ای بودن، خطر اتلاف قسمتی از نمونه در آن‌ها وجود دارد و معمولا در این روش‌ها و بخصوص در روش LLE از حجم زیادی از حلال‌های آلی استفاده می‌شود. این خصوصیات، روش‌های مذکور را با مشکلات عدم خودکار شدن و ارائه مستقیم به سیستم‌های نوین نمونه‌برداری و جداسازی روبروساخته است. از طرف دیگر، صرف هزینه بالا، خطرات تهدید کننده برای سلامت شخص آزمایشگر و اثرات سوء آن بر محیط زیست به دلیل مصرف بالای حلال‌های آلی، از دیگر معضلات روش‌های سنتی آماده‌سازی نمونه هستند. از این‌رو، در دو دهه اخیر تلاش‌های زیادی در جهت کوچک‌سازی روش‌های مذکور انجام شده است، که منجر به ایجاد روش‌های مختلف از جمله میکرواستخراج با فاز جامد[۱] (SPME) و میکرواستخراج با فاز مایع[۲] (LPME) شده است[۲۳]. در ادامه به بررسی اجمالی روش‌های میکرواستخراج با فاز مایع می‌پردازیم.

۲-۲-۲-۱- روش‌های میکرواستخراج با فاز مایع

استخراج مایع-مایع (LLE) یک روش آماده‌سازی سنتی و فراگیر نمونه است که در بسیاری از روش‌های تجزیه‌ای استاندارد به کار می‌رود. اما عیب اصلی LLE معمولی، استفاده از مقادیر زیاد از حلال‌های آلی خالص، گران قیمت بودن آن، آلوده نمودن محیط زیست، وقت‌گیر بودن و چند مرحله‌ای بودن آن است. برای غلبه بر این مشکلات، برخی تکنیک‌ها نظیر اندازه‌گیری تزریق در جریان استخراج با حلال، استخراج با فاز جامد و میکرواستخراج با فاز جامد، توسعه داده شده‌اند. با این‌حال، تحقیقات اخیر به سمت کوچک‌سازی روش LLE سنتی پیش رفته است. ایده اصلی این

[1] Solid phase microextraction
[2] Liquid phase microextraction

مساله، کاهش قابل ملاحظه در نسبت حجم حلال آلی به فاز آبی است که این امر منجر به ابداع روش‌های جدید میکرواستخراج با حلال شده است[۲۴, ۲۵].

از زمان ارائه اولیه روش میکرواستخراج فاز مایع تاکنون، شیوه‌های متفاوتی از آن به منظور بهبود عملکرد، ارائه شده است. می‌توان انواع روش‌های میکرو استخراج با فاز مایع را به سه دسته کلی زیر تقسیم نمود:

۱- میکرواستخراج فاز مایع با استفاده از غشاء فیبر تو خالی[1]

۲- میکرواستخراج فاز مایع بدون استفاده از غشاء فیبر تو خالی[2]

۳- میکرواستخراج مایع- مایع پخشی[3]

اختلاف اصلی دسته اول و دوم، وجود یا عدم وجود غشا بین دو فاز آبی و آلی است که هر یک مزایا و معایب خاص خود را دارد. ولی تکنیک دسته سوم به علت استفاده از یک سیستم سه تایی حلال با روش‌های دیگر میکرواستخراج تفاوت اساسی دارد[۳۵].

با توجه به اینکه در این پایان‌نامه از میکرواستخراج مایع-مایع پخشی جهت آماده‌سازی و پیش‌تغلیظ نمونه استفاده شده است، لذا در اینجا فقط به توضیح بیشتر در مورد این روش می‌پردازیم.

۲-۲-۱-۱- میکرو استخراج مایع-مایع پخشی

میکرواستخراج مایع-مایع پخشی، یک روش جداسازی جدید می‌باشد که برای اولین بار در سال ۲۰۰۶ توسط اسدی در دانشگاه علم و صنعت ایران ارائه گردید[۳۶].

---

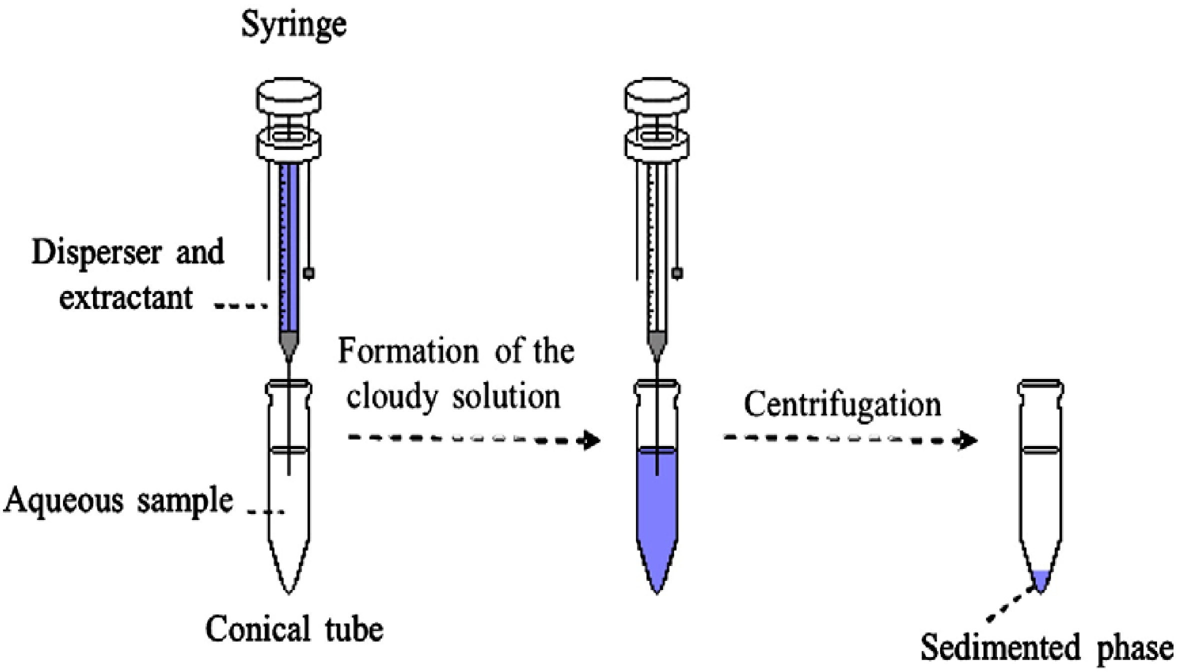
[1] Hollow-fiber liquid-phase microextraction (HF-LPME)
[2] Liquid phase microextraction without hollow-fiber
[3] Dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME)

میکرواستخراج مایع-مایع پخشی در واقع شاخه‌ای از استخراج مایع-مایع معمولی بوده که به منظور کاهش مصرف حلال‌های آلی مضر طرح‌ریزی شده است.

بطور کلی در روش میکرو استخراج مایع-مایع پخشی سه جزء حلال آبی، حلال آلی استخراج-کننده و حلال آلی پخش‌کننده به گونه‌ای با هم مخلوط می‌شوند که حلال آلی استخراج‌کننده بصورت قطرات بسیار ریز در میان فاز آبی پخش شوند. اندازه این قطرات به حدی است که جرم این قطرات توانایی غلبه بر نیروهای بین مولکولی آب را نداشته و نمی‌توانند بدون حضور یک نیروی خارجی به یکدیگر متصل شده و ته‌نشین شوند. البته لازم به ذکر است که نیروهای جاذبه کوچک ناشی از برهم‌کنش‌های مولکولی حلال آب با مولکول‌های حلال استخراج‌کننده آلی نیز در این پایداری سیستم تاثیرگذارند، که مانع از ته‌نشین شدن حلال استخراج‌کننده می‌شوند.

بر اثر پخش حلال آلی استخراج‌کننده در درون آب، سطح تماس مولکول‌های آب و حلال آلی به میزان بسیار زیادی در مقایسه با استخراج مایع-مایع معمولی افزایش می‌یابد. این امر باعث می‌شود که زمان لازم برای به تعادل رسیدن گونه استخراج شونده (که یا ذاتا هیدروفوب است و یا به کمک فرایندهای کمپلکس کردن و یا مشتق سازی هیدروفوب شده است) بین آب وحلال آلی کاهش یابد و به حد چند ثانیه برسد. بطور کلی مراحل انجام میکرواستخراج مایع-مایع پخشی بدین شکل می‌باشد که ابتدا یک مخلوط همگن از حلال آلی پخش‌کننده و حلال آلی استخراج‌کننده با نسبت معینی تهیه می‌گردد. سپس مقدار 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 کدورت به دلیل پخش ذرات ریز حلال استخراج‌کننده درون محلول آبی می‌باشد. این مخلوط تا حد زیادی پایدار می‌باشد. سپس این مخلوط سانتریفیوژ می‌گردد و در نتیجه ذرات حلال استخراج‌کننده که دارای دانسیته بیشتری نسبت به آب می‌باشد ته‌نشین می‌گردد. سپس این فاز ته‌نشین شده که حاوی آنالیت نیز

می‌باشد، جهت آنالیز با روش‌های دستگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد[۳۷, ۳۸]. مراحل این روش بطور ساده در شکل (۲-۲) نشان داده شده است.



شکل ۲- ۱مراحل میکرواستخراج مایع-مایع پخشی[۳۸]

همانطور که مشاهده می‌شود، اصول کلی توزیع ماده بین دو فاز غیرقابل اختلاط همانند استخراج مایع-مایع معمولی است، با این تفاوت که سطح تماس بسیار افزایش یافته است. در ضمن میزان ضرایب توزیع آنالیت نیز احتمالا متفاوت از ضرایب توزیع آنالیت بین دو حلال آلی و آبی به تنهایی است، زیرا وجود حلال آلی پخش‌کننده باعث تغییراتی هرچند کوچک در خواص حلال آلی و آبی می‌گردد. بنابراین محیطی جدید برای توزیع گونه بوجود می‌آید. به عبارت دیگر می‌توان لحظه مخلوط شدن دو حلال با یکدیگر را به مانند محلول‌های همگن و تک فاز ناحیه‌ای کوچک در نظر گرفت، که در ابتدا سیستم همگن است و با وارد شدن بیشتر مولکول‌های آب به این سیستم سه جزئی تعادل به هم خورده و در نتیجه سیستم از ناحیه تک فازی وارد ناحیه دو فازی می‌شود.

این روش به علت حجم کم حلال آلی استخراج‌کننده مصرفی، دارای فاکتور پیش‌تغلیظ بزرگ بوده و در نتیجه جهت آنالیز مقادیر خیلی کم ترکیبات بسیار کارا می‌باشد[۳۶].

فاکتور پیش‌تغلیظ(غنی‌سازی)[1] (EF) در این روش به صورت نسبت غلظت آنالیت در فاز ته‌نشین شده به غلظت آنالیت در نمونه است:

$$EF = \frac{C_{sed}}{C_o} \qquad (۲-۱)$$

C_{Sed} = غلظت آنالیت استخراج شده در فاز ته‌نشین شده

C_0 = غلظت اولیه آنالیت در نمونه

غلظت در فاز ته‌نشین شده (C_{Sed}) از منحنی کالیبراسیون تزریق مستقیم محلول استاندارد آنالیت در شرایط آزمایش بدست می‌آید.

راندمان استخراج[2] (ER) به صورت درصد کل آنالیت استخراج شده به درون فاز ته‌نشین شده است که از رابطه (۲-۲) یا (۲-۳) بدست می‌آید:

$$ER = \frac{n_{sed}}{n_o} \times 100 = \frac{C_{sed}.V_{sed}}{C_o.V_{aq}} \times 100 \qquad (۲-۲)$$

$$ER = \left[\frac{V_{sed}}{V_{aq}}\right] EF \times 100 \qquad (۲-۳)$$

n_{Sed}= تعداد مول‌های آنالیت در فاز ته‌نشین شده

n_o= تعداد کل مول‌های آنالیت در نمونه

V_{aq}= حجم نمونه آبی بر حسب میلی لیتر

V_{Sed}= حجم فاز داده شده به دستگاه برحسب میلی‌لیتر

1 Enrichment factor
2 Extraction recovery

اگر راندمان استخراج ۱۰۰٪ باشد، در آن صورت فاکتور پیش‌تغلیظ برابر نسبت حجم فاز آبی به حجم فاز ته‌نشین شده می‌باشد[۳۷].

۲-۲-۲-۱-۱-۱- عوامل موثر بر بازده میکرواستخراج مایع- مایع پخشی [۳۹]

بازده استخراج آنالیت توسط DLLME به چند فاکتور از جمله pH، نوع و حجم حلال‌های استخراج و پخش‌کننده، زمان استخراج و قدرت یونی بستگی دارد.

الف) انتخاب حلال استخراج‌کننده : انتخاب حلال استخراج مناسب، یک عامل مهم برای فرایند DLLME است. حلال استخراج باید خصوصیات مناسبی برای این روش داشته باشد، یکی اینکه باید چگالی بالاتری نسبت به آب داشته باشد تا امکان جدا کردن حلال استخراج از فاز آبی به وسیله سانتریفیوژ کردن امکان‌پذیر باشد. خصوصیات مهم دیگر حلال استخراج، قابلیت استخراج ترکیبات مورد نظر با انحلال کم در آب هستند. هیدروکربن‌های هالوژن‌دار مانند کلروبنزن، کلروفرم، کربن‌تتراکلرید و تتراکلرواتیلن به علت چگالی بالایشان از جمله ترکیباتی هستند که به عنوان حلال‌های استخراج از آن‌ها استفاده می‌شود.

ب) انتخاب حلال پخش‌کننده : حلال پخش‌کننده باید هم حلال استخراج‌کننده را در خود حل کند و هم در آب به خوبی حل شود. به دلیل این خصوصیت حلال پخش‌کننده و عدم انحلال حلال استخراج‌کننده در نمونه آبی، موقع تزریق محلول همگن حلال پخش‌کننده و استخراج‌کننده به درون فاز آبی، حلال استخراج‌کننده بصورت ذرات بسیار ریز در فاز آبی تشکیل می‌گردد و محلول ابری (کدر) پایداری بوجود می‌آید. در چنین مواردی، سطح تماس بین حلال استخراج و فاز آبی به طور نامحدودی بزرگ شده و بنابراین سرعت استخراج افزایش می‌یابد. متانول، اتانول، استونیتریل و

تتراهیدروفوران حلال‌های پخش‌کننده‌ای هستند که به طور معمول در این روش مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

پ) تاثیرحجم حلال استخراج‌کننده : یکی از عوامل موثر بر فاکتور غنی‌سازی، حجم حلال استخراج است که با افزایش آن، فاز آلی ته‌نشین شده بعد از سانتریفیوژ کردن افزایش یافته و در نتیجه غلظت آنالیت در فاز آلی کاهش می‌یابد، بنابراین فاکتور غنی‌سازی کاهش می‌یابد. این کار منجر به کاهش حساسیت اندازه‌گیری برای نمونه‌ها می‌شود. بنابراین حجم حلال استخراج باید بنحوی انتخاب شود که بتواند هم فاکتور غنی‌سازی بالا و هم حجم کافی برای استخراج کامل آنالیت را تامین کند.

ت) تاثیر حجم حلال پخش‌کننده : حجم حلال پخش‌کننده مستقیما بر تشکیل محلول ابری، درجه پخش حلال استخراج در فاز آبی و متعاقب آن بر بازده استخراج تاثیر می‌گذارد.

ث) تاثیر pH : تشکیل یک کمپلکس (وقتی که آنالیت، یک یون فلزی باشد) با خاصیت آبگریزی کافی برای جداسازی یون‌های فلزی با میکرواستخراج مایع-مایع پخشی، یک شرط لازم محسوب می‌شود. میزان تشکیل و پایداری یک کمپلکس فلز- لیگاند و بنابراین استخراج آن، قویا به pH وابسته است. بنابراین pH محلول آبی می‌تواند نقش مهمی را در تولید گونه‌های قابل استخراج از آنالیت‌های یونی قبل از استخراج با DLLME ایفا نماید. مقدار pH نیز به عامل کمپلکس‌کننده و ویژگی‌های یون‌های آنالیت بستگی دارد.

ج) تاثیر زمان استخراج : در DLLME، زمان استخراج به صورت فاصله زمانی از لحظه تزریق مخلوط حلال‌های استخراج و پخش‌کننده و سانتریفیوژ کردن محلول تعریف می‌شود. آشکار است که زمان استخراج تاثیر کمی روی بازده استخراج در DLLME دارد. علت آن، این است که حلال استخراج می‌تواند بعد از تزریق مخلوط حلال‌های استخراج و پخش‌کننده و تشکیل محلول ابری به

خوبی پخش شود، در نتیجه آنالیت به طور سریع از فاز آبی به حلال استخراج منتقل و به سرعت تعادل برقرار می‌شود.

چ) **تاثیر قدرت یونی** : انحلال‌پذیری آنالیت و حلال استخراج آلی در فاز آبی معمولا با افزایش قدرت یونی کاهش می‌یابد که این حالت برای حصول فاکتور بازیابی بالا مطلوب است. اما همزمان حجم فاز آلی به دست آمده افزایش می‌یابد، در نتیجه غلظت آنالیت در فاز آلی و به تبع آن فاکتور غنی‌سازی کاهش می‌یابد. بنابراین می‌بایست شرایطی از نظر قدرت یونی محلول فراهم شود که پارامترهای ذکر شده در حالت مطلوبی به دست آیند.

۲-۲-۲-۱-۱-۲- نمونه‌های قابل استخراج به روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی

بطور کلی امکان استخراج هرگونه آبگریزی (هیدروفوبی) که در درون محلول آبی وجود داشته باشد، با این روش وجود دارد. در مواردی که قطبیت گونه‌ها و حلالیت آن‌ها در آب کم است، بدون نیاز به واکنش‌های ثانویه می‌توان عمل استخراج را انجام داد. ولی در مواردی که حلالیت گونه‌ها در آب نسبتا بالا باشد و یا نظیر کاتیون‌ها محلول در آب باشند، لازم است به نحوی حلالیت آن‌ها در آب کاهش یابد. به عنوان مثال برای کاتیون‌ها با استفاده از لیگاندهای آلی با هیدروفوبیسیته مناسب کمپلکس‌های کم محلول در آب ایجاد کرده و عمل استخراج انجام می‌گیرد و یا در مورد ترکیباتی مثل فنل‌ها والکل‌ها می‌توان با مشتق‌سازی آن‌ها بوسیله فرایند استری کردن حلالیت را کاهش داده و عمل استخراج را انجام داد. در مورد پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه نیز می‌توان با تنظیم pH در نقطه ایزوالکتریک آن‌ها، عمل استخراج را انجام داد[۴۰].

۲-۲-۱-۱-۳- سازگاری روش DLLME با تکنیک‌های دستگاهی

در این روش به علت بافت بسیار ساده ایجاد شده برای نمونه، سازگاری مناسبی با اکثر روش‌های دستگاهی دارد. به عنوان مثال در روش‌هایی همچون کروماتوگرافی گازی[۴۱]، کروماتوگرافی مایع[۴۱]، اسپکتروفوتومتری مرئی-فرابنفش[۴۲]، اسپکترومتری جذب اتمی شعله[۲۱] و اسپکترومتری جذب اتمی الکتروترمال[۱۹] می‌توان بطور مستقیم حلال آلی را جهت آنالیز به دستگاه وارد کرد. در مواردی همچون اسپکترومتری نشری پلاسمای جفت شده القایی که حلال‌های آلی هماهنگی مناسبی با پلاسما ندارند، می‌توان این حجم کم را به راحتی در مدت زمانی کوتاه تبخیر کرد و سپس به کمک اسیدهای معدنی محیط مناسبی را جهت اندازه‌گیری نمونه فراهم کرد[۴۳].

بنابراین می‌توان این امیدواری را داشت که در آینده بتوان این روش را با سایر تکنیک‌های اندازه‌گیری مثل الکتروفورز، طیف‌سنجی جرمی و طیف‌سنجی جرمی جفت شده با پلاسمای نشر القایی جهت اندازه‌گیری مقادیر خیلی کم بسیاری از ترکیبات مورد استفاده قرار داد[۳۷, ۴۲].

۲-۲-۱-۱-۴ مقایسه روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی با روش‌های مشابه

میکرواستخراج مایع-مایع پخشی از جمله زیرگروه‌های استخراج مایع-مایع متداول می‌باشد. ولی تاحدود زیادی معایب روش استخراج مایع-مایع معمولی را برطرف می‌سازد.

اساس روش همانند استخراج مایع-مایع برپایه تمایل نسبی آنالیت بین دو حلال غیرقابل اختلاط با هم می‌باشد. ولی به علت افزایش سطح تماس بین دو حلال و کاهش حجم حلال آلی مصرفی، معایب این روش را ندارد. این روش دارای شباهت‌های چندی با برخی از روش‌های منتج شده از روش استخراج مایع-مایع مثل استخراج مایع-مایع همگن و استخراج نقطه ابری می‌باشد. در روش استخراج مایع-مایع همگن حلال استخراج‌کننده و آب به کمک یک ماده سوم، یک سیستم تعادلی همگن را فراهم می‌کنند که در نتیجه حلال استخراج‌کننده به طور یکنواخت در درون آب

توزیع می‌گردد، به طوری که حدفاصل مشخصی برای آن‌ها قابل تشخیص نیست. سپس به کمک یک عامل خارجی مانند pH، تغییر دما، تغییر فشار و یا افزودن نمک، سیستم به حالت دو فازی تبدیل می‌شود. در ضمن دو فازی شدن سیستم، انتقال آنالیت بین آب وحلال آلی انجام می‌شود. ولی هریک از این سیستم‌های دوفازی دارای معایبی می‌باشند. از جمله اینکه در مواردی که pH عامل دو فازی شدن است، در نوع آنالیت و پایداری آن با توجه به غلظت پروتون در محیط محدودیت ایجاد می‌گردد. در مواردی که تغییر دما باعث دو فازی شدن می‌گردد، تنها برای آنالیت‌های پایدار مناسب می‌باشند و در مواردی که از افزودن نمک استفاده می‌شود، غلظت‌های بالای نمک در محیط، استفاده از روش‌های دستگاهی جهت آنالیز نمونه را دچار مشکل می‌کند. بنابراین روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی در مقایسه با استخراج مایع-مایع همگن دارای محدودیت‌های کمتری می‌باشد. ولی از لحاظ فاکتور تغلیظ بالا، عدم نیاز به همزدن محلول، سرعت بالای استخراج و استفاده از حجم کم حلال آلی استخراج‌کننده، این دو روش دارای شباهت‌های زیادی می‌باشند[۴۴].

در مقایسه با تکنیک استخراج نقطه ابری نیز می‌توان برتری‌هایی را مشاهده کرد. به عنوان مثال نیاز به شرایط گرمایی خاص جهت ابری شدن محلول حاوی سورفکتانت، ثابت توزیع کوچک برای برخی گونه‌ها با آبگریزی کمتر و زمان آنالیز طولانی‌تر به علت مراحل گرم کردن و سرد کردن از معایب روش استخراج نقطه ابری می‌باشد. همچنین عدم سازگاری فاز غنی از سورفکتانت با تکنیک‌های آنالیز دستگاهی از جمله کروماتوگرافی گازی از این جمله است. از این‌رو در مقایسه با روش استخراج نقطه ابری، تکنیک میکرواستخراج مایع-مایع پخشی تا حدود زیادی این معایب را برطرف می‌سازد. با این وجود تکنیک استخراج نقطه ابری به علت دارا بودن فاکتور تغلیظ بالا و استفاده از سورفاکتانت به جای حلال آلی به عنوان فاز استخراج‌کننده، جزء تکنیک‌های کارا و مناسب آماده‌سازی نمونه می‌باشد[۴۵].

البته لازم به ذکر است که با توجه به آزمایش‌هایی که تاکنون در مورد میکرواستخرج مایع-مایع پخشی انجام گرفته است، این تکنیک نیز دارای معایب چندی می‌باشد. از آن جمله نیاز به حجم بالای حلال پخش‌کننده (حدود ۰/۵ میلی‌لیتر حلال به ازای ۵ میلی‌لیتر نمونه آبی)، وابستگی حجم فاز ته‌نشینی به دمای محیط، محدودیت در انتخاب حلال‌های استخراج‌کننده به علت شرایط دانسیته و نقطه جوش و وابستگی پارامترهای مختلف جداسازی به یکدیگر را می‌توان ذکر کرد[۳۷, ۴۴].

فصل سوم: بخش تجربی

کاربرد میکرو استخراج مایع-مایع پخشی به همراه اسپکتروسکوپی جذب اتمی شعله برای تعیین مقادیر بسیار کم پالادیم (II) در نمونه‌های محیطی

۳-۱ مقدمه

با توجه به تاثیرات زیست‌محیطی پالادیم، اثرات آن بر روی سلامتی و اهمیت و کاربرد آن که در فصل اول به آن اشاره شد، ارائه روشی حساس، ساده و گزینش‌پذیر برای اندازه‌گیری مقادیر بسیار کم آن ضروری است. در این کار پژوهشی، روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی برای جداسازی و پیش‌تغلیظ مقادیر کم یون پالادیم(II) در نمونه‌های محیطی و اندازه‌گیری آن‌ها بوسیله طیف‌سنجی جذب اتمی شعله‌ای مورد بررسی و تحقیق قرار گرفت. جهت استخراج یون مذکور و تبدیل آن به یک گونه آبگریز (هیدروفوب) از لیگاند ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول [1] برای تشکیل کمپلکس استفاده شد و استخراج یون پالادیم(II) به روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی با استفاده از این لیگاند برای اولین بار در این پروژه مورد بررسی قرار گرفته است. در این فصل نتایج تجربی حاصل از روش به کار برده شده ارائه خواهد شد.

۳-۲-بخش تجربی

۳-۲-۱-محلول‌های مورد استفاده و طرز تهیه آن‌ها

در تهیه تمام محلول‌ها از آب دو بار تقطیر و مواد شیمیایی با خلوص تجزیه‌ای تهیه شده از شرکت مرک[2] استفاده گردید.

محلول پالادیم(II) با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ($۱۰۰۰ mgL^{-۱}$)، از محلول مادر پالادیم با غلظت ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ($۱۰۰۰۰ mgL^{-۱}$) و رقیق کردن آن با آب دو بار مقطر، در بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری تهیه شد. محلول‌های رقیق‌تر هر روز با رقیق‌سازی متوالی از محلول ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه شدند. محلول بافر استاتی با pH=۵/۰ از مخلوط کردن حجم‌های معینی از محلول‌های ۰/۱۰ مولار استیک اسید و ۰/۱۰ مولار سدیم استات تهیه و سپس pH دقیق آن‌ها توسط

[1] 2-mercaptobenzimidazole
[2] Merck

pH متر تنظیم گردید. محلول بافر فسفاتی از مخلوط کردن حجم‌های معینی از محلول‌های پتاسیم دی هیدروژن فسفات دو آبه و پتاسیم هیدروژن فسفات ۰/۰۶۶۰ مولار تهیه شد. برای تهیه محلول بافر فتالاتی نیز از پتاسیم هیدروژن فتالات ۰/۱۰ مولار و سود ۰/۱۰ مولار استفاده شد.

حلال‌های آلی مورد استفاده، تتراکلریدکربن (CCl_4)، کلروفرم ($CHCl_3$)، دی‌کلرومتان (CH_2Cl_2)، استون ($(CH_3)_2CO$) و استونیتریل (CH_3CN) خریداری شده از شرکت مرک که همگی دارای درجه خلوص تجزیه‌ای بودند. همچنین لیگاند ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول که به عنوان عامل کمپلکس دهنده در این پروژه استفاده شد از شرکت مرک خریداری شد. محلول لیگاند با غلظت مشخص از حل کردن ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول در اتانول بدست آمد.

۳-۲-۲-دستگاه‌ها و وسایل مورد استفاده

تمامی اندازه‌گیری‌های جذب پالادیم توسط دستگاه طیف‌سنجی[1] جذب اتمی شعله‌ای شیمادزو مدل AA-670[2] مجهز به لامپ کاتد توخالی پالادیم و شعله هوا-استیلن انجام شد. پارامترهای دستگاهی مطابق با جدول (۳-۱) تنظیم گردید.

جدول ۳- ۱ پارامترهای دستگاهی برای اندازه‌گیری جذب پالادیم

طول موج(nm)	۲۴۴/۸
جریان لامپ(mA)	۵
پهنای شکاف(nm)	۰/۳
سرعت جریان استیلن(L/min)	۱/۶
سرعت جریان هوا(L/min)	۸
ارتفاع شعله(mm)	۶
طول شعله(cm)	۱۰

[1] Spectrometry
[2] Shimadzu AA-670

برای ثبت طیف‌های جذبی در ناحیه مرئی و فرابنفش از دستگاه اسپکتروفتومتر شیمادزو[1] مدل UV-160 مجهز به سل کوارتز ۱/۰ سانتیمتری استفاده شد. برای اندازه‌گیری pH محلول‌های بافر از دستگاه pH متر متراهم[2] مدل ۷۴۴ مجهز به یک الکترود ترکیبی غشای شیشه-کالومل(۳ مولار) استفاده شد.

برای سانتریفیوژ کردن محلول‌ها نیز از دستگاه سانتریفیوژ ساخت شرکت بنیامین طب استفاده شد.

برای برداشتن قطره آلی ته‌نشین شده در ته لوله آزمایش از میکروپیپت ساخت شرکت اپندورف[3] مدل Research 100 استفاده شد.

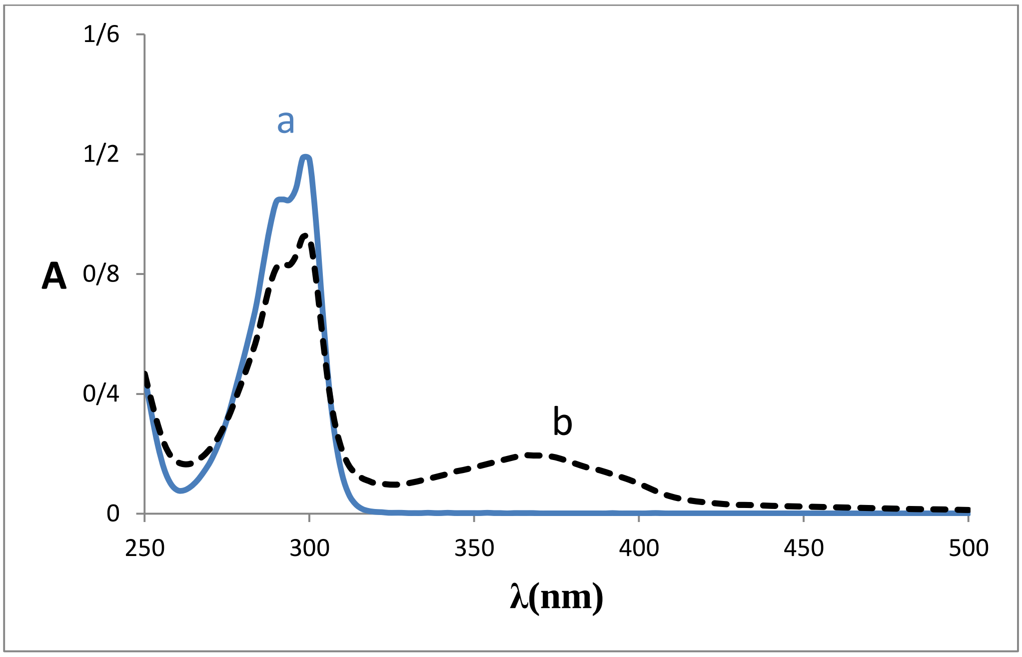
۳-۲-۳-طیف جذبی بررسی تشکیل کمپلکس

برای بررسی تشکیل کمپلکس پالادیم با لیگاند ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول طیف جذبی محلول‌های نمونه (کمپلکس) و شاهد ثبت گردید. برای ثبت طیف جذبی محلول نمونه به این ترتیب عمل شد که به یک بالن حجمی ۱۰/۰ میلی‌لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی‌لیتر محلول پالادیم(II) با غلظت ۵۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر، ۳۰۰ میکرولیتر محلول لیگاند ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول با غلظت ۰/۰۱۰ مولار و ۱/۰ میلی‌لیتر بافر استاتی pH=۵/۰ اضافه شد. محلول حاصل تا حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر با آب دو بار تقطیر رقیق گردید. پس از یکنواخت کردن محلول، مقداری از آن به داخل سل اسپکتروفتومتر منتقل و طیف جذبی آن نسبت به آب مقطر در ناحیه ۵۰۰-۲۵۰ نانومتر، ثبت شد (شکل(۳-۱-b)). برای گرفتن طیف جذبی محلول شاهد مثل نمونه عمل شد با این تفاوت که به محلول شاهد پالادیم(II) اضافه نگردید (شکل(۳-۱-a)). مقایسه طیف‌های جذبی محلول‌های نمونه و شاهد نشان می‌دهد که

---
[1]Shimadzo UV-160
[2]Metrohm 744
[3]Eppendorf, model Research 100

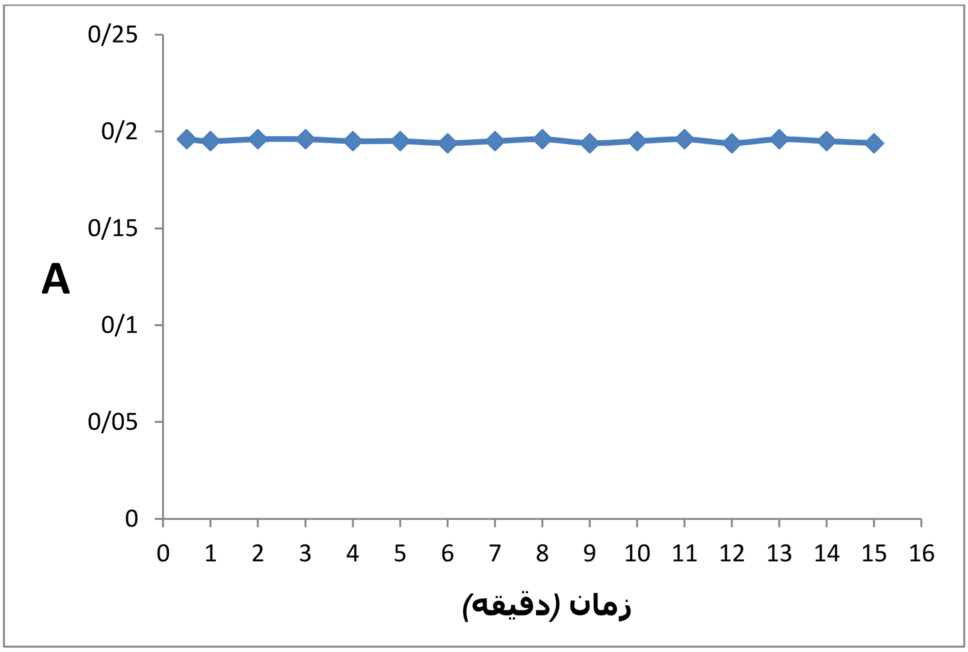
کمپلکس پالادیم با لیگاند ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول دارای یک ماکزیمم جذبی در طول موج ۳۶۵ نانومتر است که در این طول موج لیگاند مذکور هیچگونه جذبی ندارد. همچنین در طیف جذبی نمونه در طول موج ۲۹۸ نانومتر، جذب کمپلکس کمتر از جذب محلول شاهد (لیگاند) می‌باشد که نشان می‌دهد از غلظت لیگاند کاسته شده و با پالادیم(II) کمپلکس تشکیل داده است.

همچنین اثر زمان بر کامل شدن واکنش بین پالادیم(II) و لیگاند ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام این بررسی به این صورت عمل شد که به یک بالن حجمی ۱۰/۰ میلی‌لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی‌لیتر محلول پالادیم(II) با غلظت ۵۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر، ۱/۰ میلی‌لیتر بافر استاتی pH=۵/۰ و ۳۰۰ میکرولیتر محلول لیگاند ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول با غلظت ۰/۰۱۰ مولار افزوده شد و بلافاصله کرنومتر روشن شد. سپس با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد و یکنواخت گردید. مقداری از این محلول به یک سل اسپکتروفتومتر منتقل گردید و در مدت زمان ۱۵-۰/۵ دقیقه پس از شروع واکنش در فواصل زمانی یک دقیقه‌ای، جذب محلول فوق نسبت به آب مقطر در طول موج ۳۶۵ نانومتر اندازه‌گیری و ثبت گردید که نتایج در شکل (۳-۲) آورده شده است. این نتایج نشان می‌دهد جذب محلول فوق در فاصله زمانی ۰/۵ تا ۱۵ دقیقه پس از شروع واکنش ثابت است. بنابراین واکنش تشکیل کمپلکس سریع می‌باشد و زمان تاثیری بر میزان تشکیل کمپلکس ندارد. بنابراین در بررسی‌های بعدی یک دقیقه پس از مخلوط کردن واکنشگرهای پالادیم، ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول و بافر، عمل استخراج انجام شد.



شکل ۳- ۱ طیف جذبی (a) محلول شاهد و (b) محلول نمونه

شرایط:(b) محلول پالادیم (II) با غلظت ۵ میلی‌گرم بر لیتر، محلول لیگاند ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول با غلظت $۳/۰×۱۰^{-۴}$ مولار و ۱/۰ میلی‌لیتر بافر استاتی با pH=۵/۰ (a) محلول لیگاند ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول با غلظت $۳/۰×۱۰^{-۴}$ مولار و ۱/۰ میلی‌لیتر بافر استاتی با pH=۵/۰



شکل ۳- ۲ بررسی اثر زمان بر کامل شدن واکنش پالادیم با لیگاند ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول

شرایط: محلول پالادیم (II) با غلظت ۵ میلی‌گرم بر لیتر، محلول لیگاند ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول با غلظت $۳/۰×۱۰^{-۴}$ مولار و ۱/۰ میلی‌لیتر بافر استاتی با pH=۵/۰.

۳-۲-۴-مطالعات اولیه برای بررسی سیستم استخراج

برای شروع کار و به منظور بررسی سیستم استخراج و پارامترهای مؤثر بر آن یک سری آزمایش‌های و مطالعات اولیه انجام گرفت. در چند pH مختلف، نوع و حجم حلال استخراج‌کننده و پخش‌کننده مورد بررسی قرار گرفت که ۱۲۰ میکرولیتر کلروفرم به عنوان حلال استخراج‌کننده و ۱/۳۸ میلی‌لیتر استون به عنوان حلال پخش‌کننده انتخاب شد. همچنین مشخص شد که pHهای بازی به دلیل تشکیل رسوب پالادیم هیدروکسید مناسب نیست.

آزمایش‌های اولیه نشان داد محلول شاهد که در آن از کلروفرم به عنوان حلال استخراج‌کننده استفاده می‌شد، در دستگاه جذب اتمی دارای جذب زیادی می‌باشد. بررسی و آزمایش‌های مختلفی انجام گرفت تا جذب محلول شاهد کاهش یابد، از جمله به همراه فاز ته‌نشین شده کلروفرم از رقیق کننده‌های مختلف از قبیل استون، اتانول، متانول و محلول ۰.۱٪ نیتریک اسید استفاده شد که هیچکدام نتوانست جذب محلول شاهد را به خوبی کاهش دهد.

بررسی‌های بیشتر نشان داد که با تبخیر فاز ته‌نشین شده کلروفرم و حل کردن جامد باقی‌مانده در یک حلال مناسب و رقیق کردن با آب مقطر می‌توان جذب محلول شاهد را به حدود صفر کاهش داد. برای این منظور پس از تبخیر کلروفرم، حلالیت جامد باقی‌مانده در حلال‌های مختلف بررسی گردید و مشخص شد جامد باقی‌مانده در استون به خوبی حل می‌گردد.

۳-۲-۵-روش کار

همانطور که در فصل قبل بیان شد، بطور کلی مراحل انجام میکرواستخراج مایع-مایع پخشی، شامل سه مرحله تزریق مخلوط همگن حاوی حلال‌های پخش‌کننده و استخراج‌کننده به محلول حاوی آنالیت، سانتریفیوژ مخلوط و برداشتن فاز ته‌نشین شده حاوی ترکیب استخراج شده با حلال

استخراج‌کننده است. ابتدا مخلوط همگنی از حلال آلی پخش‌کننده و حلال آلی استخراج‌کننده توسط سرنگ یک میلی‌لیتری به سرعت به نمونه آبی حاوی پالادیم و ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول (عامل کمپلکس‌دهنده) در یک لوله سانتریفوژ تزریق گردید. در نتیجه محلول کدر یا ابری (حاوی حلال آبی، حلال آلی استخراج‌کننده و حلال آلی پخش‌کننده) تشکیل می‌شود که این کدورت به علت پخش ذرات ریز حلال استخراج‌کننده به درون حلال آبی می‌باشد. در این مرحله یون‌های آنالیت که قبلا با لیگاند تشکیل کمپلکس داده‌اند به داخل قطرات ریز حلال استخراج‌کننده وارد می‌شوند، سپس این مخلوط به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در نتیجه قطرات ریز حلال استخراج‌کننده که دارای دانسیته بیشتری نسبت به آب می‌باشند در انتهای لوله ته‌نشین می‌شوند. فاز ته‌نشین شده (که حاوی آنالیت می‌باشد) به طور کامل برداشته و به یک ویال انتقال داده شد و حلال در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد(در مدت زمان ۶-۵ دقیقه) تبخیر شد. جامد باقی‌مانده در ۵۰ میکرولیتر استون حل شد (به جز در بررسی حجم استون مصرفی برای حل کردن کمپلکس) و سپس با آب مقطر تا حجم ۴۰۰ میکرولیتر رقیق شد و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. بر روی محلول شاهد هم مثل نمونه استخراج انجام شد با این تفاوت که به آن پالادیم(II) افزوده نشد. فاز ته‌نشین شده به طور کامل برداشته و حلال تبخیر شد. جامد باقی‌مانده در ۵۰ میکرولیتر استون حل شد و سپس با آب مقطر تا حجم ۴۰۰ میکرولیتر رقیق شد و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. اختلاف جذب محلول نمونه و شاهد به عنوان سیگنال تجزیه‌ای یا جذب پالادیم در نظر گرفته شد.

۳-۲-۶- بررسی و بهینه‌سازی متغیرهای موثر بر حساسیت روش اندازه‌گیری پالادیم

به منظور فراهم کردن بهترین حساسیت و در نتیجه بهترین حد تشخیص، متغیرهای مختلف که بر روی حساسیت روش تاثیر دارند، مورد بررسی قرار گرفتند. در بررسی تمامی متغیرها از روش

بهینه‌سازی یک متغیر در یک زمان[1] استفاده شد. در این روش تمام متغیرها ثابت در نظر گرفته شده و متغیری که بایستی بهینه شود، تغییر داده می‌شود تا مقدار بهینه آن مشخص گردد. متغیرهایی که مورد بررسی قرار گرفتند به ترتیب عبارتند از:

۱- pH محلول نمونه

۲- نوع بافر

۳- حجم بافر

۴- نوع حلال استخراج‌کننده

۵- نوع حلال پخش‌کننده

۶- حجم حلال استخراج‌کننده

۷- حجم حلال پخش‌کننده

۸- غلظت لیگاند

۹- زمان استخراج

۱۰- قدرت یونی

۱۱- زمان سانتریفیوژ

۱۲- حجم استون مصرفی برای حل کردن کمپلکس (جامد باقی‌مانده)

۱۳- حجم نمونه آبی

[1] One variable at a time optimization

در ادامه نتیجه بررسی هرکدام از متغیرهای فوق را بر میزان سیگنال تجزیه‌ای و راندمان استخراج مورد بحث قرارمی‌دهیم.

۳-۲-۷-بررسی و بهینه‌سازی متغیرهای موثربر حساسیت روش

برای بهینه‌سازی متغیرها به صورت زیر عمل شد:

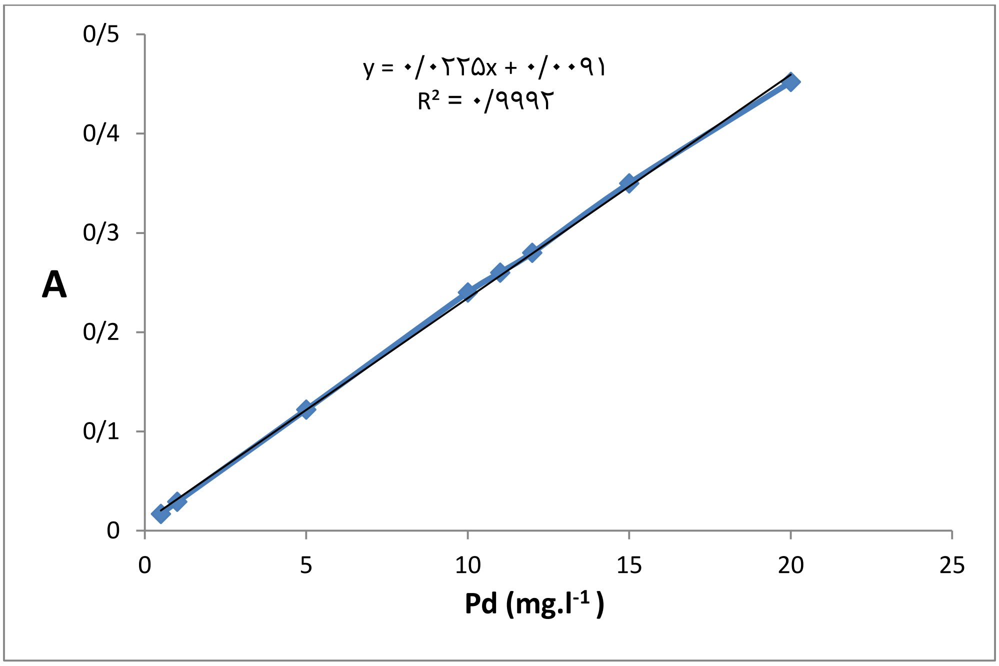
به یک لوله سانتریفیوژ، ۸/۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر پالادیم(II) منتقل شد و به آن حجم معینی از محلول ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول و بافر مورد نظر افزوده شد و با آب مقطر تا حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر رقیق شد. حجم معینی از مخلوط همگن، حاوی حلال‌های استخراج‌کننده و پخش‌کننده به داخل محلول فوق در لوله سانتریفیوژ تزریق گردید تا کمپلکس پالادیم(II)-۲-مرکاپتوبنزایمیدازول به داخل حلال استخراج‌کننده، استخراج گردد. یک دقیقه پس از تزریق مخلوط همگن حاوی حلال‌های استخراج‌کننده و پخش‌کننده، محلول ابری به مدت زمان معین با ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ گردید. لازم به ذکر است که در بررسی تمام پارامترها زمان استخراج یک دقیقه در نظر گرفته شد (به جز در بررسی زمان استخراج). فاز ته‌نشین شده به طور کامل برداشته و به یک ویال منتقل و حلال در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد (در مدت زمان ۶-۵ دقیقه) تبخیر شد. سپس جامد باقی‌مانده در ۵۰ میکرولیتر استون حل گردید و با آب مقطر تا حجم ۴۰۰ میکرولیتر رقیق شد. جذب این محلول با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای در طول موج ۲۴۴/۸ نانومتر اندازه‌گیری گردید. بر روی محلول شاهد هم مثل نمونه استخراج انجام شد با این تفاوت که به آن پالادیم(II) افزوده نشد. فاز ته‌نشین شده به طور کامل برداشته و حلال تبخیر شد. جامد باقی‌مانده در ۵۰ میکرولیتر استون حل شد و سپس با آب مقطر تا حجم ۴۰۰ میکرولیتر رقیق شد و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. اختلاف جذب محلول نمونه و شاهد به عنوان سیگنال تجزیه‌ای یا جذب پالادیم در نظر گرفته شد.

همچنین در بررسی و بهینه‌سازی متغیرها راندمان استخراج به همراه سیگنال تجزیه‌ای اندازه‌گیری و محاسبه شد. برای بدست آوردن راندمان استخراج به شیوه زیر عمل شد:

ابتدا جذب مستقیم محلول‌های استاندارد پالادیم(II) در غلظت‌های متفاوت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای در شرایط آزمایش (محیط استون-آب) اندازه‌گیری گردید. جذب محلول شاهد هم اندازه‌گیری شد(تقریبا صفر بود). اختلاف جذب محلول نمونه و شاهد به عنوان جذب پالادیم در نظر گرفته شد و نمودار کالیبراسیون آن رسم گردید. نتایج در (جدول ۳-۲) و (شکل ۳-۳) آورده شده است.

جدول ۳- ۲ جذب پالادیم در محیط استون-آب

غلظت پالادیم (میلی‌گرم بر لیتر)	جذب پالادیم در محیط استون-آب
۰/۵۰۰	۰/۰۱۷
۱/۰۰	۰/۰۲۹
۵/۰۰	۰/۱۲۲
۱۰/۰	۰/۲۴۰
۱۱/۰	۰/۲۶۱
۱۲/۰	۰/۲۸۰
۱۵/۰	۰/۳۵۰
۲۰/۰	۰/۴۵۲



شکل ۳- ۳ نمودار کالیبراسیون پالادیم در مخلوط همگن استون-آب

سیگنال تجزیه‌ای بدست آمده برای هر نمونه پس از استخراج پالادیم(II) به روش DLLME در نمودار کالیبراسیون وارد شد و غلظت معادل هر سیگنال تجزیه‌ای بدست آمد. سپس وزن پالادیم در فاز ته‌نشین شده محاسبه و به وزن پالادیم موجود در لوله سانتریفیوژ تقسیم شد و راندمان استخراج محاسبه گردید.

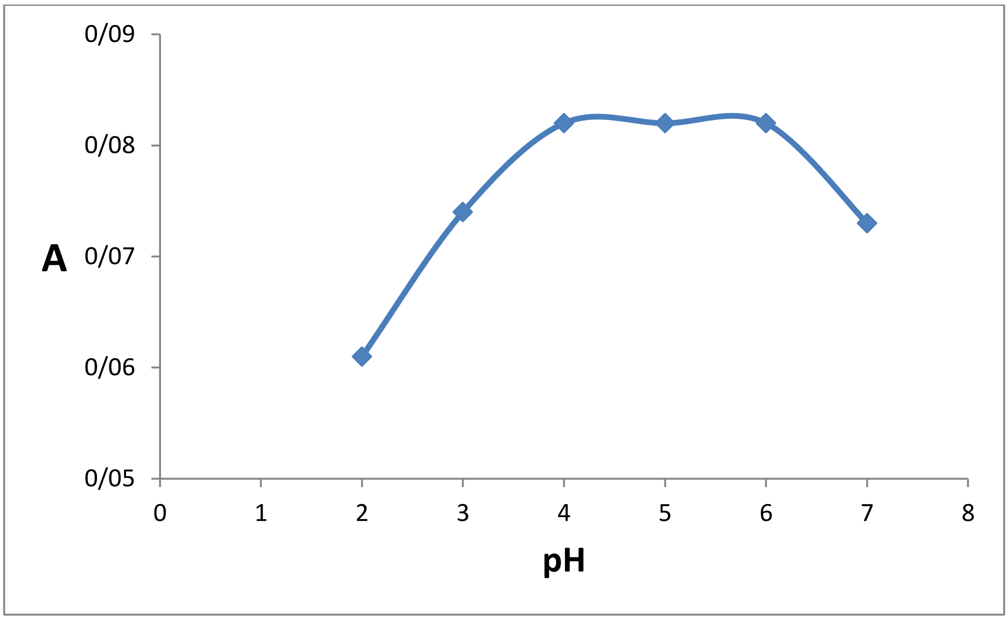
۳-۲-۷-۱-بررسی اثر pH فاز آبی

اثر pH فاز آبی بر روی استخراج پالادیم و تشکیل کمپلکس، در محدوده pH=۲/۰-۷/۰ مورد بررسی قرار گرفت. در یک لوله سانتریفیوژ، ۸/۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر پالادیم(II) وارد شد و به آن ۶۰/۰ میکرولیتر محلول ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول ۰/۰۱۰ مولار و ۱/۰ میلی‌لیتر بافر فسفاتی با pHهای متفاوت افزوده شد و با آب مقطر تا حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر رقیق شد. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر مخلوط همگنی از استون (حلال پخش‌کننده) حاوی ۱۲۰ میکرولیتر کلروفرم

(حلال استخراج‌کننده) توسط سرنگ به سرعت به ۱۰/۰ میلی لیتر محلول نمونه آبی حاوی پالادیم در لوله سانتریفیوژ تزریق گردید. سپس این مخلوط به مدت ۵ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. فاز ته‌نشین شده به طور کامل برداشته و به یک ویال انتقال داده شد و حلال در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد (در مدت زمان ۶-۵ دقیقه) تبخیر شد. جامد باقی‌مانده در ۵۰ میکرولیتر استون حل و سپس با آب مقطر تا حجم ۴۰۰ میکرولیتر رقیق شد و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. بر روی محلول شاهد هم مثل نمونه استخراج انجام شد با این تفاوت که به آن پالادیم(II) افزوده نشد. فاز ته‌نشین شده را به طور کامل برداشته و حلال تبخیر شد. جامد باقی‌مانده در ۵۰ میکرولیتر استون حل شد و سپس با آب مقطر تا حجم ۴۰۰ میکرولیتر رقیق شد و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. اختلاف جذب محلول نمونه و شاهد به عنوان سیگنال تجزیه‌ای یا جذب پالادیم در نظر گرفته شد که نتایج آن در جدول (۳-۳) و در شکل (۳-۴) آورده شده است. همانطور که در شکل (۳-۴) مشاهده می‌شود در گستره pH=۴/۰-۶/۰ بیشترین میزان جذب پالادیم حاصل شده است. در pHهای بازی به دلیل تشکیل رسوب هیدروکسید پالادیم امکان بررسی وجود نداشت. در pHهای کمتر از ۴/۰ به دلیل پروتونه شدن موقعیت‌های عامل کی‌لیت دهنده میزان تشکیل کمپلکس و در نتیجه میزان جذب کاهش می‌یابد. لذا pH=۵/۰ برای بررسی‌های بعدی انتخاب گردید.

جدول ۳- ۳ بررسی اثر pH بر میزان استخراج

pH	جذب پالادیم	راندمان استخراج (٪)
۲/۰	۰/۰۶۱	۴۶/۲
۳/۰	۰/۰۷۴	۵۷/۸
۴/۰	۰/۰۸۲	۶۴/۹
۵/۰	۰/۰۸۲	۶۴/۹
۶/۰	۰/۰۸۲	۶۴/۹
۷/۰	۰/۰۷۳	۵۶/۹



شکل ۳- ۴ بررسی اثر pH فاز آبی بر سیگنال تجزیه‌ای

شرایط آزمایش: غلظت پالادیم ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، غلظت لیگاند $۱۰^{-۵}$ × ۶/۰ مولار، حجم محلول نمونه ۱۰/۰ میلی‌لیتر و بافر فسفاتی، حجم حلال استخراج‌کننده (کلروفرم) ۱۲۰ میکرولیتر، حجم حلال پخش‌کننده (استون) ۱/۳۸ میلی‌لیتر، سرعت سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه، استون مصرفی برای حل کردن کمپلکس ۵۰ میکرولیتر و حجم رقیق‌کننده (آب مقطر) ۳۵۰ میکرولیتر.

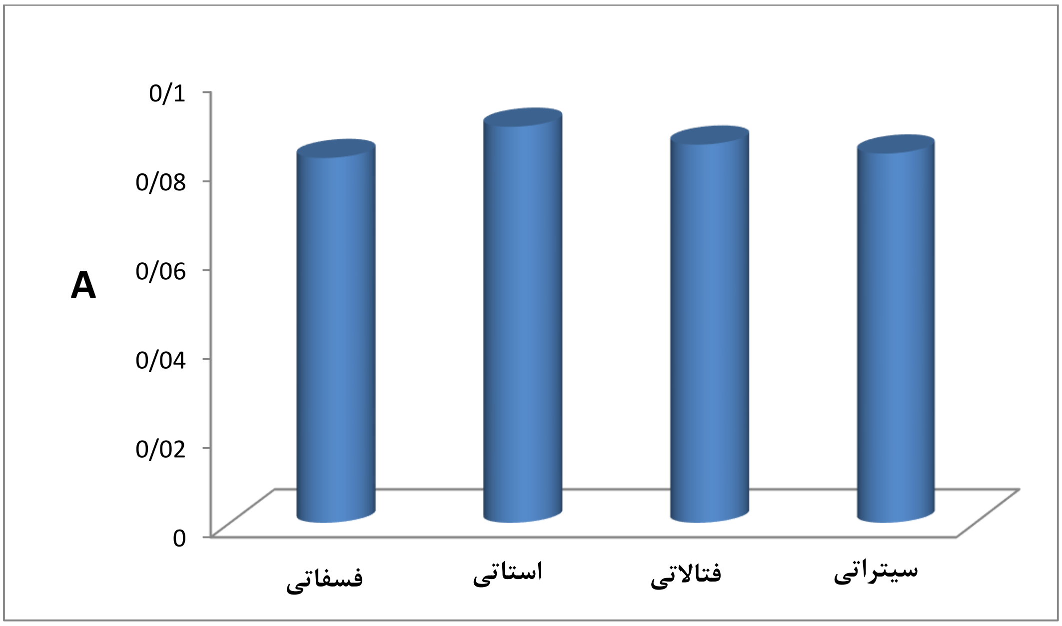
۳-۲-۷-۲-بررسی اثر نوع بافر

پس از بررسی اثر pH، برای دست‌یابی به حساسیت بیشتر، نوع بافر شامل بافرهای فسفاتی، استاتی، فتالاتی و سیتراتی مورد بررسی قرار گرفت. در یک لوله سانتریفیوژ، ۸/۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر پالادیم(II) وارد شد و به آن ۶۰/۰ میکرولیتر از محلول ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول ۰/۰۱۰ مولار افزوده شد. سپس ۱/۰ میلی‌لیتر محلول بافری pH=۵/۰ از هر کدام از بافرهای فسفاتی، استاتی، فتالاتی و یا سیتراتی در آزمایشات جداگانه اضافه شد و با آب مقطر تا ۱۰/۰ میلی‌لیتر رقیق شد. سپس بر روی آن مطابق بخش (۳-۲-۷-۱) استخراج انجام شد و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. جذب محلول شاهد هم مثل نمونه اندازه‌گیری

شد با این تفاوت که به آن پالادیم(II) افزوده نشد. اختلاف جذب محلول نمونه و شاهد به عنوان جذب پالادیم در نظر گرفته شد که نتایج آن در جدول (۳-۴) و در شکل (۳-۵) آورده شده است.

جدول ۳- ۴ بررسی اثر نوع بافر

نوع بافر	جذب پالادیم	راندمان استخراج(٪)
فسفاتی	۰/۰۸۲	۶۴/۹
استاتی	۰/۰۸۹	۷۱/۱
فتالاتی	۰/۰۸۵	۶۷/۵
سیتراتی	۰/۰۸۳	۶۵/۸



شکل ۳- ۵ بررسی اثر نوع بافر

شرایط آزمایش: غلظت پالادیم ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، غلظت لیگاند ۵-۱۰ × ۶/۰ مولار، حجم محلول نمونه ۱۰/۰ میلی‌لیتر در pH=۵/۰، حجم حلال استخراج‌کننده (کلروفرم) ۱۲۰ میکرولیتر، حجم حلال پخش‌کننده (استون) ۱/۳۸ میلی‌لیتر، سرعت سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه، استون مصرفی برای حل کردن کمپلکس ۵۰ میکرولیتر و حجم رقیق‌کننده (آب مقطر) ۳۵۰ میکرولیتر.

نتایج جدول (۳-۴) نشان می‌دهد که سیگنال‌های تجزیه‌ای اختلاف معناداری با هم ندارند. بنابراین به دلیل برهم‌کنش کمتر استات با سایر کاتیون‌ها، در بررسی‌های بعدی بافر استاتی pH=۵/۰ به‌کار برده شد.

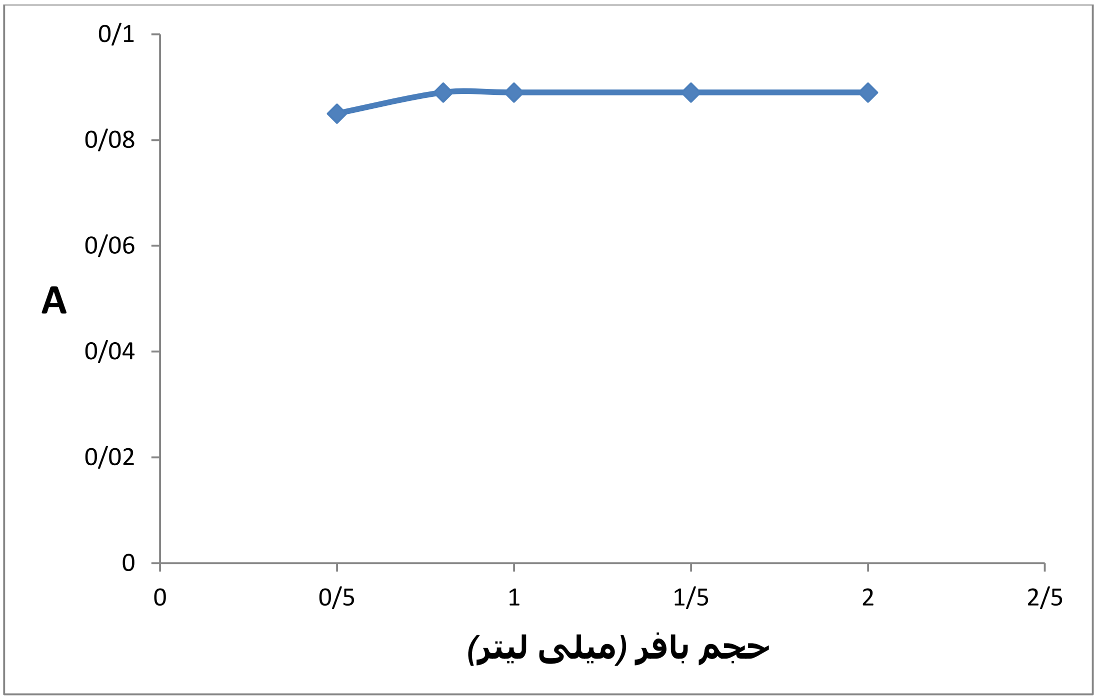
۳-۲-۷-۳-بررسی اثر حجم بافر

اثر حجم بافر بر روی میزان تشکیل کمپلکس و استخراج پالادیم، در گستره ۰/۵-۲/۰ میلی‌لیتر مورد بررسی قرار گرفت. روش کار به این صورت بود که به یک لوله سانتریفیوژ، ۸/۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر پالادیم(II) منتقل شد و به آن ۶۰/۰ میکرولیتر از محلول ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول ۰/۰۱۰ مولار و حجم‌های متفاوتی از محلول بافر استاتی با pH=۵/۰ در آزمایشات جداگانه افزوده شد و با آب مقطر تا حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر رقیق شد و بر روی آن مطابق روش ارائه شده در بخش (۳-۲-۷-۱) استخراج انجام شد. سپس جذب محلول نمونه با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. همچنین محلول شاهد مثل محلول نمونه تهیه شد با این تفاوت که به آن محلول پالادیم(II) اضافه نشد و بر روی آن استخراج انجام گرفت و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. اختلاف جذب محلول نمونه و شاهد به عنوان جذب پالادیم در نظر گرفته شد که نتایج آن در جدول(۳-۵) و در شکل (۳-۶) مشاهده می‌شود.

همانطور که نتایج نشان می‌دهد در حجم‌های ۰/۵ تا ۲/۰ میلی‌لیتر بافر، سیگنال تجزیه‌ای و راندمان استخراج ثابت و بیشترین مقدار را دارد، لذا برای اطمینان از مناسب بودن ظرفیت بافر، حجم ۱/۰ میلی‌لیتر محلول بافری استاتی pH=۵/۰ برای بررسی‌های بعدی انتخاب شد.

جدول ۳- ۵ بررسی اثر حجم بافر

راندمان استخراج(٪)	جذب پالادیم	حجم بافر (ml)
۶۷/۵	۰/۰۸۵	۰/۵۰
۷۱/۱	۰/۰۸۹	۰/۸۰
۷۱/۱	۰/۰۸۹	۱/۰
۷۲	۰/۰۹۰	۱/۵
۷۱/۱	۰/۰۸۹	۲/۰



شکل ۳- ۶ بررسی اثر حجم بافر

شرایط آزمایش: غلظت پالادیم ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، غلظت لیگاند $۱۰^{-۵}$ × ۶/۰ مولار، حجم محلول نمونه ۱۰/۰ میلی‌لیتر در pH=۵/۰ استاتی، حجم حلال استخراج‌کننده (کلروفرم) ۱۲۰ میکرولیتر، حجم حلال پخش‌کننده (استون) ۱/۳۸ میلی‌لیتر، سرعت سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه، استون مصرفی برای حل کردن کمپلکس ۵۰ میکرولیتر و حجم رقیق‌کننده (آب مقطر) ۳۵۰ میکرولیتر.

۳-۲-۷-۴-بررسی اثر نوع حلال استخراج‌کننده

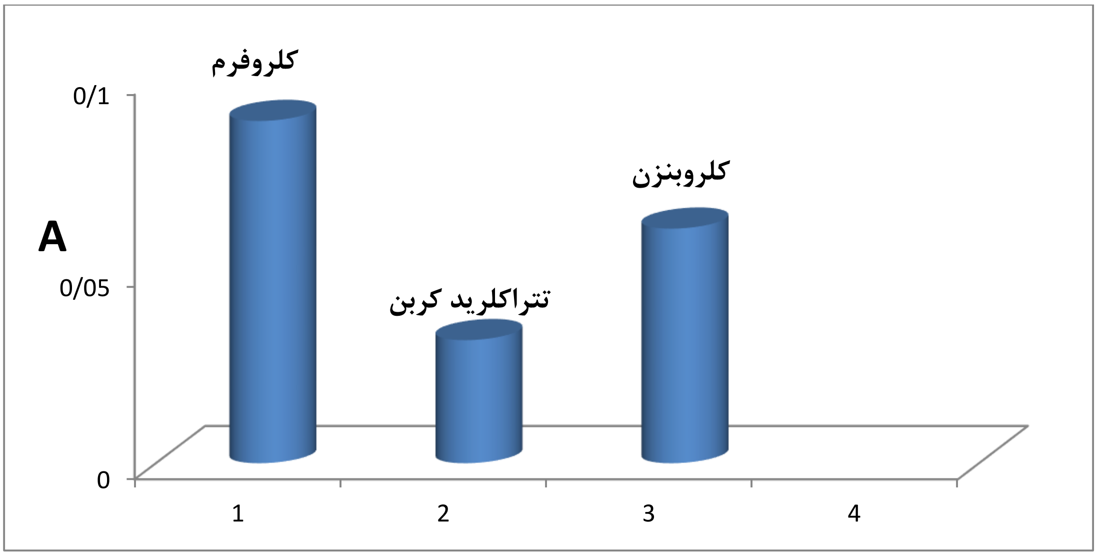
نوع حلال استخراج‌کننده تاثیر بسزایی بر روی بازده استخراج دارد. این حلال باید غیرقابل امتزاج با آب بوده و دانسیته آن بیشتر از آب باشد و توانایی استخراج گونه مورد نظر را داشته باشد.

در بررسی اثر نوع حلال استخراج، حلال‌های کلروفرم، کربن‌تتراکلرید، کلروبنزن و دی‌کلرومتان مورد استفاده قرار گرفتند.

در یک لوله سانتریفیوژ، ۸/۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر پالادیم(II) منتقل شد و به آن ۶۰/۰ میکرولیتر از محلول ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول ۰/۰۱۰ مولار و ۱/۰ میلی‌لیتر بافر استاتی pH=۵/۰ افزوده شد و با آب مقطر تا حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر رقیق شد. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر مخلوط همگنی از استون (پخش‌کننده) حاوی ۱۲۰ میکرولیتر کلروفرم، تتراکلریدکربن، دی‌کلرومتان و یا کلروبنزن (به عنوان حلال استخراج‌کننده) توسط سرنگ به سرعت به ۱۰/۰ میلی‌لیتر محلول نمونه آبی حاوی پالادیم در لوله سانتریفیوژ تزریق گردید. از آنجا که حلالیت حلال‌های آلی در آب متفاوت است، لذا حجم فاز ته‌نشین شده برای هر کدام از استخراج‌کننده‌ها متفاوت بدست آمد. فاز ته‌نشین شده به طور کامل برداشته و به یک ویال منتقل و حلال در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد (در مدت زمان ۶-۵ دقیقه) تبخیر شد. جامد باقی‌مانده در ۵۰ میکرولیتر استون حل و با آب مقطر تا حجم ۴۰۰ میکرولیتر رقیق شد و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. بر روی محلول شاهد هم مثل نمونه استخراج انجام شد با این تفاوت که به آن پالادیم(II) افزوده نشد و جذب محلول شاهد نیز اندازه‌گیری شد. اختلاف جذب محلول نمونه و شاهد به عنوان جذب پالادیم در نظر گرفته شد که نتایج آن در جدول (۳-۶) مشاهده می‌شود.

جدول ۳- ۶ بررسی نوع حلال استخراج‌کننده

نوع حلال استخراج	حجم فاز ته‌نشین شده (μl)	جذب پالادیم	راندمان استخراج(٪)
کلروفرم	۸۰	۰/۰۸۹	۷۱/۱
تتراکلرید کربن	۱۰۰	۰/۰۳۲	۲۰/۴
کلروبنزن	۹۰	۰/۰۶۱	۴۶/۲
دی‌کلرومتان	۰	–	–



شکل ۳- ۷ بررسی اثر نوع حلال استخراج‌کننده

شرایط آزمایش: غلظت پالادیم ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، غلظت لیگاند $۶/۰ \times ۱۰^{-۵}$ مولار، حجم محلول نمونه ۱۰/۰ میلی‌لیتر، بافر استاتی pH=۵/۰، حجم پخش‌کننده (استون) ۱/۳۸ میلی‌لیتر، سرعت سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه، استون مصرفی برای حل کردن کمپلکس ۵۰ میکرولیتر و حجم رقیق‌کننده (آب مقطر) ۳۵۰ میکرولیتر.

این نتایج نشان می‌دهند که بیشترین سیگنال تجزیه‌ای در حضور کلروفرم به دست می‌آید. به نظر می‌رسد که تمایل بیشتر کمپلکس برای انحلال در کلروفرم باعث افزایش راندمان استخراج و در نتیجه بالاتر بودن سیگنال تجزیه‌ای برای پالادیم در حلال کلروفرم می‌شود. پایین بودن راندمان

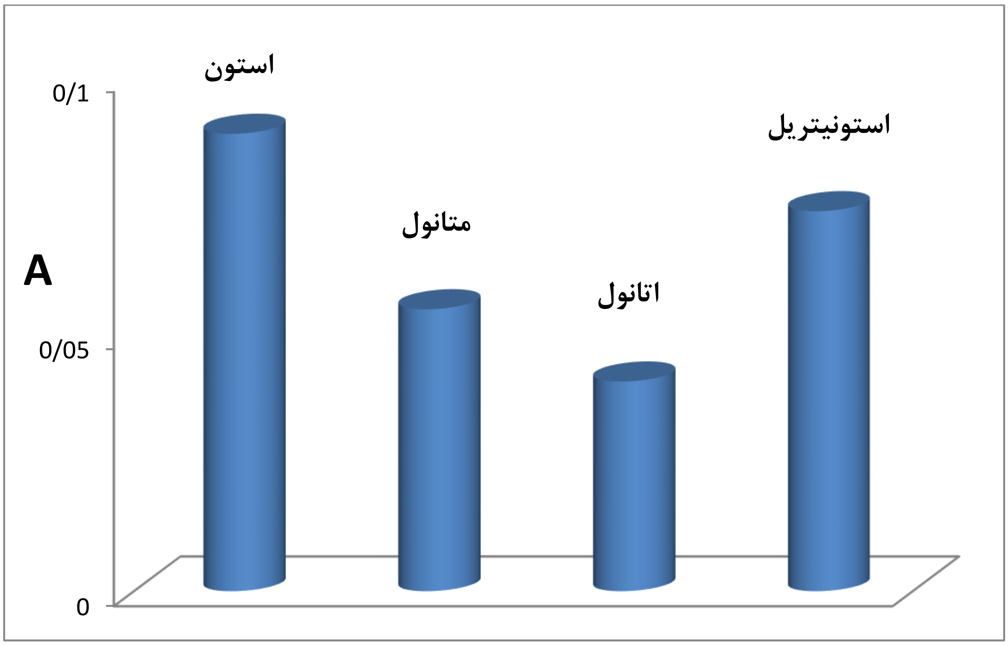
استخراج برای حلال‌های تتراکلرید کربن و کلروبنزن احتمالا به دلیل حلالیت کمتر کمپلکس در این دو حلال می‌باشد. بنابراین در مطالعات بعدی از کلروفرم به عنوان حلال استخراج‌کننده استفاده شد.

۳-۲-۷-۵-بررسی نوع حلال پخش‌کننده

مهم‌ترین نکته در انتخاب حلال پخش‌کننده، امتزاج‌پذیری آن هم با فاز آلی (حلال استخراج-کننده) و هم با فاز آبی (نمونه آبی) است. این حلال اثر مهم و تعیین‌کننده‌ای در تولید قطرات ریز و در نتیجه در بازدهی استخراج دارد. برای این منظور، اثر حلال‌های مختلف شامل استون، متانول، اتانول و استونیتریل در میزان استخراج و پیش‌تغلیظ یون‌های پالادیم مورد بررسی قرار گرفت. محلول‌های نمونه و شاهد مطابق بخش (۳-۲-۷-۴) تهیه شدند. یک سری آزمایش با استفاده از ۱/۵ میلی‌لیتر از حلال‌های مذکورحاوی ۱۲۰ میکرولیتر کلروفرم برای استخراج پالادیم انجام شد. تزریق هر یک از محلول‌های حاوی حلال پخش‌کننده مورد نظر و کلروفرم انجام گرفت و سپس لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. فاز ته‌نشین شده هر لوله به طور کامل برداشته و به ویال‌های جداگانه انتقال داده شد. پس از تبخیر کلروفرم در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد، جامد باقی‌مانده در ۵۰ میکرولیتر استون حل و سپس با آب مقطر تا حجم ۴۰۰ میکرولیتر رقیق شد و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. بر روی محلول شاهد هم مثل نمونه استخراج انجام شد با این تفاوت که به آن پالادیم(II) افزوده نشد. فاز ته‌نشین شده را به طور کامل برداشته و حلال تبخیر شد. جامد باقی‌مانده در ۵۰ میکرولیتر استون حل شد و سپس با آب مقطر تا حجم ۴۰۰ میکرولیتر رقیق شد و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. اختلاف جذب محلول نمونه و شاهد به عنوان جذب پالادیم در نظر گرفته شد که نتایج آن در جدول (۳-۷) و در شکل (۳-۸) آورده شده است.

جدول ۳- ۷بررسی نوع حلال پخش‌کننده

نوع حلال پخش‌کننده	جذب پالادیم	راندمان استخراج (٪)
استون	۰/۰۸۹	۷۱/۱
متانول	۰/۰۵۵	۴۰/۹
اتانول	۰/۰۴۱	۲۸/۵
استونیتریل	۰/۰۷۴	۵۷/۸



شکل ۳- ۸ بررسی نوع حلال پخش‌کننده

شرایط آزمایش: غلظت پالادیم ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، غلظت لیگاند $۱۰^{-۵}$ × ۶/۰ مولار، حجم محلول نمونه ۱۰/۰ میلی‌لیتر، بافر استاتی pH=۵/۰، حجم حلال استخراج‌کننده (کلروفرم) ۱۲۰ میکرولیتر، حجم پخش‌کننده ۱/۳۸ میلی‌لیتر، سرعت سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه، استون مصرفی برای حل کردن کمپلکس ۵۰ میکرولیتر و حجم رقیق‌کننده (آب مقطر) ۳۵۰ میکرولیتر.

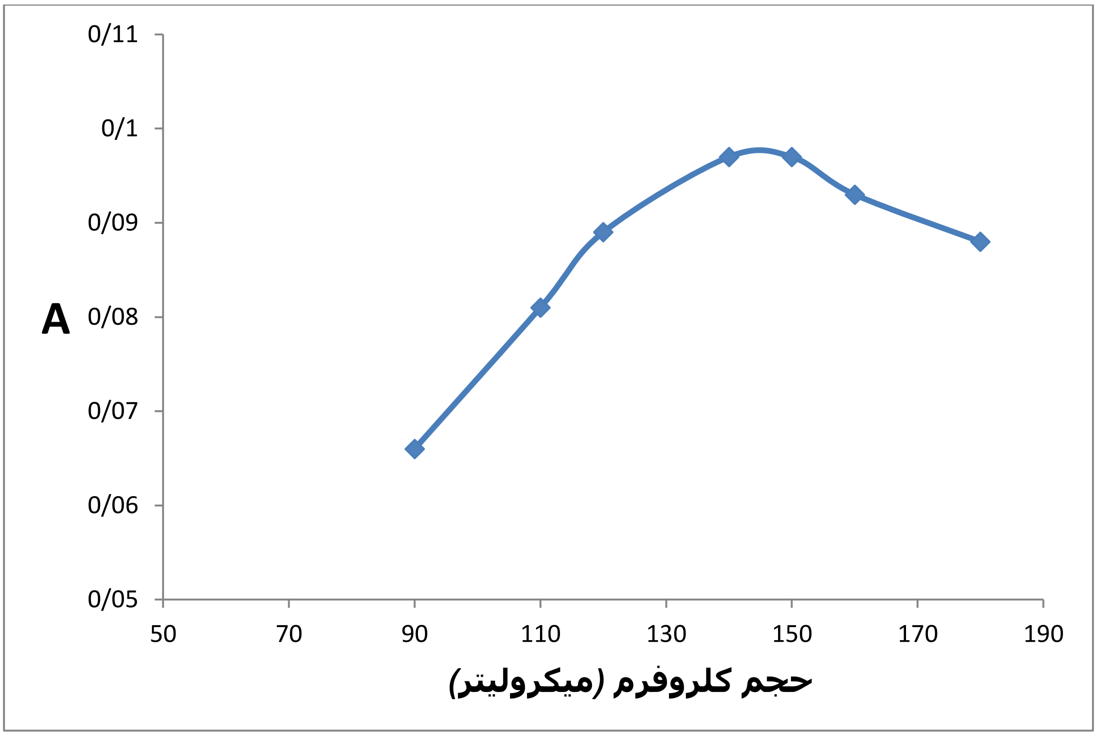
همانطور که در شکل (۳-۸) مشاهده می‌شود، استفاده از استون به عنوان حلال پخش‌کننده، راندمان استخراج بیشتری را نشان می‌دهد. لذا استون به عنوان حلال پخش‌کننده انتخاب شد. این امر را می‌توان به تشکیل قطرات ریز بیشتر و محلول ابری پایدارتر در هنگام تزریق مربوط دانست.

۳-۲-۷-۶-بررسی حجم حلال استخراج‌کننده

پس از انتخاب کلروفرم به عنوان حلال استخراج، اثر حجم آن در محدوده ۱۸۰/۰-۹۰/۰ میکرولیتر مورد بررسی قرار گرفت. محلول‌های نمونه و شاهد مطابق بخش (۳-۲-۷-۴) تهیه شدند و بر روی آن‌ها استخراج انجام شد. برای انجام استخراج مخلوط ۱/۳۸ میلی‌لیتر استون (به عنوان حلال پخش‌کننده) و حجم‌های مختلفی از کلروفرم در محدوده ۱۸۰/۰-۹۰/۰ میکرولیتر (به عنوان حلال استخراج‌کننده) به طور جداگانه توسط یک سرنگ به سرعت به محلول‌های نمونه آبی حاوی یون پالادیم تزریق شدند (کل حجم مخلوط همگن استون-کلروفرم متفاوت بود). پس از ۵ دقیقه سانتریفیوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه، فاز ته‌نشین شده به طور کامل برداشته و به یک ویال انتقال داده شد پس از تبخیر کلروفرم در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد، جامد باقی‌مانده در ۵۰ میکرولیتر استون حل و با آب مقطر تا حجم ۴۰۰ میکرولیتر رقیق شد و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. بر روی محلول شاهد هم مثل نمونه استخراج انجام شد با این تفاوت که به آن پالادیم(II) افزوده نشد. فاز ته‌نشین شده را به طور کامل برداشته و حلال تبخیر شد. جامد باقی‌مانده در ۵۰ میکرولیتر استون حل و سپس با آب مقطر تا حجم ۴۰۰ میکرولیتر رقیق و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. اختلاف جذب محلول نمونه و شاهد به عنوان جذب پالادیم در نظر گرفته شد که نتایج آن در جدول (۳-۸) و در شکل (۳-۹) مشاهده می‌شود.

جدول ۳- ۸ بررسی اثر حجم حلال استخراج‌کننده

کلروفرم (µL)	حجم فاز ته‌نشین شده	جذب پالادیم	راندمان استخراج (٪)
۹۰/۰	۵۰	۰/۰۶۶	۵۰/۶
۱۱۰/۰	۷۰	۰/۰۸۱	۶۴/۰
۱۲۰/۰	۸۰	۰/۰۸۹	۷۱/۱
۱۴۰/۰	۱۰۰	۰/۰۹۷	۷۸/۲
۱۵۰/۰	۱۱۰	۰/۰۹۷	۷۸/۲
۱۶۰/۰	۱۲۰	۰/۰۹۳	۷۴/۶
۱۸۰/۰	۱۴۰	۰/۰۸۸	۷۰/۲



شکل ۳- ۹ بررسی حجم حلال استخراج‌کننده

شرایط آزمایش: غلظت پالادیم ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، غلظت لیگاند $۱۰^{-۵}$ × ۶/۰ مولار، حجم محلول نمونه ۱۰/۰ میلی‌لیتر، بافر استاتی pH=۵/۰، حلال استخراج‌کننده (کلروفرم)، حجم حلال پخش‌کننده (استون) ۱/۳۸ میلی‌لیتر، سرعت سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه، استون مصرفی برای حل کردن کمپلکس ۵۰ میکرولیتر و حجم رقیق‌کننده (آب مقطر) ۳۵۰ میکرولیتر.

با زیاد شدن حجم حلال استخراج‌کننده، حجم فاز ته‌نشین شده نیز متناسب با آن افزایش می‌یابد. بنابراین طبق رابطه (۲-۲) با افزایش حجم فاز ته‌نشین شده راندمان استخراج نیز بیشتر می‌شود. بنابراین سیگنال تجزیه‌ای و راندمان استخراج تا ۱۴۰/۰ میکرولیتر افزایش می‌یابد و تا ۱۵۰/۰ میکرولیتر ثابت می‌ماند. همچنین سیگنال‌های تجزیه‌ای در حجم‌های بیشتر از ۱۵۰/۰ میکرولیتر با افزایش حجم حلال استخراج‌کننده، کاهش می‌یابد. کاهش مشاهده شده می‌تواند به این دلیل باشد که ذرات حلال استخراج‌کننده به خوبی توسط حلال پخش‌کننده، پخش نمی‌شود. این امر سبب کاهش میزان تشکیل قطرات ریز برای استخراج می‌شود، در نتیجه بازده استخراج کاهش می‌یابد. بنابراین در بررسی‌های بعدی حجم ۱۵۰/۰ میکرولیتر کلروفرم به عنوان حجم بهینه استفاده شد تا در صورت نیاز بتواند مقادیر بیشتر کمپلکس پالادیم را استخراج نماید.

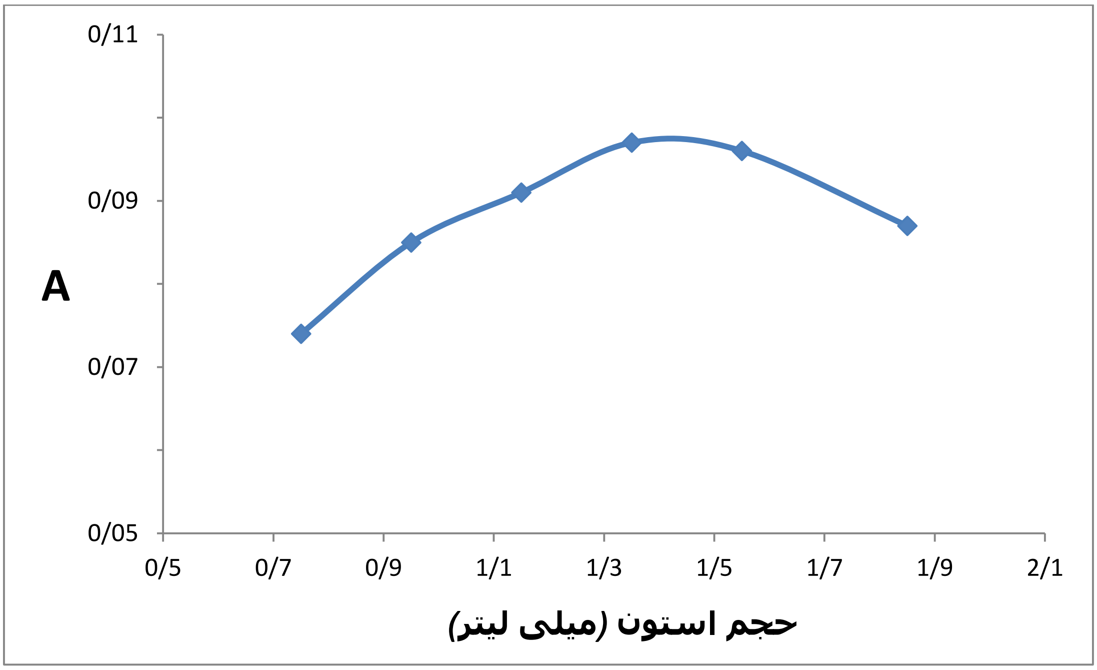
۳-۲-۷-۷- بررسی حجم حلال پخش‌کننده

به منظور بررسی اثر حجم حلال پخش‌کننده محلول‌های نمونه و شاهد مطابق بخش (۳-۲-۷-۴) تهیه شدند.

جهت بررسی اثر حجم حلال پخش‌کننده، مخلوط‌هایی با حجم‌های مختلف استون در محدوده ۰/۷۵-۱/۸۵ میلی‌لیتر به همراه ۱۵۰/۰ میکرولیتر کلروفرم (حلال استخراج‌کننده) تهیه شد. سپس تزریق هرکدام از این مخلوط‌ها به داخل محلول‌های نمونه انجام گرفت و لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. جذب محلول‌های نمونه و شاهد مطابق بخش قبل اندازه‌گیری گردید. اختلاف جذب محلول نمونه و شاهد به عنوان جذب پالادیم در نظر گرفته شد که نتایج آن در جدول (۳-۹) و در شکل (۳-۱۰) مشاهده می‌شود.

جدول ۳- ۹ بررسی اثر حجم حلال پخش‌کننده

حجم حلال پخش‌کننده (mL)	جذب پالادیم	راندمان استخراج (٪)
۰/۷۵	۰/۰۷۴	۵۷/۷
۰/۹۵	۰/۰۸۵	۶۷/۵
۱/۱۵	۰/۰۹۱	۷۲/۹
۱/۳۵	۰/۰۹۷	۷۸/۲
۱/۵۵	۰/۰۹۶	۷۷/۳
۱/۸۵	۰/۰۸۷	۶۹/۳



شکل ۳- ۱۰ بررسی حجم حلال پخش‌کننده

شرایط آزمایش: غلظت پالادیم ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، غلظت لیگاند $۱۰^{-۵}$ × ۶/۰ مولار، حجم محلول نمونه ۱۰/۰ میلی‌لیتر، بافر استاتی pH=۵/۰، حجم حلال استخراج کننده (کلروفرم) ۱۵۰ میکرولیتر، حلال پخش‌کننده (استون)، سرعت سانتریفوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه، استون مصرفی برای حل کردن کمپلکس ۵۰ میکرولیتر و حجم رقیق‌کننده (آب مقطر) ۳۵۰ میکرولیتر.

در حجم‌های کمتر از ۱/۳۵ میلی‌لیتر حلال پخش‌کننده، پخش‌شدن حلال استخراج‌کننده خوب صورت نمی‌گیرد و قطرات ریز برای استخراج به خوبی و به اندازه کافی تشکیل نمی‌شود. این امر

منجر به کاهش سطح تماس بین فاز آلی و فاز آبی می‌گردد. در نتیجه میزان انتقال آنالیت به فاز آلی کمتر و بازده استخراج نیز کاهش می‌یابد. همچنین کاهش سیگنال‌های تجزیه‌ای در حجم‌های بیشتر از ۱/۵۵ میلی‌لیتر می‌تواند ناشی از انحلال کمپلکس در فاز آبی باشد که این امر منجر به کاهش بازده استخراج می‌گردد. بنابراین در بررسی‌های بعدی حجم ۱/۳۵ میلی‌لیتر استون به عنوان حجم بهینه استفاده شد.

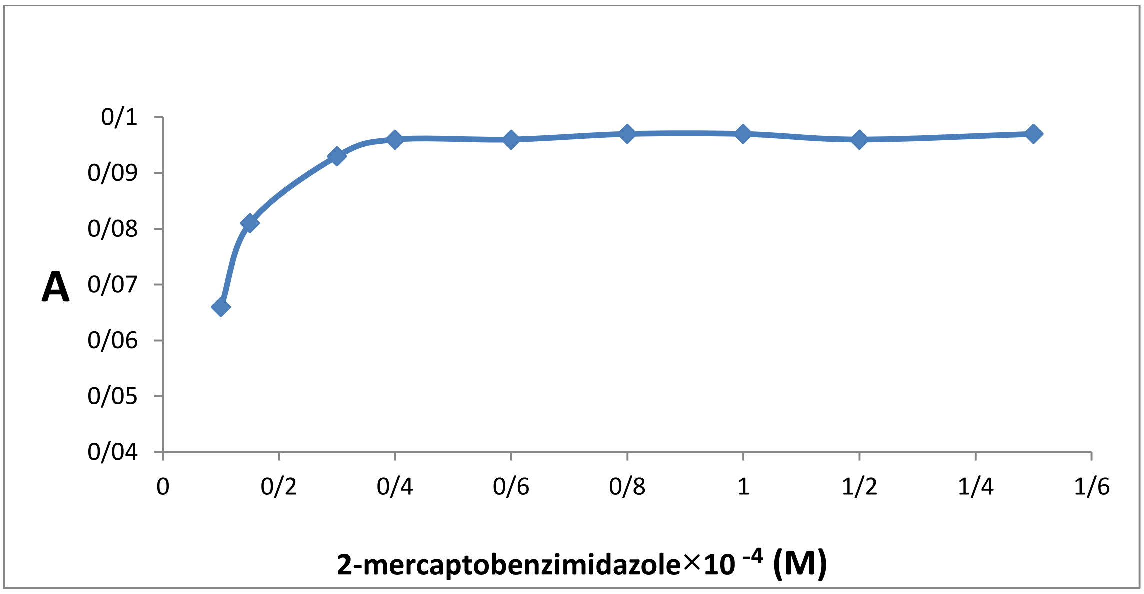
۳-۲-۷-۸-بررسی اثر غلظت لیگاند

یکی از پارامترهای تاثیرگذار در استخراج فلزات، غلظت لیگاند است. اثر غلظت لیگاند ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول در محدوده $۱۰^{-۴}$ × ۱/۵-$۱۰^{-۵}$ × ۱/۰ مولار در میزان استخراج و پیش‌تغلیظ یون‌های پالادیم مورد بررسی قرار گرفت. در یک لوله سانتریفیوژ، ۸/۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر پالادیم(II) منتقل شد. به آن حجم ۶۰/۰ میکرولیتر از غلظت‌های متفاوت محلول ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول و ۱/۰ میلی‌لیتر بافر استاتی pH=۵/۰ افزوده شد و با آب مقطر تا حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر رقیق شد. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر مخلوط همگنی از استون (پخش‌کننده) حاوی ۱۵۰ میکرولیتر کلروفرم توسط یک سرنگ به سرعت به محلول‌های نمونه آبی حاوی یون پالادیم تزریق شد. لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. فاز ته‌نشین شده به طور کامل برداشته و به یک ویال انتقال داده شد. پس از تبخیر حلال در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد، جامد باقی‌مانده در ۵۰ میکرولیتر استون حل و سپس با آب مقطر تا حجم ۴۰۰ میکرولیتر رقیق شد و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. بر روی محلول شاهد هم مثل نمونه استخراج انجام شد با این تفاوت که به آن پالادیم(II) افزوده نشد. فاز ته‌نشین شده را به طور کامل برداشته و حلال تبخیر شد. جامد باقی‌مانده در ۵۰ میکرولیتر استون حل و با آب مقطر تا حجم ۴۰۰ میکرولیتر رقیق و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد.

اختلاف جذب محلول نمونه و شاهد به عنوان جذب پالادیم در نظر گرفته شد که نتایج آن در جدول (۳-۱۰) و در شکل (۳-۱۱) آورده شده است.

جدول ۳- ۱۰ بررسی اثر غلظت لیگاند

۲-مرکاپتوبنزایمیدازول(مولار)	جذب پالادیم	راندمان استخراج(٪)
$۱/۰ \times ۱۰^{-۵}$	۰/۰۶۶	۵۰/۶
$۱/۵ \times ۱۰^{-۵}$	۰/۰۸۱	۶۴/۰
$۳/۰ \times ۱۰^{-۵}$	۰/۰۹۳	۷۴/۶
$۴/۰ \times ۱۰^{-۵}$	۰/۰۹۶	۷۷/۳
$۶/۰ \times ۱۰^{-۵}$	۰/۰۹۶	۷۷/۳
$۸/۰ \times ۱۰^{-۵}$	۰/۰۹۷	۷۸/۲
$۱/۰ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۹۷	۷۸/۲
$۱/۲ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۹۶	۷۷/۳
$۱/۵ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۹۷	۷۸/۲



شکل ۳- ۱۱ بررسی اثر غلظت لیگاند

شرایط آزمایش: غلظت پالادیم ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، حجم محلول نمونه ۱۰/۰ میلی‌لیتر، بافر استاتی pH=۵/۰، حجم کلروفرم ۱۵۰ میکرولیتر، حجم حلال پخش‌کننده (استون) ۱/۳۵ میلی‌لیتر، سرعت سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه، استون مصرفی برای حل کردن کمپلکس ۵۰ میکرولیتر و حجم رقیق‌کننده (آب مقطر) ۳۵۰ میکرولیتر.

این نتایج نشان می‌دهد که با افزایش غلظت لیگاند تا $۴/۰\times۱۰^{-۵}$ مولار سیگنال تجزیه‌ای و راندمان استخراج افزایش یافته و پس از آن با افزایش غلظت لیگاند، سیگنال تجزیه‌ای و راندمان استخراج ثابت می‌ماند. با افزایش غلظت لیگاند، میزان تشکیل کمپلکس در فاز آبی افزایش می‌یابد و درنتیجه باعث افزایش غلظت کمپلکس در فاز آلی می‌شود و بعد آن به علت مستقل شدن تشکیل کمپلکس از غلظت لیگاند و کامل شدن واکنش تشکیل کمپلکس، مقدار استخراج ثابت باقی می‌ماند. لذا غلظت $۱/۲\times۱۰^{-۴}$ مولار لیگاند (معادل حجم ۶۰/۰ میکرولیتر محلول ۰/۰۲۰ مولار ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول) برای بررسی‌های بعدی انتخاب شد تا هم مقدار آن برای استخراج مقادیر بیشتر پالادیم(II) کافی باشد و هم در صورتی که اگر کاتیونی با ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول واکنش دهد و مقداری از آن را مصرف کند، غلظت آن برای کمپلکس کردن پالادیم(II) و استخراج آن کافی باشد.

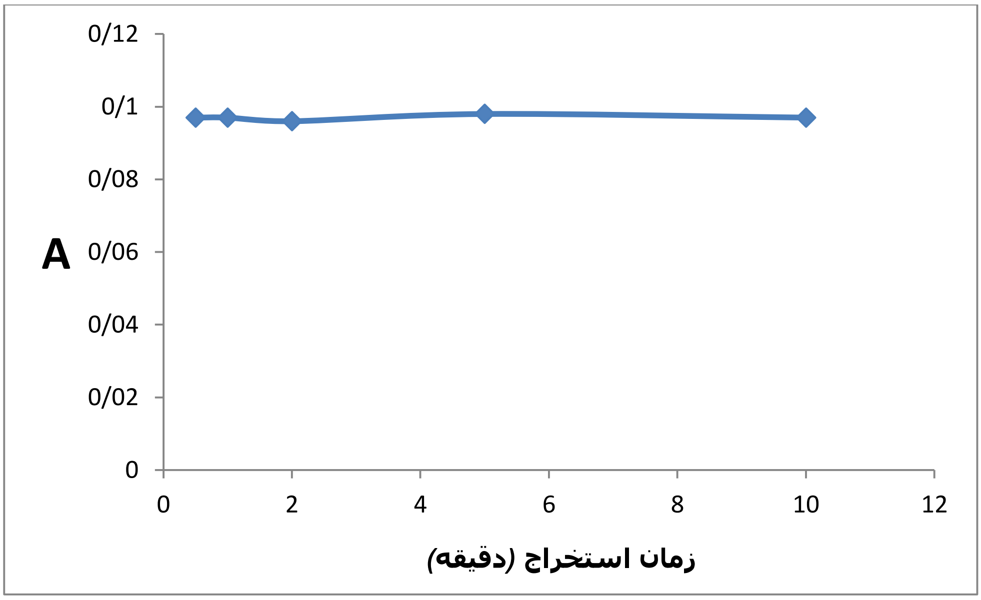
۳-۲-۷-۹-بررسی زمان استخراج

در روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی زمان استخراج به صورت فاصله زمانی بین لحظه تزریق مخلوط حلال‌های استخراج‌کننده و پخش‌کننده تا لحظه شروع سانتریفیوژ تعریف می‌شود. بر این اساس استخراج پالادیم در زمان‌های ۰/۵ تا ۱۰ دقیقه و با ثابت نگه داشتن دیگر پارامترها در مقادیر بهینه مورد بررسی قرارگرفت. در یک لوله سانتریفیوژ، ۸/۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر پالادیم(II) منتقل شد و به آن ۶۰/۰ میکرولیتر از محلول ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول ۰/۰۲۰ مولار و ۱/۰ میلی‌لیتر بافر استاتی pH=۵/۰ افزوده شد و با آب مقطر تا حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر رقیق شد. پس از تزریق سریع ۱/۵ میلی‌لیتر مخلوط همگنی از استون (پخش‌کننده) حاوی ۱۵۰ میکرولیتر کلروفرم به محلول‌های نمونه، در زمان‌های استخراج ۰/۵ تا ۱۰ دقیقه لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. فاز ته‌نشین شده به طور کامل برداشته و به یک ویال منتقل و حلال در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد تبخیر شد. پس از حل کردن جامد باقی‌مانده در ۵۰ میکرولیتر استون و

رقیق کردن تا حجم ۴۰۰ میکرولیتر با آب مقطر، جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. جذب محلول شاهد هم مثل نمونه اندازه‌گیری شد با این تفاوت که به آن پالادیم(II) افزوده نشد. نتایج اختلاف جذب محلول نمونه و شاهد به عنوان جذب پالادیم در جدول (۳-۱۱) و شکل (۳-۱۲) آورده شده است.

جدول ۳- ۱۱بررسی اثر زمان استخراج

زمان استخراج(دقیقه)	جذب پالادیم	راندمان استخراج (٪)
۰/۵	۰/۰۹۷	۷۸/۲
۱	۰/۰۹۷	۷۸/۲
۲	۰/۰۹۶	۷۶/۴
۵	۰/۰۹۸	۷۹/۱
۱۰	۰/۰۹۷	۷۸/۲



شکل ۳- ۱۲ بررسی اثر زمان استخراج

شرایط آزمایش: غلظت پالادیم ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، غلظت لیگاند $^{-۴}$۱۰ × ۱/۲ مولار، حجم محلول نمونه ۱۰/۰ میلی‌لیتر، بافر استاتی pH=۵/۰، حجم کلروفرم ۱۵۰ میکرولیتر، حجم حلال پخش‌کننده (استون) ۱/۳۵ میلی‌لیتر، سرعت سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه، استون مصرفی برای حل کردن کمپلکس ۵۰ میکرولیتر و حجم رقیق‌کننده (آب مقطر) ۳۵۰ میکرولیتر.

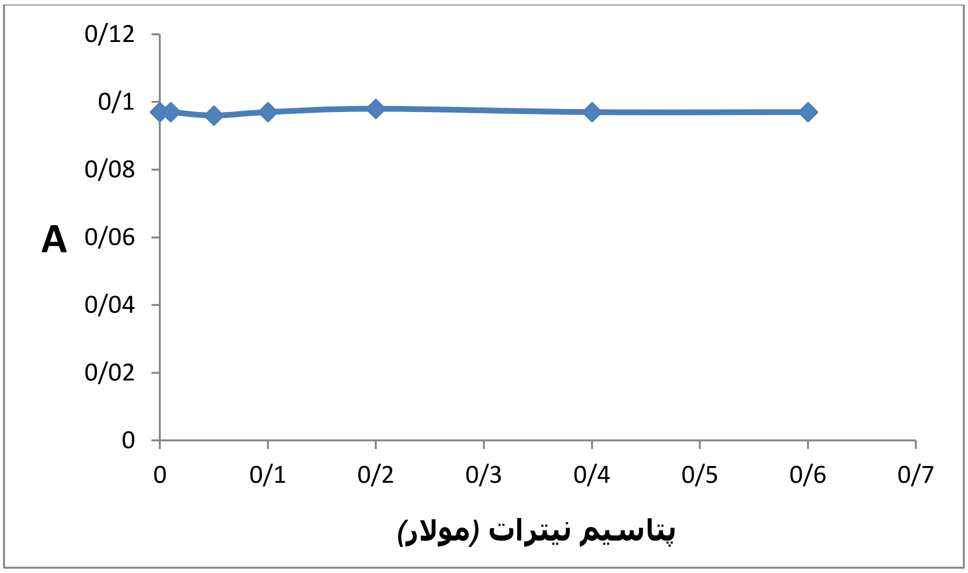
مطابق شکل (۳-۱۲) نتایج بدست آمده نشان داد که زمان استخراج تأثیری بر کارایی استخراج ندارد و در زمان‌های ۰/۵ تا ۱۰ دقیقه راندمان استخراج ثابت است. بنابراین زمان یک دقیقه به عنوان زمان استخراج در نظر گرفته شد. در روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی به دلیل تشکیل تعداد زیادی قطرات ریز در هنگام تشکیل محلول ابری، نسبت سطح به حجم برای حلال استخراج‌کننده بسیار زیاد می‌باشد. به همین دلیل استخراج خیلی سریع انجام شده و زمان استخراج در آن خیلی کوتاه است. این ویژگی یکی از مزیت‌های میکرواستخراج مایع-مایع پخشی است که این مزیت در تحقیق حاضر نیز مشاهده می‌شود.

۳-۲-۷-۱۰-بررسی اثر نمک (قدرت یونی) بر راندمان استخراج

تاثیر قدرت یونی بر حساسیت و جذب محلول پیش‌تغلیظ شده با استفاده از پتاسیم نیترات در گستره غلظتی ۰/۶۰-۰/۰۰ مولار (برای تثبیت قدرت یونی) مورد بررسی قرار گرفت. در یک لوله سانتریفیوژ، ۴/۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر پالادیم(II) منتقل شد و حجم‌های متفاوتی از پتاسیم نیترات ۳/۰ مولار برای بدست آوردن محلول‌هایی با غلظت بین ۰/۶۰-۰/۰۰ مولار پتاسیم نیترات به آن افزوده شد. پس از افزودن ۶۰/۰ میکرولیتر از محلول ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول ۰/۰۲۰ مولار و ۱/۰ میلی‌لیتر محلول بافر استاتی با pH=۵/۰ با آب مقطر تا حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر رقیق شد. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر مخلوط همگنی از استون (حلال پخش‌کننده) حاوی ۱۵۰ میکرولیتر کلروفرم به سرعت به محلول نمونه تزریق شد. یک دقیقه پس از تزریق مخلوط همگن، محلول ابری با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. مطابق بخش قبل جذب محلول‌های نمونه و شاهد اندازه‌گیری شد و نتایج اختلاف جذب محلول نمونه و شاهد به عنوان جذب پالادیم در جدول (۳-۱۲) و شکل (۳-۱۳) آورده شده است.

جدول ۳- ۶ بررسی اثر قدرت یونی

غلظت KNO_3 (مولار)	جذب پالادیم	راندمان استخراج (٪)
۰/۰۰	۰/۰۹۷	۷۸/۲
۰/۰۱	۰/۰۹۷	۷۸/۲
۰/۰۵	۰/۰۹۶	۷۷/۳
۰/۱	۰/۰۹۷	۷۸/۲
۰/۲	۰/۰۹۸	۷۹/۱
۰/۴	۰/۰۹۷	۷۸/۲
۰/۶	۰/۰۹۷	۷۸/۲



شکل ۳- ۱۳ بررسی تاثیر قدرت یونی بر فرایند استخراج

شرایط آزمایش: غلظت پالادیم ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، غلظت لیگاند $۱۰^{-۴}$ × ۱/۲ مولار، بافر استاتی pH=۵/۰، حجم محلول نمونه ۱۰/۰ میلی‌لیتر، حجم حلال استخراج‌کننده (کلروفرم) ۱۵۰ میکرولیتر، حجم پخش‌کننده (استون) ۱/۳۵ میلی‌لیتر، سرعت سانتریفوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه، استون مصرفی برای حل کردن کمپلکس ۵۰ میکرولیتر و حجم رقیق‌کننده (آب مقطر) ۳۵۰ میکرولیتر.

این نتایج نشان می‌دهد که قدرت یونی در گستره ۰/۶۰-۰/۰۰ مولار پتاسیم نیترات اثری بر سیگنال تجزیه‌ای و راندمان استخراج ندارد. اثر قدرت یونی را احتمالا بتوان بصورت زیر توجیح کرد:

با افزایش قدرت یونی به دلیل کاهش حلالیت کمپلکس در فاز آبی، تعادل استخراج به سمت راست جابجا می‌شود.

$$PdL_{2(aq)} \longleftrightarrow PdL_{2(org)}$$

از طرف دیگر با افزایش قدرت یونی، تعادل تشکیل کمپلکس در فاز آبی به سمت چپ جابجا می‌شود.

$$Pd^{2+} + 2HL \rightleftharpoons PdL_{2(aq)} + 2H^{+}$$

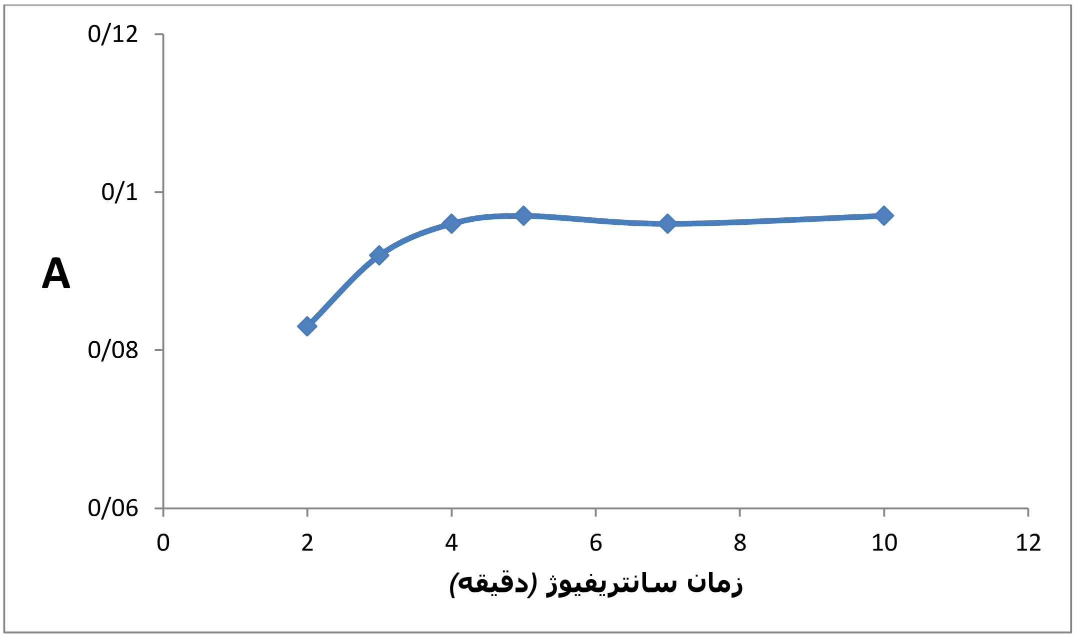
بنابراین قدرت یونی طوری روی دو تعادل تاثیر می‌گذارد که اثر یکدیگر را خنثی می‌کنند و بنابراین تاثیری بر راندمان استخراج ندارد.

۳-۲-۷-۱۱-بررسی اثر زمان سانتریفیوژ

در این مرحله تاثیر زمان سانتریفیوژ بر استخراج در محدوده ۱۰-۲ دقیقه (با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه) مورد بررسی قرار گرفت. محلول‌های نمونه و شاهد مطابق بخش (۳-۲-۷-۹) تهیه شد و بر روی آن‌ها استخراج انجام گرفت. سپس محلول‌های نمونه و شاهد در زمان‌های ۲ تا ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از انتقال کامل فاز ته‌نشین شده به یک ویال، اجازه داده شد تا کلروفرم در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد تبخیر شود. جامد باقی‌مانده در ۵۰ میکرولیتر استون حل و با آب مقطر تا حجم ۴۰۰ میکرولیتر رقیق شد و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. جذب محلول شاهد هم مثل نمونه اندازه‌گیری شد با این تفاوت که به آن پالادیم(II) افزوده نشد. نتایج اختلاف جذب محلول نمونه و شاهد به عنوان جذب پالادیم در جدول (۳-۱۳) و شکل (۳-۱۴) آورده شده است.

جدول ۳- ۱۳ بررسی زمان سانتریفیوژ

زمان سانتریفیوژ	حجم فاز ته‌نشین	جذب پالادیم	راندمان استخراج(٪)
۲/۰	۹۰	۰/۰۸۳	۶۵/۸
۳/۰	۱۰۰	۰/۰۹۲	۷۳/۸
۴/۰	۱۱۰	۰/۰۹۶	۷۷/۳
۵/۰	۱۱۰	۰/۰۹۷	۷۸/۲
۷/۰	۱۱۰	۰/۰۹۶	۷۷/۳
۱۰/۰	۱۱۰	۰/۰۹۷	۷۸/۲



شکل ۳- ۱۴ بررسی اثر زمان سانتریفیوژ

شرایط آزمایش: غلظت پالادیم ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، غلظت لیگاند $۱۰^{-۴}$ × ۱/۲ مولار، بافر استاتی pH=۵/۰، حجم محلول نمونه ۱۰/۰ میلی‌لیتر، حجم حلال استخراج‌کننده (کلروفرم) ۱۵۰ میکرولیتر، حجم پخش‌کننده (استون) ۱/۳۵ میلی‌لیتر، سرعت سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه، استون مصرفی برای حل کردن کمپلکس ۵۰ میکرولیتر و حجم رقیق‌کننده (آب مقطر) ۳۵۰ میکرولیتر.

این نتایج نشان می‌دهد که با افزایش زمان سانتریفیوژ تا ۴ دقیقه، حجم فاز ته‌نشین شده افزایش می‌یابد و به دنبال آن سیگنال تجزیه‌ای و راندمان استخراج افزایش می‌یابد و پس از آن ثابت

می‌ماند. کاهش سیگنال تجزیه‌ای در زمان‌های کمتر از ۴ دقیقه به این علت است که فاز استخراج-کننده به طور کامل جمع آوری نمی‌شود. لذا برای اطمینان کامل از ته‌نشین شدن تمام کلروفرم، زمان ۵ دقیقه در تمام بررسی‌ها استفاده شد.

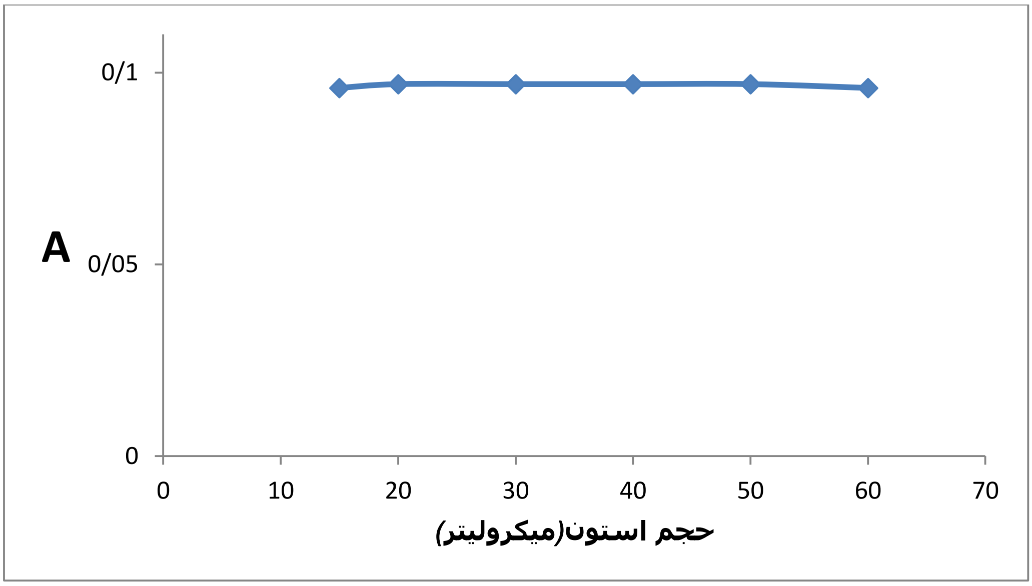
۳-۲-۷-۱۲-بررسی اثر حجم استون به عنوان حلال برای حل کردن جامد باقی‌مانده

همانگونه که در بخش (۳-۲-۴) اشاره گردید، جذب محلول شاهد حاوی کلروفرم (فاز ته‌نشین شده) با انواع رقیق‌کننده (شامل اتانول، متانول، استون و محلول ۱٪ نیتریک اسید) زیاد بود، که با تبخیر حلال کلروفرم و حل کردن جامد باقی‌مانده در استون و رقیق کردن آن با آب مقطر، جذب محلول شاهد به حدود صفر کاهش داده شد.

در این مرحله اثر حجم استون به عنوان حلال، برای حل کردن کمپلکس استخراج شده به صورت جامد باقی‌مانده در محدوده ۱۵/۰-۶۰/۰ میکرولیتر مورد بررسی قرار گرفت. محلول‌های نمونه و شاهد مثل قسمت (۳-۲-۷-۹) تهیه شد و بر روی آن‌ها استخراج انجام گرفت. یک دقیقه پس از تزریق مخلوط همگن، محلول ابری با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از انتقال کامل فاز ته‌نشین شده به یک ویال و تبخیر آن، جامد باقی‌مانده با حجم‌های متفاوت استون حل و سپس با آب مقطر تا حجم ۴۰۰ میکرولیتر رقیق شد و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. جذب محلول شاهد هم مثل نمونه اندازه‌گیری شد با این تفاوت که به آن پالادیم(II) افزوده نشد. نتایج اختلاف جذب محلول نمونه و شاهد به عنوان جذب پالادیم در جدول (۳-۱۴) و شکل (۳-۱۵) آورده شده است.

جدول ۳-۱۴ بررسی اثر حجم استون مصرفی برای حل کردن کمپلکس

حجم استون(µL)	جذب شاهد	جذب پالادیم	راندمان استخراج (٪)
۱۵	۰/۰۰۳	۰/۰۹۶	۷۷/۳
۲۰	۰/۰۰۳	۰/۰۹۷	۷۸/۲
۳۰	۰/۰۰۴	۰/۰۹۷	۷۸/۲
۴۰	۰/۰۰۴	۰/۰۹۷	۷۸/۲
۵۰	۰/۰۰۴	۰/۰۹۷	۷۸/۲
۶۰	۰/۰۰۵	۰/۰۹۶	۷۷/۳



شکل ۳- ۱۵ بررسی حجم استون به عنوان حلال برای حل کردن کمپلکس به صورت جامد باقی‌مانده

شرایط آزمایش: غلظت پالادیم ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، غلظت لیگاند $۱/۲ \times ۱۰^{-۴}$ مولار، بافر استاتی pH=۵/۰، حجم محلول نمونه ۱۰/۰ میلی‌لیتر، حجم حلال استخراج‌کننده (کلروفرم) ۱۵۰ میکرولیتر، حجم پخش‌کننده (استون) ۱/۳۵ میلی‌لیتر، سرعت سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه.

نتایج نشان می‌دهد که از حجم ۱۵ میکرولیتر به بعد میزان استون برای حل کردن کامل کمپلکس به صورت جامد باقی‌مانده کافی است. بنابراین برای بررسی‌های بعدی ۵۰ میکرولیتر استون

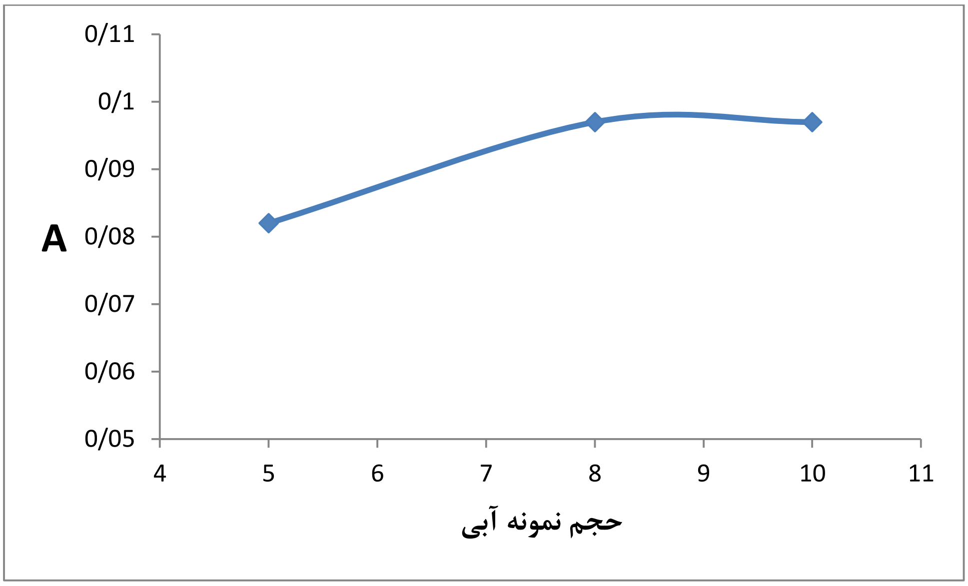
انتخاب شد تا برای حل کردن مقادیر بیشتر کمپلکس پالادیم به صورت جامد باقی‌مانده نیز کافی باشد.

۳-۲-۷-۱۳ بررسی اثر حجم نمونه آبی بر راندمان استخراج

اثر حجم نمونه آبی بر راندمان استخراج به دو صورت مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی اول به گونه‌ای عمل شد که مقدار میکروگرم پالادیم در محلول ثابت باشد. برای این منظور محلول‌هایی از نمونه با حجم‌هایی در محدوده ۱۰/۰-۵/۰ میلی‌لیتر، حاوی ۲/۰ میکروگرم پالادیم، ۶۰/۰ میکرولیتر از محلول ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول ۰/۰۲۰ مولار و ۱/۰ میلی‌لیتر بافر استاتی pH=۵/۰ تهیه شدند. محلول‌های شاهد نیز مانند نمونه تهیه شدند با این تفاوت که پالادیم به آن‌ها اضافه نشد. عمل استخراج بر روی محلول‌های نمونه وشاهد مطابق بخش (۳-۲-۷) انجام و جذب آن‌ها اندازه‌گیری شد. اختلاف جذب محلول نمونه و شاهد به عنوان جذب پالادیم در نظر گرفته شد که نتایج آن در جدول (۳-۱۵) و شکل (۳-۱۶) آورده شده است.

جدول ۳-۱۵ بررسی اثر حجم نمونه آبی در میکروگرم ثابت

حجم نمونه آبی	جذب پالادیم	راندمان استخراج (٪)
۵/۰	۰/۰۸۲	۶۴/۸
۸/۰	۰/۰۹۷	۷۸/۲
۱۰/۰	۰/۰۹۷	۷۸/۲



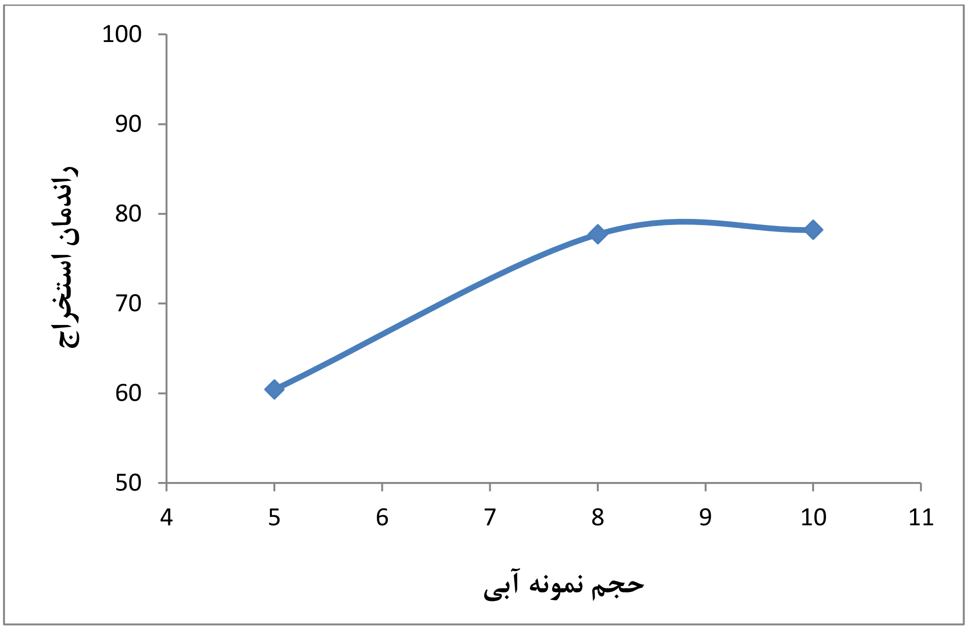
شکل ۳- ۱۶ بررسی اثر حجم نمونه آبی

شرایط آزمایش: میکروگرم پالادیم ۲/۰ ، ۶۰/۰ میکرولیتر لیگاند ۰/۰۲۰ مولار، بافر استاتی pH=۵/۰، حجم حلال استخراج‌کننده (کلروفرم) ۱۵۰ میکرولیتر، حجم پخش‌کننده (استون) ۱/۳۵ میلی‌لیتر، سرعت سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه، استون مصرفی برای حل کردن کمپلکس ۵۰ میکرولیتر و حجم رقیق‌کننده (آب مقطر) ۳۵۰ میکرولیتر.

در بررسی بعدی برای حجم‌های ۱۰/۰-۵/۰ میلی‌لیتر از محلول‌های پالادیم با غلظت ثابت ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر عمل استخراج مطابق بخش (۳-۲-۷) انجام و جذب آن‌ها اندازه‌گیری شد. جذب محلول شاهد هم مثل نمونه اندازه‌گیری شد با این تفاوت که به آن پالادیم(II) افزوده نشد. اختلاف جذب محلول نمونه و شاهد به عنوان جذب پالادیم در نظر گرفته شد که نتایج در جدول (۳-۱۶) و شکل (۳-۱۷) آورده شده است.

جدول ۳-۱۶ بررسی اثر حجم نمونه آبی در غلظت ثابت

حجم نمونه آبی	جذب پالادیم	راندمان استخراج (٪)
۵/۰	۰/۰۴۳	۶۰/۴
۸/۰	۰/۰۷۹	۷۷/۷
۱۰/۰	۰/۰۹۷	۷۸/۲



شکل ۳-۱۷ بررسی اثر حجم نمونه آبی

شرایط آزمایش: غلظت پالادیم ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، غلظت لیگاند $۱/۲ \times ۱۰^{-۴}$ مولار، بافر استاتی pH=۵/۰، حجم حلال استخراج‌کننده (کلروفرم) ۱۵۰ میکرولیتر، حجم پخش‌کننده (استون) ۱/۳۵ میلی‌لیتر، سرعت سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه.

نتایج هر دو آزمایش نشان می‌دهند که در حجم‌های ۸/۰ تا ۱۰/۰ میلی لیتر راندمان استخراج ثابت و بیشترین مقدار را دارد. به نظر می‌رسد که در حجم‌های پایین به دلیل تشکیل قطرات درشت حلال استخراج‌کننده راندمان استخراج کاهش می‌یابد.

۳-۲-۸-شرایط بهینه میکرواستخراج مایع- مایع پخشی پالادیم

با توجه به بررسی و بهینه‌سازی پارامترهای موثر بر میکرواستخراج مایع- مایع پخشی محلول آبی پالادیم(II)، شرایط بهینه زیر انتخاب و در رسم منحنی کالیبراسیون مورد استفاده قرار گرفت.

۱- یک میلی‌لیتر بافر استاتی با pH=۵/۰

۲- ۶۰/۰ میکرولیتر محلول ۰/۰۲۰ مولار ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول

۳- ۱۵۰/۰ میکرولیتر کلروفرم به عنوان حلال استخراج‌کننده

۴- ۱/۳۵ میلی لیتر استون به عنوان حلال پخش‌کننده

۵- ۵ دقیقه سانتریفوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه

۶- زمان استخراج یک دقیقه

۷- ۵۰ میکرولیتر استون برای حل کردن جامد باقی‌مانده (کمپلکس)

۸- حجم فاز آبی ۱۰ میلی‌لیتر

۳-۳-رسم منحنی کالیبراسیون پیش‌تغلیظ

کالیبراسیون مهمترین مرحله در توسعه یک روش تجزیه‌ای می‌باشد. با استفاده از کالیبراسیون، می‌توان رابطه‌ای مناسب بین غلظت نمونه مورد آنالیز و سیگنال ثبت شده در آشکار ساز را به دست آورد. ارزش و کارایی یک روش آنالیز با توجه به گستره دامنه خطی آن و حساسیت و تکرارپذیری نتایج در آن قابل ارزیابی می‌باشد. این پارامترها با توجه به منحنی کالیبراسیون برای یک روش قابل استخراج می‌باشد.

برای رسم منحنی کالیبراسیون، استخراج تحت شرایط بهینه انجام شد بدین صورت که در یک لوله سانتریفیوژ محلول پالادیم(II) با غلظت‌های متفاوت وارد شد و به آن ۶۰/۰ میکرولیتر از محلول ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول ۰/۰۲۰ مولار و ۱/۰ میلی‌لیتر محلول بافر استاتی با pH=۵/۰ افزوده شد و با آب مقطر تا حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر رقیق شد. پس از تزریق سریع ۱/۵ میلی‌لیتر مخلوط همگنی از استون (حلال پخش‌کننده) حاوی ۱۵۰ میکرولیتر کلروفرم توسط سرنگ ۱ میلی‌لیتری به محلول‌های نمونه آبی حاوی یون پالادیم، محلول‌های ابری به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه

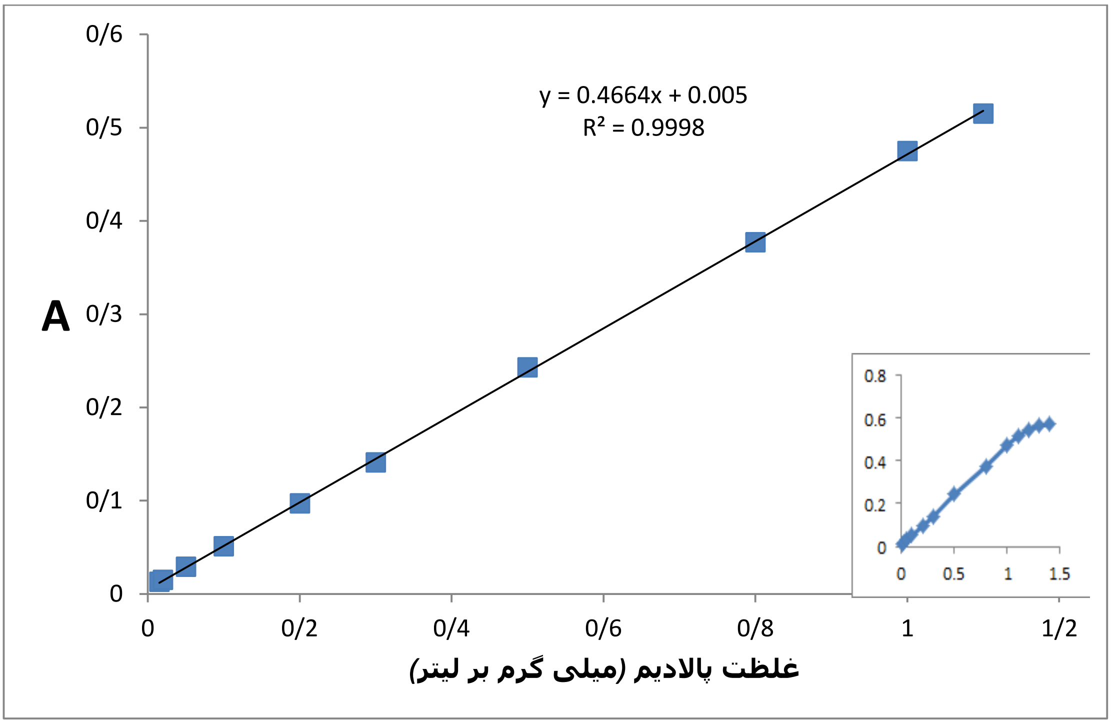
سانتریفیوژ گردید. فاز ته‌نشین شده به طور کامل به یک ویال انتقال داده شد و حلال در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد تبخیر شد. جامد باقی‌مانده در ۵۰ میکرولیتر استون حل و سپس با آب مقطر تا حجم ۴۰۰ میکرولیتر رقیق شد و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. بر روی محلول شاهد هم مثل نمونه استخراج انجام شد با این تفاوت که به آن پالادیم(II) افزوده نشد و جذب آن اندازه‌گیری شد. نتایج اختلاف جذب محلول نمونه و شاهد به عنوان جذب پالادیم در جدول (۳-۱۷) و شکل (۳-۱۸) آورده شده است. بر اساس نتایج بدست آمده نمودار کالیبراسیون یون پالادیم در محدوده ۰/۰۱۵ تا ۱/۱ میلی‌گرم بر لیتر با R^2=۰/۹۹۹۸ خطی می‌باشد، که معادله آن به صورت زیر به دست آمد.

$$y = ۰/۴۶۶۴C_{Pd} + ۰/۰۰۵ \qquad R^2 = ۰/۹۹۹۸ \quad (n=۱۰)$$

که در این رابطه y سیگنال تجزیه‌ای و C_{Pd} غلظت پالادیم(II) در محلول آبی بر حسب میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد.

جدول ۳- ۱۷ نتایج مربوط به رسم منحنی کالیبراسیون پیش‌تغلیظ

غلظت پالادیم (میلی‌گرم بر لیتر)	جذب پالادیم
۰/۰۱۵	۰/۰۱۳
۰/۰۲	۰/۰۱۵
۰/۰۵	۰/۰۲۹
۰/۱	۰/۰۵۱
۰/۲	۰/۰۹۷
۰/۳	۰/۱۴۱
۰/۵	۰/۲۴۳
۰/۸	۰/۳۷۷
۱	۰/۴۷۵
۱/۱	۰/۵۱۵
۱/۲	۰/۵۴۷
۱/۳	۰/۵۶۴
۱/۴	۰/۵۷۳



شکل ۳- ۱۸ منحنی کالیبراسیون پیش‌تغلیظ

۴-۳ -بررسی اثر مزاحمت

برای بررسی قابلیت کاربرد روش میکرواستخراج مایع- مایع پخشی، در اندازه‌گیری پالادیم(II) در نمونه‌های حقیقی، اثر مزاحمت‌های احتمالی کاتیون‌ها و آنیون‌های مختلف در پیش‌تغلیظ عنصر پالادیم با استفاده از این روش و اندازه‌گیری آن توسط دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی شعله مورد استفاده قرار گرفت. روش کار در بررسی اثر مزاحمت‌ها به صورت زیر بود:

ابتدا سیگنال محلول نمونه در غیاب گونه مزاحم اندازه‌گیری شد. بدین صورت که تحت شرایط بهینه استخراج روی محلول نمونه با غلظت ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر پالادیم انجام شد. سیگنال تجزیه‌ای برای نمونه ۶ بار اندازه‌گیری شد و میانگین سیگنال‌ها ($\overline{A}$) و انحراف استاندارد آن‌ها (S) محاسبه شد و محدوده قابل قبول برای نوسان سیگنال آنالیت ($\overline{A}$ ±3S) بدست آمد. سپس برای بررسی اثر مزاحمت احتمالی هر گونه، یون مورد نظر با نسبت ۵۰۰۰ برابر وزنی- وزنی، نسبت به یون

پالادیم(II) به محلول اولیه اضافه شد. در مرحله بعد بر روی این محلول عمل استخراج تحت شرایط بهینه صورت گرفت و سیگنال تجزیه‌ای مربوط به آن به دست آمد. اگر سیگنال تجزیه‌ای به دست آمده در حضور گونه مزاحم در دامنه $\bar{A}$ ±3S قرار می‌گرفت به این معنا بود که یون مورد نظر با نسبت موجود، مزاحم نیست، در غیر این صورت نسبت وزنی گونه مزاحم آنقدر کاهش داده می‌شد تا سیگنال تجزیه‌ای در دامنه $\bar{A}$ ±3S قرار گیرد. نتایج حاصل در جدول (۳-۱۸) نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که کاتیون Ag^{+} با نسبت وزنی-وزنی ۲ برابر نسبت به یون پالادیم(II) دارای مزاحمت است. برای رفع این مزاحمت آنیون I^{-} با نسبت وزنی-وزنی ۵۰۰۰ برابر نسبت به پالادیم(II) به محلول اضافه شد. رسوب زرد رنگ AgI جدا شد و سپس استخراج بر روی محلول نمونه انجام شد. بدین ترتیب مزاحمت کاتیون Ag^{+} به ۱۰۰۰ برابر وزنی-وزنی نسبت به پالادیم کاهش یافت. مزاحمت Hg^{2+} نیز با اضافه کردن آنیون I^{-} بعنوان عامل پوشاننده با نسبت وزنی-وزنی ۵۰۰۰ برابر نسبت به پالادیم(II) تا ۱۰۰۰ برابر وزنی-وزنی کاهش یافت. برای رفع مزاحمت کاتیون Cu^{2+} نیز از نمک سیترات استفاده شد. سیترات با نسبت وزنی-وزنی ۵۰۰۰ برابر نسبت به پالادیم(II) به عنوان عامل پوشاننده به محلول اضافه شد و استخراج بر روی محلول نمونه انجام شد. مزاحمت تا سطح ۱۰۰۰ برابر وزنی-وزنی نسبت به پالادیم کاهش یافت.

جدول ۳- ۱۸ نتایج حاصل از بررسی اثر گونه‌های مزاحم در اندازه‌گیری یون پالادیم با غلظت ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر

گونه شیمیایی مورد بررسی	حد مجاز گونه مزاحم (W/W)
Cr^{3+}, Cr^{6+}, Mn^{2+}, Li^{+}, Co^{2+}, K^{+}, NO_3^{-}, Cl^{-}, BrO_3^{-}, ClO_4^{-}, Al^{3+}, Pb^{2+}, Ni^{2+}, Mg^{2+},Ca^{2+}, Ba^{2+}, NO_2^{-}, $H_2PO_4^{-}$, HPO_4^{2-}, HCO_3^{-}, SO_4^{2-}, Zn^{2+}, Na^{+}, Cd^{2+} , I^{-} , F^{-}, Br^{-} , citrate, SO_3^{2-}	۵۰۰۰
SCN^{-}	۱۰۰۰
Fe^{2+}, Fe^{3+}	۱۰۰
Cu^{2+}	۵۰
Hg^{2+}	۱۰
Ag^{+}	۲

۳-۵-سایر ارقام شایستگی روش

در این قسمت روش بدست آوردن سایر ارقام شایستگی روش پیشنهادی، برای پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری پالادیم از قبیل حد تشخیص، دقت، صحت و فاکتور پیش‌تغلیظ آورده شده است.

۳-۵-الف-حد تشخیص [۱]

حد آشکارسازی یک روش، غلظتی از نمونه است که پاسخ دستگاهی مربوط به آن بطور معنی‌داری با پاسخ محلول شاهد متفاوت باشد و به صورت زیر تعریف می‌شود.

[1] Limit of detection

$$LOD = \frac{3S_b}{m} \qquad (۱-۳)$$

S_b = انحراف استاندارد مربوط به پاسخ شاهد[1]

m= شیب منحنی کالیبراسیون

برای تعیین حد تشخیص روش، ۱۰ محلول ۱۰/۰ میلی‌لیتری شاهد تهیه و تحت شرایط بهینه استخراج روی محلول شاهد انجام شد و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی شعله‌ای تعیین شد. انحراف استاندارد این ۱۰ بار اندازه‌گیری جذب شاهد محاسبه و با استفاده از رابطه (۳-۱) حد تشخیص ۰/۰۰۸ میلی‌گرم بر لیتر برای پالادیم بدست آمد.

۳-۵-ب-دقت و صحت

برای بررسی دقت و صحت روش، غلظت‌های متفاوتی از محلول پالادیم(II) در محدوده دامنه خطی منحنی کالیبراسیون انتخاب و در شرایط بهینه عمل استخراج بر روی آن‌ها انجام گرفت. برای هر یک از غلظت‌های انتخاب شده، ۶ بار اندازه‌گیری تکراری انجام گرفت و با استفاده از سیگنال‌های تجزیه‌ای به دست آمده برای هر نمونه و معادله منحنی کالیبراسیون پیش‌تغلیظ، غلظت معادل با هر سیگنال تجزیه‌ای محاسبه شد، و سپس انحراف استاندارد نسبی برای هر غلظت طبق معادله (۳-۲) محاسبه گردید. نتایج حاصل در جدول (۳-۱۹) نشان داده شده است.

$$\%RSD = \frac{s_c}{\bar{c}} \times 100 \qquad (۲-۳)$$

S_c= انحراف استاندارد غلظت

$\bar{c}$ = میانگین غلظت

[1] Blank

RSD%= درصد انحراف استاندارد نسبی غلظت

مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای ۶ اندازه‌گیری، ۲/۵۷ می‌باشد. مقادیر RSD ٪ و t به ترتیب نشان دهنده دقت و صحت خوب روش است.

جدول ۳- ۱۹ نتایج حاصل از دقت و صحت روش

پالادیم موجود در محلول آبی (µg/L)	مقدار پالادیم اندازه‌گیری شده (µg/L)	RSD% (n=6)	مقدار t	درصد بازیابی
۲۰/۰	۲۰/۷(±۱/۰)[a]	۴/۸	۱/۷۱	۱۰۳/۵
۵۰/۰	۵۱/۱(±۱/۵)	۲/۹	۱/۷۹	۱۰۲/۲
۲۰۰/۰	۱۹۸/۶(±۱/۸)	۰/۹۱	۱/۹۱	۹۹/۳
۵۰۰/۰	۵۰۱/۸(±۲/۱)	۰/۴۲	۲/۱۰	۱۰۰/۴
۹۰۰/۰	۸۹۸/۹(±۲/۳)	۰/۲۶	۱/۱۷	۹۹/۸

a = انحراف استاندارد شش اندازه‌گیری تکراری

۳-۵-ج-محاسبه فاکتور غنی‌سازی و درصد بازیابی روش

فاکتور غنی‌سازی از نسبت شیب منحنی کالیبراسیون بعد از پیش‌تغلیظ (شکل ۳-۱۸) به شیب منحنی کالیبراسیون قبل از پیش‌تغلیظ (شکل ۳-۳) بدست می‌آید[۴۷]. با در نظر گرفتن شرایط آزمایش در حالت بهینه فاکتور غنی‌سازی با استفاده از نسبت شیب دو منحنی ۲۰/۷ محاسبه گردید.

$$EF=\frac{m1}{m2} \qquad (۳-۳)$$

m_1: شیب منحنی کالیبراسیون پیش‌تغلیظ

m_2: شیب منحنی کالیبراسیون قبل از پیش‌تغلیظ

$$EF = \frac{0.4464}{0.0225} = 20.7$$

راندمان استخراج یا درصد بازیابی، درصد کل آنالیت استخراج شده به درون فاز ته‌نشین شده است که از رابطه (۳-۴) بدست می‌آید:

$$ER = \left[\frac{V_{sed}}{V_{aq}}\right] EF \times 100 \qquad (۳-۴)$$

که در آن EF فاکتورغنی سازی روش، V_{sed} حجم فاز داده شده به دستگاه جذب اتمی و V_{aq} نیز حجم نمونه آبی مصرفی می‌باشد. با توجه به اینکه V_{sed} برابر با ۰/۴۰ میلی‌لیتر، حجم فاز آبی نیز ۱۰/۰ میلی‌لیتر و فاکتور غنی‌سازی ۲۰/۷ می‌باشد، درصد بازیابی روش ۸۲٪ به دست آمد.

روش به دست آوردن درصد بازیابی تجربی روش نیز در بخش ۳-۲-۷ توضیح داده شده است. در بررسی آخرین پارامتر بهینه شده (بخش ۳-۲-۷-۱۳) مقدار متوسط راندمان تجربی استخراج ۷۸/۲٪ به دست آمد که با مقدار تئوری (۸۲٪) تطابق خوبی دارد.

۳-۵-د-ضریب مصرف[1]

ضریب مصرف در یک روش پیش‌تغلیظ به صورت حجمی از محلول آبی بر حسب میلی‌لیتر تعریف می‌شود که فاکتور پیش تغلیظ را یک واحد افزایش می‌دهد. کمتر بودن این ضریب در یک روش پیش‌تغلیظ، کارایی بیشتر روش را نشان می‌دهد. با توجه به اینکه در حجم پیش‌تغلیظ ۱۰ میلی‌لیتر، فاکتور پیش‌تغلیظ روش ۲۰/۷ به دست آمده است، ضریب مصرف این روش ۰/۴۸ میلی‌لیتر

[1] Cunsumption Index

محاسبه می‌گردد[۴۶]. در جدول (۳-۲۰) برخی از پارامترهای تجزیه‌ای در اندازه‌گیری پالادیم آورده شده است.

جدول ۳- ۲۰ برخی پارامترهای تجزیه‌ای در اندازه‌گیری پالادیم برای ۱۰/۰ میلی‌لیتر حجم نمونه آبی

پارامتر	مقدار تجزیه‌ای
محدوده‌ی خطی (میکروگرم بر لیتر)	۱۵-۱۱۰۰
معادله منحنی کالیبراسیون (میلی‌گرم بر لیتر)	$y = ۰/۴۶۶۴ C_{Pd} + ۰/۰۰۵$
ضریب همبستگی نمودار کالیبراسیون (R^2)	۰/۹۹۹۸
حد تشخیص (میکروگرم بر لیتر)	۸
میانگین انحراف استاندارد نسبی (٪)	۱/۸۶
فاکتور غنی سازی	۲۰/۷

۳-۶-اندازه‌گیری پالادیم در نمونه‌های حقیقی

به منظور بررسی توانایی روش پیشنهادی برای استفاده در نمونه‌های حقیقی با بافت‌های مختلف، این روش برای پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری پالادیم در نمونه‌های آب، سیر و خاک به کار برده شد. برای اندازه‌گیری پالادیم در آب آبشار مجن و آب شهر شاهرود به صورت زیر عمل شد:

ابتدا نمونه آب با کاغذ صافی، صاف گردید. ۸/۰ میلی‌لیتر از نمونه آب صاف شده به یک لوله سانتریفیوژ منتقل شد و به آن ۶۰/۰ میکرولیتر از محلول ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول ۰/۰۲۰ مولار و ۱/۰ میلی‌لیتر محلول بافر استاتی با pH=۵/۰ افزوده شد و با آب مقطر تا حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر رقیق شد و در شرایط بهینه بر روی آن استخراج انجام و جذب آن اندازه‌گیری شد. محلول شاهد نیز تهیه شد با این تفاوت که نمونه آب به آن اضافه نشد. سپس به نمونه آب مقادیر مشخصی از محلول پالادیم(II) افزوده شد و جذب آن اندازه‌گیری شد. در اندازه‌گیری پالادیم در آب از روش افزایش استاندارد استفاده شده است. نتایج در جدول (۳-۲۱) آورده شده است. مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵

درصد برای ۳ اندازه‌گیری، ۴/۰۳ می‌باشد. مقادیر t تجربی و درصدهای بازیابی نشان می‌دهند که روش پیشنهادی برای تعیین مقادیر پالادیم در نمونه‌های آب با صحت خوبی همراه است. همچنین مقادیر RSD٪ دقت خوب روش را نشان می‌دهد.

جدول ۳- ۲۱ نتایج حاصل از اندازه‌گیری پالادیم در آب

نمونه	پالادیم اضافه شده (میکروگرم بر لیتر)	پالادیم اندازه‌گیری شده (میکروگرم بر لیتر)	RSD% (n=3)	مقدار t تجربی	درصد بازیابی
آب آبشار مجن	−	<LOD	−	−	−
	۴۰/۰	۳۹/۲±(۱/۱)[a]	۲/۸	۱/۲۶	۹۸/۰
	۱۰۰/۰	۱۰۱/۳±(۱/۳)	۱/۳	۱/۷۳	۱۰۱/۳
	۲۰۰/۰	۱۹۸/۱±(۱/۹)	۰/۹۶	۱/۷۳	۹۹/۱
آب شهر شاهرود	−	<LOD	−	−	−
	۴۰/۰	۳۸/۹±(۱/۲)	۳/۱	۱/۵۹	۹۷/۲
	۱۰۰/۰	۱۰۲/۴±(۱/۵)	۱/۵	۲/۷۷	۱۰۲/۴
	۲۰۰/۰	۱۹۸/۲±(۱/۹)	۰/۹۶	۱/۶۴	۹۹/۱

a = انحراف استاندارد سه اندازه‌گیری تکراری

برای آنالیز نمونه خاک به این صورت عمل شد که نمونه‌های خاک از چند نقطه اطراف خیابان پر ترافیک در مشهد جمع آوری شد. نمونه در دمای ۱۰۰ درجه سلیسیوس به مدت ۲ ساعت خشک شد.

سپس از داخل الک با مش ۲۰۰ عبور داده شد تا یکنواخت شود. سپس ۵/۰۰۰ گرم از نمونه وزن شد و به داخل بشر انتقال داده شد و ۱۵/۰ میلی‌لیتر تیزاب سلطانی به بشر حاوی نمونه اضافه شد و مخلوط تا حد خشک شدن حرارت داده شد. سپس دوباره ۱۰/۰ میلی‌لیتر تیزاب سلطانی به باقی‌مانده اضافه شد و مخلوط حرارت داده شد تا عمل هضم به طور کامل انجام گیرد. بعد از سرد شدن محلول حدود ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه و صاف شد و pH در ۳-۲ تنظیم شد و داخل بالن ۱۰۰ به حجم رسانده شد[۱۲]. ۸/۰ میلی‌لیتر از این محلول به یک لوله سانتریفیوژ منتقل شد و به آن ۶۰/۰ میکرولیتر از محلول ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول ۰/۰۲۰ مولار و ۱/۰میلی‌لیتر محلول بافر استاتی با pH=۵/۰ افزوده شد و با آب مقطر تا حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر رقیق شد و بر روی آن استخراج انجام شد و جذب آن اندازه‌گیری شد. محلول شاهد نیز همانند محلول نمونه تهیه شد با این تفاوت که نمونه خاک اضافه نشد. سپس به محلول نمونه خاک مقادیر مشخصی از محلول پالادیم(II) افزوده شد و جذب آن اندازه‌گیری شد. در اندازه‌گیری پالادیم از روش افزایش استاندارد استفاده شده است. نتایج در جدول (۳-۲۲) آورده شده است. مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵ درصد برای ۳ اندازه‌گیری، ۴/۰۳ می‌باشد. مقادیر RSD ٪ دقت خوب روش در نمونه‌های خاک را نشان می‌دهد. همچنین مقادیر t تجربی و درصدهای بازیابی نشان می‌دهند که روش پیشنهادی برای تعیین مقادیر پالادیم در نمونه‌های خاک با صحت خوبی قابل کاربرد است.

جدول ۳- ۲۲ نتایج حاصل از اندازه‌گیری پالادیم در خاک

نمونه	پالادیم اضافه شده (میکروگرم بر لیتر)	پالادیم اندازه‌گیری شده (میکروگرم بر لیتر)	RSD% (n=3)	مقدار t تجربی	درصد بازیابی	پالادیم (µg/g) موجود در خاک
خاک	-	۲۸/۷±(۰/۹)[a]	۳/۱	-	-	۰/۷۲
	۴۰/۰	۶۷/۸±(۱/۲)	۱/۸	۱/۳۰	۹۷/۸	
	۱۰۰/۰	۱۳۰/۳±(۱/۴)	۱/۱	۱/۹۸	۱۰۱/۶	
	۲۰۰/۰	۲۲۷/۱±(۱/۷)	۰/۷۵	۱/۶۳	۹۹/۲	

a = انحراف استاندارد سه اندازه‌گیری تکراری

برای آنالیز نمونه سیر وحشی[1] به این صورت عمل شد که ابتدا سیر به قطعات نازک تبدیل شد. سپس به مدت یک هفته در مجاورت هوا خشک شد. در مرحله بعد، نمونه‌ها در آون در دمای ۴۵ درجه سلیسیوس به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند تا تمامی آب موجود در بافت آن‌ها تبخیر شده و به وزن ثابتی برسند. سپس نمونه‌های خشک شده به وسیله آسیاب پودر شدند و ۲/۵۰۰ گرم از آن وزن شد و به یک بشر انتقال داده شد. ۱۰/۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ به بشر اضافه شد. سپس مخلوط تا حد خشک شدن حرارت داده شد. دوباره ۱۰/۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ به بشر اضافه شد و تا نزدیک خشک شدن حرارت داده شد تا هضم به طور کامل انجام شود. بعد از سرد شدن محلول حدود ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه و صاف شد، pH در ۳-۲ تنظیم شد و داخل بالن ۱۰۰ به حجم رسانده شد[۴۸]. ۸/۰ میلی‌لیتر از این محلول به یک لوله سانتریفیوژ منتقل شد و به آن ۶۰/۰ میکرولیتر از محلول ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول ۰/۰۲۰ مولار و ۱/۰میلی‌لیتر محلول بافر استاتی

[1] Wild garlic

با pH=۵/۰ افزوده شد و با آب مقطر تا حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر رقیق شد و بر روی آن استخراج انجام شد و جذب آن اندازه‌گیری شد. محلول شاهد نیز همانند محلول نمونه تهیه شد با این تفاوت که سیر اضافه نشد. سپس به محلول نمونه سیر مقادیر مشخصی از محلول پالادیم(II) افزوده شد و جذب آن اندازه‌گیری شد. در اندازه‌گیری پالادیم از روش افزایش استاندارد استفاده شده است. نتایج در جدول (۳-۲۳) آورده شده است. مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵ درصد برای ۳ اندازه‌گیری، ۴/۰۳ می‌باشد. مقادیر t بحرانی و RSD ٪ نشان می‌دهند که روش پیشنهادی برای تعیین مقادیر پالادیم در نمونه سیر کوهی به ترتیب با صحت و دقت خوبی همراه است.

جدول ۳- ۲۳ نتایج حاصل از اندازه‌گیری پالادیم در سیر کوهی

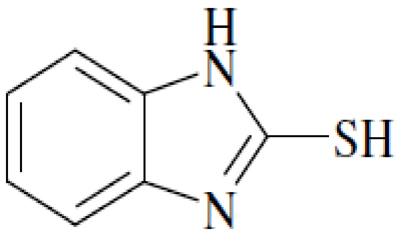
نمونه	پالادیم اضافه شده (میکروگرم بر لیتر)	پالادیم اندازه‌گیری شده* (میکروگرم بر لیتر)	RSD (n=3)	نتایج آزمون t	درصد بازیابی
سیر کوهی	–	<LOD	–	–	–
	۴۰/۰	۴۱/۲±(۱/۳)[a]	۳/۱	۱/۶۰	۱۰۳/۰
	۱۰۰/۰	۱۰۲/۴±(۱/۶)	۱/۶	۲/۶۰	۱۰۲/۴
	۲۰۰/۰	۱۹۷/۵±(۱/۶)	۰/۸۱	۲/۷۰	۹۸/۷

a = انحراف استاندارد سه اندازه‌گیری تکراری

فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری

۴-۱- سیستم شیمیایی مورد استفاده

در این کار از روش میکرواستخراج مایع- مایع پخشی همراه با طیف‌سنجی جذب اتمی شعله‌ای برای پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری مقادیر کم پالادیم استفاده شده است. لیگاند مورد استفاده در این کار، واکنشگر ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول می‌باشد که فرمول ساختاری آن در شکل (۴-۱) نشان داده شده است.



شکل ۴- ۱ ساختار گسترده لیگاند ۲- مرکاپتو بنزایمیدازول

۲-مرکاپتوبنزایمیدازول یک لیگاند غیر ویژه است که با تعدادی از کاتیون‌ها مانند پالادیم(II)، مس(II) و آهن(II) تشکیل کمپلکس می‌دهد[۴۹]. نسبت استوکیومتری پالادیم(II) با لیگاند ۲- مرکاپتوبنزایمیدازول بصورت M:L=۱:۲ می‌باشد[۵۰].

بررسی طیف جذبی کمپلکس (شکل ۳-۱) نشان می‌دهد که ماکزیمم جذب کمپلکس در طول موج ۳۶۵ نانومتر می‌باشد که در این طول موج لیگاند جذب ندارد. بنابراین ایجاد یک ماکزیمم جذب در طول موج ۳۶۵ برای محلول لیگاند حاوی پالادیم(II) نشان می‌دهد که ترکیب ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول با پالادیم(II) کمپلکس تشکیل می‌دهد. شکل (۳-۲) نیز نشان می‌دهد که واکنش تشکیل کمپلکس سریع می‌باشد و از ۰/۵ تا ۱۵ دقیقه پس از تشکیل کمپلکس جذب تغییر

نمی‌کند. این نتایج نشان می‌دهند که نه فقط واکنش تشکیل کمپلکس سریع است، بلکه کمپلکس هم در این شرایط پایدار می‌باشد.

۴-۲- بحث

۴-۲-۱- ارقام شایستگی روش

بررسی‌ها نشان می‌دهدکه در محدوده غلظتی ۱۱۰۰-۱۵ میکروگرم بر لیتر پالادیم، بین غلظت پالادیم و سیگنال تجزیه‌ای رابطه خطی وجود دارد. معادلات مربوطه و مقادیر ضریب همبستگی در بخش (۳-۳) آمده است.

مطابق جدول (۳-۱۹)، مقادیر انحراف استاندارد نسبی برای ۶ اندازه‌گیری تکراری در غلظت‌های ۰/۰۲۰، ۰/۰۵۰، ۰/۲۰، ۰/۵۰ و ۰/۹۰ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب برابر با ۴/۸، ۲/۹، ۰/۹۱، ۰/۴۲ و ۰/۲۶ درصد می‌باشد که نشان دهنده دقت خوب روش است. همچنین مقادیر درصد بازیابی برای غلظت‌های ذکر شده در این جدول نشان دهنده صحت خوب روش است.

مقدار حدتشخیص روش ۰/۰۰۸ میلی‌گرم بر لیتر بدست آمد. فاکتور غنی‌سازی روش تحت شرایط بهینه ۲۰/۷ بدست آمد. همچنین جدول (۳-۱۸) نشان می‌دهد که بیشتر کاتیون‌ها و آنیون‌ها در اندازه‌گیری پالادیم مزاحم نیستند و روش از انتخابگری بالایی برخوردار است.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری پالادیم در نمونه‌های حقیقی نیز بیانگر این می‌باشد که روش پیشنهادی با دقت و صحت خوبی در اندازه‌گیری پالادیم درنمونه‌های حقیقی قابل کاربرد است.

۴-۲-۲- مقایسه روش پیشنهادی با برخی روش‌های موجود

با توجه به اینکه تاکنون فقط دو مقاله در مورد تعیین مقدار پالادیم به روش جذب اتمی شعله‌ای پس از پیش‌تغلیظ با DLLME گزارش شده است، لذا تمام گزارش‌ها برای پیش‌تغلیظ پالادیم با DLLME برای مقایسه با روش پیشنهادی آورده شده است.

درجدول (۴-۱) فاکتور پیش‌تغلیظ، دامنه خطی، حد تشخیص (LOD) و ضریب مصرف روش پیشنهادی با دیگر روش‌های اندازه‌گیری پالادیم که با DLLME پیش‌تغلیظ شده‌اند مقایسه شده است.

جدول ۴- ۱ مقایسه روش پیشنهادی با برخی روش‌های گزارش شده برای تعیین مقدار پالادیم با DLLME

روش استفاده شده	حجم نمونه (mL)	نام لیگاند	حدتشخیص $\mu g.L^{-1}$	دامنه خطی $\mu g.L^{-1}$	EF	ضریب مصرف	مرجع
DLLME-FO-LADS	۱۰	۱-(۲-پیریدیل‌آزو)-۲-نفتول(PAN)	۰/۲۵	۲-۱۰۰	۱۶۲	۰/۰۶	۱۸
DLLME-GFAAS	۱۰	۲-آمینو-۱-سیکلوهگزن--۱-دی تیوکربوکسیلیک اسید	۰/۰۰۷	۰/۰۲-۰/۶	۳۵۰	۰/۰۳	۱۹
DLLME-GFAAS	۵	دی-اتیل-دی-تیو کربامات(DDTC)	۰/۰۰۲	۰/۱-۵	۱۵۶	۰/۰۳	۲۰
DLLME-FAAS	۵	تیوریدازینHCl (TRH)	۹۰	۱۰۰-۲۰۰۰	*	*	۲۱
LL-DLLME-FAAS	۱۰	-	۱/۴	۱۵-۷۰۰۰	**	**	۱۷
DLLME-FAAS	۱۰	۲- مرکاپتو-	۸	۱۵-۱۱۰۰	۲۱	۰/۴۸	کار حاضر

					بنزایمیدازول		

* برای مرجع ۲۱ با فرض اینکه استخراج ۱۰۰٪ انجام شود، فاکتور پیش‌تغلیظ برابر با ۱۰ و ضریب مصرف ۰/۵ بدست خواهد آمد.

** برای مرجع ۱۲ با فرض اینکه استخراج ۱۰۰٪ انجام شود، فاکتور پیش‌تغلیظ برابر با ۵ و ضریب مصرف ۲ بدست خواهد آمد.

داده‌های جدول (۴-۱) نشان می‌دهد که دامنه خطی روش پیشنهادی وسیع‌تر از تمام روش‌های گزارش شده به جز روش مرجع ۱۷ می‌باشد. همچنین فاکتور پیش‌تغلیظ و ضریب مصرف از مراجع ۲۱ و ۱۷ که هر دو به روش جذب اتمی شعله‌ای انجام شده‌اند بهتر است و حد تشخیص روش پیشنهادی کمتر از مرجع ۲۱ و قابل مقایسه با مرجع ۱۷ می‌باشد که هر دو به روش جذب اتمی شعله‌ای انجام شده‌اند.

۴-۳- نتیجه‌گیری

اسپکترومتری جذب اتمی شعله‌ای از روش‌های اندازه‌گیری با حساسیت بالا می‌باشد. این روش به دلیل عواملی چون زمان تجزیه بسیار سریع، قیمت پایین و تکرارپذیری بالا جهت آنالیز عناصر مورد توجه می‌باشد.

تکنیک میکرواستخراج مایع-مایع پخشی، یک روش ساده، سریع و ارزان برای تعیین فلزات با مقادیر بسیار پایین در حجم کم نمونه می‌باشد. فاکتور تغلیظ بالا و مصرف حجم کم از نمونه و حلال آلی از مزایای اصلی این روش می‌باشد.

برای اولین بار از روش DLLME و لیگاند ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول به عنوان عامل کمپلکس‌کننده برای جداسازی و پیش تغلیظ یون‌های پالادیم و اندازه‌گیری به وسیله FAAS استفاده شده است.

با بهینه‌سازی پارامترهای مؤثر بر فرایند استخراج و رسم منحنی کالیبراسیون و محاسبه ارقام شایستگی حاصل از این روش، مشخص می‌شود که روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی (DLLME) همراه با اندازه‌گیری بوسیله اسپکتروفتومتری جذب اتمی شعله‌ای (FAAS) یک شیوه مناسب و حساس با حد تشخیص بسیار پایین برای جداسازی، پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری مقادیر بسیار کم پالادیم (میکروگرم بر لیتر) در نمونه‌های آب، خاک و مواد غذایی می‌باشد.

نتایج درصد بازیابی حاصل از اندازه‌گیری پالادیم در نمونه‌های مختلف ، نشان دهنده صحت بالای نتایج حاصله با استفاده از تکنیک فوق است. دامنه خطی روش نسبتا وسیع است. در این پروژه فاکتور غنی‌سازی ۲۰/۷ تنها از ۱۰ میلی‌لیتر نمونه به دست می‌آید. همچنین زمان تهیه نمونه کمتر از ۳ دقیقه همراه با کاهش مصرف حلال‌های آلی سمی در حد میکرولیتر می‌باشد.

۴-۴-آینده‌نگری

۱- بررسی لیگاند ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول برای میکرواستخراج مایع- مایع پخشی یون‌های فلزی دیگر.

۲- مطالعه استخراج پالادیم(II) با استفاده از لیگاندهای دیگر با روش میکرواستخراج مایع- مایع پخشی.

۳- استفاده از اسپکتروفتومتر مرئی- ماورای بنفش به جای FAAS برای اندازه‌گیری محلول پیش‌تغلیظ شده یون‌ها با روش میکرواستخراج مایع- مایع پخشی و لیگاند ۲-مرکاپتوبنزایمیدازول .

۴- اندازه‌گیری فاز ته‌نشین شده به طور مستقیم و بدون نیاز به رقیق‌سازی با روش طیف‌سنجی جذب اتمی الکتروترمال بعد از پیش‌تغلیظ یون مورد نظر به روش میکرواستخراج مایع- مایع پخشی به منظور دستیابی به فاکتور پیش‌تغلیظ بالا و حد تشخیص پایین‌تر.

مراجع

[1]. www.ngdir.com

[2]. C. Melber, D. Keller, I. Mangelsdorf, (2002) "Environmental Health Criteria 226 " , world health organization geneva

[3]. W. Chen, S. Shimada, M. Tanaka, (2002). Synthesis and Structure of Formally Hexavalent Palladium Complexes, **Science Magazine,** 295. pp 308-310.

[4]. G. Audi, O. Bersillonb, J. Blachotb and A.H. Wapstrac, (2003). The NUBASE evaluation of nuclear and decay properties, **Nuclear Physics A,** 729. pp 3–128.

[5]. M. V. Balarama Krishna, Manjusha Ranjit, K. Chandrasekaran, G. Venkateswarlu, D. Karunasagar, (2009). On-line preconcentration and recovery of palladium from waters using polyaniline (PANI) loaded in mini-column and determination by ICP-MS; elimination of spectral interferences, **Talanta,** 79. pp 1454–1463.

[6]. N. Ozturk ,V. Numan Bulut ,C. Duran, M. Soylak, (2011). Coprecipitation of palladium(II) with 1,5-diphenylcarbazite–copper(II) and determination by flame atomic absorption spectrometry, **Desalination,** 270. pp 130–134.

[7]. H. Ek. Kristine, M. M. Gregory, S. Rauch, (2004). Environmental routes for platinum group elements to biological materials-a review, **Science of the Total Environment,** 334. pp 21–38.

[8]. www.palladiumcoins.com

[9]. K. Leopold, M. Maier, S. Weber, M. Schuster, (2008). Long-term study of palladium in road tunnel dustand sewage sludge ash, **Environmental Pollution,** 156. pp 341-347.

[10]. K. Boch, M. Schuster, G. Risse, M. Schwarzer, (2002). Microwave-assisted digestion procedure for the determination of palladium in road dust, **Analytica Chimica Acta,** 459. pp 257–265.

[11]. M. Soylak, M. Tuzen, (2008). Coprecipitation of gold(III), palladium(II) and lead(II) for their flame atomic absorption spectrometric determinations, **Journal of Hazardous Materials,** 152. pp 656-661.

[12]. G.Z. Tsogas, D.L. Giokas, A.G. Vlessidis, N.P. Evmiridis, (2008). On the re-assessment of the optimum condition for determination of platinum, palladium and rhodium in environmental sample by electrothermal atomic absorption spectrometry and microwave digestion, **Talanta,** 76. pp 635-641.

[13]. L. Tavakoli, Y. Yamini, H. Ebrahimzadeh, A. Nezhadali, Sh. Shariati, (2008) Development of cloud point extraction for simultaneous extraction and determination of gold and palladium using ICP-OES, **Journal of Hazardous Materials,** 152. pp 737-743.

[14]. B. A. Lesniewska, B. Godlewska-Zylkiewicz, A. Ruszczynska, E. Bulska, A. Hulanicki, (2006). Elimination of interferences in determination of platinum and palladium in environmental samples by inductively coupled plasma mass spectrometry, **Analytica Chimica Acta,** 564. pp 236-242.

[15]. A. Niazi, A. Azizi, M. Ramezani, (2008). Simultaneous spectrophotometric determination of mercury and palladium with Thio-Michlers Ketone using partial least squares regression and orthogonal signal correction, **Spectrochimica Acta Part A,** 71. pp 1172-1177.

[16]. B. Majidi, F. Shemirani, (2012). Solvent-based de-emulsification dispersive liquid–liquid microextraction of palladium in environmental samples and determination by electrothermal atomic absorption spectrometry, **Talanta**, 93. pp 245– 251.

[17]. S. Z. Mohammadi, D. Afzali, M. A. Taher, Y. M. Baghelani, (2010). Determination of trace amounts of palladium by flame atomic absorption spectrometry after ligandless-dispersive liquid–liquid microextraction, **Microchimica Acta,** 168. pp 123–128.

[18]. N. Shokoufi, F. Shemirani, Y. Assadi, (2007). Fiber optic-linear array detection spectrophotometry in combination with dispersive liquid–liquid microextraction for

simultaneous preconcentration and determination of palladium and cobalt, **Analytica Chimica Acta,** 597. pp 349–356.

[19]. M. Shamsipur, M. Ramezani, M. Sadeghi, (2009). Preconcentration and determination of ultra trace amounts of palladium in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry, **Microchimica Acta,** 166. pp 235–242.

[20]. P. Liang, E. Zhao, F. Li, (2009) Dispersive liquid–liquid microextraction preconcentration of palladium in water samples and determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry, **Talanta**, 77. pp 1854–1857.

[21]. T. Ahmadzadeh Kokya, K. Farhadi, (2009). Optimization of dispersive liquid–liquid microextraction for the selective determination of trace amounts of palladium by flame atomic absorption spectroscopy, **Journal of Hazardous Materials,** 169. pp 726–733.

[22]. R. M. Smith, (2003). Before the injection-modern methods of sample preparation for separation techniques, **Journal of Chromatography A,** 1000. pp 3–27.

[23]. A. J. Handley, Editor, (1999) "Extraction methods in organic analysis" Sheffield Academic Press, Sheffield, p 649.

[24]. E. Psillakis, N. Kalgerki, (2003). Developments in liquid-phase microextraction, **Trends Analytical Chemistry,** 22. pp 565-574.

[25]. T. S. Ho, J. L. E. Reubsaet, H. S. Anthonsen, S. Pedersen-Bjergaard and K.E. Rasmussen , (2005). Liquid-phase microextraction based on carrier mediated transport combined with liquid chromatography-mass spectrometry new concept for the determination of polar drugs in a single drop of human plasma, **Journal of Chromatography A,** 1072. pp 29-36.

[26]. I. Liska, (2000). Fifty years of solid-phase extraction in water analysis-historical development and overview, **Journal of Chromatography A,** 885. pp 3-16.

[27]. N. J. K. Simpson, (2000) "Solid-Phase Extraction, Principles, Techniques, and Applications" Marcel Dekker, New York pp 493–497.

[28]. J. S. Fritz, J. J. Masso, (2001). Miniaturized solid-phase extraction with resin disks, **Journal of Chromatography A,** 909. pp 79-85.

[29]. A. Asperger, J. Efer, T. Koal, W. Engewald, (2002). Trace determination of priority pesticides in water by means of high-speed on-line solid-phase extraction–liquid chromatography–tandem mass spectrometry using turbulent-flow chromatography columns for enrichment an short monolithic column for fast liquid chromatographic separation, **Journal of Chromatography A,** 960. pp 109-119.

[30]. R. A. Trenholm, B. J. Vanderford, S. A. Snyder, (2009). On-line solid phase extraction LC–MS/MS analysis of pharmaceutical indicators in water: A green alternative to conventional methods, **Talanta,** 79. pp 1425-1432.

[31]. S. Zhu, W. Niu, H. Li, S. Han, G. Xu, (2009). Single-walled carbon nanohorn as new solid-phase extraction adsorbent for determination of 4-nitrophenol in water sample, **Talanta,** 79. pp 1441-1445.

[32]. H. A. G. Niederländer, E. H. M. Koster, M. J. Hilhorst, H. J. Metting, M. Eilders, B. Ooms, G. J. de Jong, (2006). High throughput therapeutic drug monitoring of clozapine and metabolites in serum by on-line coupling of solid phase extraction with liquid chromatography–mass spectrometry, **Journal of Chromatography B,** 834. pp 98-107.

[33]. F. Shemirani, R. Rahnama Kozani, Y. Assadi, (2007). Determination of Trihalomethanes in Drinking Water by Dispersive Liquid-Liquid Microextraction then Gas Chromatography with Electron-Capture Detection, **Microchimica Acta**, 157. pp 81-86.

[34]. S. Shariati, Y. Yamini, (2006). Cloud point extraction and simultaneous determination of zirconium and hafnium using ICP-OES, **Journal of Colloid and Interface Science,** 298. pp 419-425.

[۳۵]. وطن‌خواهان. الهه، (۱۳۸۸)، پایان‌نامه ارشد: اندازه‌گیری مقادیر کم مس با استفاده از اسپکترومتری جذب اتمی شعله‌ای بعد از میکرواستخراج با حلال، دانشکده شیمی، دانشگاه صنعتی شاهرود.

[36]. M. Rezaee, Y. Assadi, (2006). Determination of organophosphorus pesticides in water samples by single drop microextraction and gas chromatography-flame photometric detector, **Journal of Chromatography A,** 1116. pp 1-9.

[37]. M. Rezaee, (2010). Evolution of dispersive liquid–liquid microextraction method: A review, **Journal of Chromatography A,** 1217. pp 2342–2357.

[38]. F. Pena-Pereira, (2009). Miniaturized preconcentration methods based on liquid–liquid extraction and their application in inorganic ultratrace analysis and speciation: A review, **Spectrochimica Acta Part B,** 64. pp 1–15.

[39]. Z. Xiao-Huan, W. Qiu-Hua, Z. Mei-Yue, X. Guo-Hong, W. Zhi , (2009). Developments of Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Technique, **Chinese Journal of Analytical Chemistry,** 37(2). pp 161–168.

[۴۰]. ناصری م.ت، (۱۳۸۵)، پایان‌نامه ارشد: اندازه‌گیری سرب در آب به روش میکرواستخراج مایع- مایع پخشی و طیف‌سنجی جذب اتمی، دانشکده شیمی، دانشگاه علم و صنعت ایران.

[41]. C. Bosch Ojeda, F. Sa´nchez Rojas, (2009). Separation and Preconcentration by Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Procedure: A Review, **Chromatographia,** 69. pp 1149-1159.

[42]. X. Wen, Q. Yang, Z. Yan, Q. Deng, (2011). Determination of cadmium and copper in water and food samples by dispersive liquid–liquid microextraction combined with UV–vis spectrophotometry, **Microchemical Journal,** 97. pp 249–254.

[43]. H. Sereshti, V. Khojeh, S. Samadi, (2011). Optimization of dispersive liquid–liquid microextraction coupled with inductively coupled plasma-optical emission spectrometry with the aid of experimental design for simultaneous determination of heavy metals in natural waters, **Talanta,** 83. pp 885–890.

[44]. A. N. Anthemidis, K. I. G. Ioannou, (2009). Recent developments in homogeneous and dispersive liquid–liquid extraction for inorganic elements determination. A review, **Talanta,** 80. pp 413–421.

[45]. I. Casero, D. Sicilia, S. Rubio, and D. Pe´ rez-Bendito, (1999) An Acid-Induced Phase Cloud Point Separation Approach Using Anionic Surfactants for the Extraction and Preconcentration of Organic Compounds, **Analytical Chemistry,** 71. pp 4519-4526.

[46]. K. Pyrzynska, K. Kilian, (2007). On-line sorption-based systems for determination of cadmium with atomic spectrometry: Review, **Water Research,** 41. pp 2839-2851.

[47]. M. A. Farajzadeh, M. Bahrama, J. A. Jo¨nsson, (2007). Dispersive liquid–liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography-diode array

detection as an efficient and sensitive technique for determination of antioxidants, **Analytica Chimica Acta,** 591. pp 69–79.

[48]. F. Ismail, M. R. Anjum, A. N. Mamon, T. G. Kazi, (2011). Trace metal contents of vegetables and fruits of hyderabad ratail market, **Pakistan Journal of Nutrition,** 10. pp 365-372.

[49]. K. Chalapathi, L. Ramesh babu, P. Madhu, G.P. Maddaiah, (2010). 2-mercaptobenzimidazole Immobilized with Amberlite Xad-2 Using as Solid Phase Extractor for the Determination of Fe(II), Cu(II), and Cd(II) in Sewage and Waste Water Samples by Flame Atomic Absorption Spectrometry, **Advances in Applied Science Research,** 1. pp 27-35.

[50]. M. O. Talismanova, A. A. Sidorov, G. G. Aleksandrov, Yu. F. Oprunenko, I. L. Eremenko, I.I. Moiseev, (2004). New dinuclear palladium complex with a Chinese-lantern structure, **Russian Chemical Bulletin, International Edition,** 53. pp 1507-1510.

Abstract

In this study, a simple and reliable method is proposed for rapid and selective extraction and determination of the trace levels of Pd^{2+} ions by dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) preconcentraton and flame atomic absorption spectrometry (FAAS) detection. In this approach, 2-mercaptobenzimidazole (MBI) was used as a chelating agent that forms a stable and hydrophobic complex with palladium(II) ions. Acetone and chloroform were selected as the disperser and extraction solvents, respectively. The effects of parameters such as pH, type and volume of buffer, type and volume of extraction solvent, type and volume of disperser solvent, ligand concentration, extraction time, centrifugation time and ionic strength were investigated and optimized. Also, the effects of interfering ions were investigated. Under the optimized conditions, a linear calibration curve was achieved in the range of 15-1100 μgL^{-1}, with the detection limit of 8 μgL^{-1} and enrichment factor of 20.7 were achieved. The relative standard deviations for six replicate determinations of 0.020, 0.050, 0.20, o.50 and 0.90 mgL^{-1} of palladium(II) were 4.8, 2.9, 0.91, 0.42 and 0.26 %, respectively. This method was successfully applied for determination of palladium(II) ions in the water, soil and food samples.

Keywords: Palladium(II), 2-Mercaptobenzimidazole (MBI), Flame atomic absorption spectrometry, Dispersive liquid-liquid microextraction .

Shahrood University of Technology

Application of dispersive liquid-liquid microextraction with flame atomic absorption spectroscopy for determination of ultra-trace palladium(II) in environmental samples

Mohsen pouyan

Supervisors:

Dr. Ghadam Ali Bagherian Dehaghi

Adviser:

Dr. Nasser Goudarzi

2012