

دانشگاه صنعتی شاهرود

دانشکده شیمی

پایان نامه کارشناسی ارشد

## ارائه یک روش اتوماتیک تزریق در جریان پیوسته برای اندازه گیری تیواوره بر اساس زمان القایی

احمد قوچانی مقدم

استاد راهنما:

دکتر منصور عرب چم جنگلی

استاد مشاور:

دکتر ناصر گودرزی

آذر ماه ۹۱

با سپاس از سه وجود مقدس:

آنان که ناتوان شدند تا ما به توانایی برسیم

موهایشان سپید شد تا ما روسفید شویم

و عاشقانه سوختند تا گرمابخش وجود ما و روشنگر راهمان

باشند

|

پدرم

مادرم

استادم.

## شکر و قدردانی

حمد و سپاس پروردگاری که لطف و کرم بی‌کرانش را بنزد بر گرفت تا به وسع توان خویش گامی کوچک در گستره علم و معرفت بردارم.

اکنون که بیاری خداوند متعال، این دوره پر خاطره از دوران تحصیل را به پایان رسانده‌ام، بر رسم ادب و احترام بر خود واجب می‌دانم از زحمات فراوان استاد توانمند جناب آقای دکتر منصور عرب‌چم

جنجلی که بارها بنیای ما و نظرات ارزنده و صبر و حوصله فراوان، نقش مهمی در به‌ثمر رساندن این کار داشته‌اند و بدون رهنمودهای ارزنده ایشان به پایان رساندن این تحقیق ممکن نبود. شکر و سپاسگزاری کنم. همچنین از

آقای دکتر کوردزی که در انجام این پایان نامه کمال بجاری را مانده داشته‌اند شکر و قدردانی می‌کنم. از کاکلان محترم دانشکده شیمی آقای مهندس کلی، خانم مهندس برنجی، آقای مؤمنی و همچنین خانم حضرتی

که بجاری های صمیمانه ای را با اینجانب داشته‌اند شکر می‌نمایم.

در پایان از دوستان عزیزم آقایان حسن پویان، حسن دانشی‌نژاد، امین پوربرامیان و تمام دانشجویان ورودی ۸۹ که در مراحل انجام این تحقیق کمک و همراهی بودند نهایت سپاسگزاری را داشته‌ام و برای همه این

عزیزان آرزوی سلامتی و سعادت می‌نمایم.

احمد قوچانی مقدم

آذرماه ۹۱

## تعهد نامه

- اینجانب احمد قوچانی مقدم دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته شیمی تجزیه دانشکده شیمی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه ارائه یک روش اتوماتیک تزریق در جریان پیوسته برای اندازه گیری نیواوره بر اساس زمان القایی تحت راهنمایی دکتر منصور عرب چم جنگلی متعهد می شوم:
- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا 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 افزارها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

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

## چکیده

در این پروژه یک روش تزریق در جریان پیوسته برای اندازه‌گیری تیواوره در آب و نمونه‌های آبی ارائه شده است. این روش بر اساس اثر بازداری تیواوره بر واکنش متاکرزول پرپل و پتاسیم برومات که توسط یون برمید کاتالیز می‌شود بوده و زمان القائی متناسب با غلظت تیواوره است. واکنش به طریق اسپکتروفتومتری با اندازه‌گیری افزایش جذب متاکرزول پرپل در طول موج ۵۲۵ نانومتر دنبال شد. اثر متغیرهای مهم شیمیایی و دستگاهی بر حساسیت روش مطالعه و به روش تک عاملی و سادگی بهینه شدند. در شرایط بهینه منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۰/۱۰۰ تا ۱۳/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر خطی بوده و حد تشخیص روش نیز ۰/۰۳۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر است. انحراف استاندارد نسبی برای ۶ بار اندازه‌گیری تکراری در غلظت‌های ۰/۵۰۰، ۵/۰۰ و ۱۲/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تیواوره به ترتیب ۴/۰۸، ۱/۸۲ و ۱/۲۴ درصد می‌باشد. این روش برای اندازه‌گیری تیواوره در نمونه‌های آب، آب پرتقال و پوست پرتقال با موفقیت به کار گرفته شد.

## لغات کلیدی

تیواوره، زمان القائی، پتاسیم برومات، متاکرزول پرپل، اسپکتروفتومتری

## فهرست مطالب

صفحه

عنوان

۱	فصل اول: مقدمه
۲	۱-۱- تیواوره
۴	۲-۱- کاربردهای تیواوره
۴	۳-۱- اثرات سمیت تیواوره
۵	۴-۱- مروری بر کارهای انجام شده برای اندازه‌گیری تیواوره
۱۱	فصل دوم: تئوری
۱۲	۱-۲- روشهای سینتیکی و کاربرد آنها در شیمی تجزیه
۱۲	۱-۱-۲- تعریف سینتیک
۱۲	۲-۱-۲- سرعت واکنشها
۱۳	۳-۱-۲- تقسیم بندی روشهای سینتیکی
۱۴	۴-۱-۲- روشهای اندازه‌گیری برپایه تغییر سرعت واکنشهای کاتالیز شده در محلول
۱۴	۱-۴-۱-۲- بازداری
۱۵	۲-۴-۱-۲- فعالسازی
۱۶	۵-۱-۲- اندازه‌گیری براساس زمان القائی
۱۷	۲-۲- آنالیز تزریق در جریان پیوسته (FIA)
۱۷	۱-۲-۲- انواع سیستمهای تجزیه خودکار
۱۸	۱-۱-۲-۲- تجزیه‌گرهای گسسته جریان
۱۸	۲-۱-۲-۲- تجزیه‌گرهای پیوسته جریان
۱۹	۲-۲-۲- انواع روشهای جریان پیوسته
۱۹	۱-۲-۲-۲- روش جریان منقطع

- ۲۱ ..... ۲-۲-۲-۲-۲ روش تزریق در جریان
- ۲۲ ..... ۱-۲-۲-۲-۲-۲ مزایای سیستمهای تزریق در جریان
- ۲۲ ..... ۱-۱-۲-۲-۲-۲ انتخاب پذیری
- ۲۳ ..... ۲-۱-۲-۲-۲-۲ تکرارپذیری
- ۲۳ ..... ۳-۱-۲-۲-۲-۲ سرعت نمونه‌گیری بالا
- ۲۴ ..... ۴-۱-۲-۲-۲-۲ سادگی و انعطاف پذیری
- ۲۴ ..... ۵-۱-۲-۲-۲-۲ سرعت راه‌اندازی و خاموش شدن سریع
- ۲۴ ..... ۶-۱-۲-۲-۲-۲ مقرون به صرفه بودن
- ۲۴ ..... ۲-۲-۲-۲-۲-۲ محدودیتهای سیستمهای تزریق در جریان
- ۲۵ ..... ۳-۲-۲-۲-۲ پاشیدگی در FIA
- ۲۷ ..... ۱-۳-۲-۲-۲ عوامل موثر بر پاشیدگی
- ۲۷ ..... ۱-۱-۳-۲-۲ حجم نمونه
- ۲۸ ..... ۲-۱-۳-۲-۲ سرعت جریان
- ۲۸ ..... ۳-۱-۳-۲-۲ طول و قطر مارپیچ اختلاط
- ۲۹ ..... ۲-۳-۲-۲-۲ انواع پاشیدگی
- ۲۹ ..... ۱-۲-۳-۲-۲ پاشیدگی محدود
- ۳۰ ..... ۲-۲-۳-۲-۲ پاشیدگی متوسط
- ۳۲ ..... ۳-۲-۳-۲-۲ پاشیدگی بزرگ
- ۳۳ ..... ۴-۲-۲-۲-۲ تکنیکهای FIA:
- ۳۳ ..... ۱-۴-۲-۲-۲ روش ادغام مناطق
- ۳۵ ..... ۲-۴-۲-۲-۲ تکنیک توقف جریان
- ۳۵ ..... ۵-۲-۲-۲ آنالیز متوالی
- ۳۶ ..... ۶-۲-۲-۲-۲ اجزای تشکیل دهنده یک سیستم FIA



- ۳۶..... ۲-۲-۶-۱- سیستم انتقال نمونه و واکنشگر
- ۳۷..... ۲-۲-۶-۲- ماریپیج واکنش
- ۳۷..... ۲-۲-۶-۳- سیستم تزریق نمونه
- ۳۹..... ۲-۲-۶-۴- آشکارسازها
- ۳۹..... ۲-۳-۳- روشهای بهینه‌سازی پارامترها
- ۴۰..... ۲-۳-۱- روش تک عاملی (تک متغیره)
- ۴۱..... ۲-۳-۲- روش بهینه‌سازی سادگی
- ۴۷..... فصل سوم: تجربی
- ۱-۳- اندازه‌گیری سینتیکی-اسپکتروفتومتری تزریق در جریان پیوسته تیواوره با استفاده از اثر بازداری آن بر واکنش برومات با متاکرزول پرپیل..... ۴۸
- ۳-۱-۱- مواد شیمیایی و محلولهای مورد استفاده..... ۴۸
- ۳-۱-۲- دستگاههای مورد استفاده..... ۴۹
- ۳-۱-۳- سیستم شیمیایی مورد استفاده..... ۵۰
- ۳-۱-۴- ثبت طیف جذبی..... ۵۲
- ۳-۱-۵- طیف زمانی..... ۵۴
- ۳-۱-۶- طراحی سیستم FIA..... ۵۵
- ۳-۱-۷- بررسی پارامترها و بهینه‌سازی متغیرهای موثر بر سیستم واکنش..... ۵۶
- ۳-۱-۷-۱- روش کار در بررسی و بهینه‌سازی متغیرها..... ۵۷
- ۳-۱-۷-۲- بررسی اثر نوع اسید..... ۵۸
- ۳-۱-۷-۳- بررسی اثر غلظت سولفوریک اسید..... ۶۰
- ۳-۱-۷-۴- بررسی اثر غلظت پتاسیم برومات..... ۶۲
- ۳-۱-۷-۵- بررسی اثر غلظت پتاسیم برمید..... ۶۴
- ۳-۱-۷-۶- بررسی اثر غلظت متاکرزول پرپیل..... ۶۶

۶۸	۳-۱-۷-۷- بررسی اثر سرعت جریان واکنشگرها
۷۰	۳-۱-۷-۸- بررسی اثر سرعت جریان حامل
۷۲	۳-۱-۷-۹- بررسی اثر طول مارپیچ واکنش
۷۴	۳-۱-۷-۱۰- بررسی اثر حجم نمونه تزریقی
۷۶	۳-۱-۸- نتایج حاصل از بهینه‌سازی یک متغیر در یک زمان
۷۶	۳-۱-۹- مطالعه برهمکنش بین واکنشگرها
۷۸	۳-۱-۱۰- بهینه‌سازی به روش سادکی
	۳-۱-۱۱- بهینه‌سازی اثر دما و اثر قدرت یونی بر سیستم واکنش به روش یک متغیر در
۸۰	یک زمان
۸۰	۳-۱-۱۱-۱- بررسی اثر دما
۸۲	۳-۱-۱۱-۲- بررسی اثر قدرت یونی
۸۶	۳-۱-۱۲- شرایط بهینه حاصل
۸۶	۳-۱-۱۳- بررسی مزاحمتها
۸۸	۳-۱-۱۴- منحنی کالیبراسیون
۹۴	۳-۱-۱۵- حد تشخیص
۹۴	۳-۱-۱۶- دقت و صحت روش
۹۵	۳-۱-۱۷: کاربرد روش در اندازه‌گیری تیواوره در نمونه‌های حقیقی
۹۸	فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری
	۴-۱- اثر بازداری تیواوره بر اکسیداسیون متاکرزول پرپل توسط برومات در حضور پتاسیم
۹۹	برمید
۹۹	۴-۱-۱- ارقام شایستگی روش
۱۰۰	۴-۱-۲- مقایسه روش با سایر روشهای موجود در اندازه‌گیری غلظت تیواوره
۱۰۱	۴-۱-۳- نتیجه‌گیری

۱۰۱.....۴-۱-۴- آینده‌نگری

منابع

چکیده لاتین

## فهرست شکل‌ها

صفحه

عنوان

- شکل ۱-۲: طبقه بندی روشهای سینتیکی براساس شیمی واکنشها. .... ۱۳
- شکل ۲-۲: طرح یک تجزیه گر جریان منقطع. .... ۲۰
- شکل ۳-۲: مراحل آنالیز تزریق در جریان. .... ۲۲
- شکل ۴-۲: پاسخ یک آشکارساز نوعی به محلول تزریقی به سیستم. .... ۲۳
- شکل ۵-۲: آثار همرفت و نفوذ بر نیمرخ غلظت آنالیتها در آشکارساز. .... ۲۶
- شکل ۶-۲: اثر حجم نمونه بر پاشیدگی. .... ۲۷
- شکل ۷-۲: اثر طول لوله مارپیچ اختلاط بر پاشیدگی. .... ۲۸
- شکل ۸-۲: دستگاه تزریق جریان برای تعیین کلسیم در آب و خروجی ثبات. .... ۳۱
- شکل ۹-۲: دستگاه تزریق برای تعیین کافئین در مواد دارویی استیل سالیسیلیک اسید. .... ۳۲
- شکل ۱۰-۲: تکنیک ادغام مناطق بر پایه پمپاژ متناوب. .... ۳۴
- شکل ۱۱-۲: تکنیک ادغام مناطق براساس استفاده از چند شیر تزریق. .... ۳۴
- شکل ۱۲-۲: شمای یک کانال از پمپ با حرکت دودی. .... ۳۷
- شکل ۱۳-۲: تزریق نمونه به لوپ و ورود نمونه به سیستم. .... ۳۸
- شکل ۱۴-۲: شمای طرح بهینه سازی سادگی. .... ۴۲
- شکل ۱۵-۲: شمای طرح بهینه سازی سادگی با اندازه متغیر. .... ۴۳
- شکل ۱-۳: ساختار متاکرزول پرپل. .... ۵۰
- شکل ۲-۳: طیف جذبی سیستم واکنش. .... ۵۳
- شکل ۳-۳: بررسی اثر غلظت تیواوره بر زمان بازداری. .... ۵۵
- شکل ۴-۳: طرح سیستم FIA برای اندازه گیری تیواوره. .... ۵۶
- شکل ۵-۳: بررسی اثر نوع اسید بر روی اختلاف جذب. .... ۵۹

- شکل ۳-۶: بررسی اثر غلظت سولفوریک اسید بر روی اختلاف جذب ..... ۶۱
- شکل ۳-۷: بررسی اثر غلظت پتاسیم برومات بر روی اختلاف جذب ..... ۶۳
- شکل ۳-۸: بررسی اثر غلظت پتاسیم برمید بر روی اختلاف جذب ..... ۶۵
- شکل ۳-۹: بررسی اثر غلظت متاکرزول پرپل بر روی اختلاف جذب ..... ۶۷
- شکل ۳-۱۰: بررسی اثر سرعت واکنشگرها بر روی اختلاف جذب ..... ۶۹
- شکل ۳-۱۱: بررسی اثر سرعت جریان حامل بر روی اختلاف جذب ..... ۷۱
- شکل ۳-۱۲: بررسی اثر طول مارپیچ واکنش بر روی اختلاف جذب ..... ۷۳
- شکل ۳-۱۳: بررسی اثر حجم نمونه تزریقی بر روی اختلاف جذب ..... ۷۵
- شکل ۳-۱۴: بررسی بهینه سازی به روش سادکی ..... ۸۰
- شکل ۳-۱۵: بررسی اثر دما بر روی اختلاف جذب ..... ۸۲
- شکل ۳-۱۶: بررسی اثر قدرت یونی تزریقی بر روی اختلاف جذب ..... ۸۴
- شکل ۳-۱۷: بررسی اثر قدرت یونی بر روی اختلاف جذب ..... ۸۵
- شکل ۳-۱۸: منحنی FIA مربوط به ناحیه غلظتی ۰/۱۰ تا ۲/۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر تیواوره ... ۹۱
- شکل ۳-۱۹: منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۰/۱۰ تا ۲/۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر تیواوره ... ۹۱
- شکل ۳-۲۰: منحنی FIA مربوط به ناحیه غلظتی ۲/۰ تا ۱۳/۰ میکروگرم بر میلی لیتر تیواوره ..... ۹۳
- شکل ۳-۲۱: منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۲/۰ تا ۱۳/۰ میکروگرم بر میلی لیتر تیواوره ..... ۹۳

## فهرست جدول ها

صفحه

عنوان

- 
- جدول ۳-۱: مواد شیمیایی مورد استفاده ..... ۴۸
- جدول ۳-۲: نتایج حاصل از بررسی اثر نوع اسید بر روی اختلاف جذب ..... ۵۹
- جدول ۳-۳: نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت سولفوریک اسید بر روی اختلاف جذب ..... ۶۱
- جدول ۳-۴: نتایج حاصل از بررسی غلظت پتاسیم برومات بر روی اختلاف جذب ..... ۶۳
- جدول ۳-۵: نتایج حاصل از بررسی غلظت پتاسیم برمید بر روی اختلاف جذب ..... ۶۵
- جدول ۳-۶: نتایج حاصل از بررسی غلظت متاکرزول پرپل بر روی اختلاف جذب ..... ۶۷
- جدول ۳-۷: نتایج حاصل از بررسی سرعت واکنشگرها بر روی اختلاف جذب ..... ۶۹
- جدول ۳-۸: نتایج حاصل از بررسی سرعت جریان حامل بر روی اختلاف جذب ..... ۷۱
- جدول ۳-۹: نتایج حاصل از بررسی اندازه مارپیچ واکنش بر روی اختلاف جذب ..... ۷۳
- جدول ۳-۱۰: نتایج حاصل از بررسی حجم پیچه تزریق بر روی اختلاف جذب ..... ۷۵
- جدول ۳-۱۱: نتایج حاصل از بهینه سازی یک متغیر در یک زمان برای اندازه گیری تیواوره ..... ۷۶
- جدول ۳-۱۲: نتایج حاصل از بررسی برهمکنش بین سولفوریک اسید و پتاسیم برومات ..... ۷۷
- جدول ۳-۱۳: نتایج حاصل از بررسی برهمکنش بین متاکرزول پرپل و پتاسیم برمید ..... ۷۷
- جدول ۳-۱۴: نتایج حاصل از بررسی بهینه سازی به روش سادکی ..... ۷۹
- جدول ۳-۱۵: مقادیر بهینه حاصل از روش سادکی و روش یک متغیر در یک زمان ..... ۸۰
- جدول ۳-۱۶: نتایج حاصل از بررسی اثر دما بر روی اختلاف جذب ..... ۸۱
- جدول ۳-۱۷: نتایج حاصل از بررسی اثر قدرت یونی تزریقی بر روی اختلاف جذب ..... ۸۳
- جدول ۳-۱۸: نتایج حاصل از بررسی اثر قدرت یونی بر روی اختلاف جذب ..... ۸۵
- جدول ۳-۱۹: شرایط بهینه سیستم برای اندازه گیری تیواوره ..... ۸۶

- جدول ۳-۲۰: نتایج حاصل از بررسی اثر گونه های مزاحم در اندازه گیری تیواوره ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر ..... ۸۸
- جدول ۳-۲۱: اطلاعات مربوط به منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۰/۱ تا ۲/۰ میکروگرم بر میلی لیتر تیواوره ..... ۹۰
- جدول ۳-۲۲: اطلاعات مربوط به منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۲/۰ تا ۱۳/۰ میکروگرم بر میلی لیتر تیواوره ..... ۹۲
- جدول ۳-۲۳: بررسی دقت و صحت روش در شرایط بهینه غلظتی و دستگاهی. .... ۹۵
- جدول ۳-۲۴: نتایج حاصل از اندازه گیری تیواوره در نمونه های حقیقی ..... ۹۷
- جدول ۴-۱: مقایسه روش جریان تزریق برای اندازه گیری تیواوره با روشهای دیگر ..... ۱۰۰

# فصل اول:

مقدمه



## ۱-۱- تیواوره

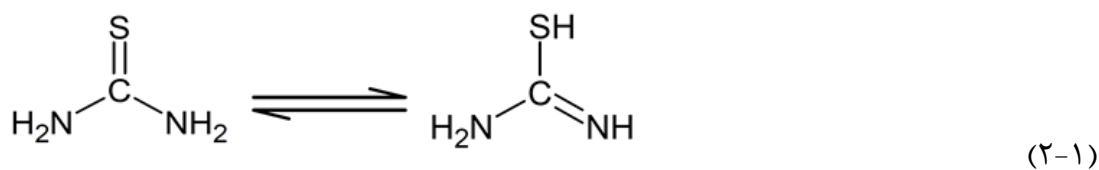
تیواوره ماده‌ای جامد، بی‌رنگ، متبلور و به صورت منشور یا سوزنی شکل است که نقطه ذوب آن ۱۸۰ تا ۱۸۲ درجه سلسیوس بوده و دارای فرمول بسته  $\text{CH}_4\text{N}_2\text{S}$  و فرمول باز زیر است:



تیواوره ماده‌ای محلول در آب و اندکی محلول در اتر می‌باشد. نام دیگر تیواوره، تیوکربامید است.

تیواوره هنگامی که در معرض حرارت قرار گیرد تجزیه شده و به آمونیوم تیوسیانات تبدیل می‌شود [۱].

تیواوره ماده گوگرد دار مشابه اوره است و مانند آن با هیدروکربن‌ها، تشکیل ترکیبات افزایشی و دارای زنجیره جانبی آلیسیکلک و زنجیره خطی (یا راست زنجیر) دارای بیشتر از ۱۴ اتم می‌دهد. از نظر شیمیایی، تیواوره دارای حالت توتومری است که می‌توان آن را در فرمول زیر نشان داد:



این ترکیب اغلب به شکل طرف دوم فرمول وارد واکنش‌ها می‌شود و به نام شبه تیواوره<sup>۱</sup> نامیده می‌شود.

بنابراین با یک آلکیل هالید، مانند اتیل برمید، اتیل تیویورونیوم برمید تشکیل خواهد داد:

---

1-Pseudo thiourea



ضمناً املاح تیوپورونیوم، مصارفی در زمینه تهیه مرکابتانها و کلریدهای آلکیل سولفونیل یافته اند.

بنزیل تیوپورونیوم کلرید به فرمول (4-1) معرف با ارزشی در زمینه تعیین هویت اسیدهای آلی محسوب می گردد، زیرا با نمک سدیم یک اسید، تولید نمک تیوپورونیوم بلورین خواهد نمود.



تراکم تیواوره با استرهای مالونیک استخلاف شده باعث ایجاد مشتقات اسید تیوباربیتوریک می گردد.

از تیوباربیتوراتها، 1-متیل بوتیل اتیل تیوباربیتورات سدیم یا سدیم پنتوتال به فرمول (5-1) ایجاد می شود که به عنوان یک نوع داروی بیهوشی جهت کاهش میزان مصرف داروهای بیهوشی عمومی به کار می رود [2].



## ۱-۲- کاربردهای تیواوره

تیواوره کاربردهای گسترده‌ای در کشاورزی، صنعت، پزشکی و تجزیه دارد. که برخی از این کاربردها عبارت است از:

از محلول آبی تیواوره به عنوان یک عامل لیچینگ برای طلا استفاده می‌شود [۳].

در بخش کشاورزی به عنوان ترکیبات کود شیمیایی، قارچ‌کش، علف‌کش و کشنده جانوران جونده و همچنین برای کاهش محتوی باکتری‌های شوره ساز در خاک مورد استفاده قرار می‌گیرد [۴].

برای القا رسیدن زود هنگام در میوه‌های مختلف استفاده می‌شود [۴].

در شیمی تجزیه به عنوان معرف اسپکتروفتومتری برای تعیین فلزات مورد استفاده قرار می‌گیرد [۴].

به عنوان یک معرف برای الکترولیت‌های مس پالایشگاه استفاده می‌شود [۴].

به طور گسترده در عکاسی به عنوان عامل ثابت کننده و همچنین حذف لکه‌ها از فیلم عکاسی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۴].

از تیواوره و مشتقات آن به عنوان افزودنی‌های کلاسیک برای رسوب‌گیری الکترودی مس و دیگر فلزات استفاده می‌شود [۵].

## ۱-۳- اثرات سمیت تیواوره

اثرات سمی تیواوره و ترکیبات مشابه ناشی از مزاحمت متابولیسم کربوهیدرات بوده و ممکن است باعث ایجاد گواتر مزمن و بیماری‌های غددی در انسان شود. به علاوه تیواوره و مشتقات آن خواص آلرژی‌زا و سرطان‌زا را نشان داده‌اند. همچنین مشخص شده است که حضور تیواوره در آب و

خاک باعث کاهش ازت‌گیری می‌شود بنابراین اندازه‌گیری و کنترل میزان تیواوره بخصوص میزان آن در آب و خاک از اهمیت زیادی برخوردار است [۶]. با توجه به کارهای صورت گرفته در اندازه‌گیری تیواوره مشخص شده است که در غلظت‌های کمتر از ۷۶ ppb معمولا اثرات سمیت آن قابل اغماض است [۴].

#### ۴-۱- مروری بر کارهای انجام شده برای اندازه‌گیری تیواوره

روش‌های مورد استفاده برای اندازه‌گیری تیواوره در فاضلاب دارای سه مشکل است:

۱- معمولا نمونه‌های فاضلاب مورد بررسی شامل گروه وسیعی از ترکیبات آلی هستند که این ترکیبات نسبتا در مقادیر بزرگ (در مقیاس ppm یا بیشتر) موجود هستند.

۲- تیواوره در آب بسیار محلول بوده و در حلال‌های استخراج کننده مثل دی اتیل اتر، کلروفرم یا کلرید متیلن تقریبا نامحلول است. بنابراین استخراج آن امکان پذیر نیست به همین دلیل استخراج فاز جامد کارایی لازم را ندارد و تنها کسر کوچکی از تیواوره روی کارت ریج استخراج جذب می‌شود.

۳- تیواوره فراریت کمی داشته و به آسانی توسط کروماتوگرافی گازی آنالیز نمی‌شود [۴].

با وجود مشکلات فوق روش‌های متعددی برای اندازه‌گیری تیواوره گزارش شده است که در اینجا فقط به روش‌های اندازه‌گیری تیواوره اشاره می‌شود.

در سال ۱۹۷۱ پای<sup>۱</sup> و همکارانش یک روش پتانسیومتری جهت اندازه‌گیری تیواوره به وسیله تیتراسیون پتانسیومتری با نیترات نقره توسط یک الکتروود گزینشی سولفید را گزارش دادند. حد تشخیص این روش،  $۱۰^{-۳}$  مولار گزارش شده است [۷].

---

1- Papay

در سال ۱۹۷۷ ورما<sup>۱</sup> و همکارانش اندازه گیری تیواوره در آب ، متانول و استیک اسید گلاسیال را به وسیله واکنش با ید تری کلرید در حضور جیوه کلرید گزارش دادند. اضافه تری کلرید ید به وسیله افزودن پتاسیم یدید و تیتراسیون با تیوسولفات تعیین می شود. حد تشخیص روش ۰/۲ مولار گزارش شده است [۸].

در سال ۱۹۷۸ آ-سیجانسکی<sup>۲</sup> و همکارانش یک روش گراویمتری بر پایه تشکیل رسوب جیوه سولفید را برای اندازه گیری تیواوره و مشتقاتش گزارش دادند. اسید نیتریک غلیظ به نیترات جیوه ۰/۱ مولار اضافه شده، محلول با آمونیاک قلیایی شده و تیواوره حل شده در محلول آمونیاکی به مخلوط اضافه شده و مخلوط جوشانده می شود. رسوب ایجاد شده صاف و شسته شده و میزان تیواوره مشخص می شود. حد تشخیص روش ۰/۰۱ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش شده است [۹].

در سال ۱۹۸۴ عبدالکادر<sup>۳</sup> و همکارانش توسط روش اسپکتروفوتومتری تعیین کمی یون های تیوسولفات، تیوسیانات و تیواوره را مورد بررسی قرار دادند. ناحیه خطی برای یون های تیوسولفات، تیوسیانات و تیواوره  $10^{-4}$  تا  $10^{-3}$  مولار گزارش شده است [۱۰].

در سال ۱۹۸۴ پنتل<sup>۴</sup> و همکارانش یک روش سینتیکی-کاتالیتیکی را برای اندازه گیری تیواوره به وسیله روش اسپکتروفوتومتری گزارش دادند. در این روش از معرف رنگی بروموپیروگالول رد<sup>۵</sup> استفاده شد که غلظت آن در طول واکنش ثابت نگه داشته شد. در این بررسی در محلول هایی با pH=۴ فعالیت کاتالیتیکی تیواوره و غلظت آن در واکنش با ید با تغییر استخلاف ایجاد شده تعیین شد. ناحیه خطی و حد تشخیص روش به ترتیب ۰/۱ تا ۱/۰ و ۰/۰۷ میلی مول بر لیتر، تیواوره گزارش شده است [۱۱].

---

۱-Verma

۲- A.Cyganski

۳- Abd El-Kader

۴- Pantel

۵- Bromo pyrogallol red

در سال ۱۹۹۵ رویز<sup>۱</sup> و همکارانش یک روش جریان تزریقی را برای تعیین فلئورومتري تيواوره گزارش دادند. اين روش براساس اكسيداسيون سريع تيواوره توسط تاليم (III) با تشكيل پيوسته فلئورسن تاليم (I)<sup>۲</sup> می باشد. ناحیه خطی بین  $5 \times 10^{-7}$  تا  $1 \times 10^{-5}$  مولار گزارش شده است [۱۲].

در سال ۱۹۹۵ کاملجنووویس<sup>۳</sup> و همکارانش توسط یک الکتروود گزینش پذیر نسبت به یدید با حالت جامد چند منظوره به عنوان یک سنسور فشرده لوله‌ای با قطر داخلی ۲ میلی‌متر و طول ۱/۲ میلی‌متر اندازه‌گیری مقادیر کم تيواوره را در حضور  $\text{HClO}_4$  با غلظت ۰/۱ مولار به عنوان الکتروولیت حامل در یک سیستم جریان تزریقی اندازه‌گیری کردند. حد تشخیص ۲۰ میکرومولار گزارش شده است [۱۳].

در سال ۱۹۹۷ رافائلی<sup>۴</sup> و همکارانش یک روش سریع برای اندازه‌گیری مستقیم تيواوره در فاضلاب با حداقل نمونه توسط طیف سنجی جرمی یونش شیمیایی فشار هوایی ارائه دادند. محدوده خطی بین ۰/۰۱ تا ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و حد تشخیص روش ۰/۰۰۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است [۱۴].

در سال ۱۹۹۹ هی<sup>۵</sup> و همکارانش با استفاده از روش شیمی لومینسانس نشر حاصل از تيواوره در اكسيداسيون با پرمنگنات در محلول اسیدی را در حضور تریس (۲و۲- بی پیریدیل) روتنیم اندازه‌گیری کردند. ناحیه خطی  $1/8 \times 10^{-8}$  تا  $1/8 \times 10^{-6}$  و حد تشخیص  $1 \times 10^{-8}$  مولار گزارش شده است [۱۵].

---

1- Ruiz

۲- Fluorescent thallium(I)

۳- Komljenov

4- Raffaelli

5- He

در سال ۲۰۰۱ رتمیر<sup>۱</sup> و همکارانش یک روش سریع کروماتوگرافی مایع برای اندازه‌گیری تیواوره در نمونه‌های طبیعی و تازه تهیه شده در حمام قلع را توسط یک ستون سیلیکا و با آب دوبار تقطیر انجام دادند. حد تشخیص این روش، ۲/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است [۱۶].

در سال ۲۰۰۱ کارگشا<sup>۲</sup> و همکارانش اندازه‌گیری کمی تیواوره را در محلول آبی اسیدی شده با سولفوریک اسید در حضور سولفور دی‌اکسید انجام دادند. این روش بر مبنای رفتار حداقل مربعات جزئی داده‌های به دست آمده توسط تضعیف بازتابش کلی<sup>۳</sup> روش اسپکتروسکوپی<sup>۴</sup> (FT-IR) در محدوده طول موج  $1350 \text{ Cm}^{-1}$  تا  $1450 \text{ Cm}^{-1}$  است. این روش در حضور غلظت زیادی از سولفور دی‌اکسید و نمک‌های معدنی انجام پذیر است [۵].

در سال ۲۰۰۴ الیوریا<sup>۵</sup> و همکارانش واکنش بین کوئینولین با تیواوره را برای اندازه‌گیری تیواوره در آب میوه بررسی کردند. بعد از واکنش کوئینولین با تیواوره، طیف UV-Vis پیوندهای جدید را نشان داد. حد تشخیص این روش، ۰/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است [۱۷].

در سال ۲۰۰۵ کورزاوا<sup>۶</sup> و همکارانش با استفاده از تکنیک توقف جریان رفتار ۲-تیواوره، ۱-متیل ۲-تیواوره، ۳-دی‌متیل ۲-تیواوره و ۱،۳-تترا-متیل ۲-تیواوره را در القاء واکنش ید با آزید بررسی کردند. این تکنیک پیشرفت واکنش را به دنبال نظارت بر کاهش جذب کمپلکس ید-نشاسته در طول موج ۵۹۵ نانومتر دنبال می‌کرد. محدوده خطی برای تیواوره، ۱-متیل ۲-تیواوره و ۳-دی‌متیل ۲-تیواوره ۰/۲ تا ۵/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است [۱۸].

---

1- Rethmeier

2- Kargosha

3-Attenuated Total Reflectance

۴-Fourier Transform Infrared

5- Olivera

6- Kurzawa

در سال ۲۰۰۶ مانعا<sup>۱</sup> و همکارانش با استفاده از یک الکتروود مس اکسید- مس<sup>۲</sup> شده در محیط بازی متوسط تیواوره را اندازه گیری کردند. ترکیب شیمیایی و مورفولوژی لایه های سطحی با استفاده از تکنیک SEM/EDX مورد بررسی قرار گرفت. داده های الکتروشیمیایی توسط ولتامتری چرخه ای و کرومآمپرومتری به دست آمد. ناحیه خطی بین ۱ تا ۸ میلی مولار گزارش شده است [۱۹].

در سال ۲۰۰۹ عباسی<sup>۳</sup> و همکارانش یک روش حساس گزینشی و سینتیکی ساده برای اندازه گیری مقادیر اندک تیواوره بر پایه اثر کاتالیزوری تیواوره بر روی اکسیداسیون جونز سبز<sup>۴</sup> در محیط فسفریک اسید و سورفاکتانت تریتون X-100 به وسیله پتاسیم یدات بدون هیچ گونه مرحله جداسازی و پیش تغلیظ به کار بردند. واکنش به طور اسپکتروفتومتری به وسیله تشکیل محصول اکسید شده در ۶۱۷ نانومتر بررسی شد. ناحیه خطی و حد تشخیص این روش به ترتیب ۰/۰۳۰ تا ۱۰ و ۰/۰۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش شده است [۴].

در سال ۲۰۱۰ عباسی و همکارانش یک روش سینتیکی-کاتالیتیکی برای اندازه گیری تیواوره بر اساس اثر کاتالیتیکی تیواوره در اکسیداسیون جونز سبز با یدات پتاسیم در هیدروکلریک اسید را بررسی کردند. ناحیه خطی بین ۰/۰۱ تا ۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر و حد تشخیص ۰/۰۰۸ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش شده است [۶].

در سال ۲۰۱۱ لونت<sup>۵</sup> و همکارانش توسط تکنیک ولتامتری چرخه ای و ولتامتری موج مربعی ویژگی های الکتروشیمیایی تیواوره را در pH فسفاتی ۲ تا ۱۲ بررسی کردند. این ترکیب به طور برگشت ناپذیر در سطح الکتروود گرافیت مدادی در دو مرحله اکسید می شود. ناحیه خطی ۶/۳ تا ۳۰ و حد تشخیص ۱/۲۹ میکرو مولار برای این روش گزارش شده است [۲۰].

---

1- Manea

۲- Copper oxide-copper electrode

3- Abbasi

۴- Janus green

۵- Levent



در این کار تحقیقاتی تیواوره با استفاده از تکنیک تزریق در جریان پیوسته اندازه‌گیری شده است. تا کنون در هیچ کدام از کارهای انجام شده، تیواوره توسط روش تزریق در جریان با استفاده از اثر بازداری آن بر واکنش متاکرزول پرپل با برومات اندازه‌گیری نشده است.

فصل دوم:

تئوری

## ۱-۲- روش‌های سینتیکی و کاربرد آن‌ها در شیمی تجزیه

### ۱-۱-۲- تعریف سینتیک

سینتیک شیمیایی علم مطالعه سرعت واکنش‌ها و بررسی تاثیر شرایط روی این سرعت‌ها می‌باشد. علم سینتیک علاوه بر تعیین سرعت واکنش‌ها، به مکانیسم آن‌ها نیز می‌پردازد. واضح است که چنین علم فراگیری، ارتباط‌های قوی و مستحکمی با سایر شاخه‌های علوم مانند دینامیک، مکانیک آماری و اسپکتروسکوپی دارد [۲۱].

### ۲-۱-۲- سرعت واکنش‌ها

هر واکنش شیمیایی با سرعت خاصی انجام می‌شود که این سرعت تابعی از شرایط انجام واکنش مانند دما، فشار، غلظت گونه‌های درگیر در واکنش، قدرت یونی و حضور یا عدم حضور کاتالیزور می‌باشد. بعضی واکنش‌ها با سرعت بسیار زیاد انجام می‌شوند در حالی که بعضی دیگر گرچه ممکن است از نظر ترمودینامیکی انجام پذیر باشند ولی می‌توان واکنشگرها را سال‌های طولانی در کنار یکدیگر قرار داد بدون این که واکنشی انجام شود، که این نشان از سینتیک بسیار کند واکنش دارد.

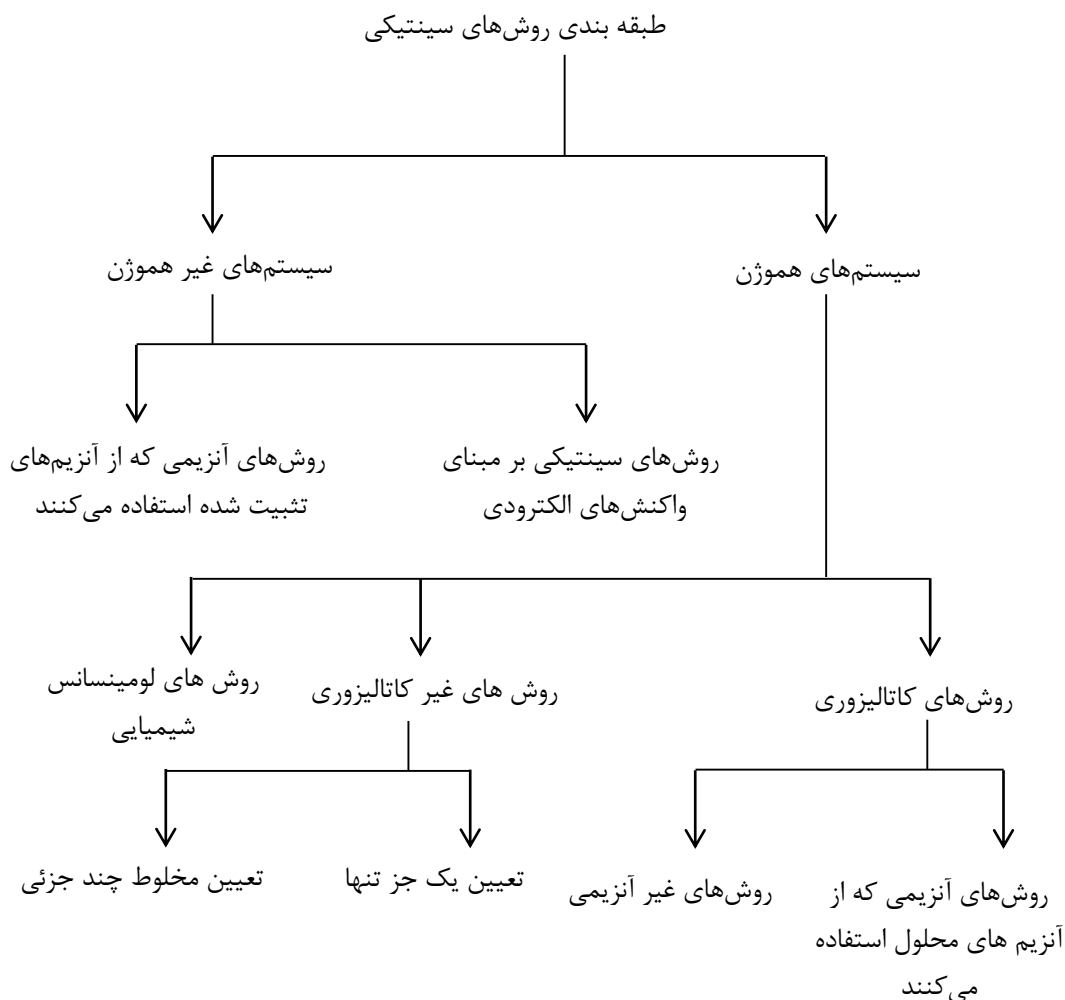
تعیین مقدار یک گونه معین به روش سینتیکی براساس اندازه‌گیری مستقیم یا غیر مستقیم سرعت واکنش آن گونه می‌باشد، که شامل اندازه‌گیری تغییر غلظت محلول یا واکنشگر به صورت تابعی از زمان می‌باشد. در طی انجام فرایند غلظت واکنش دهنده‌ها و محصولات و سرعت تغییر این غلظت‌ها نیز تغییر می‌کند و هنگامی که واکنش کامل می‌شود این سرعت به صفر می‌رسد [۲۲].

## ۲-۱-۳- تقسیم بندی روش های سینتیکی

روش های سینتیکی را می توان براساس معیارهایی از قبیل شیمی واکنش های به کار رفته، به طریقه مخلوط کردن محلول واکنش دهنده ها و روش های اندازه گیری تقسیم بندی نمود. بر اساس شیمی واکنش های به کار گرفته می توان روش های سینتیکی را به سیستم های هموژن<sup>۱</sup> و سیستم های غیر هموژن<sup>۲</sup> تقسیم بندی کرد.

هر کدام از این سیستم ها را نیز می توان به سیستم های کوچکتری تقسیم بندی کرد که این

تقسیم بندی در شکل (۱-۲) خلاصه شده است [۲۳].



شکل ۱-۲: طبقه بندی روش های سینتیکی براساس شیمی واکنش ها [۲۳].

- 
- 1- Homogeneous System
  - 2- Heterogeneous System

## ۲-۱-۴- روش‌های اندازه‌گیری بر پایه تغییر سرعت واکنش‌های کاتالیز شده در محلول

کاربرد مهم گسترش روش‌های تجزیه‌ای بر پایه تغییر سرعت واکنش‌های کاتالیز شده در اندازه-گیری گونه‌های آلی است. تغییر سرعت واکنش‌های کاتالیز شده با این گونه‌ها امکان دستیابی به حد تشخیص‌های پایین و حساسیت‌های بالا را در روش‌های کاتالیزوری برای گونه‌هایی که معمولاً از نظر شیمیایی غیر کاتالیزوری اند فراهم می‌سازد.

تأثیر گونه‌های مختلف در تغییر اثرات کاتالیزوری و استفاده تجزیه‌ای آن‌ها به ویژه در مورد سیستم‌های کاتالیز شده با یون‌های فلزی مورد توجه قرار گرفته است. روش‌های تجزیه‌ای مبتنی بر تغییر سرعت واکنش‌ها بر اساس دو پدیده متضاد هم هستند:

الف: بازداری<sup>۱</sup>

ب: فعال‌سازی<sup>۲</sup>

هر کدام از این پدیده‌ها می‌توانند برای اندازه‌گیری گونه تغییر دهنده سرعت یا در بعضی موارد برای افزایش حساسیت بر اندازه‌گیری خود کاتالیزور فلزی به کار روند.

## ۲-۱-۴-۱- بازداری

بازدارنده‌ها گونه‌های شیمیایی هستند که با کاتالیزور ترکیب می‌شوند تا برخی از انواع کمپلکس‌ها را تشکیل دهند. این کمپلکس‌ها می‌توانند اثر کاتالیزوری کمتری نسبت به یون فلزی آزاد اعمال نمایند (بازداری جزئی) یا تشکیل کمپلکس کاتالیزور را کاملاً غیر فعال سازد (بازداری کامل). در هر دو حالت تأثیر بر روی سرعت واکنش متناسب با غلظت بازدارنده است و می‌تواند برای اندازه‌گیری آن به کار رود.

---

۱- Inhibition

۲- Activation

روشی که معمولاً برای نشان دادن کاهش سرعت واکنش در سیستم‌هایی که حاوی مقادیر ثابتی از کاتالیزور هستند به کار می‌رود شامل اضافه کردن مقادیری از بازدارنده‌ها برای به دست آوردن منحنی‌های کالیبراسیون از طریق روش سرعت اولیه یا روش تانژانت می‌باشد. این روش حد تشخیص نسبتاً خوبی دارد اما دامنه خطی غلظت‌های قابل اندازه‌گیری محدود است [۲۴].

## ۲-۱-۴-۲- فعال‌سازی

فعال‌سازی، یک اصلاح اثر کاتالیزوری است که از دیدگاه تجزیه‌ای باعث حساسیت بهتر و حد تشخیص پایین‌تر در یک اندازه‌گیری کاتالیزوری می‌شود. در کاتالیز هموژن یک فعال‌کننده به صورت یک گونه شیمیایی تعریف می‌شود که واکنش شیمیایی را کاتالیز نمی‌کند ولی حضورش باعث افزایش قابل توجهی در سرعت واکنش می‌شود. فعال‌کننده‌ها بسته به نقش کاتالیزور، برهمکنش فعال‌کننده با کاتالیزور و مرحله‌ای از واکنش که به واسطه حضور فعال‌کننده متاثر می‌شود به سه گروه طبقه بندی می‌شود:

الف: فعال‌کننده‌هایی که بر روی برهمکنش کاتالیزور-واکنشگر موثرند.

ب: فعال‌کننده‌هایی که در تولید دوباره کاتالیزور شرکت می‌کنند.

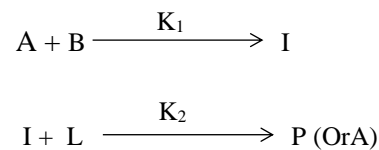
ج: فعال‌کننده‌هایی که به طور غیر مستقیم در فرآیندهای کاتالیزوری اثر می‌گذارند.

## ۲-۱-۵-اندازه‌گیری براساس زمان القائی

اندازه‌گیری براساس مدت زمان القائی می‌تواند برای برخی از واکنش‌های کاتالیزوری که در آن‌ها فاصله زمانی بین مخلوط کردن واکنشگرها و ظاهر شدن تغییر در ترکیب شیمیایی سیستم کند است، به کار گرفته شود. برای مثال واکنش آهسته ردوکس شامل هالوژن‌ها در حالت‌های اکسایش مختلف، زمان القائی را نشان می‌دهد.

لندولت<sup>۱</sup> نخستین کسی بود که این رفتار را مشاهده کرد و این روش اندازه‌گیری اثر لندولت نامیده شد.

یک طرح ساده و عمومی برای واکنش‌های لندولت می‌تواند به صورت زیر نوشته شود:



که در آن  $k_1 < k_2$  است. به دلیل تفاوت سرعت دو واکنش، محصول I تنها وقتی می‌تواند تشخیص داده شود که واکنشگر L (واکنشگر لندولت) مصرف شده باشد. اگر یک کاتالیزور بتواند انرژی فعال‌سازی واکنش بین گونه‌های I و L را کاهش دهد، مدت زمان القائی می‌تواند برای تخمین غلظت کاتالیزور به کار رود. در بیشتر موارد رابطه زیر اساس اندازه‌گیری کاتالیزور را تشکیل می‌دهد:

$$[C] = \frac{\beta}{t_{ip}} \quad (1-2)$$

که در این رابطه [C] غلظت کاتالیزور بر حسب مول بر لیتر،  $t_{ip}$  مدت زمان القائی بر حسب ثانیه و  $\beta$  یک مقدار ثابت است [۲۵].

---

<sup>۱</sup> - Landolt

اندازه‌گیری فنیل هیدرازین<sup>۱</sup>[۲۶]، تیوسیانات<sup>۲</sup>[۲۷] و همچنین اندازه‌گیری تیواوره در این پروژه از جمله روش‌هایی هستند که براساس افزایش مدت زمان القائی به کار گرفته شده‌اند.

## ۲-۲- آنالیز تزریق در جریان پیوسته (FIA)

در چندین سال گذشته یکی از پیشرفت‌های مهم در شیمی تجزیه که تحول زیادی در تجزیه مواد مختلف ایجاد کرده است، ابداع سیستم‌های تجزیه خودکار بوده است. این سیستم‌ها که قادرند نتایج تجزیه‌ای زیادی را با کمترین دخالت نیروی انسانی فراهم آورند، در ابتدا برای استفاده در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی طراحی شدند. در این آزمایشگاه‌ها باید تعداد بسیار زیاد نمونه با قیمت ارزان تجزیه شوند در واقع دو عامل کثرت تعداد نمونه و نیاز به کاهش هزینه، سبب تکمیل و پیشرفت تدریجی روش‌های تجزیه خودکار شدند. امروزه دستگاه‌های تجزیه خودکار، کاربردهای زیادی در زمینه‌های مختلف پیدا کرده‌اند. در کنترل کیفی فرآیندهای صنعتی و برای اندازه‌گیری روزمره انواع مختلفی از ذرات و گونه‌های شیمیایی موجود در هوا، خاک و محصولات دارویی و کشاورزی از روش‌های تجزیه خودکار استفاده می‌شود[۲۸]. روش تجزیه‌ای تزریق در جریان یکی از انواع روش‌های تجزیه خودکار می‌باشد که در سال‌های اخیر مقالات مختلفی در این باره به چاپ رسیده است. در اینجا سعی شده است توضیحات مختصری برای آشنایی کلی با این روش ارائه شود.

### ۲-۲-۱- انواع سیستم‌های تجزیه خودکار

دستگاه‌های تجزیه خودکار براساس یکی از فرآیندهای گسسته جریان و پیوسته جریان و گاهی اوقات نیز ترکیبی از این دو طراحی می‌شوند.

---

1- Phenylhydrazine  
2- Thiocyanate



## ۲-۱-۱-۲-۱- تجزیه‌گرهای گسسته جریان

در یک دستگاه گسسته، نمونه‌های منفرد به صورت مواد جداگانه طی هر عملیات واحد نگه داشته می‌شوند. از آنجا که دستگاه‌های گسسته براساس استفاده از ظروف منفرد استوارند، آلودگی بین نمونه‌ها به طور کامل حذف می‌شود. سیستم‌های گسسته اغلب تعدادی قطعات متحرک مانند سرنگ، شیر و وسایل مکانیکی برای انتقال نمونه‌ها یا بسته‌های واکنشگر از یک قسمت سیستم به قسمت دیگر دارند. در اکثر سیستم‌های گسسته پیچیده، عملیات واحد مختلف به وسیله روبات‌های رایانه‌ای انجام می‌شوند که قادرند اعمال را همانند انسان انجام دهند. استفاده از برخی از عملیات واحد با سیستم‌های پیوسته جریان امکان‌پذیر نیست، زیرا چنین سیستم‌هایی تنها قادرند نمونه‌های مایع را مورد عمل قرار دهند بنابراین، هنگامی که تجزیه مواد جامد مورد نظر است یا هنگامی که خرد کردن، توزین، افزودن، ذوب یا صاف کردن در یک تجزیه لازم باشد، خودکارسازی تنها با سیستم‌های گسسته امکان‌پذیر است [۲۹].

## ۲-۱-۲-۲- تجزیه‌گرهای پیوسته جریان

در سیستم‌های پیوسته جریان، نمونه بخشی از یک جریان گذرا است که در آن چند عملیات واحد، طی مدتی که نمونه از نقطه تزریق به داخل واحد اندازه‌گیری جریان پیدا می‌کند انجام می‌شود. به طور کلی هر دو دستگاه گسسته و پیوسته قابلیت کنترل با رایانه را دارند.

برهمکنش بین نمونه‌ها، در سیستم‌های پیوسته به ویژه هنگامی که سرعت نمونه‌گیری افزایش یابد، همیشه مشکل‌آفرین است. در اینجا احتیاط‌های لازم برای به حداقل رساندن آلوده شدن نمونه لازم است. تجزیه‌گرهای پیوسته جریان جدید عموماً در مقایسه با دستگاه‌های گسسته از نظر مکانیکی ساده‌تر و ارزان‌ترند. در واقع در بسیاری از سیستم‌های پیوسته، تنها قطعات متحرک سیستم،

پمپ‌های با حرکت دودی و شیرهای دو طرفه است. این اجزای سازنده هر دو ارزان و مطمئن هستند [۲۹].

## ۲-۲-۲- انواع روش‌های جریان پیوسته

### ۲-۲-۲-۱- روش جریان منقطع<sup>۱</sup>

برای اولین بار تجزیه‌گرهای جریانی منقطع در دهه ۱۹۶۰ و ۱۹۷۰ برای اندازه‌گیری خودکار اوره و گلوکز در نمونه‌های خون به کار گرفته شدند. در این روش نمونه‌ها به وسیله یک محلول آبی گذرا (جریان حامل) که به نام جریان تجزیه‌ای نیز خوانده می‌شود که حاوی حباب‌های هوایی خیلی نزدیک به هم‌اند از درون سیستم به آشکارساز حمل می‌شوند به گونه‌ای که این حباب‌ها پیش از رسیدن به آشکارساز حذف می‌شوند.

در این تجزیه‌گرها، حباب‌های هوا فاصله کمی از هم داشته و به دلایل زیر به کار گرفته می‌شوند:

۱- حباب‌های هوا پخش شدن نمونه را کم می‌کند.

۲- از آلودگی عرضی نمونه‌های متوالی<sup>۲</sup> جلوگیری می‌کنند.

۳- موجب تمیز شدن دیواره لوله‌های حامل می‌گردند.

۴- پیک‌های غلظتی به صورت تیز در لبه‌های جلو و عقب آن حفظ می‌شود و در واقع پیک‌های متقارن برای هر نمونه ایجاد می‌گردد.

۵- مخلوط کردن واکنشگرها بهتر انجام می‌شود.

---

1- segmented flow

2- Cross contamination

استفاده از سیستم‌های جدا شده به وسیله حباب‌های هوا علاوه بر مزایای فوق دارای معایب زیر هستند:

۱- جریان منظم نیست و حالت ضربانی دارد زیرا هوا راحت‌تر از مایع درون لوله‌ها فشرده می‌شود.

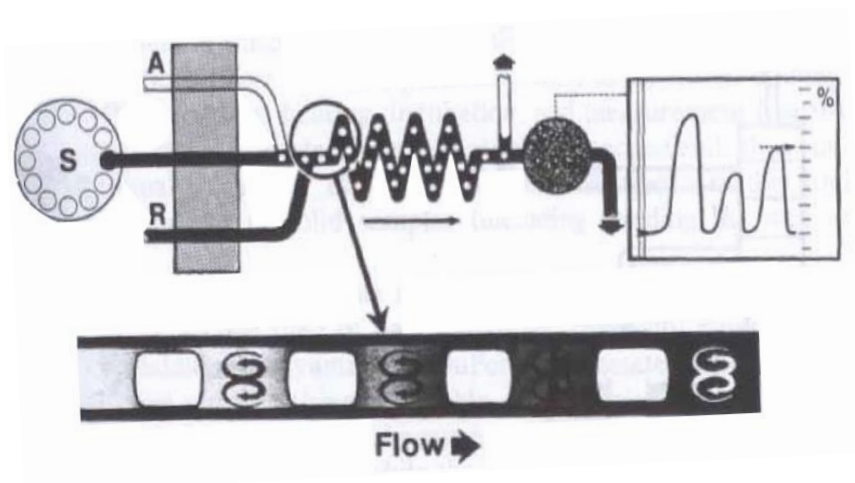
۲- جریان قبل از آشکارساز باید حباب‌گیری شود.

۳- حباب‌های هوا در لوله‌های پلاستیکی، الکتروسیسته ساکن ایجاد کرده و در نتیجه بر پاسخ آشکارساز-های پتانسیومتری تاثیر می‌گذارند.

۴- جابجایی جریان یا متوقف کردن و دوباره به راه انداختن آن، با دقت خوبی قابل کنترل نیست.

با توجه به محدودیت‌های اشاره شده در بالا، روش‌های تجزیه جریانی منقطع با روش‌های جریان پیوسته (غیر منقطع) یعنی روش تزریق در جریان (FIA) جایگزین شد [۲۹].

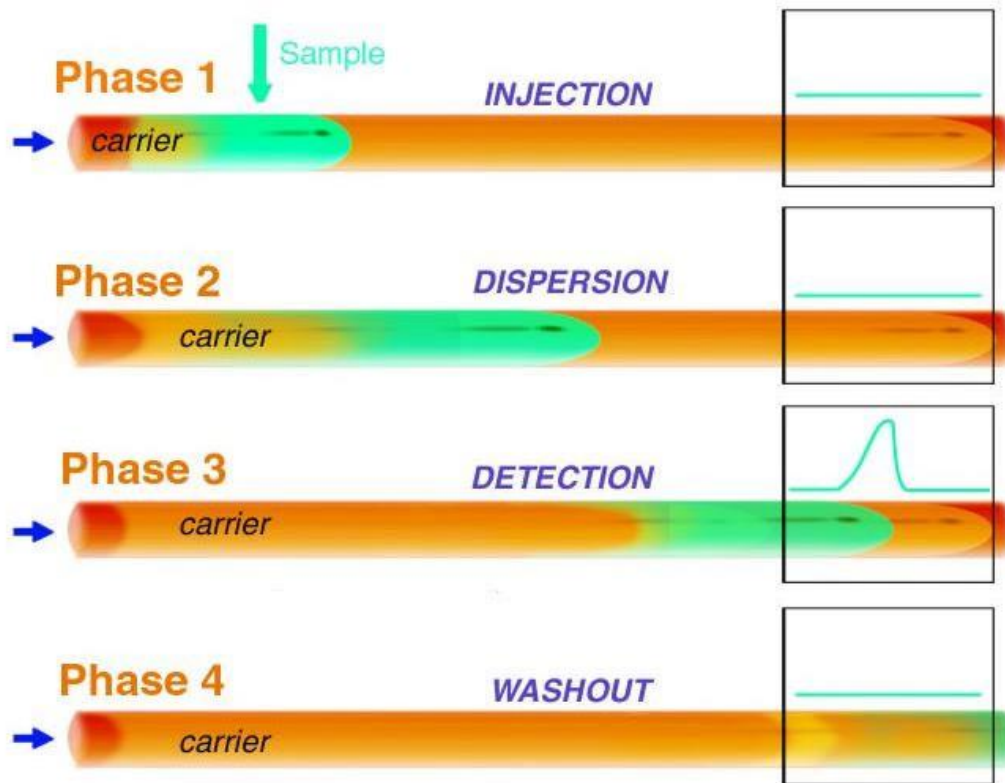
شکل ساده‌ای از یک تجزیه‌گر جریان منقطع در شکل (۲-۲) نشان داده شده است.



شکل ۲-۲: طرح یک تجزیه‌گر جریان منقطع. R: واکنشگر، S: نمونه، A: هوا [۳۰].

## ۲-۲-۲-۲- روش تزریق در جریان<sup>۱</sup>

روش تزریق در جریان پیوسته یک روش جریانی پیوسته و غیر منقطع می‌باشد که در اواسط دهه هفتاد به عنوان روشی برای آنالیز نمونه‌ها ارائه شد. بر خلاف روش جریان منقطع در این روش جریان تجزیه‌ای کاملاً پیوسته بوده و نمونه مورد آزمایش در مسیر جریان حامل تزریق می‌شود. نمونه پس از تزریق با اجزا جریان حامل واکنش کرده و سپس به سمت آشکارساز برده می‌شود و در آنجا شدت جذب، پتانسیل الکترودی و یا هر خاصیت فیزیکی دیگری که در اثر عبور نمونه به طور پیوسته تغییر نماید مورد اندازه‌گیری قرار می‌گیرد. شکل (۲-۳) مراحل آنالیز تزریق در جریان را نشان می‌دهد. عدم حضور حباب‌های هوا در روش تزریق جریان نسبت به روش جریان منقطع، سرعت زیادتر تجزیه، زمان‌های جواب سریع‌تر، زمان‌های آغاز و اتمام بسیار سریع‌تر و دستگاه‌های ساده‌تر و انعطاف‌پذیرتر را سبب می‌شود [۲۹].



شکل ۲-۳: مراحل آنالیز تزریق در جریان [۳۱].

## ۲-۲-۲-۲-۱- مزایای سیستم‌های تزریق در جریان

### ۲-۲-۲-۲-۱-۱- انتخاب پذیری

سیستم FIA ممکن است انتخاب پذیری بالاتری را نسبت به روش‌های معمولی نشان دهد. از آنجایی که عوامل مختلفی بر انتخاب پذیری تاثیر می‌گذارند با کنترل طول مارپیچ واکنش آنقدر که واکنش گسترش پیدا نکند می‌توان از تداخل ناشی از گونه‌های دیگر جلوگیری کرد. FIA یک سیستم سر بسته است و نقش مهمی را در توسعه روش‌هایی که نیازمند اتمسفر خنثی یا عدم حضور جو هستند را ایفا می‌کند [۳۲].

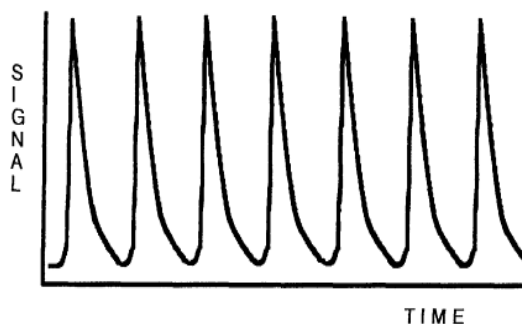
## ۲-۲-۲-۱-۲- تکرارپذیری

بسیاری از عوامل بر تکرارپذیری سیگنال FIA موثرند که شامل: دما، حالت تزریق و به خصوص سرعت جریان می‌باشد. سرعت جریان یک فاکتور بسیار موثر بر سیگنال FIA است که می‌تواند به روش‌های زیر کنترل شود [۳۲]:

۱- با استفاده از یک پمپ

۲- با جایگزینی لوله‌های پمپ

شکل (۲-۴) پاسخ یک آشکارساز نوعی را در یک سیستم FIA، برای یک محلول رنگی که به صورت تکرارپذیر به سیستم تزریق شده نشان می‌دهد. از روی این شکل تکرارپذیری بسیار عالی سیستم‌های FIA به خوبی مشخص است [۳۳].



شکل ۲-۴: پاسخ یک آشکارساز نوعی به محلول رنگی که به طور متوالی به سیستم تزریق شده است [۳۳]

## ۲-۲-۲-۱-۳- سرعت نمونه‌گیری بالا

سیستم FIA در مقایسه با روش‌های معمولی سرعت قابل ملاحظه‌ای دارد. با افزایش سرعت جریان، سرعت نمونه‌گیری افزایش می‌یابد اما در سیستم‌هایی که در آن‌ها واکنش شیمیایی انجام می‌شود با افزایش سرعت جریان حساسیت کاهش می‌یابد. در غیاب واکنش شیمیایی با افزایش سرعت جریان حساسیت و سرعت نمونه‌گیری افزایش می‌یابد [۳۲].

## ۲-۲-۲-۱-۴- سادگی و انعطاف پذیری

سیستم چندراه جمع‌آوری بسیار ساده‌ای دارد و به راحتی می‌تواند به کار گرفته شود. این سیستم گستره وسیعی از احتمالات برای تغییرات چندراه را مطابق با نیاز ارائه می‌دهد و سیستم مورد نظر با تعداد راههای دلخواه را می‌توان طراحی کرد [۳۲].

## ۲-۲-۲-۱-۵- سرعت راه‌اندازی و خاموش شدن سریع

یک سیستم تزریق در جریان برای شروع راه‌اندازی معمولاً خیلی ساده است و فقط نیاز به یک پمپ و حرکت جریان حامل برای چند دقیقه است و خاموش کردن آن ساده‌تر است و فقط کافی است پمپ متوقف شود [۳۲].

## ۲-۲-۲-۱-۶- مقرون به صرفه بودن

یکی دیگر از ویژگی‌های FIA هزینه پایین آن با توجه به ساخت حالت‌های چندراه از قطعات ارزان قیمت می‌باشد. توانایی FIA به دسترسی حجم‌های میکرولیتری سیستم را از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه می‌کند به خصوص در هنگام کار کردن با آنزیم‌ها و ترکیباتی که به راحتی در دسترس نیستند [۳۲].

## ۲-۲-۲-۲- محدودیت‌های سیستم‌های تزریق در جریان

روش تزریق در جریان به دلایل زیر دارای حساسیت کمتری نسبت به روش تجزیه کلاسیک

دارد:

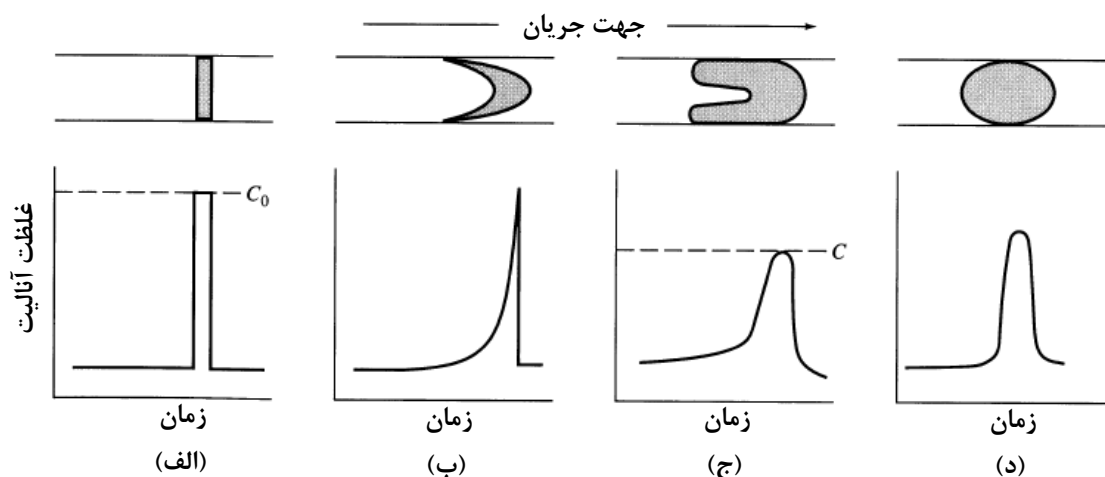
۱- زمان واکنش کوتاه است و واکنش ممکن است به تعادل نرسد.

۲- رقیق شدن نمونه در جریان حامل سبب کاهش شدت سیگنال می‌شود.

### ۲-۲-۳- پاشیدگی در FIA

بلافاصله پس از تزریق با یک شیر نمونه‌برداری، ناحیه نمونه در یک دستگاه با تزریق جریان، نیمرخ غلظتی مستطیلی را دارد که در شکل (۲-۵ الف) نشان داده شده است. همچنان که ناحیه از درون لوله حرکت می‌کند، پهن‌شدگی یا پاشیدگی نوار به وقوع می‌پیوندد. شکل ناحیه حاصل به وسیله دو پدیده تعیین می‌شود. اولی همرفت حاصل از جریان آرام است که در آن مرکز مایع سریع‌تر از بخش‌های مجاور دیواره‌ها حرکت می‌کند و بنابراین جبهه سهموی و نیمرخ ناحیه خمیده نشان داده شده در شکل (۲-۵ ب) را به وجود می‌آورد. پهن‌شدگی همچنین در نتیجه نفوذ به وقوع می‌پیوندد. در اصل دو نوع نفوذ می‌تواند روی دهد: شعاعی یا عمود بر جهت جریان و طولی یا موازی با جریان. نشان داده شده است که نوع دوم در لوله‌های باریک فاقد اهمیت است، در حالی که در این شرایط نفوذ شعاعی همواره مهم خواهد بود. در حقیقت، در سرعت جریان‌های کم، این می‌تواند منبع اصلی پاشیدگی باشد. وقتی که چنین شرایطی وجود داشته باشد، توزیع متقارن نشان داده در شکل (۲-۵د) حاصل می‌شود. در واقع، تجزیه‌های با تزریق جریان معمولاً در شرایطی انجام می‌شوند که در آن‌ها پاشیدگی هم به وسیله همرفت و هم به وسیله نفوذ شعاعی به وقوع می‌پیوندد بنابراین پیک‌های شکل (۲-۵ ج) حاصل می‌شوند. در اینجا، پاشیدگی شعاعی از دیواره‌ها به سمت مرکز، عمل پاکسازی دیواره‌ها از آنالیت را انجام می‌دهد و در نتیجه آلودگی عرضی بین نمونه‌ها را حذف می‌کند [۲۹].





شکل ۲-۵: آثار همرفت و نفوذ بر نیمرخ غلظت آنالیت‌ها در آشکارساز. الف: بدون پاشیدگی، ب: پاشیدگی به وسیله همرفت، ج: پاشیدگی به وسیله همرفت و نفوذ شعاعی د: پاشیدگی به وسیله نفوذ [۲۹].

پاشیدگی مهم‌ترین فاکتور در FIA است. پاشیدگی (رقیق‌سازی) هنگامی اتفاق می‌افتد که نمونه تزریق شود و توسط جریان حامل به سمت آشکارساز منتقل شود. پاشیدگی بر ارتفاع و تیزی پیک تاثیر می‌گذارد. روزیکا<sup>۱</sup> و هنسن<sup>۲</sup> پاشیدگی را نسبت غلظت نمونه قبل و بعد از فرآیند پاشیدگی تعریف کردند که با D نشان می‌دهند [۳۲]:

$$D = \frac{C_0}{C} \quad (2-2)$$

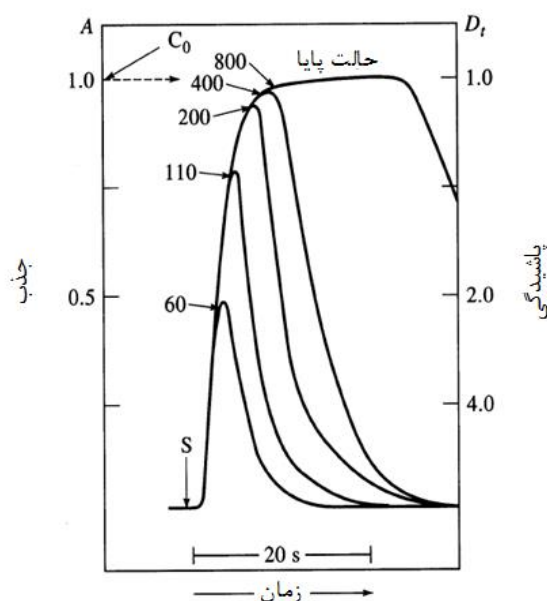
که در آن  $C_0$  غلظت آنالیت نمونه تزریق شده و C غلظت پیک در آشکارساز است. پاشیدگی به سهولت با تزریق یک محلول رنگینه با غلظت معلوم  $C_0$  و سپس اندازه‌گیری جذب در سلول جریانی تعیین می‌شود. بعد از درجه‌بندی، C از قانون بیر محاسبه می‌شود [۲۹].

۱- Ruzicka  
۲- Hansene

## ۲-۳-۱- عوامل موثر بر پاشیدگی

### ۲-۳-۱-۱- حجم نمونه

با افزایش حجم نمونه پاشیدگی کاهش می‌یابد. افزایش حجم نمونه سیگنال را افزایش می‌دهد تا به حدی که در آن پاشیدگی برابر واحد می‌شود این سیگنال حالت پایا است که مربوط به غلظت رقیق نشده نمونه است [۳۲]. در این شرایط، هیچ گونه مخلوط شدن نمونه و حامل انجام نمی‌شود و بنابراین رقیق شدن نمونه به وقوع نمی‌پیوندد. به هر حال، اکثر تجزیه‌های با تزریق جریان شامل برهمکنش نمونه با حامل یا یک واکنشگر تزریق شده است. در اینجا پاشیدگی بزرگتر از واحد لازم است. مثلاً اگر قرار است نمونه و حامل به نسبت ۱ به ۱ مخلوط شوند، پاشیدگی برابر با ۲ مورد نیاز خواهد بود. اثر بسیار زیاد حجم نمونه بر ارتفاع پیک نشان داده شده در شکل (۲-۶) تأکیدی بر این نکته است که وقتی پاشیدگی‌های ۲ و بزرگتر از آن استفاده می‌شود، به حجم‌های تزریق بسیار تکرارپذیر نیاز خواهد بود. در صورتی که دقت بسیار زیادی مورد نظر باشد، سایر شرایط باید کنترل شود [۲۹].



شکل ۲-۶: اثر حجم نمونه بر پاشیدگی. شرایط: طول لوله ۲۰ Cm، سرعت جریان ۱/۵ ml/min، حجم‌های مصرف شده به میکرولیتر است [۲۹].

## ۲-۲-۳-۱-۲- سرعت جریان

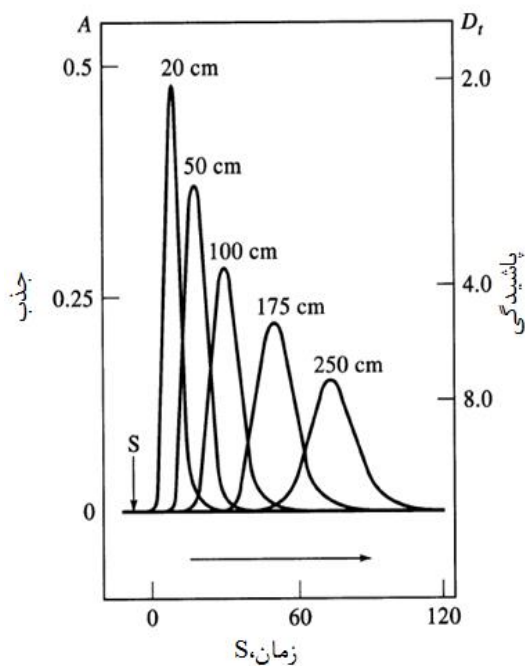
پاشیدگی به طور مستقیم متناسب با سرعت جریان  $F$  است که در آن  $K$  یک ثابت است.

$$D = K.F \quad (۳-۲)$$

معمولا سرعت جریان‌هایی که در FIA استفاده می‌شود بین ۰/۵ تا ۵ میلی‌لیتر بر دقیقه است [۳۲].

## ۲-۲-۳-۱-۳- طول و قطر مارپیچ اختلاط

پاشیدگی متناسب با مربع ریشه اندازه لوله بین نقطه تزریق و آشکارساز است. پاشیدگی همچنین با افزایش قطر لوله مارپیچ اختلاط افزایش می‌یابد. این پارامترها را می‌توان تغییر داد تا به پاشیدگی مورد نیاز که مناسب سیستم FIA است رسید [۳۲]. شکل (۷-۲) اثر طول لوله بر پاشیدگی را، هنگامی که اندازه نمونه و سرعت پمپ کردن ثابت‌اند، به نمایش می‌گذارد. در اینجا شماره بالای هر پیک نشان‌دهنده فاصله طی شده به وسیله نمونه بر حسب سانتی‌متر است [۲۹].



شکل ۷-۲: اثر طول لوله مارپیچ اختلاط بر پاشیدگی. شرایط: حجم نمونه  $۶۰ \mu\text{L}$ ، سرعت جریان  $۱/۵ \text{ ml/min}$  [۲۹].

## ۲-۲-۳-۲- انواع پاشیدگی

به طور کلی پاشیدگی را می‌توان به سه دسته محدود، متوسط و بزرگ طبقه‌بندی کرد و می‌توانند در روش‌های زیر استفاده شوند.

### ۲-۲-۳-۲-۱- پاشیدگی محدود<sup>۱</sup>

پاشیدگی محدود در سیستم جریانی استفاده می‌شود که در آن هیچ واکنش شیمیایی انجام نشود و نمونه به سادگی به آشکارساز منتقل گردد [۳۲]. فنون تزریق جریان با پاشیدگی محدود کاربرد قابل توجهی در تغذیه سریع سیستم‌های آشکارسازی مانند جذب و نشر اتمی شعله‌ای و همچنین پلاسمای جفت شده القائی پیدا کرده‌اند. هنگامی که معمولاً این آشکارسازها به کار برده می‌شوند حجم‌های نمونه مستقیماً به داخل شعله یا پلازما افشاندن می‌شوند و یک علامت حالت پایا اندازه-گیری می‌شود در مقابل، در مورد روش با تزریق جریان، یک واکنشگر شاهد از درون سیستم به طور پیوسته به داخل منبع پمپ می‌شود تا خروجی خط مبنا را به دست دهد، سپس نمونه به طور متناوب تزریق و علامت‌های گذرای حامل از آنالیت ثبت می‌شود. سرعت‌های نمونه برداری تا حدود ۳۰۰ نمونه در ساعت گزارش شده است.

تزریق پاشیدگی محدود همچنین با آشکارسازهای الکتروشیمیایی مانند الکترودهای یون ویژه و ریز الکترودهای ولت آمپرسنجی به کار گرفته شده است. دلایل توجیهی استفاده از روش‌های با تزریق جریان برای به دست آوردن داده‌هایی مانند pH، pCa، یا pNO<sub>3</sub> عبارتند از اندازه کوچک نمونه مورد نیاز (۲۵ μL) و زمان کوتاه اندازه‌گیری (S ۱۰). یعنی اندازه‌گیری‌ها کاملاً قبل از برقراری تعادل-های حالت پایا انجام می‌شوند که این برقراری تعادل برای بسیاری از الکترودهای P-یون ممکن است

---

۱- Limited dispersion

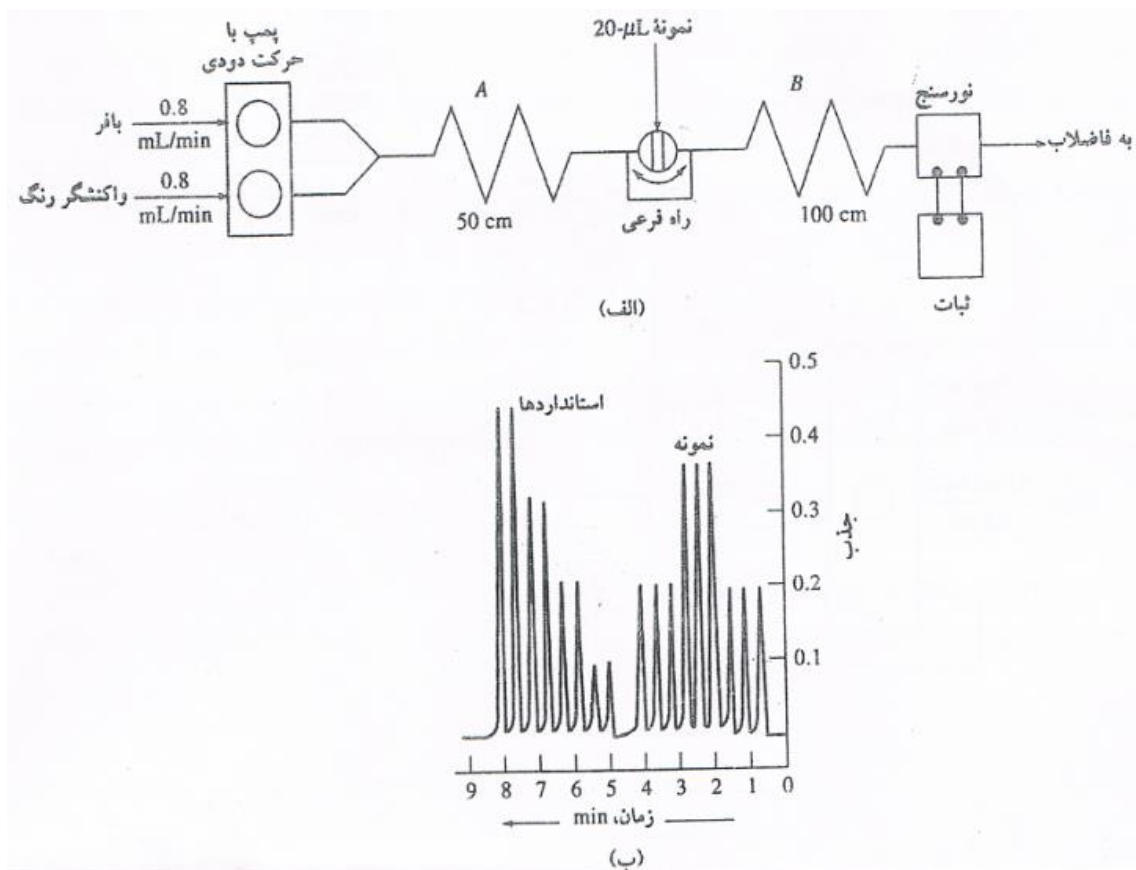
که یک دقیقه یا بیشتر نیاز داشته باشد. در مورد اندازه‌گیری‌های با تزریق جریان علامت‌های گذرا برای نمونه و استانداردها، داده‌های تجزیه‌ای با دقت یکسان فراهم می‌آورند. مثلاً، گزارش شده است که اندازه‌گیری‌های pH بر روی سرم خون به تعداد ۲۴۰ نمونه در ساعت با دقت  $\pm 0.002$  pH می‌تواند انجام شود. نتایج ۵ ثانیه بعد از تزریق خوانده می‌شود [۲۹].

## ۲-۲-۳-۲-۲- پاشیدگی متوسط<sup>۱</sup>

پاشیدگی متوسط در FIA بیشتر متداول است زیرا آن اجازه انجام واکنش شیمیایی توسط اختلاط ترکیب نمونه با واکنشگر در حضور جریان حامل به منظور تولید محصول قابل اندازه‌گیری قبل از رسیدن به آشکارساز را می‌دهد [۳۲]. شکل (۲-۸) الف یک سیستم با پاشیدگی متوسط را برای تعیین رنگ‌سنجی کلسیم در سرم، شیر و آب آشامیدنی نشان می‌دهد. در اینجا، یک بافر بوراکس و یک واکنشگر رنگ در یک پیچک مخلوط‌کن ۵۰ سانتی‌متری A قبل از تزریق نمونه ترکیب می‌شوند خروجی ثبات برای سه نمونه به صورت سه تایی و چهار استاندارد به صورت دو تایی در شکل (۲-۷) ب نشان داده شده است [۲۹].

---

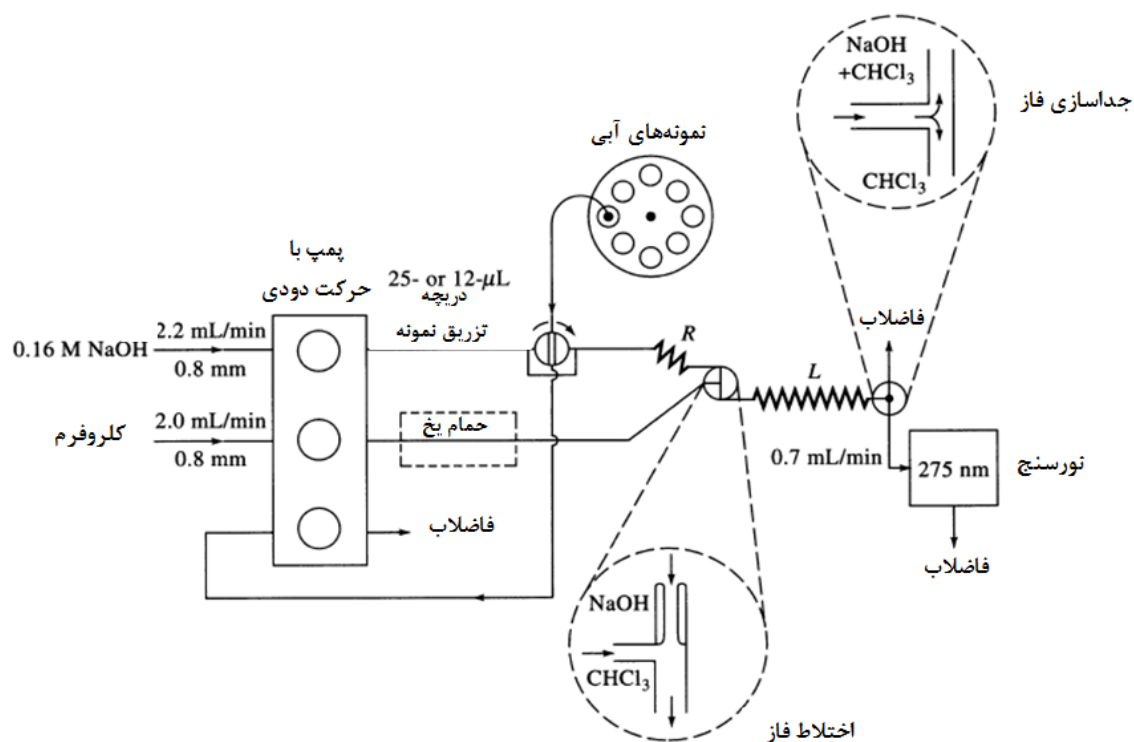
<sup>۱</sup> - Medium dispersion



شکل ۲-۸: الف: دستگاه تزریق جریان برای تعیین کلسیم در آب به وسیله تشکیل یک کمپلکس با عامل کمپلکس کننده  $o$ -کروزول فتالئین در  $pH=10$ . قطر داخلی تمام لوله‌ها  $0.5$  mm است. A و B پیچک‌های واکنش با طول نشان داده شده هستند. ب: خروجی ثابت [۲۹].

شکل (۲-۹) یک دستگاه باز هم پیچیده‌تر را که برای تعیین نورسنجی کافئین در مواد دارویی بعد از استخراج کافئین به درون کلروفورم طراحی شده نشان می‌دهد. حلال کلروفورم پس از سرد شدن در حمام یخ جهت به حداقل رساندن تبخیر، با جریان نمونه قلیایی در یک لوله T شکل مخلوط می‌شود. پس از عبور از درون پیچک استخراج ۲ متری، مخلوط وارد یک لوله جداکننده T شکل می‌شود که به صورت دیفرانسیلی طوری پمپ می‌شود که حدود ۳۵٪ فاز آلی به داخل سلول جریان وارد می‌شود و ۶۵٪ دیگر همراه محلول آبی به فاضلاب می‌رود. برای جلوگیری از آلوده شدن سلول جریان با آب، الیاف تفلونی را که با آب تر نمی‌شوند به شکل نخ پیچانده و در ورودی لوله T شکل به نحوی

فرو می‌برند که یک شیب ملایم به سمت پایین بسازد. در این حال، جریان کلروفورم این شیب را به سلول نورسنج طی می‌کند [۲۹].



شکل ۲-۹: دستگاه تزریق برای تعیین کافئین در مواد دارویی استیل سالیسیلیک اسید [۲۹].

۲-۲-۳-۲-۳-۲-۳-۲ پاشیدگی بزرگ<sup>۱</sup>

پاشیدگی بزرگ در واکنش‌های شیمیایی آهسته، برای رقیق کردن نمونه‌های غلیظ و برای دیگر

اندازه‌گیری‌های خاص مهم است [۳۲].

<sup>۱</sup>- Large dispersion

## ۴-۲-۲- تکنیک‌های FIA

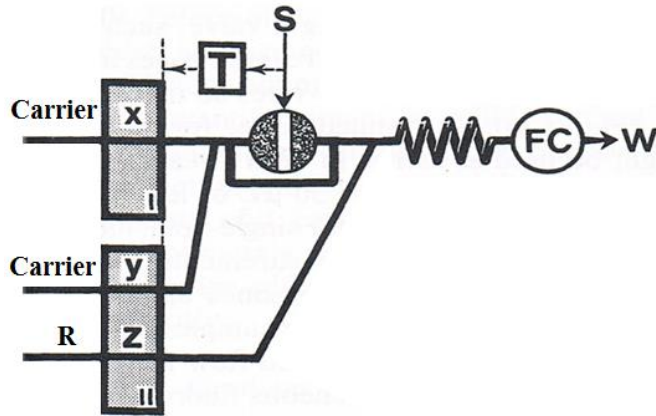
### ۴-۲-۲-۱- روش ادغام مناطق<sup>۱</sup>

یکی از معایب آنالیز تزریق جریان پیوسته مصرف پیوسته واکنشگرها است اگر این مسئله جدی باشد توسط تکنیک ادغام مناطق می‌توان مصرف واکنشگرها را به حداقل رساند که با پمپ کردن متناوب که در شکل (۲-۱۰) نشان داده شده است یا استفاده از چندین شیر تزریق به دست می‌آید. در یک سیستم چند تزریقی دو روش وجود دارد.

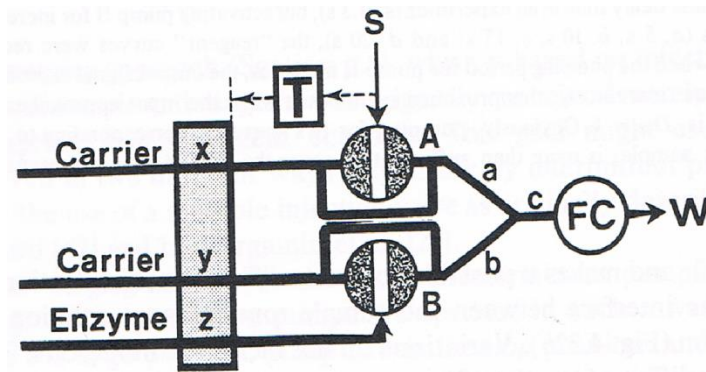
روش اول: دو دریچه تزریق به صورت موازی با یکدیگر قرار می‌گیرند. نمونه و واکنشگر به جریان‌های جداگانه تزریق و سپس در یک نقطه با هم ادغام می‌شوند که در شکل (۲-۱۱) الف نشان داده شده است.

روش دوم: شیرهای تزریق در یک مجموعه قرار می‌گیرند و نمونه و واکنشگر به جریان حامل یکسان تزریق می‌شوند. دو ناحیه هنگام حرکت و قبل از عبور از آشکارساز با هم ادغام می‌شوند شکل (۲-۱۰) ب آن را نشان می‌دهد. هدف از این تکنیک کاهش مصرف واکنشگرهای گران قیمت و ایجاد یک ناحیه ترکیبی که اطلاعات زیادی را در بر دارد است [۳۲].





شکل ۲-۱۰: تکنیک ادغام مناطق بر پایه پمپاژ متناوب. عملکرد سیستم به صورتی است که وقتی پمپ I شروع به کار می کند پمپ II خاموش است و بالعکس. پس از تزریق نمونه و یک تاخیر زمانی از پیش تعیین شده تایمر پمپ I را خاموش و پمپ II را فعال می کند. واکنشگر با سرعت  $Z \text{ ml/min}$  اضافه می شود در حالی که منطقه نمونه با سرعت  $y \text{ ml/min}$  توسط پمپ II جا به جا می شود سپس با گذشت یک زمان از پیش تعیین شده پمپ II خاموش و پمپ I فعال می شود [۳۰].



الف



ب

شکل ۲-۱۱: تکنیک ادغام مناطق براساس استفاده از چند شیر تزریق [۳۰].

## ۲-۲-۴-۲- تکنیک توقف جریان<sup>۱</sup>

مفیدترین تکنیک در FIA تکنیک جریان متوقف است. این تکنیک دارای دو کاربرد است. کاربرد اول هنگامی است که در طی مدت کار بدون افزایش طول مارپیچ واکنش، پاشیدگی و همچنین کاهش سرعت جریان نیاز به افزایش حساسیت باشد [۳۲]. در این نوع کاربرد یک زمان سنج لازم است تا پمپ را در فواصل زمانی دقیق و منظم خاموش کند.

کاربرد دیگر تکنیک توقف جریان در اندازه‌گیری‌های سینتیکی است. در این کاربرد، با مخلوط واکنش در سلول جریان، جریان در جایی متوقف می‌شود که بتوان تغییرات در غلظت واکنش دهنده‌ها یا محصولات را به صورت تابعی از زمان تعقیب کرد. این تکنیک برای اولین بار در تعیین آنزیم گلوکز مبتنی بر استفاده از آنزیم گلوکز دی‌هیدروژناز اعمال شد. واکنش در حضور کوآنزیم نیکوتینامید آدنین دی نوکلئوتید که نقش عامل رنگساز را به عهده داشت ( $\lambda_{max} = 340 \text{ nm}$ ) انجام شد. به این طریق تا ۱۲۰ نمونه در ساعت می‌تواند تجزیه شود [۲۹]. روش مذکور همچنین می‌تواند باعث حذف سیگنال زمینه و کاهش مصرف واکنشگر شود. با وجود تمام این مزایا این تکنیک به طور گسترده استفاده نمی‌شود که احتمالاً به دلیل عدم وجود دستگاه مناسب و سیستم کنترل برای تولید یک زمان توقف تکرارپذیر و طول زمان آنالیز است [۳۲].

## ۲-۲-۵- آنالیز متوالی<sup>۲</sup>

مفهوم آنالیز متوالی توسط روزیکا و همکارانش گزارش شد و در بسیاری از اندازه‌گیری‌ها مورد بررسی قرار گرفت. این تکنیک از سایر تکنیک‌ها ساده‌تر است. حجم‌های محلول حامل، محلول نمونه و محلول واکنشگر که توسط پمپ سرنگی یا پریستالتیک به مارپیچ نگهدارنده تزریق می‌شوند اندازه-

---

۱- Stopped flow technique

۲- Sequential analysis

گیری می‌شود. با توجه به سادگی این روش کاربرد گسترده‌ای در فرآیند کنترل و در آزمایشگاه‌ها پیدا کرده است. اگرچه این تکنیک از روش FIA ساده‌تر است اما پیچیدگی‌های ناشی از گرادیان بوجود آمده از نفوذ ناحیه‌ای با جریان معکوس هنوز یک مشکل حل نشده است [۳۲].

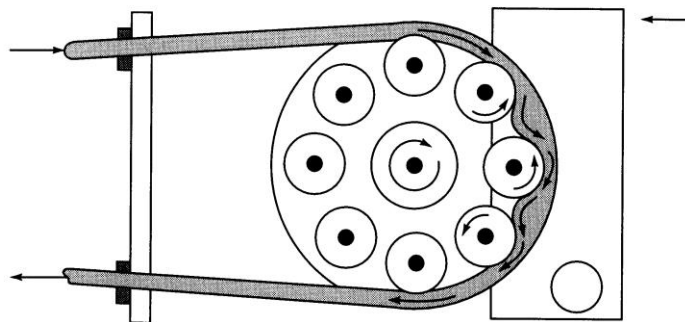
## ۲-۲-۶- اجزای تشکیل دهنده یک سیستم FIA

اجزای تشکیل دهنده یک سیستم تزریق جریان ساده است. یک سیستم پایه به یک وسیله پیشران جریان واکنشگرها، مارپیچ واکنش، برخی وسایل تزریق نمونه و یک آشکارساز با یک سل جریان متصل به یک ثبات برای ثبت سیگنال نیاز دارد. یک چندراه ساده می‌تواند به سرعت از اجزای پایه زیر تشکیل شود [۳۲]:

## ۲-۲-۶-۱- سیستم انتقال نمونه و واکنشگر

معمولاً، محلول در یک تجزیه با تزریق جریان به وسیله یک پمپ با حرکت دودی، وسیله‌ای که در آن یک سیال (مایع یا گاز) از درون لوله‌های پلاستیکی توسط غلتک‌هایی فشرده می‌شود، پمپ می‌گردد. شکل ۲-۱۲ اساس عمل پمپ با حرکت دودی را نشان می‌دهد. در اینجا، بادامک یا نوار که تحت فشار یک فنر است لوله را تمام مدت به یک یا چند غلتک فشار می‌دهد و باعث یک جریان پیوسته سیال از درون لوله می‌شود. پمپ‌های جدید معمولاً ۸ تا ۱۰ غلتک دارند و به نحوی در یک پیکربندی دورانی مرتب شده‌اند که در هر لحظه نصف آن‌ها لوله را فشار می‌دهند. این طراحی به جریانی منجر می‌شود که نسبتاً عاری از تپ است. سرعت جریان توسط سرعت موتور و قطر درونی لوله کنترل می‌شود. لوله‌هایی با اندازه‌های متنوع (۰/۲۵ i.d. تا ۴ mm) به طور تجاری در دسترس است که امکان سرعت‌های جریان به کوچکی ۰/۰۰۰۵ ml/min تا بزرگی ۴۰ ml/min را میسر

می‌سازد. غلتک‌های پمپ‌های با حرکت دودی تجاری نوعی به حدی بلندند که چند لوله را می‌توان همزمان به کار برد [۲۹].



شکل ۲-۱۲: نمودار نشان دهنده یک کانال از پمپ با حرکت دودی [۲۹].

#### ۲-۲-۶-۲- مارپیچ واکنش<sup>۱</sup>

سیستم‌های با تزریق جریان اغلب حاوی یک قسمت مارپیچ لوله‌ای هستند (نوعاً قطر پیچک حدود ۱ cm یا کمتر است) که هدف آن این است تا پاشیدگی محوری و مخلوط شدن شعاعی نمونه و واکنشگر را، که هر دو به پیک‌های متقارن تری منجر می‌شوند، افزایش دهد [۲۹].

#### ۲-۲-۶-۳- سیستم تزریق نمونه

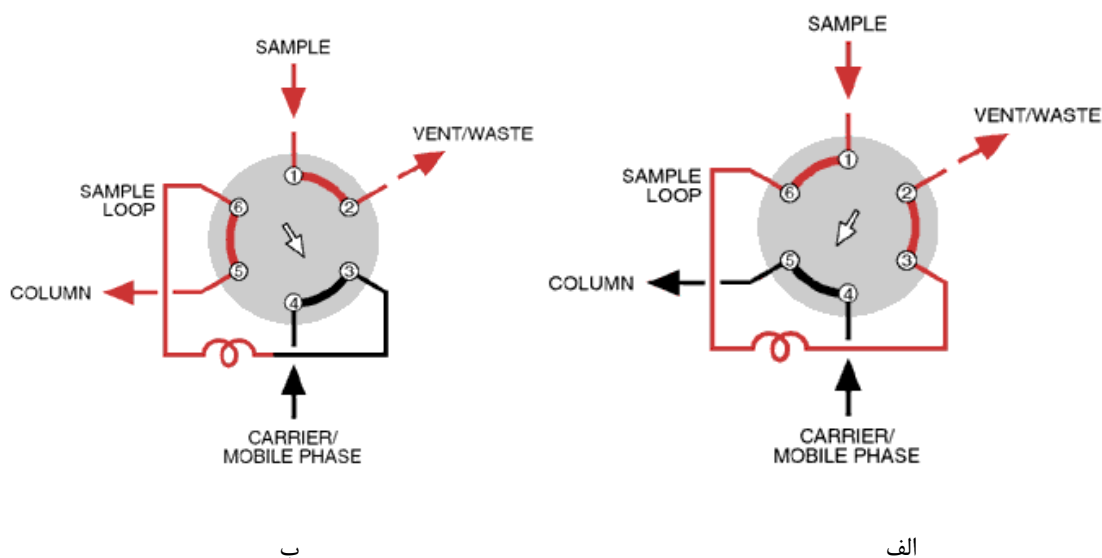
پیچه تزریق برای سیستم‌های جریان پیوسته مورد استفاده قرار می‌گیرد و با حجم‌های متفاوت موجود می‌باشد به همین دلیل برای اندازه‌گیری نمونه‌های با حجم کم مورد استفاده قرار می‌گیرد. تزریق در این دستگاه که به دو صورت آنالوگ و یا دیجیتال است موجب ورود نمونه به درون سیستم اندازه‌گیری می‌شود، حال چنانچه طول مسیر ورود نمونه، یعنی طول لوله به کار رفته برای ورود نمونه به درون سیستم و رسیدن آن به سل اندازه‌گیری طولانی شود موجب پخش شدن نمونه در درون

---

2- Reaction coil

معرف و از دست رفتن غلظت ماکزیمم در زمان رسیدن به سل خواهد شد که موجب خطا در اندازه-گیری و ورود هر چه بیشتر پالس‌های پمپ به درون سیگنال می‌شود. اما این طول نیز نباید بیش از حد کوچک باشد و باید بهترین طول مسیر را از طریق بهینه کردن به دست آورد. این بهینه شدن باید به صورتی انجام شود که قبل از رسیدن محلول رقیق به مرکز L (طول لوله)، و از بین رفتن گرادیان غلظتی، آشکارساز غلظت ماکزیمم را خوانده باشد. لوپ‌های کوچک سبب می‌شوند که قبل از شناسایی غلظت ماکزیمم توسط سل، نمونه از مقابل آن عبور کرده باشد و لوپ‌های بزرگ نیز سبب پهن شدن پیک در نتیجه عبور تدریجی نمونه می‌شود.

لوپ تزریق نمونه دارای دو حالت باز و بسته می‌باشد که در زمان مورد نظر برای عبور نمونه و رسیدن آن به سل، شیر آن را پس از تزریق، که از قبل و به وسیله سرنگ، در زمان بسته بودن شیر صورت گرفته، در حالت باز قرار می‌دهیم تا نمونه وارد سیستم شود نمایی از قسمت داخلی شیر که در دو حالت باز و بسته وجود دارد در شکل ۲-۱۳ نشان داده شده است.



شکل ۲-۱۳: الف: تزریق نمونه به لوپ - ب: ورود نمونه به سیستم [۳۴].

همان طور که در شکل مشاهده می‌شود در قسمت الف، در زمان تزریق نمونه با چرخاندن شیر به صورتی عمل می‌کنیم که، نمونه بدون وارد شدن به درون سل، در درون لوپ جمع آوری شود و

اضافی آن نیز که از حجم لوپ تزریق جریان بیشتر بوده پس از پر شدن آن از مسیر ضایعات خارج می شود. در قسمت ب) با چرخاندن شیر، مسیر تغییر کرده و نمونه وارد محلول حامل خواهد شد.

## ۲-۶-۴- آشکارسازها

تزریق کننده‌ها و آشکارسازهای به کار رفته در تجزیه با تزریق جریان از نظر شرایط عملکرد و نوع مشابه آن‌هایی هستند که در HPLC به کار می‌روند [۲۹]. هر آشکارسازی که مجهز به یک سل جریان باشد می‌تواند در FIA استفاده شود. یک آشکارساز خوب باید تنها یک حجم کوچک مرده، استحکام بالا و پاسخ سریع داشته باشد [۳۲].

آشکارسازی در روش‌های با تزریق جریان به وسیله دستگاه‌های جذب و نشر اتمی، فلئوئورسان‌ها، سیستم‌های الکتروشیمیایی، شکست سنج‌ها، طیف نور سنج‌ها و نور سنج‌ها انجام شده است [۲۹].

## ۲-۳- روش‌های بهینه‌سازی پارامترها

روش‌های بهینه‌سازی روش‌هایی هستند که سطوحی از متغیرهای موثر در آزمایش را مشخص می‌نمایند به طوری که در این سطوح از متغیرها، پاسخ بهینه ایجاد گردد. پاسخ بهینه در فرآیندهای تجزیه‌ای مختلف، متفاوت است. در برخی از موارد، هدف به دست آوردن شرایطی است که در آن پاسخ دستگاه حداکثر باشد مثلاً بیشترین مقدار جذب، جریان، شدت نشر و... ایجاد شود. در موارد دیگر، هدف بهینه‌سازی، افزایش سیگنال به نوفه یا سیگنال به زمینه، ایجاد بهترین تفکیک و یا حتی به دست آوردن حداقل پاسخ (برای گونه‌های مزاحم) می‌باشد. یک روش بهینه‌سازی خوب بایستی دو ویژگی داشته باشد. اول این که شرایط تجربی را مشخص نماید که در آن شرایط پاسخ بهینه یا نزدیک به بهینه ایجاد شود. دوم این که تا حد ممکن تعداد آزمایش‌های کمتری نیاز داشته باشد.

روش‌های متفاوتی برای بهینه‌سازی متغیرها وجود دارد که از بین آن‌ها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱- روش تک عاملی<sup>۱</sup>

۲- روش سادگی<sup>۲</sup>

۳- روش فاکتوریال<sup>۳</sup>

۴- روش مربعات لاتین<sup>۴</sup>

در این پروژه از روش‌های تک عاملی و سادگی برای بهینه‌سازی متغیرها استفاده شده است، بنابراین در این بخش به بررسی بیشتر این دو روش پرداخته خواهد شد [۳۵].

### ۲-۳-۱- روش تک عاملی (تک متغیره)

در این روش برای بهینه‌سازی یک متغیر، سایر متغیرها ثابت نگهداشته شده و متغیر مورد نظر تغییر داده می‌شود تا حداکثر پاسخ به دست آید. سایر متغیرها نیز به همین روش بهینه می‌شوند. مزیت روش بهینه‌سازی تک عاملی، سادگی آن است ولی این روش زمانی مفید بوده و کارایی دارد که برهمکنشی بین متغیرها وجود نداشته باشد. در صورت وجود برهمکنش، باید از سایر روش‌های بهینه‌سازی استفاده شود. برای مطالعه برهمکنش‌ها از روش مربعات لاتین استفاده می‌شود.

---

1- One-at-a time  
2- Simplex  
3- Factorial  
4- Latin square

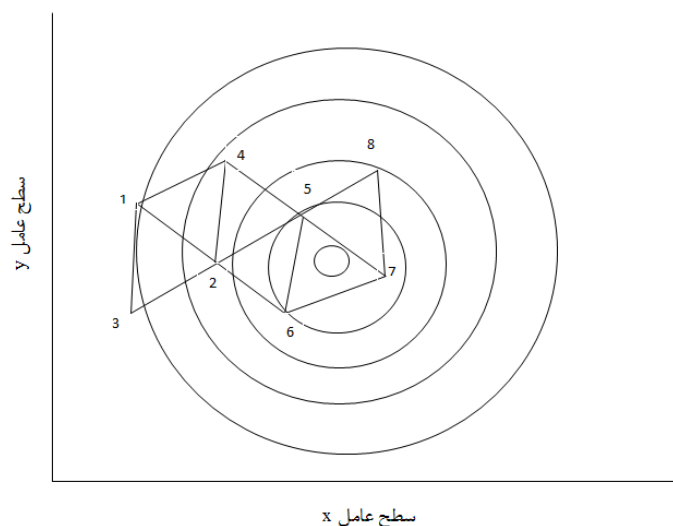
## ۲-۳-۲- روش بهینه‌سازی سادکی

بهینه‌سازی سادکی ممکن است هنگامی بکار رود که تمام عوامل جزو متغیرهای پیوسته باشند. یک سادکی، یک شکل هندسی با  $K+1$  راس است.  $K$  تعداد متغیرهاست. برای مثال، در بهینه‌سازی دو عامل، سادکی یک مثلث خواهد بود. روش بهینه‌سازی در شکل (۲-۱۴) نشان داده شده است. سادکی اولیه با نقاط ۱، ۲ و ۳ مشخص می‌شود. در اولین آزمایش، جواب در هر یک از سه ترکیب سطوح عاملی که با رئوس این مثلث مشخص می‌گردد، اندازه‌گیری می‌شود. بدترین جواب در این حالت، در نقطه ۳ یافت می‌شود و منطقی است نتیجه بگیریم که نقطه‌ای بهتر، ممکن است در محلی که تصویر نقطه ۳ نسبت به خط رابط ۱ و ۲ است، یعنی نقطه ۴، پیدا شود. نقاط ۱، ۲ و ۴، سادکی جدیدی تشکیل می‌دهند و جواب برای ترکیب سطوح عاملی داده شده با ۴، اندازه‌گیری می‌شود. (ما بلافاصله یکی از مزایای بزرگ روش سادکی را یادآور می‌شویم و آن اینکه در هر مرحله از بهینه‌سازی فقط یک آزمایش اضافی مورد نیاز است). مقایسه جوابهای نقاط ۱، ۲ و ۴ نشان خواهد داد که اکنون، نقطه ۱ بدترین جواب را بدست می‌دهد. فرایند انعکاس تکرار می‌شود تا سادکی مشخص شده با نقاط ۲، ۴ و ۵ را بدست دهد. ادامه این روش در شکل نشان داده می‌شود. می‌توان دید که پیشرفت بیشتری به خارج از مرحله نموده شده در شکل ممکن نیست، زیرا هر دو نقطه ۶ و ۸، جوابهای بدتر از نقاط ۵ و ۷ بدست می‌دهند.

به منظور بهبود اجرای روش سادکی، اصلاحات گوناگونی پیشنهاد شده است مشکل آشکار روش اینست که اگر سادکی اولیه بسیار کوچک باشد، آزمایش‌های زیادی ممکن است برای رسیدن به حالت بهینه لازم باشد. هرگاه سادکی اولیه بسیار بزرگ باشد، دقتی که با آن حالت بهینه تعیین می‌شود ضعیف خواهد بود. این مشکل می‌تواند با پیشروی به سوی نقطه بهینه، با استفاده از یک سادکی، که اندازه آن می‌تواند بر اساس مقایسه جواب راس جدید با سایر رئوس در یک سادکی تغییر کند، مرتفع شود. بنابراین، اگر راس ۴ در مثال بالا جواب کاملاً بهتری نسبت به جوابهای رئوس ۱ تا ۳



نشان دهد، سادکی جدید می‌تواند به مقدار بیشتری در همان جهت، با جابجایی راس ۴ به اندازه دو برابر فاصله آن از خط رابط رئوس ۱ و ۲ به یکدیگر، گسترش یابد. از سوی دیگر، اگر راس اصلی ۴، جواب ضعیف‌تری نسبت به راس ۱ بدست دهد، در این صورت این احتمال وجود دارد که سادکی خیلی زیاد گسترش یافته، و راس ۴ می‌تواند در خلاف جهت جابجا شود به طوری که در محلی به فاصله نصف فاصله آن از خط رابط رئوس ۱ و ۲ به یکدیگر قرار گیرد. در سایر موارد یک انعکاس منفی ممکن است مناسب باشد، یعنی راس ۴ ممکن است به داخل مثلث تشکیل شده از رئوس ۱ تا ۳ عقب کشیده شود. وقتی دو عامل بهینه می‌شوند، تاثیر اندازه‌های این پله‌های متغیر به نحوی است که مثلث درست شده برای هر سادکی ضرورتاً متساوی الاضلاع نمی‌باشد.

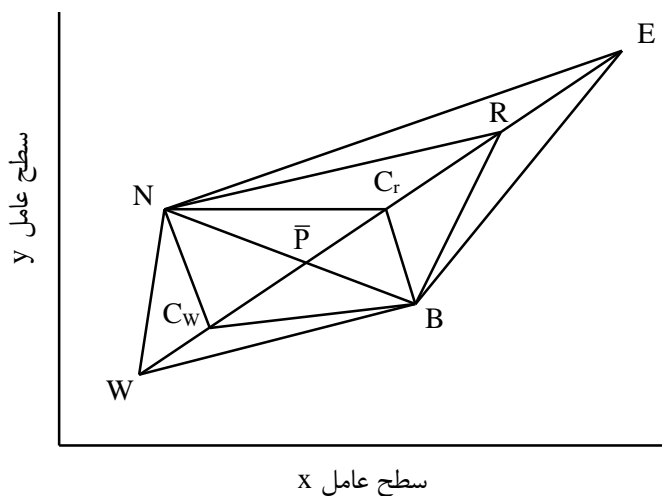


شکل ۲-۱۴: شمای طرح بهینه‌سازی سادکی [۳۵].

مزیت اندازه‌های متغیر پله‌ها این است که سادکی در ابتدا بزرگ بوده و پیشرفت سریعی را به سوی نقطه بهینه موجب می‌شود. در نزدیکی نقطه بهینه، سادکی فشرده شده، اجازه می‌دهد که نقطه نام برده با دقت بیشتری تعیین شود [۳۵].

به منظور بهبود روش سادکی، از روش سادکی اصلاح شده<sup>۱</sup> استفاده می‌شود. در این روش پیشرفت به سوی حداکثر، با استفاده از طرحی انجام می‌شود که اندازه آن متناسب با نتایج حاصل از اندازه‌گیری تغییر می‌نماید. طرح در ابتدا بزرگ است، تا اجازه پیشرفت سریع به سوی حداکثر فراهم شود. با نزدیک شدن به حداکثر، طرح تدریجاً فشرده می‌شود تا قله به طور صحیح پیدا شود. شکل (۱۵-۲) نمونه‌ای از چنین طرحی را نشان می‌دهد.

در این شکل B، دارای بهترین حساسیت، W، بدترین و N، نقطه نزدیک به بدترین مقدار است. اکنون تصویر نقطه W را نسبت به خط BN به دست آورده و با R نمایش می‌دهیم. بسته به موقعیت R، حالت‌های متفاوتی به وجود می‌آید:



شکل (۱۵-۲): شمای طرح بهینه‌سازی سادکی با اندازه متغیر [۳۶].

۱- اگر پاسخ در R بهتر از B باشد، نقطه E را طبق رابطه زیر به دست می‌آوریم:

$$E = \bar{P} + \gamma(\bar{P} - W) \quad (۴-۲)$$

<sup>۱</sup> - Modified Simplex

که در آن  $\gamma$ ، ضریب انبساط<sup>۱</sup> می‌باشد و معمولاً برابر با ۲/۰ است [۳۶]. اگر پاسخ در نقطه E بهتر از پاسخ در نقطه B باشد، فرم جدید سادگی به صورت BNE خواهد بود.

۲- اگر پاسخ در R بدتر از B ولی بهتر از N باشد، طرح جدید سادگی، BNR خواهد بود.

۳- اگر پاسخ در R از N هم بدتر باشد دو حالت می‌تواند وجود داشته باشد:

الف: اگر پاسخ در R از W بهتر باشد، بنابراین راس جدید به R نزدیک‌تر بوده و از رابطه زیر به دست می‌آید:

$$\bar{C}_r = \bar{P} + \beta(\bar{P} - W) \quad (5-2)$$

و در این صورت طرح جدید سادگی به صورت BNC<sub>r</sub> خواهد بود.

ب: اگر پاسخ در R از W بدتر باشد، بنابراین راس جدید به W نزدیک‌تر بوده و به صورت زیر به دست می‌آید:

$$\bar{C}_w = \bar{P} + \beta(\bar{P} - W) \quad (6-2)$$

در این حالت طرح جدید سادگی به صورت BNC<sub>w</sub> است. در معادلات (۵-۲) و (۶-۲)،  $\beta$  مقدار ضریب انقباض<sup>۲</sup> می‌باشد و  $0 < \beta < 1$  و معمولاً ۰/۵ است [۳۶]. این عمل تا زمانی که تغییر محسوسی در سیگنال ایجاد نگردد ادامه می‌یابد [۳۷].

سوالی روشن در بکارگیری روش سادگی، انتخاب اولین سادگی است. اگر این سادگی به صورت یک شکل منظم در ابعاد K فرض شود، در این صورت، موقعیت‌هائی که رئوس برای ایجاد چنین شکلی به خود می‌گیرند، تابع مقیاس‌های بکار رفته برای محورها خواهند بود. این مقیاس‌ها باید طوری

---

۱- Expansion Coefficient

۲- Contraction Coefficient

انتخاب شوند که یک واحد تغییر در هر عامل تقریباً همان مقدار تغییر را در جواب به وجود آورد. اگر اطلاعات ناکافی برای انجام این امر وجود داشته باشد، تفاوت بین بالاترین و پایین‌ترین مقدار ممکن از هر عامل می‌تواند با فاصله برابری ارائه شود. اندازه سادگی اولیه، در صورتی که با پیشرفت روش بتواند بازتر شده و یا فشرده‌تر شود، چندان مهم نیست. الگوریتم‌هایی که می‌توانند برای محاسبه موقعیت-های اولیه رئوس بکار روند، تهیه شده‌اند: یک راس معمولاً در سطوحی که به طور متداول برای عوامل پذیرفته می‌شوند، قرار می‌گیرد. به عنوان نکته آخر یادآور می‌شود که تجزیه‌گر به ندرت در شروع یک فرآیند بهینه‌سازی در تاریکی کامل قرار دارد. تجزیه قبلی برخی اطلاعات درباره مقادیر ممکن برای رئوس، سادگی اولیه را بدست خواهد داد.

تعداد آزمایش‌های لازم در روش سادگی، متناسب با تعداد عوامل به سرعت افزایش نمی‌یابد. به همین دلیل، تمام عواملی که تصور می‌شود ممکن است دارای تاثیری روی جواب باشند باید در بهینه‌سازی دخالت داده شوند. با یکبار مشخص شدن حالت بهینه، تاثیر تغییر یک عامل بر روی جواب به هنگام ثابت ماندن سایر عوامل در سطوح بهینه خود می‌تواند به نوبت برای هر عامل مورد بررسی قرار گیرد. این روش می‌تواند برای بررسی بهینه‌سازی بکار رود. این امر همچنین حدود بیشترین انحرافات از سطح بهینه برای هر عامل را مشخص می‌نماید: هر چه دماغه جواب در ناحیه بهینه تیزتر باشد به هر تغییری در سطوح عاملی بسیار حساس خواهد بود.

بهینه‌سازی سادگی با موفقیت در زمینه‌های زیادی از شیمی تجزیه بکار رفته است، مانند طیف-سنجی جذب اتمی<sup>۱</sup>، کروماتوگرافی گازی<sup>۲</sup>، روش‌های رنگ‌سنجی<sup>۳</sup> تجزیه، طیف‌سنجی پلاسما<sup>۴</sup> و استفاده از تجزیه‌گرهای میان‌گریزی<sup>۵</sup> در شیمی بالینی. وقتی دستگاهی با یک ریز رایانه مرتبط

- 
- 1- Atomic Absorbtion Spectroscopy
  - 2- Gas Chromatography
  - 3- Colorimetric
  - 4- Inductively Coupled Plasma Spectroscopy
  - 5- Centrifugal Analysers

می‌شود، نتایج بهینه‌سازی سادگی می‌تواند برای وارد کردن اصلاحات خود کار در متغیرهای دستگاه  
بکار رود [۳۵].

فصل سوم:

تجربی

۳-۱- اندازه‌گیری سینتیکی-اسپکتروفوتومتری تزریق در جریان پیوسته تیواوره با استفاده

از اثر بازداري آن بر واکنش برومات با متاکرزول پرپل<sup>۱</sup>

با توجه به کاربرد و اهمیت اندازه‌گیری تیواوره که در فصل اول به آن اشاره شد و براساس مطالعات انجام شده، سیستم تزریق در جریان پیوسته برای اندازه‌گیری تیواوره در نمونه‌های حقیقی به روش سینتیکی با آشکارسازی اسپکتروفوتومتری طراحی و به کار گرفته شد. در این فصل نتایج تجربی حاصل از روش به کار برده شده ارائه خواهد شد.

۳-۱-۱- مواد شیمیایی و محلول‌های مورد استفاده

کلیه مواد مورد استفاده در این پروژه دارای خلوص تجزیه‌ای بوده که نام، فرمول شیمیایی و شرکت تهیه کننده آن‌ها در جدول (۳-۱) آورده شده است.

جدول (۳-۱): مواد شیمیایی مورد استفاده

نام ماده شیمیایی	فرمول	شرکت سازنده
متاکرزول پرپل	$C_{21}H_{18}O_5S$	مرک <sup>۲</sup>
پتاسیم برومات	$KBrO_3$	مرک
پتاسیم برمید	$KBr$	مرک
سولفوریک اسید	$H_2SO_4^*$	مرک
تیواوره	$CH_4N_2S$	مرک
پتاسیم نیترات	$KNO_3$	مرک

\* خلوص تجزیه‌ای ۹۸٪

1- Meta cresol purple

۲- Merck

محلول مادر ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر تیواوره از حل کردن ۰/۱۰۰۰ گرم تیواوره در آب مقطر در یک بالن ۱۰۰ میلی لیتری تهیه شد.

محلول مادر  $10^{-3} \times 1/0$  مولار متاکرزول پرپل از حل کردن ۰/۰۳۸۲ گرم متاکرزول پرپل در ۲۵/۰ میلی لیتر اتانول و سپس رقیق کردن با آب مقطر در یک بالن ۱۰۰ میلی لیتری تهیه شد.

محلول مادر ۵/۰ مولار سولفوریک اسید از رقیق کردن ۲۷/۷ میلی لیتر از سولفوریک اسید غلیظ تجاری در یک بالن ۱۰۰ میلی لیتری تهیه شد.

محلول مادر ۰/۱۰ مولار پتاسیم برمید از حل کردن ۱/۱۹۰۰ گرم پتاسیم برمید در آب مقطر در یک بالن ۱۰۰ میلی لیتری تهیه شد.

محلول مادر ۰/۲۰ مولار پتاسیم برومات از حل کردن ۳/۳۴۰۰ گرم پتاسیم برومات در آب مقطر در یک بالن ۱۰۰ میلی لیتری تهیه شد.

تمامی محلول های رقیق تر، روزانه از رقیق کردن حجم های معینی از محلول مادر تهیه شدند.

### ۳-۱-۲- دستگاه های مورد استفاده

برای ثبت طیف های جذبی در ناحیه مرئی-ماوراء بنفش از یک اسپکتروفتومتر مرئی-ماوراء بنفش شیمادزو<sup>۱</sup> مدل UV-160 با یک جفت سل کوارتز ۱/۰ سانتی متری استفاده شد.

آزمایش های تزریق در جریان پیوسته با استفاده از دستگاه تزریق در جریان پیوسته که در آزمایشگاه طراحی و ساخته شده بود استفاده گردید. این دستگاه مجهز به اجزای زیر است:

---

۱- Shimadzu



۱- آشکارساز مرئی-ماوراء بنفش مدل SFD3210 ساخت کشور آلمان مجهز به سلول جریان‌ی ۲۰

میکرولیتری و منبع نور تنگستن در ناحیه مرئی

۲- پمپ پرستالتیک مدل ۵۲۰۱ (شرکت هایدولف<sup>۱</sup>) مجهز به لوله‌های با جنس سیلیکون<sup>۲</sup> با قطر

های داخلی متفاوت و سرعت چرخش موتور قابل تنظیم برای تنظیم سرعت‌های متفاوت

۳- لوله‌های تفلونی با قطر داخلی ۰/۸ میلی‌متر برای ماریپیج واکنش و پیچه تزریق

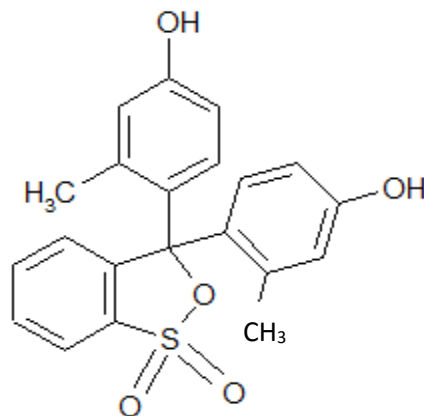
۴- شیر تزریق<sup>۳</sup> شش راهه رثوداین<sup>۴</sup> مدل ۵۰۱۱ ساخت شرکت ساپلکو<sup>۵</sup> برای تزریق نمونه

برای ثابت نگه داشتن دما از حمام آب حرارتی  $\pi$ -بیوتک<sup>۶</sup> مدل NB-۳۰۱ ساخت شرکت فراز

طب تجهیز و برای ثبت زمان واکنش نیز از یک کرومومتر استفاده شد.

### ۳-۱-۳- سیستم شیمیایی مورد استفاده

متاکرزول پرپل یک ترکیب رنگی است که دارای ساختار گسترده زیر است:



شکل ۳-۱: ساختار متاکرزول پرپل

۱-Hidolph

۲-Silicon

۳-Injector Valve

۴-Rheodyne

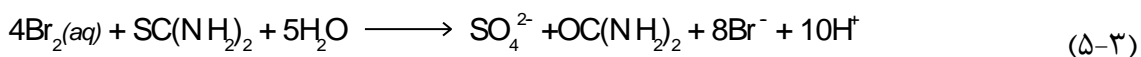
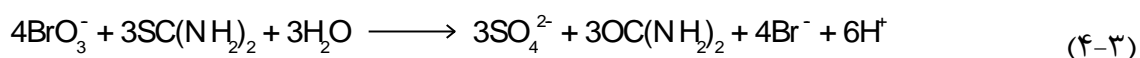
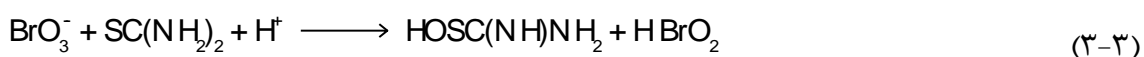
۵-Supelco

۶- Biotek

در دمای اتاق و در محیط اسیدی سرعت واکنش بین متاکرزول پرپل و پتاسیم برومات کند است. در حضور یون برمید به علت واکنش یون برمید با یون برومات و تولید  $\text{Br}_2$  سرعت واکنش افزایش می‌یابد.  $\text{Br}_2$  تولید شده با متاکرزول پرپل واکنش می‌دهد و آن را به یک ماده بی‌رنگ تبدیل می‌کند و یک چرخه کاتالیزوری شکل می‌گیرد (واکنش‌های (۱-۳) و (۲-۳)). لذا با گذشت زمان در طول موج ۵۲۵ نانومتر جذب متاکرزول پرپل کاهش می‌یابد. چرخه کاتالیزوری ایجاد شده به صورت زیر است [۳۸]:



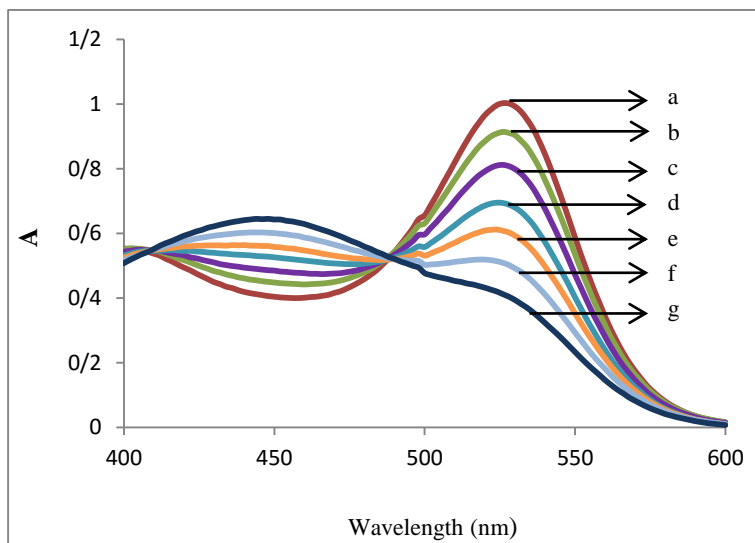
بررسی‌های اولیه نشان داد که حضور تیواوره باعث توقف واکنش بی‌رنگ شدن متاکرزول پرپل و ثابت ماندن جذب برای مدت زمانی مشخص می‌شود که به آن زمان القائی (tip) می‌گویند. ایجاد زمان القائی در واکنش به علت واکنش تیواوره با برومات و برم مطابق واکنش‌های زیر است [۳۸]:



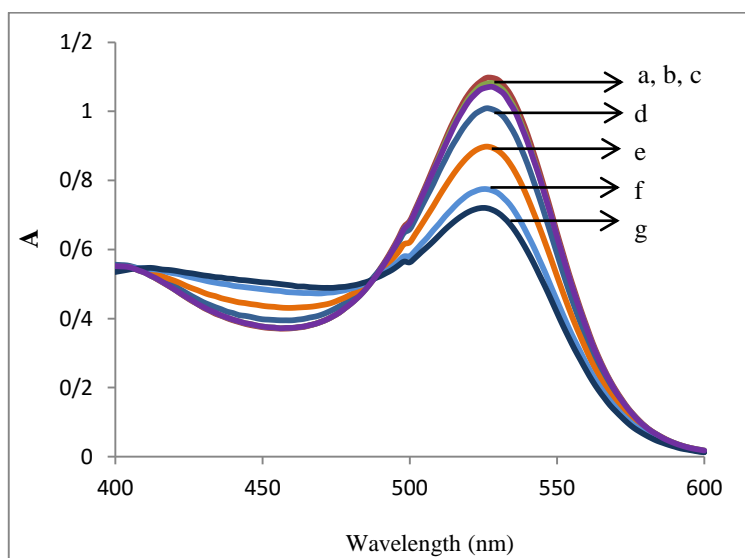
### ۳-۱-۴- ثبت طیف جذبی

به منظور بررسی اثر تیواوره بر سیستم متاکرزول پرپل- برومات- برمید در محدوده طول موجی ۴۰۰-۶۰۰ نانومتر، ۷ طیف جذبی متوالی با فواصل زمانی ۳۰ ثانیه، از محلول نمونه و شاهد ثبت گردید. برای ثبت طیف جذبی محلول نمونه و شاهد به ترتیب زیر عمل شد:

به یک بالن حجمی ۱۰ میلی‌لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی‌لیتر تیواوره ۱۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۱/۰ میلی‌لیتر سولفوریک اسید ۰/۳ مولار، ۱/۰ میلی‌لیتر متاکرزول پرپل  $5/2 \times 10^{-4}$  مولار و ۱/۰ میلی‌لیتر پتاسیم برمید ۰/۱۳ مولار اضافه گردید. محلول حاصل توسط آب مقطر تا حجم تقریبی ۸/۰ میلی‌لیتر رقیق شد. سپس ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول پتاسیم برومات ۰/۰۶۰ مولار اضافه شد و با افتادن آخرین قطره کرومومتر روشن شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول حاصل، مقدار معینی از محلول به سل دستگاه منتقل شد و پس از گذشت ۱۵ ثانیه از شروع واکنش در محدوده طول موجی ۴۰۰-۶۰۰ نانومتر، ۷ طیف جذبی متوالی با فواصل زمانی ۳۰ ثانیه، ثبت گردید. برای ثبت طیف جذبی محلول شاهد نیز به همین صورت عمل شد با این تفاوت که تیواوره اضافه نگردید. طیف‌های حاصل در شکل (۲-۳) آمده است. مقایسه دو طیف شاهد و نمونه نشان می‌دهد که با گذشت زمان، مقدار جذب در باند جذبی متاکرزول پرپل در طول موج ۵۲۵ نانومتر کاهش می‌یابد در حالی که حضور تیواوره در نمونه باعث ثابت ماندن جذب برای مدت زمانی می‌شود که به آن زمان القایی (tip) گویند. بنابراین تغییرات جذب در طول موج ۵۲۵ نانومتر می‌تواند برای پیگیری واکنش انجام شده مورد استفاده قرار گیرد.



الف



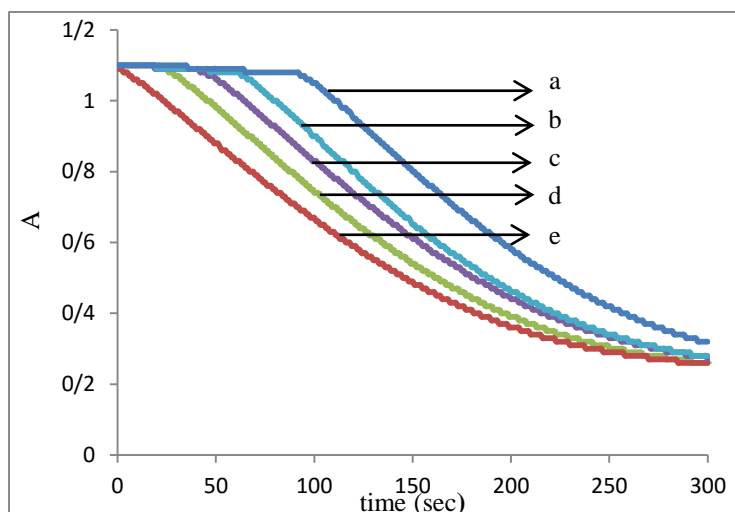
ب

شکل (۳-۲): طیف جذبی سیستم واکنش  
شرایط: متاکرزول پریل  $5/2 \times 10^{-5}$  مولار، پتاسیم برمید  $1/3 \times 10^{-3}$  مولار، سولفوریک اسید  $0/30$  مولار، پتاسیم برومات  $6/0 \times 10^{-3}$  مولار، فاصله زمانی بین ثبت هر طیف ۳۰ ثانیه، دما  $25/0$  درجه سانتی‌گراد. الف) در غیاب تیواوره ب) در حضور  $1/0$  میکروگرم بر میلی‌لیتر تیواوره. a, b, c, d, e, f و g طیف‌های جذبی به ترتیب پس از ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰، ۱۸۰ و ۲۱۰ ثانیه پس از شروع واکنش می‌باشند.

### ۳-۱-۵- طیف زمانی

به منظور بررسی اثر غلظت تیواوره بر زمان القائی، در طول موج ۵۲۵ نانومتر و در فاصله زمانی ۰-۳۰۰ ثانیه داده‌های جذب بر حسب زمان در حضور چهار غلظت متفاوت از تیواوره مطابق روش زیر ثبت شد:

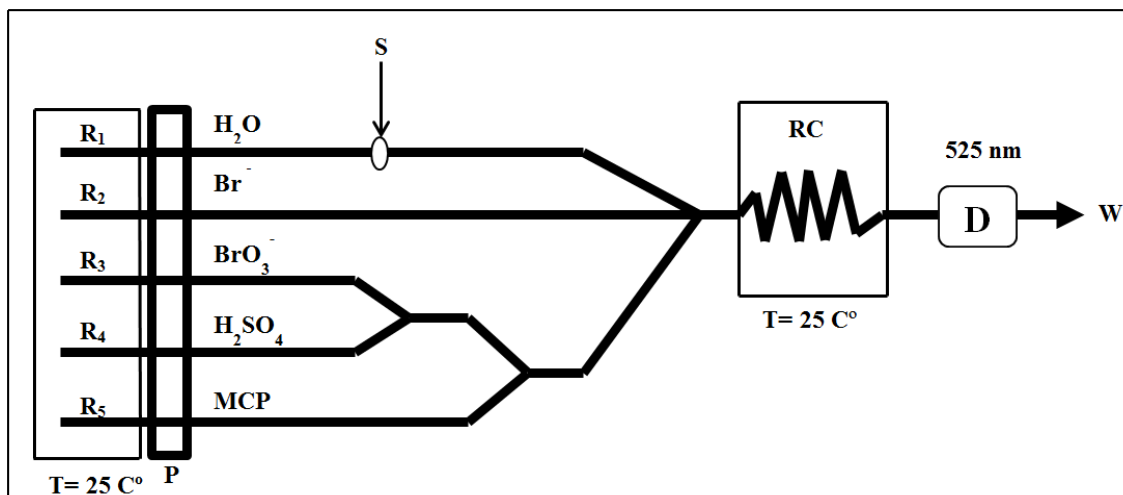
به یک بالن حجمی ۱۰ میلی‌لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی‌لیتر تیواوره با غلظت‌های متفاوت، ۱/۰ میلی‌لیتر سولفوریک اسید ۰/۳۰ مولار، ۱/۰ میلی‌لیتر متاکرزول پرپل  $10^{-4} \times 5/2$  مولار و ۱/۰ میلی‌لیتر پتاسیم برمید ۰/۰۱۳ مولار اضافه گردید. محلول حاصل توسط آب مقطر تا حجم تقریبی ۸/۰ میلی‌لیتر رقیق شد. سپس ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول پتاسیم برومات ۰/۰۶۰ مولار اضافه شد و با افتادن آخرین قطره کرومومتر روشن شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول حاصل، مقدار معینی از محلول به سل دستگاه منتقل شد و در طول موج ۵۲۵ نانومتر در فاصله زمانی ۰-۳۰۰ ثانیه داده‌های جذب بر حسب زمان در غلظت‌های متفاوت تیواوره رسم شد. همان طور که در شکل (۳-۳) نشان داده شده است زمان القائی با افزایش غلظت تیواوره افزایش می‌یابد. در اثر واکنش تیواوره با برومات و برم حاصل از واکنش (۳-۱)، غلظت برومات کاهش یافته و در نتیجه سرعت واکنش (۳-۲) کم می‌شود و مقدار کمتری متاکرزول پرپل مصرف می‌شود و متاکرزول پرپل بیشتری (نسبت به حالتی که تیواوره وجود ندارد) به آشکارساز می‌رسد و اختلاف جذب در طول موج ۵۲۵ نانومتر افزایش می‌یابد. میزان افزایش جذب به عنوان سیگنال تجزیه‌ای ثبت می‌شود که با غلظت تیواوره متناسب است.



شکل (۳-۳): بررسی اثر غلظت تیواوره بر زمان بازداری  
 شرایط: متاکرزول پرپل  $5/2 \times 10^{-5}$  مولار، پتاسیم برمید  $1/3 \times 10^{-2}$  مولار، سولفوریک اسید  $0/30$  مولار، پتاسیم برومات  $3/0 \times 10^{-3}$  مولار، دمای  $25/0$  درجه سانتی گراد. a, b, c و d به ترتیب تیواوره با غلظت‌های  $1/0$ ،  $1/5$ ،  $2/5$  و  $0/5$  میکروگرم بر میلی‌لیتر و e نمونه شاهد است.

### ۳-۱-۶- طراحی سیستم FIA

به منظور اندازه‌گیری تیواوره با استفاده از ایجاد زمان القائی بر روی واکنش متاکرزول پرپل- برومات-برمید یک سیستم FIA مناسب طراحی گردید. در این طراحی سعی شد سیستم تا حد ممکن ساده و بدون پیچیدگی باشد. سیستم طراحی شده و همچنین چگونگی اختلاط واکنشگرها و تزریق نمونه در شکل (۳-۴) نشان داده شده است. همان طور که در شکل (۳-۴) مشاهده می‌شود در سیستم طراحی شده آب مقطر به عنوان جریان حامل از کانال شماره یک ( $R_1$ ) و واکنشگرها شامل: پتاسیم برمید، پتاسیم برومات، سولفوریک اسید و متاکرزول پرپل به ترتیب از کانال‌های دو ( $R_2$ )، سه ( $R_3$ )، چهار ( $R_4$ ) و پنج ( $R_5$ ) توسط پمپ پریستالتیک پمپ شدند. پس از اختلاط واکنشگرها و عبور از ماریپیج واکنش (RC) محلول به سمت آشکارساز حرکت کرده تا جذب ثابتی در طول موج  $525$  نانومتر ایجاد شود. محلول نمونه حاوی تیواوره توسط سیستم تزریق در نقطه (S) به جریان آبی تزریق شد. تزریق تیواوره سبب بازداری واکنش برومات با متاکرزول پرپل شده و باعث افزایش جذب مخلوط واکنشگرها در طول موج  $525$  نانومتر گردید که میزان افزایش جذب توسط ثبات ثابت شد.



شکل (۳-۴): طرح سیستم FIA برای اندازه‌گیری تیواوره.  $R_1$ : جریان حامل (آب مقطر)،  $R_2$ : پتاسیم برمید،  $R_3$ : پتاسیم برومات،  $R_4$ : سولفوریک اسید،  $R_5$ : متاکرزول پرپل، P: پمپ پرستالتیک، S: نمونه تزریقی حاوی تیواوره، RC: مارپیچ واکنش، D: آشکارساز، W: فاضلاب

### ۳-۱-۷- بررسی پارامترها و بهینه‌سازی متغیرهای مؤثر بر سیستم واکنش

به منظور فراهم نمودن بهترین حساسیت و در نتیجه بهترین حد تشخیص، متغیرهای مؤثر بر سرعت واکنش و در نتیجه زمان بازداری تیواوره بر واکنش برومات با متاکرزول پرپل، مورد بررسی قرار گرفتند. در بررسی پارامترهای مؤثر، ابتدا از روش بهینه‌سازی یک متغیر در یک زمان<sup>۱</sup> استفاده گردید. در این روش همه متغیرها ثابت در نظر گرفته می‌شدند و فقط پارامتری که باید بهینه شود، تغییر داده می‌شد. سپس به دلیل برهمکنش واکنشگرها با یکدیگر از روش بهینه‌سازی سادگی استفاده گردید که در این روش همه متغیرهای غلظتی همزمان با هم تغییر داده می‌شدند. پارامترهای بررسی شده عبارتند از:

۱- نوع اسید

۲- غلظت اسید

۳- غلظت پتاسیم برومات

1- One-at-a-time

- ۴- غلظت پتاسیم برمید
- ۵- غلظت متاکرزول پرپل
- ۶- سرعت جریان واکنشگرها
- ۷- سرعت جریان حامل (آب)
- ۸- طول مارپیچ واکنش
- ۹- حجم نمونه تزریقی
- ۱۰- دما
- ۱۱- قدرت یونی

### ۳-۱-۷-۱- روش کار در بررسی و بهینه‌سازی متغیرها

کلیه محلول‌های مورد استفاده و مارپیچ واکنش قبل از هر آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه به حمام آب ۲۵/۰ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید و برای انجام تمام اندازه‌گیری‌ها به ترتیب زیر عمل شد:

با توجه به سیستم طراحی شده که در شکل (۳-۴) نشان داده شده است، آب مقطر به عنوان جریان حامل از کانال شماره یک ( $R_1$ ) و واکنشگرها شامل: پتاسیم برمید، پتاسیم برومات، سولفوریک اسید و متاکرزول پرپل با غلظت‌های معین به ترتیب از کانال‌های دو ( $R_2$ )، سه ( $R_3$ )، چهار ( $R_4$ ) و پنج ( $R_5$ ) توسط پمپ پرستالتیک پمپ شدند. پس از اختلاط واکنشگرها و عبور از مارپیچ واکنش (RC) محلول به سمت آشکارساز حرکت کرده تا جذب ثابتی در طول موج ۵۲۵ نانومتر ایجاد شود. محلول نمونه حاوی تیواوره با غلظت مشخص توسط سیستم تزریق در نقطه (S) به جریان آبی تزریق شد. تزریق تیواوره سبب بازداری واکنش برومات با متاکرزول پرپل شده و باعث افزایش جذب مخلوط واکنشگرها در طول موج ۵۲۵ نانومتر گردید که میزان افزایش جذب توسط ثبات ثبت شد.



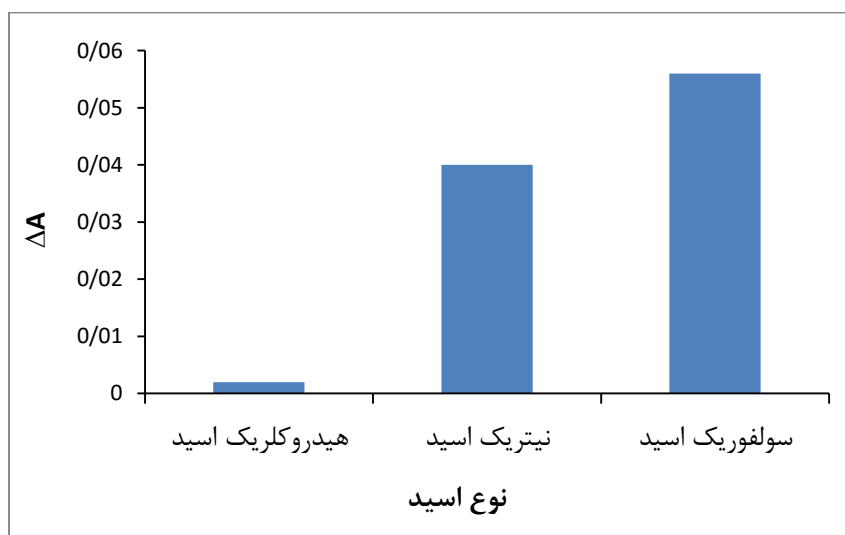
### ۳-۱-۷-۲- بررسی اثر نوع اسید

در دمای ثابت ۲۵/۰ درجه سانتیگراد، طول مارپیچ واکنش ۱۲۵ سانتی‌متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر و در طول موج ۵۲۵ نانومتر اثر سه اسید متفاوت سولفوریک، نیتریک و هیدروکلریک اسید مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی اثر نوع اسید بر روی سیگنال جذبی به ترتیب زیر عمل شد:

در این بررسی آب مقطر به عنوان جریان حامل از کانال شماره یک (R<sub>1</sub>) با سرعت ۳۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت و واکنشگرها شامل: پتاسیم برمید  $۵/۰ \times ۱۰^{-۳}$  مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۴۰ مولار، متاکرزول پرپل  $۳/۰ \times ۱۰^{-۴}$  مولار و اسیدهای مورد بررسی به صورت مجزا در هر آزمایش به ترتیب سولفوریک، نیتریک و هیدروکلریک اسید با غلظت‌های ۰/۵۰، ۱/۰ و ۱/۰ مولار به ترتیب از کانال‌های دو (R<sub>2</sub>)، سه (R<sub>3</sub>)، پنج (R<sub>5</sub>) و چهار (R<sub>4</sub>) توسط پمپ پریستالتیک با سرعت ۱۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت پمپ شدند. پس از ثابت شدن جذب در طول موج ۵۲۵ نانومتر محلول نمونه حاوی تیواوره با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر توسط سیستم تزریق در نقطه (S) به جریان آبی تزریق و هر نمونه سه بار متوالی تزریق شد. تزریق تیواوره سبب بازداری واکنش برومات با متاکرزول پرپل شده و باعث افزایش جذب مخلوط واکنشگرها در طول موج ۵۲۵ نانومتر گردید که میزان افزایش جذب نیز توسط ثبات ثبت شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۲) و شکل (۳-۵) آمده است. با توجه به نتایج به دست آمده، بیشترین تغییرات جذب و در نتیجه بیشترین حساسیت در غلظت‌های یکسان پروتون از اسیدها در سولفوریک اسید مشاهده می‌شود. لذا به دلیل مزاحمت یون کلرید حاصل از هیدروکلریک اسید و مصرف حجم کمتر سولفوریک اسید نسبت به نیتریک اسید، سولفوریک اسید به عنوان اسید بهینه برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

جدول (۳-۲): نتایج حاصل از بررسی اثر نوع اسید بر روی اختلاف جذب

نوع اسید	غلظت اسید (مولار)	اختلاف جذب
HCl	۱/۰	۰/۰۰۲
HNO <sub>3</sub>	۱/۰	۰/۰۴۰
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	۰/۵۰	۰/۰۵۶



شکل (۳-۵): بررسی اثر نوع اسید بر روی اختلاف جذب

شرایط: تیواوره ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، پتاسیم برومات ۰/۰۴۰ مولار، پتاسیم برمید  $۵/۰ \times ۱۰^{-۳}$  مولار، متاکرزول پرپل  $۳/۰ \times ۱۰^{-۴}$  مولار، دمای ۲۵/۰ درجه سانتی‌گراد، طول موج ۵۲۵ نانومتر، طول ماریچ ۱۲۵ سانتی‌متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر، سرعت جریان آب ۳۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت، سرعت جریان واکنشگرها ۱۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت.

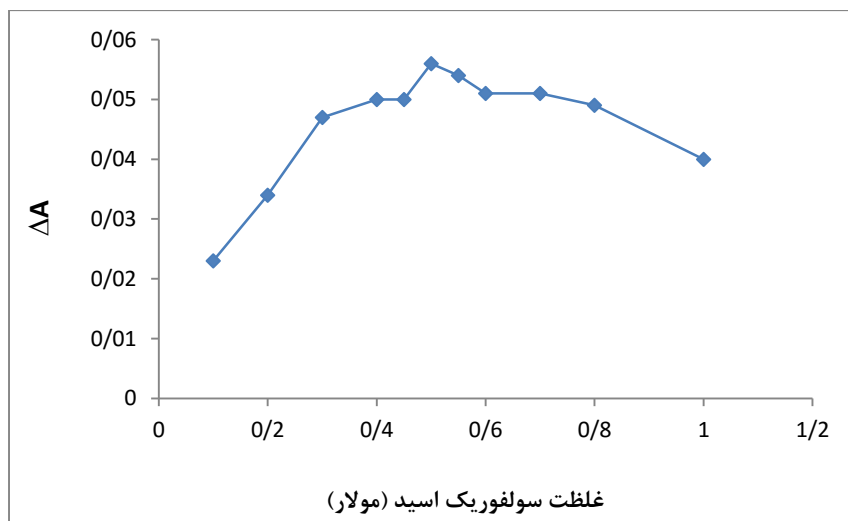
### ۳-۱-۷-۳- بررسی اثر غلظت سولفوریک اسید

در دمای ثابت ۲۵/۰ درجه سانتیگراد، طول مارپیچ واکنش ۱۲۵ سانتی‌متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر و در طول موج ۵۲۵ نانومتر اثر غلظت سولفوریک اسید بر روی سیگنال تجزیه‌ای در ناحیه غلظتی ۰/۱۰ تا ۱/۰ مولار مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی مطابق روش زیر عمل شد:

از کانال شماره یک (R<sub>1</sub>) آب مقطر به عنوان جریان حامل با سرعت ۳۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت و از کانال‌های دو (R<sub>2</sub>)، سه (R<sub>3</sub>)، چهار (R<sub>4</sub>) و پنج (R<sub>5</sub>) به ترتیب پتاسیم برمید  $۵/۰ \times ۱۰^{-۳}$  مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۴۰ مولار، غلظت‌های متفاوت از سولفوریک اسید و متاکرزول پرپل  $۳/۰ \times ۱۰^{-۴}$  مولار با سرعت ۱۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت پمپ شدند. پس از ثابت شدن جذب در طول موج ۵۲۵ نانومتر محلول نمونه حاوی تیواوره با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر توسط سیستم تزریق در نقطه (S) به جریان آبی تزریق شد و هر نمونه سه بار متوالی تزریق شد و میزان افزایش جذب در طول موج ۵۲۵ نانومتر توسط ثبات ثبت شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۳) و شکل (۳-۶) آمده است. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت که با افزایش غلظت اسید، سرعت واکنش تولید برم افزایش می‌یابد لذا سیگنال تجزیه‌ای افزایش یافته و بیشترین سیگنال تجزیه‌ای نیز در غلظت ۰/۵۰ مولار از سولفوریک اسید مشاهده می‌شود. با افزایش بیشتر غلظت اسید به دلیل افزایش سرعت واکنش شاهد سیگنال تجزیه‌ای کاهش می‌یابد بنابراین غلظت ۰/۵۰ مولار سولفوریک اسید به عنوان غلظت بهینه برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

جدول (۳-۳): نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت سولفوریک اسید بر روی اختلاف جذب

غلظت سولفوریک اسید (مولار)	اختلاف جذب
۰/۱۰	۰/۰۲۳
۰/۲۰	۰/۰۳۴
۰/۳۰	۰/۰۴۷
۰/۴۰	۰/۰۵۰
۰/۴۵	۰/۰۵۳
۰/۵۰	۰/۰۵۶
۰/۵۵	۰/۰۵۴
۰/۶۰	۰/۰۵۱
۰/۷۰	۰/۰۵۱
۰/۸۰	۰/۰۴۹
۱/۰	۰/۰۴۰



شکل (۳-۶): بررسی اثر غلظت سولفوریک اسید بر روی اختلاف جذب

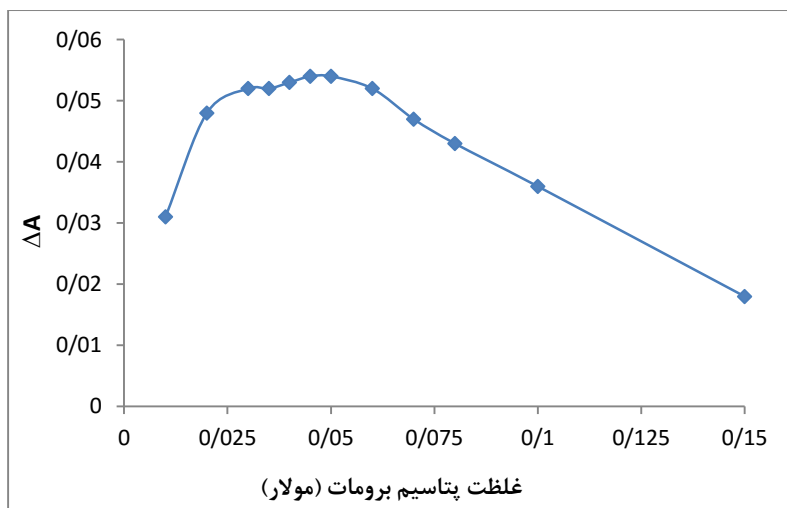
شرایط: تیواوره ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، پتاسیم برومات ۰/۰۴۰ مولار، پتاسیم برمید  $۵/۰ \times ۱۰^{-۳}$  مولار، متاکرزول پریل  $۳/۰ \times ۱۰^{-۴}$  مولار، دمای ۲۵/۰ درجه سانتی‌گراد، طول موج ۵۲۵ نانومتر، طول مارپیچ ۱۲۵ سانتی‌متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر، سرعت جریان آب ۳۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت، سرعت جریان واکنشگرها ۱۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت.

### ۳-۱-۷-۴- بررسی اثر غلظت پتاسیم برومات

در این بررسی اثر غلظت پتاسیم برومات بر روی سیگنال تجزیه‌ای در ناحیه غلظتی ۰/۰۱۰ تا ۰/۱۵ مولار در شرایط ثابت دمای ۲۵/۰ درجه سانتیگراد، طول مارپیچ واکنش ۱۲۵ سانتی‌متر، حجم تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر و در طول موج ۵۲۵ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. روش کار به این صورت بود که مطابق شکل (۳-۴) ابتدا واکنشگرها شامل: پتاسیم برمید  $۵/۰ \times ۱۰^{-۳}$  مولار، پتاسیم برومات با غلظت‌های متفاوت، سولفوریک اسید ۰/۵۰ مولار و متاکرزول پرپل  $۳/۰ \times ۱۰^{-۴}$  مولار به ترتیب از کانال‌های دو (R<sub>2</sub>)، سه (R<sub>3</sub>)، چهار (R<sub>4</sub>) و پنج (R<sub>5</sub>) با سرعت ۱۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت و آب به عنوان جریان حامل از کانال شماره یک (R<sub>1</sub>) با سرعت ۳۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت پمپ شدند. پس از ثابت شدن جذب در ۵۲۵ نانومتر محلول نمونه حاوی تیواوره با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از محل (S) به سیستم تزریق شد. هر نمونه سه بار متوالی تزریق شد و میزان افزایش جذب توسط ثبات ثبت شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۴) و شکل (۳-۷) آمده است. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت که با افزایش غلظت پتاسیم برومات سرعت واکنش تولید برم افزایش می‌یابد لذا سیگنال تجزیه‌ای و در نتیجه حساسیت افزایش می‌یابد. همچنین در ناحیه ۰/۰۳۰ تا ۰/۰۶۰ مولار پتاسیم برومات سیگنال ثابت می‌شود. با افزایش بیشتر غلظت پتاسیم برومات به دلیل افزایش سرعت واکنش شاهد، سیگنال تجزیه‌ای کاهش می‌یابد. لذا غلظت ۰/۰۴۵ مولار پتاسیم برومات به عنوان غلظت بهینه برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

جدول (۳-۴): نتایج حاصل از بررسی غلظت پتاسیم برومات بر روی اختلاف جذب

غلظت پتاسیم برومات (مولار)	اختلاف جذب
۰/۰۱۰	۰/۰۳۱
۰/۰۲۰	۰/۰۴۸
۰/۰۳۰	۰/۰۵۲
۰/۰۳۵	۰/۰۵۲
۰/۰۴۰	۰/۰۵۳
۰/۰۴۵	۰/۰۵۴
۰/۰۵۰	۰/۰۵۴
۰/۰۶۰	۰/۰۵۲
۰/۰۷۰	۰/۰۴۷
۰/۰۸۰	۰/۰۴۳
۰/۱۰	۰/۰۳۶
۰/۱۵	۰/۰۱۸



شکل (۳-۷): بررسی اثر غلظت پتاسیم برومات بر روی اختلاف جذب

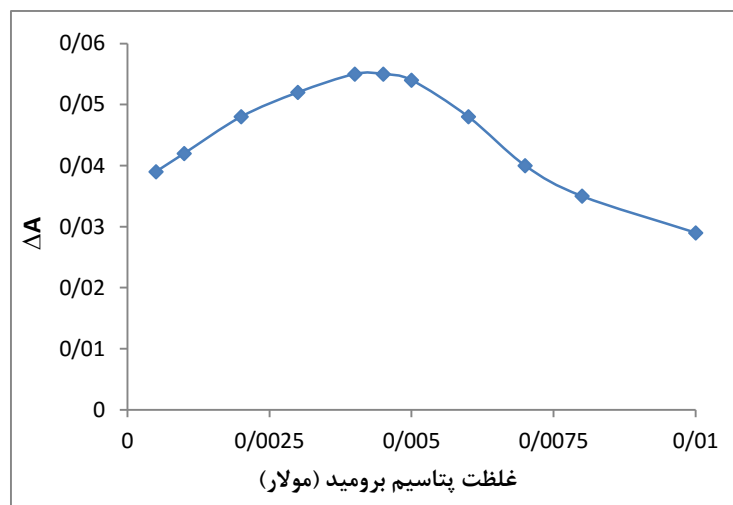
شرایط: تیواوره ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، سولفوریک اسید ۰/۵۰ مولار، پتاسیم برمید  $۵/۰ \times 10^{-3}$  مولار، متاکرزول پرپل  $۳/۰ \times 10^{-4}$  مولار، دمای ۲۵/۰ درجه سانتی‌گراد، طول موج ۵۲۵ نانومتر، طول مارپیچ ۱۲۵ سانتی‌متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر، سرعت جریان آب ۳۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت، سرعت جریان واکنشگرها ۱۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت.

### ۳-۱-۷-۵- بررسی اثر غلظت پتاسیم برمید

در شرایط ثابت دمای ۲۵/۰ درجه سانتیگراد، طول مارپیچ واکنش ۱۲۵ سانتی متر، حجم تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر و در طول موج ۵۲۵ نانومتر اثر غلظت پتاسیم برمید بر روی سیگنال تجزیه‌ای در ناحیه غلظتی  $۵/۰ \times ۱۰^{-۴}$  تا  $۱/۰ \times ۱۰^{-۲}$  مولار مورد بررسی قرار گرفت. روش کار به این صورت بود که مطابق شکل (۳-۴) ابتدا واکنشگرها شامل: پتاسیم برمید در ناحیه غلظتی  $۵/۰ \times ۱۰^{-۴}$  تا  $۱/۰ \times ۱۰^{-۲}$  مولار، پتاسیم برومات  $۰/۰۴۵$  مولار، سولفوریک اسید  $۰/۵۰$  مولار و متاکرزول پرپل  $۳/۰ \times ۱۰^{-۴}$  مولار به ترتیب از کانال‌های دو (R<sub>2</sub>)، سه (R<sub>3</sub>)، چهار (R<sub>4</sub>) و پنج (R<sub>5</sub>) با سرعت ۱۰/۰ میلی لیتر بر ساعت و آب به عنوان جریان حامل از کانال شماره یک (R<sub>1</sub>) با سرعت ۳۰/۰ میلی لیتر بر ساعت پمپ شدند. پس از ثابت شدن جذب در ۵۲۵ نانومتر محلول نمونه حاوی تیواوره با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر به سیستم تزریق شد. هر نمونه سه بار متوالی تزریق شد و میزان افزایش جذب توسط ثبات ثبت شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۵) و شکل (۳-۸) آمده است. نتایج بدست آمده بیانگر این هستند که با افزایش غلظت پتاسیم برمید تا  $۳/۰ \times ۱۰^{-۳}$  مولار سرعت واکنش تولید برم افزایش یافته، لذا سیگنال تجزیه‌ای و در نتیجه حساسیت افزایش می‌یابد و در ناحیه  $۳/۰ \times ۱۰^{-۳}$  تا  $۵/۰ \times ۱۰^{-۲}$  مولار پتاسیم برمید سیگنال ثابت می‌شود. با افزایش بیشتر غلظت پتاسیم برمید به دلیل افزایش سرعت واکنش شاهد، سیگنال تجزیه‌ای کاهش می‌یابد. بنابراین غلظت  $۴/۵ \times ۱۰^{-۳}$  مولار پتاسیم برمید به عنوان غلظت بهینه برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

جدول (۳-۵): نتایج حاصل از بررسی غلظت پتاسیم برمید بر روی اختلاف جذب

غلظت پتاسیم برمید (مولار)	اختلاف جذب
۰/۰۰۰۵	۰/۰۳۹
۰/۰۰۱۰	۰/۰۴۲
۰/۰۰۲۰	۰/۰۴۸
۰/۰۰۳۰	۰/۰۵۲
۰/۰۰۴۰	۰/۰۵۵
۰/۰۰۴۵	۰/۰۵۵
۰/۰۰۵۰	۰/۰۵۴
۰/۰۰۶۰	۰/۰۴۸
۰/۰۰۷۰	۰/۰۴۰
۰/۰۰۸۰	۰/۰۳۵
۰/۰۱۰	۰/۰۲۹



شکل (۳-۸): بررسی اثر غلظت پتاسیم برمید بر روی اختلاف جذب

شرایط: تیواوره ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، سولفوریک اسید ۰/۵۰ مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۴۵ مولار، متاکرزول پرپیل  $3 \times 10^{-4}$  مولار، دمای ۲۵/۰ درجه سانتی‌گراد، طول موج ۵۲۵ نانومتر، طول ماریچ ۱۲۵ سانتی‌متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر، سرعت جریان آب ۳۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت، سرعت جریان واکنشگرها ۱۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت.



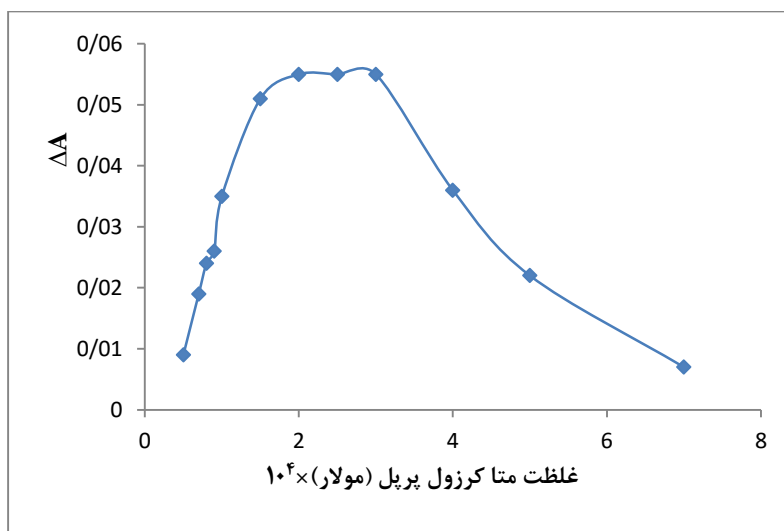
### ۳-۱-۷-۶- بررسی اثر غلظت متاکرزول پرپل

در دمای ثابت ۲۵/۰ درجه سانتیگراد، طول مارپیچ واکنش ۱۲۵ سانتی‌متر، حجم تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر و در طول موج ۵۲۵ نانومتر اثر غلظت متاکرزول پرپل بر روی سیگنال تجزیه‌ای در ناحیه غلظتی  $۵/۰ \times ۱۰^{-۵}$  تا  $۷/۰ \times ۱۰^{-۴}$  مولار مورد بررسی قرار گرفت و مطابق روش زیر عمل شد:

از کانال شماره یک (R<sub>1</sub>) آب مقطر به عنوان جریان حامل با سرعت ۳۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت و از کانال‌های دو (R<sub>2</sub>)، سه (R<sub>3</sub>)، چهار (R<sub>4</sub>) و پنج (R<sub>5</sub>) به ترتیب پتاسیم برمید  $۴/۵ \times ۱۰^{-۳}$  مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۴۵ مولار، سولفوریک اسید ۰/۵۰ مولار و غلظت‌های متفاوت از متاکرزول پرپل با سرعت ۱۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت پمپ شدند. پس از ثابت شدن جذب محلول نمونه حاوی تیواوره با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به کانال شماره یک تزریق شد. هر نمونه سه بار متوالی تزریق شد و میزان افزایش جذب توسط ثبات ثبت شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۶) و شکل (۳-۹) آمده است. نکته قابل توجه این است که با افزایش غلظت متاکرزول پرپل سرعت واکنش افزایش یافته لذا سیگنال تجزیه‌ای و در نتیجه حساسیت افزایش می‌یابد. همچنین در ناحیه  $۲/۰ \times ۱۰^{-۴}$  تا  $۳/۰ \times ۱۰^{-۴}$  مولار متاکرزول پرپل سیگنال ثابت می‌باشد. با افزایش بیشتر غلظت متاکرزول پرپل جذب نمونه شاهد افزایش یافته و لذا سیگنال تجزیه‌ای کاهش می‌یابد. بنابراین غلظت  $۲/۵ \times ۱۰^{-۴}$  مولار متاکرزول پرپل به عنوان غلظت بهینه برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

جدول (۳-۶): نتایج حاصل از بررسی غلظت متاکرزول پریل بر روی اختلاف جذب

غلظت متاکرزول پریل (مولار)	اختلاف جذب
$5 \times 10^{-5}$	۰/۰۰۹
$7 \times 10^{-5}$	۰/۰۱۹
$8 \times 10^{-5}$	۰/۰۲۴
$9 \times 10^{-5}$	۰/۰۲۶
$1 \times 10^{-4}$	۰/۰۳۵
$1/5 \times 10^{-4}$	۰/۰۵۱
$2 \times 10^{-4}$	۰/۰۵۵
$2/5 \times 10^{-4}$	۰/۰۵۴
$3 \times 10^{-4}$	۰/۰۵۵
$4 \times 10^{-4}$	۰/۰۳۶
$5 \times 10^{-4}$	۰/۰۲۲
$7 \times 10^{-4}$	۰/۰۰۷



شکل (۳-۹): بررسی اثر غلظت متاکرزول پریل بر روی اختلاف جذب

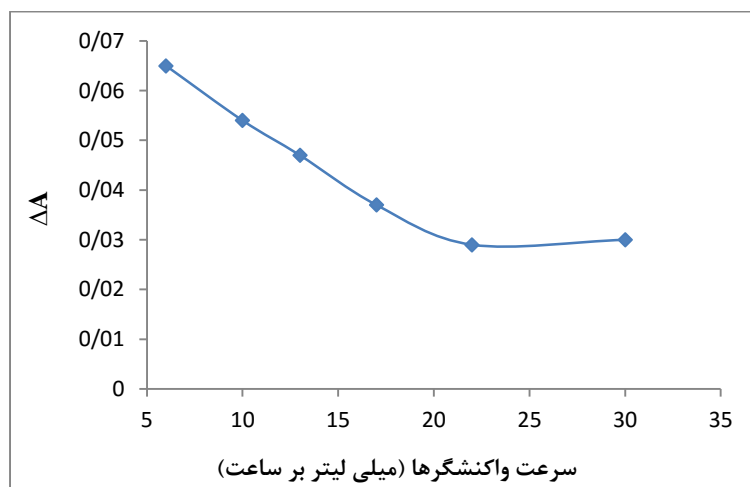
شرایط: تیواوره ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، سولفوریک اسید ۰/۵۰ مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۴۵ مولار، پتاسیم برمید  $4/5 \times 10^{-3}$  مولار، دمای ۲۵/۰ درجه سانتی‌گراد، طول موج ۵۲۵ نانومتر، اندازه ماریچ ۱۲۵ سانتی‌متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر، سرعت جریان آب ۳۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت، سرعت جریان واکنشگرها ۱۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت.

### ۳-۱-۷-۷- بررسی اثر سرعت جریان واکنشگرها

در شرایط ثابت دمای ۲۵/۰ درجه سانتیگراد، طول مارپیچ واکنش ۱۲۵ سانتی‌متر، حجم تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر و در طول موج ۵۲۵ نانومتر اثر سرعت جریان واکنشگرها بر روی سیگنال تجزیه‌ای در محدوده ۳۰/۰ - ۶/۰ میلی‌لیتر بر ساعت مورد بررسی قرار گرفت. روش کار به این صورت بود که مطابق شکل (۳-۳) ابتدا واکنشگرها شامل: پتاسیم برمید  $4/5 \times 10^{-3}$  مولار، پتاسیم برومات  $0/45$  مولار، سولفوریک اسید  $0/50$  مولار و متاکرزول پرپل  $2/5 \times 10^{-4}$  مولار به ترتیب از کانال‌های دو (R<sub>2</sub>)، سه (R<sub>3</sub>)، چهار (R<sub>4</sub>) و پنج (R<sub>5</sub>) با سرعت‌های متفاوت و آب به عنوان جریان حامل از کانال شماره یک (R<sub>1</sub>) با سرعت ۳۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت پمپ شدند. پس از ثابت شدن جذب، محلول تیواوره با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به سیستم تزریق شد. هر نمونه سه بار متوالی تزریق شد و میزان افزایش جذب توسط ثبات ثبت شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۷-۳) و شکل (۱۰-۳) آمده است. با توجه به نتایج حاصل بیشترین سیگنال تجزیه‌ای در سرعت ۶/۰ میلی‌لیتر بر ساعت مشاهده می‌شود. همان طوری که شکل (۱۰-۳) نشان می‌دهد با افزایش سرعت جریان واکنشگرها حساسیت روش کاهش می‌یابد زیرا با افزایش سرعت جریان زمان انجام واکنش کاهش می‌یابد. از آنجایی که برای تنظیم سرعت جریان واکنشگرها و سرعت جریان حامل از یک پمپ مشترک استفاده می‌شود لذا در سرعت‌های پایین واکنشگر نمی‌توان سرعت بالای جریان حامل را تنظیم کرد. از طرفی در سرعت جریان‌های پایین سرعت اندازه‌گیری نمونه کاهش می‌یابد. لذا سرعت ۱۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت به عنوان سرعت بهینه برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

جدول (۳-۷): نتایج حاصل از بررسی سرعت واکنشگرها بر روی اختلاف جذب

اختلاف جذب	سرعت واکنشگرها (ml/h)
۰/۰۶۵	۶
۰/۰۵۴	۱۰
۰/۰۴۷	۱۳
۰/۰۳۷	۱۷
۰/۰۲۹	۲۲
۰/۰۳۰	۳۰



شکل (۳-۱۰): بررسی اثر سرعت واکنشگرها بر روی اختلاف جذب

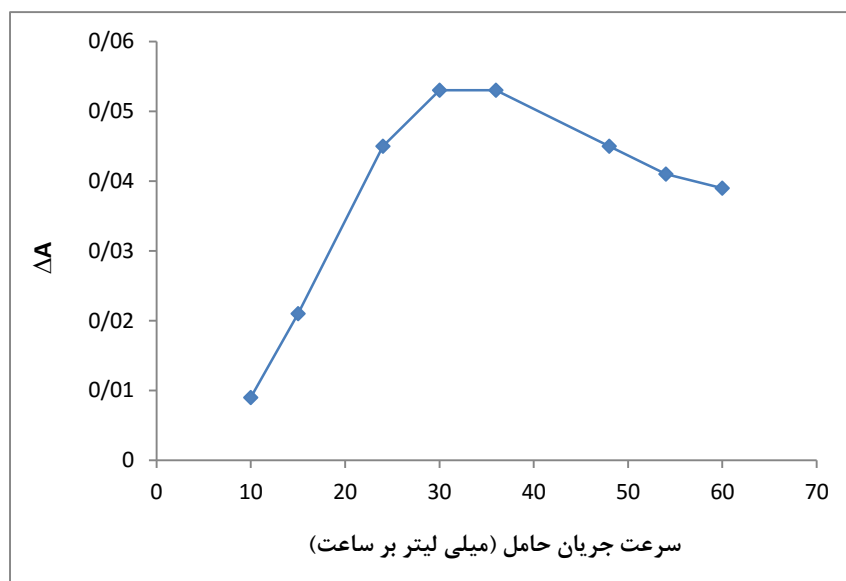
شرایط: تیواوره ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر، سولفوریک اسید ۰/۵۰ مولار، متاکرزول پرپیل  $۲/۵ \times 10^{-4}$ ، پتاسیم برومات ۰/۰۴۵ مولار، پتاسیم برمید  $۴/۵ \times 10^{-3}$  مولار، دمای ۲۵/۰ درجه سانتی گراد، طول موج ۵۲۵ نانومتر، طول مارپیچ ۱۲۵ سانتی متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر، سرعت جریان آب ۳۰/۰ میلی لیتر بر ساعت.

### ۳-۱-۷-۸- بررسی اثر سرعت جریان حامل

در این بررسی اثر سرعت جریان حامل بر روی سیگنال تجزیه‌ای در محدوده ۶۰/۰-۱۰/۰ میلی لیتر بر ساعت در شرایط ثابت دمای ۲۵/۰ درجه سانتیگراد، طول مارپیچ واکنش ۱۲۵ سانتی‌متر، حجم تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر و در طول موج ۵۲۵ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. روش کار به این صورت بود که مطابق شکل (۳-۳) ابتدا واکنشگرها شامل: پتاسیم برمید  $۴/۵ \times ۱۰^{-۳}$  مولار، پتاسیم برومات  $۰/۰۴۵$  مولار، سولفوریک اسید  $۰/۵۰$  مولار و متاکرزول پرپل  $۲/۵ \times ۱۰^{-۴}$  مولار به ترتیب از کانال‌های دو (R<sub>2</sub>)، سه (R<sub>3</sub>)، چهار (R<sub>4</sub>) و پنج (R<sub>5</sub>) با سرعت ۱۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت و آب به عنوان جریان حامل از کانال شماره یک (R<sub>1</sub>) با سرعت‌های متفاوت پمپ شدند. پس از ثابت شدن جذب محلول نمونه حاوی تیواوره با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به کانال شماره یک تزریق شد. هر نمونه سه بار متوالی تزریق شد و میزان افزایش جذب توسط ثبات ثبت شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۸) و شکل (۳-۱۱) آمده است. نتایج حاصل نشان می‌دهند که با افزایش سرعت جریان حامل تا ۳۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت حساسیت روش افزایش می‌یابد. در ناحیه ۳۰/۰ تا ۳۶/۰ میلی‌لیتر بر ساعت سیگنال تجزیه‌ای ثابت شد و در سرعت‌های بالاتر سرعت جریان حامل به دلیل کاهش زمان انجام واکنش، حساسیت روش نیز کاهش می‌یابد. لذا سرعت ۳۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت به عنوان سرعت بهینه برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

جدول (۳-۸): نتایج حاصل از بررسی سرعت جریان حامل بر روی اختلاف جذب

سرعت آب (ml/h)	اختلاف جذب
۱۰	۰/۰۰۹
۱۵	۰/۰۲۱
۲۴	۰/۰۴۵
۳۰	۰/۰۵۳
۳۶	۰/۰۵۳
۴۸	۰/۰۴۵
۵۴	۰/۰۴۱
۶۰	۰/۰۳۹



شکل (۳-۱۱): بررسی اثر سرعت جریان حامل بر روی اختلاف جذب

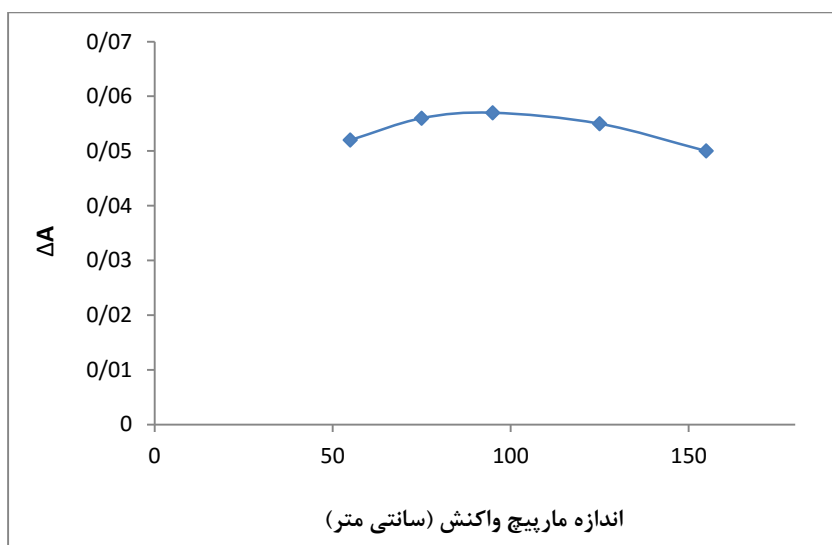
شرایط: تیواوره ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر، سولفوریک اسید ۰/۵۰ مولار، متاکرزول پرپیل  $۱۰^{-۴} \times ۲/۵$ ، پتاسیم برومات ۰/۰۴۵ مولار، پتاسیم برمید  $۱۰^{-۳} \times ۴/۵$  مولار، دمای ۲۵/۰ درجه سانتی گراد، طول موج ۵۲۵ نانومتر، طول مارپیچ ۱۲۵ سانتی متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر، سرعت جریان واکنشگرها ۱۰/۰ میلی لیتر بر ساعت.

### ۳-۱-۷-۹- بررسی اثر طول ماریپیچ واکنش

به منظور ایجاد پاشیدگی محوری و مخلوط شدن شعاعی نمونه و واکنشگر که منجر به پیک‌های متقارن‌تری می‌شوند از ماریپیچ واکنش استفاده شد. در شرایط ثابت دمای ۲۵/۰ درجه سانتیگراد، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر و در طول موج ۵۲۵ نانومتر اثر طول ماریپیچ واکنش بر روی سیگنال تجزیه‌ای در گستره ۱۵۵ - ۵۵ مورد بررسی قرار گرفت. روش کار به این صورت بود که مطابق شکل (۳-۴) ابتدا واکنشگرها شامل: پتاسیم برمید  $۴/۵ \times ۱۰^{-۳}$  مولار، پتاسیم برومات  $۰/۰۴۵$  مولار، سولفوریک اسید  $۰/۵۰$  مولار و متاکرزول پرپل  $۲/۵ \times ۱۰^{-۴}$  مولار به ترتیب از کانال‌های دو (R<sub>2</sub>)، سه (R<sub>3</sub>)، چهار (R<sub>4</sub>) و پنج (R<sub>5</sub>) با سرعت  $۱۰/۰$  میلی‌لیتر بر ساعت و آب به عنوان جریان حامل از کانال شماره یک (R<sub>1</sub>) با سرعت  $۳۰/۰$  میلی‌لیتر بر ساعت پمپ شدند. در هر آزمایش طول ماریپیچ واکنش تغییر داده شد و پس از ثابت شدن جذب محلول تیواوره با غلظت  $۱/۰$  میکروگرم بر میلی‌لیتر به کانال شماره یک (R<sub>1</sub>) تزریق شد. هر نمونه سه بار متوالی تزریق شد و میزان افزایش جذب توسط ثبات ثبت شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۹) و شکل (۳-۱۲) آمده است. انتظار می‌رود که با افزایش طول ماریپیچ واکنش به دلیل افزایش زمان انجام واکنش، حساسیت افزایش یابد در حالی که ماریپیچ‌های بلندتر واکنش باعث پهن شدگی پیک‌ها شده و در نتیجه حساسیت کاهش می‌یابد. این دو اثر معکوس باعث شده است که با افزایش طول ماریپیچ واکنش تا ۹۵ سانتی‌متر (شکل ۳-۱۲) حساسیت به میزان اندکی افزایش یافته و در ماریپیچ‌های واکنش بلندتر تقریباً ثابت بماند. لذا طول ماریپیچ واکنش ۹۵ سانتی‌متر به عنوان طول ماریپیچ بهینه برای مطالعات بعدی انتخاب شد تا علاوه بر حساسیت بالا، سرعت آنالیز نیز افزایش یابد.

جدول (۳-۹): نتایج حاصل از بررسی اندازه مارپیچ واکنش بر روی اختلاف جذب

طول مارپیچ (Cm)	اختلاف جذب
۵۵	۰/۰۵۲
۷۵	۰/۰۵۶
۹۵	۰/۰۵۷
۱۲۵	۰/۰۵۵
۱۵۵	۰/۰۵۰



شکل (۳-۱۲): بررسی اثر طول مارپیچ واکنش بر روی اختلاف جذب

شرایط: تیواوره ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر، سولفوریک اسید ۰/۵۰ مولار، متاکرزول پرپل<sup>-۴</sup>  $۲/۵ \times 10^{-۴}$ ، پتاسیم برومات ۰/۰۴۵ مولار، پتاسیم برمید<sup>-۳</sup>  $۴/۵ \times 10^{-۳}$  مولار، دمای ۲۵/۰ درجه سانتی گراد، طول موج ۵۲۵ نانومتر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر، سرعت جریان آب ۳۰/۰ میلی لیتر بر ساعت، سرعت جریان واکنشگرها ۱۰/۰ میلی لیتر بر ساعت.



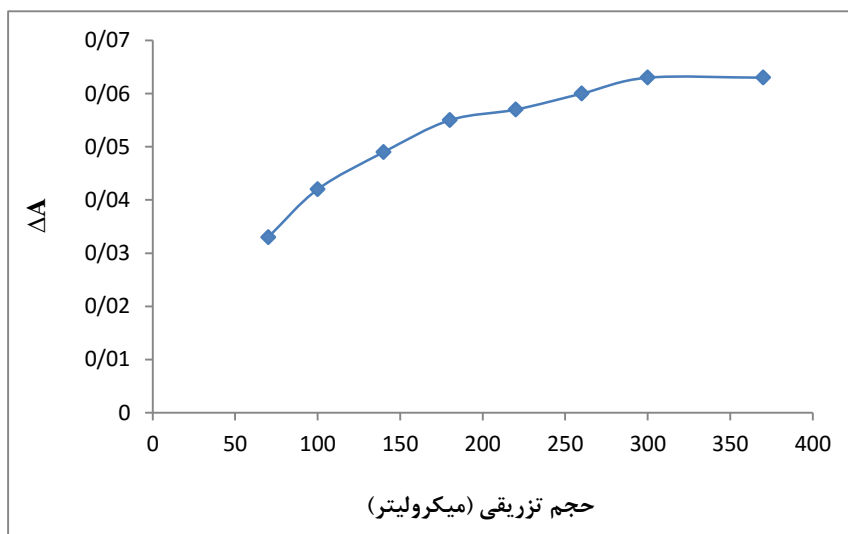
### ۳-۱-۷-۱۰- بررسی اثر حجم نمونه تزریقی

پیچه تزریق برای اندازه‌گیری نمونه‌های با حجم کم مورد استفاده قرار می‌گیرد. به منظور بررسی اثر حجم نمونه تزریقی بر روی سیگنال تجزیه‌ای در شرایط ثابت دمای ۲۵/۰ درجه سانتیگراد، طول ماریچ واکنش ۹۵ سانتی‌متر و در طول موج ۵۲۵ نانومتر از لوپ‌هایی با حجم‌های متفاوت در گستره ۷۰ تا ۳۷۰ میکرولیتر استفاده شد و مطابق روش زیر عمل شد:

ابتدا واکنش‌ها شامل پتاسیم برمید  $۴/۵ \times ۱۰^{-۳}$  مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۴۵ مولار، سولفوریک اسید ۰/۵۰ مولار و متاکرزول پرپل  $۲/۵ \times ۱۰^{-۴}$  مولار به ترتیب از کانال‌های دو (R<sub>2</sub>)، سه (R<sub>3</sub>)، چهار (R<sub>4</sub>) و پنج (R<sub>5</sub>) با سرعت ۱۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت و آب به عنوان جریان حامل از کانال شماره یک (R<sub>1</sub>) با سرعت ۳۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت پمپ شدند. پس از ثابت شدن جذب در هر آزمایش توسط لوپ‌هایی با طول متفاوت، حجم مشخصی از محلول تیواوره با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به کانال شماره یک (R<sub>1</sub>) تزریق شد. هر نمونه سه بار متوالی تزریق شد و میزان افزایش جذب توسط ثبات ثبت شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۰) و شکل (۳-۱۳) آمده است. نتایج نشان می‌دهد با افزایش حجم لوپ تا ۱۸۰ میکرولیتر مقدار تیواوره وارد شده بیشتر شده و سیگنال تجزیه‌ای نیز افزایش می‌یابد ولی در حجم‌های بالاتر به علت پهن شدن پیک‌ها تغییر چندانی در سیگنال تجزیه‌ای با افزایش حجم لوپ مشاهده نمی‌شود. لذا لوپ با حجم ۱۸۰ میکرولیتر به عنوان حجم تزریقی نمونه بهینه برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

جدول (۳-۱۰): نتایج حاصل از بررسی حجم پیچه تزریق بر روی اختلاف جذب

حجم لوپ (μL)	اختلاف جذب
۷۰	۰/۰۳۳
۱۰۰	۰/۰۴۲
۱۴۰	۰/۰۴۹
۱۸۰	۰/۰۵۵
۲۲۰	۰/۰۵۷
۲۶۰	۰/۰۶۰
۳۰۰	۰/۰۶۳
۳۷۰	۰/۰۶۳



شکل (۳-۱۳): بررسی اثر حجم نمونه تزریقی بر روی اختلاف جذب

شرایط: تیواوره ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر، سولفوریک اسید ۰/۵۰ مولار، متاکرزول پرپیل  $۱۰^{-۴} \times ۲/۵$ ، پتاسیم برومات ۰/۰۴۵ مولار، پتاسیم برمید  $۱۰^{-۳} \times ۴/۵$  مولار، دمای ۲۵/۰ درجه سانتی گراد، طول موج ۵۲۵ نانومتر، طول مارپیچ ۹۵ سانتی متر، سرعت جریان آب ۳۰/۰ میلی لیتر بر ساعت، سرعت جریان واکنشگرها ۱۰/۰ میلی لیتر بر ساعت.

### ۳-۱-۸- نتایج حاصل از بهینه‌سازی یک متغیر در یک زمان

نتایج به دست آمده در بررسی و بهینه‌سازی پارامترهای مؤثر بر عملکرد سیستم به روش بهینه‌سازی یک متغیر در یک زمان در جدول (۳-۱۱) نشان داده شده است.

جدول (۳-۱۱): نتایج حاصل از بهینه‌سازی یک متغیر در یک زمان برای اندازه‌گیری نیواوره

سولفوریک اسید	نوع اسید
۵۲۵	طول موج (نانومتر)
۰/۵۰	غلظت سولفوریک اسید (مولار)
۰/۰۴۵	غلظت پتاسیم برومات (مولار)
$۴/۵ \times ۱۰^{-۳}$	غلظت پتاسیم برمید (مولار)
$۲/۵ \times ۱۰^{-۴}$	غلظت متاکرزول پرپیل (مولار)
۱۰/۰	سرعت جریان واکنشگرها (میلی لیتر بر ساعت)
۳۰/۰	سرعت جریان حامل (میلی لیتر بر ساعت)
۹۵	طول مارپیچ واکنش (سانتی متر)
۱۸۰	حجم نمونه تزریقی (میکرولیتز)

برای بررسی وجود برهمکنش بین متغیرهای غلظتی برهمکنش آن‌ها را بررسی کردیم.

### ۳-۱-۹- مطالعه برهمکنش بین واکنشگرها

به منظور محاسبه برهمکنش بین واکنشگرها از روش مربعات لاتین استفاده شد و برهمکنش بین واکنشگرها به صورت دو تایی بررسی شد. روش کار به این صورت است که ابتدا برای هر واکنشگر کمترین (L) و بیشترین (H) مقدار غلظتی را براساس نتایج بهینه‌سازی یک متغیر در یک زمان مشخص کرده و در شرایط کمترین و بیشترین مقدار غلظت برای دو واکنشگر و شرایط بهینه غلظتی برای سایر واکنشگرها و شرایط بهینه دستگاهی مطابق روش ذکر شده چهار آزمایش برای محاسبه برهمکنش بین دو واکنشگر انجام شد. اگر اختلاف سیگنال جذبی بین کمترین و بیشترین مقدار

غلظت از یک واکنشگر در سطح بیشترین غلظت برای واکنشگر بعدی با اختلاف سیگنال جذبی بین کمترین و بیشترین مقدار غلظت برای همان واکنشگر در سطح کمترین غلظت برای واکنشگر بعدی برابر شود به این معناست که بین متغیرها برهمکنش وجود ندارد در غیر این صورت متغیرها با یکدیگر برهمکنش دارند. به عنوان نمونه نتایج حاصل از دو آزمایش در جدول (۱۲-۳) و (۱۳-۳) آمده است. با توجه به این که بین واکنشگرها برهمکنش مشاهده می‌شود لذا برای بهینه‌سازی غلظت واکنشگرها از روش بهینه‌سازی سادگی استفاده شد.

جدول (۱۲-۳): نتایج حاصل از بررسی برهمکنش بین سولفوریک اسید و پتاسیم برومات

$C_{H_2SO_4}$ (M)	$L=0.2$	$H=0.5$
$C_{KBrO_3}$ (M)		
$L=0.3$	$0.08$	$0.01$
$H=0.5$	$0.42$	$0.62$

$$(0.08 - 0.01) - (0.42 - 0.62) = 0.27$$

جدول (۱۳-۳): نتایج حاصل از بررسی برهمکنش بین متاکرزول پرپل و پتاسیم برمید

$C_{\text{متاکرزول پرپل}}$ (M)	$L=5 \times 10^{-5}$	$H=4 \times 10^{-4}$
$C_{KBr}$ (M)		
$L=0.02$	$0.49$	$0.1$
$H=0.1$	$0.04$	$0.18$

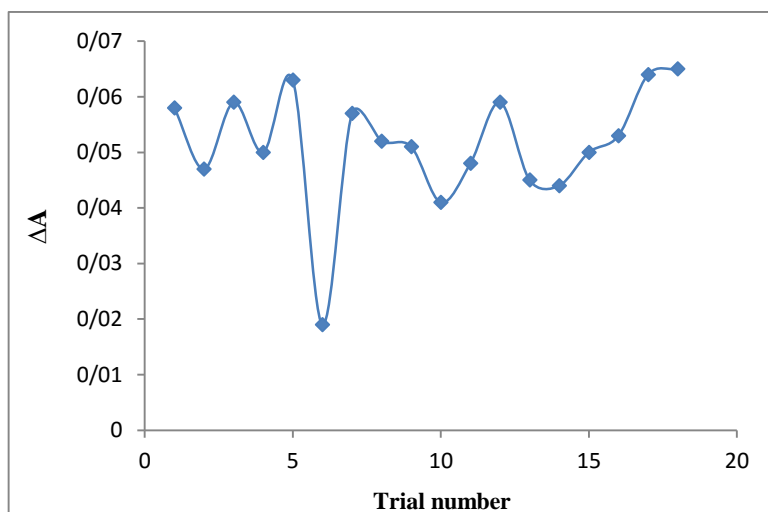
$$(0.49 - 0.1) - (0.04 - 0.18) = 0.53$$

### ۳-۱-۱۰- بهینه‌سازی به روش سادکی

به منظور دستیابی به بهترین نتایج و بهینه‌سازی شرایط و با توجه به وجود برهمکنش بین واکنشگرها، از روش بهینه‌سازی سادکی استفاده شد. در شرایط ثابت دمای ۲۵/۰ درجه سانتیگراد، طول ماریپیچ واکنش ۹۵ سانتی‌متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر، محلول تیواوره با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در طول موج ۵۲۵ نانومتر چهار متغیر یعنی غلظت پتاسیم برمید، غلظت پتاسیم برومات، غلظت سولفوریک اسید و غلظت متاکرزول پرپل انتخاب و به روش سادکی بهینه شدند. برای این منظور از نرم‌افزار MultiSimplex برای بهینه‌سازی استفاده شد. با توجه به این که چهار متغیر برای بهینه‌سازی انتخاب شده است، در ابتدا تعداد (۴+۱) آزمایش انجام شد. روش کار به این صورت بود که پتاسیم برمید، پتاسیم برومات، سولفوریک اسید و متاکرزول پرپل به ترتیب از کانال‌های دو (R<sub>2</sub>)، سه (R<sub>3</sub>)، چهار (R<sub>4</sub>) و پنج (R<sub>5</sub>) با سرعت ۱۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت و آب به عنوان جریان حامل از کانال شماره یک (R<sub>1</sub>) با سرعت ۳۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت پمپ شدند. با ثابت شدن جذب و تزریق محلول تیواوره میزان افزایش جذب توسط ثبات ثبت شد. پس از آزمایش هیجدهم، تغییر چندانی در میزان افزایش جذب مشاهده نشد و مقادیر بهینه برای غلظت واکنشگرها مشخص شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۴) و شکل (۳-۱۴) آمده است. مقادیر بهینه حاصل از روش بهینه‌سازی سادکی و روش یک متغیر در یک زمان در جدول (۳-۱۵) آمده است. نتایج نشان می‌دهد که شرایط بهینه حاصل از روش سادکی نسبت به روش یک متغیر در یک زمان حساسیت بیشتری ایجاد نمود و لذا شرایط بهینه سادکی برای ادامه کار انتخاب شد.

جدول (۳-۱۴): نتایج حاصل از بررسی بهینه‌سازی به روش سادگی

Trial number	غلظت سولفوریک اسید (مولار)	غلظت پتاسیم برومات (مولار)	غلظت پتاسیم برمید (مولار)	غلظت متاکرزول پرپیل (مولار)	اختلاف جذب
۱	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۰۰۶	$۱/۵۰ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۵۸
۲	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۰۰۴	$۲/۵۰ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۴۷
۳	۰/۴۰	۰/۰۶۰	۰/۰۰۴	$۱/۵۰ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۵۹
۴	۰/۶۰	۰/۰۶۰	۰/۰۰۶	$۲/۵۰ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۵۰
۵	۰/۶۰	۰/۰۴۰	۰/۰۰۴	$۱/۵۰ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۶۳
۶	۰/۶۰	۰/۰۶۰	۰/۰۰۶	$۱/۰ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۱۹
۷	۰/۴۵	۰/۰۴۵	۰/۰۰۵	$۲/۱۳ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۵۷
۸	۰/۶۳	۰/۰۶۰	۰/۰۰۳	$۲/۳۱ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۵۲
۹	۰/۷۴	۰/۰۴۰	۰/۰۰۵	$۲/۷۲ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۵۱
۱۰	۰/۸۳	۰/۰۶۰	۰/۰۰۴	$۲/۴۰ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۴۱
۱۱	۰/۵۵	۰/۰۵۰	۰/۰۰۵	$۲/۱۹ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۴۸
۱۲	۰/۶۵	۰/۰۴۰	۰/۰۰۳	$۱/۸۶ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۵۹
۱۳	۰/۶۱	۰/۰۵۴	۰/۰۰۵	$۲/۳۴ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۴۵
۱۴	۰/۷۴	۰/۰۵۲	۰/۰۰۴	$۲/۲۵ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۴۴
۱۵	۰/۶۰	۰/۰۵۰	۰/۰۰۵	$۲/۲۰ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۵۰
۱۶	۰/۶۷	۰/۰۴۴	۰/۰۰۴	$۲/۰ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۵۳
۱۷	۰/۷۲	۰/۰۴۶	۰/۰۰۳	$۲/۰۷ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۶۴
۱۸	۰/۷۵	۰/۰۲۵	۰/۰۰۵	$۱/۸۵ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۰۶۵



شکل ۳-۱۴: بررسی بهینه‌سازی به روش سادکی

جدول (۳-۱۵): مقادیر بهینه حاصل از روش سادکی و روش یک متغیر در یک زمان

متغیرها	مقادیر بهینه حاصل از روش سادکی	مقادیر بهینه حاصل از روش یک متغیر در یک زمان
غلظت سولفوریک اسید (مولار)	۰/۷۵	۰/۵۰
غلظت پتاسیم برمید (مولار)	$۵/۰ \times ۱۰^{-۳}$	$۴/۵ \times ۱۰^{-۳}$
غلظت پتاسیم برومات (مولار)	۰/۰۲۵	۰/۰۴۵
غلظت متاکرزول پرپل (مولار)	$۱/۸۵ \times ۱۰^{-۴}$	$۲/۵ \times ۱۰^{-۴}$

### ۳-۱-۱۱- بهینه‌سازی اثر دما و اثر قدرت یونی بر سیستم واکنش به روش یک متغیر در یک

زمان

#### ۳-۱-۱۱-۱- بررسی اثر دما

در شرایط ثابت طول مارپیچ واکنش ۹۵ سانتی‌متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر، در شرایط بهینه حاصل از روش سادکی و در طول موج ۵۲۵ نانومتر اثر دما بر روی سیگنال تجزیه‌ای در

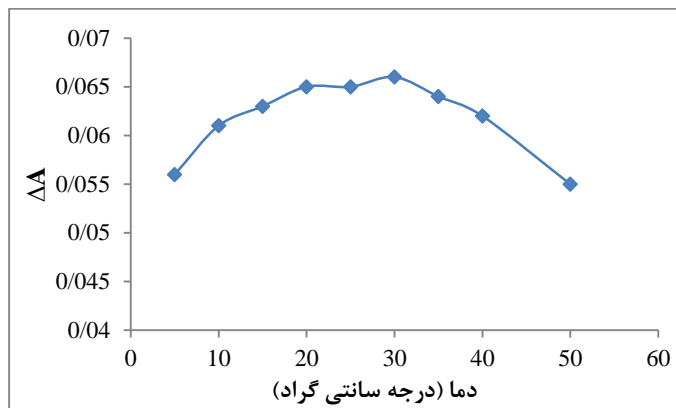
محدوده دمای ۵/۰-۵۰/۰ درجه سانتیگراد مورد بررسی قرار گرفت. روش کار به این صورت بود که مطابق شکل (۳-۴) ابتدا واکنشگرها شامل: پتاسیم برمید  $۵/۰ \times ۱۰^{-۳}$  مولار، پتاسیم برومات  $۰/۰۲۵$  مولار، سولفوریک اسید  $۰/۷۵$  مولار و متاکرزول پرپل  $۱/۸۵ \times ۱۰^{-۴}$  مولار به ترتیب از کانال‌های دو (R<sub>2</sub>)، سه (R<sub>3</sub>)، چهار (R<sub>4</sub>) و پنج (R<sub>5</sub>) با سرعت ثابت  $۱۰/۰$  میلی‌لیتر بر ساعت و آب به عنوان جریان حامل از کانال شماره یک (R<sub>1</sub>) با سرعت  $۳۰/۰$  میلی‌لیتر بر ساعت پمپ شدند. پس از ثابت شدن جذب محلول تیواوره با غلظت  $۱/۰$  میکروگرم بر میلی‌لیتر به کانال شماره یک (R<sub>1</sub>) تزریق شد. هر نمونه سه بار متوالی تزریق شد و میزان افزایش جذب توسط ثبات ثبت شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۶) و شکل (۳-۱۵) آمده است. همان طوری که شکل (۳-۱۵) نشان می‌دهد، با افزایش دما سرعت واکنش افزایش یافته که این افزایش با رابطه آرنیوس (۳-۶) قابل توجیه می‌باشد، لذا سیگنال تجزیه‌ای افزایش می‌یابد و در ناحیه  $۱۵/۰-۳۵/۰$  درجه سانتیگراد سیگنال ثابت می‌باشد. با افزایش بیشتر دما به دلیل افزایش بیشتر سرعت واکنش شاهد سیگنال تجزیه‌ای کاهش یافته و بنابراین دمای  $۲۵/۰$  درجه سانتیگراد به عنوان دمای بهینه انتخاب گردید. در این رابطه  $k$  ثابت سرعت،  $E_a$  انرژی فعال سازی،  $R$  ثابت گازها و  $T$  دما می‌باشد.

$$\frac{d \ln k}{dT} = \frac{E_a}{RT^2} \quad (۳-۶)$$

جدول (۳-۱۶): نتایج حاصل از بررسی اثر دما بر روی اختلاف جذب

دما (C°)	اختلاف جذب
۵	۰/۰۵۶
۱۰	۰/۰۶۱
۱۵	۰/۰۶۳
۲۰	۰/۰۶۵
۲۵	۰/۰۶۵
۳۰	۰/۰۶۶
۳۵	۰/۰۶۴
۴۰	۰/۰۶۲
۵۰	۰/۰۵۵





شکل (۳-۱۵): بررسی اثر دما بر روی اختلاف جذب

شرایط: تیواوره ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر، سولفوریک اسید ۰/۷۵ مولار، متاکرزول پرپل  $۱۰^{-۴} \times ۱/۸۵$ ، پتاسیم برومات ۰/۰۲۵ مولار، پتاسیم برمید  $۵/۰ \times ۱۰^{-۳}$  مولار، طول موج ۵۲۵ نانومتر، طول ماریچ ۹۵ سانتی متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر، سرعت جریان آب ۳۰/۰ میلی لیتر بر ساعت، سرعت جریان واکنشگرها ۱۰/۰ میلی لیتر بر ساعت.

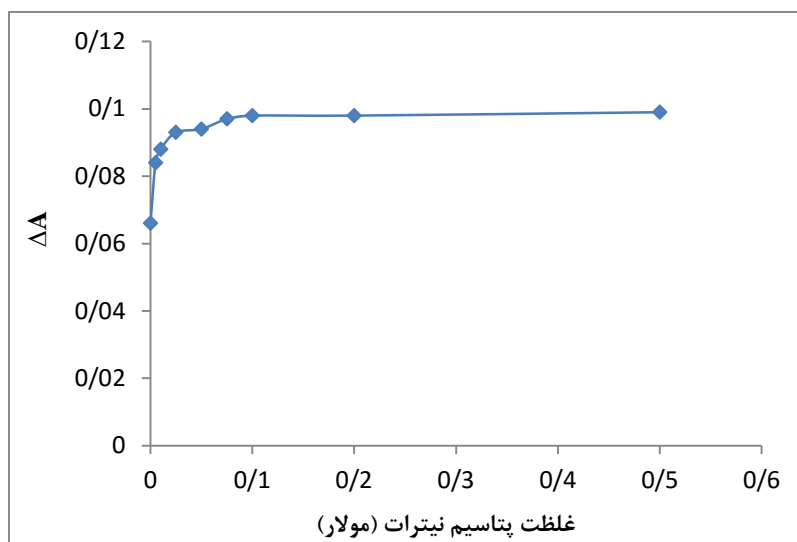
### ۳-۱۱-۲- بررسی اثر قدرت یونی

در این بررسی اثر قدرت یونی بر روی سیگنال تجزیه‌ای در محدوده غلظتی  $۵/۰ \times ۱۰^{-۳}$  تا ۰/۵۰ مولار پتاسیم نیترات در شرایط ثابت دمای ۲۵/۰ درجه سانتیگراد، طول ماریچ واکنش ۹۵ سانتی متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر و در طول موج ۵۲۵ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. روش کار به این صورت بود که مطابق شکل (۳-۴) ابتدا واکنشگرها شامل: پتاسیم برمید  $۵/۰ \times ۱۰^{-۳}$  مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۲۵ مولار، سولفوریک اسید ۰/۷۵ مولار و متاکرزول پرپل  $۱/۸۵ \times ۱۰^{-۴}$  مولار به ترتیب از کانال‌های دو (R<sub>۲</sub>)، سه (R<sub>۳</sub>)، چهار (R<sub>۴</sub>) و پنج (R<sub>۵</sub>) با سرعت ۱۰/۰ میلی لیتر بر ساعت و آب به عنوان جریان حامل از کانال شماره یک (R<sub>۱</sub>) با سرعت ۳۰/۰ میلی لیتر بر ساعت پمپ شدند. پس از ثابت شدن جذب، محلول نمونه حاوی مخلوط تیواوره با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر و پتاسیم نیترات با غلظت‌های متفاوت به کانال شماره یک تزریق شد. هر نمونه سه بار متوالی تزریق شد و میزان افزایش جذب توسط ثبات ثبت شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۷) و شکل (۳-۱۶) آمده است. با توجه به نتایج حاصل با افزایش غلظت پتاسیم نیترات به دلیل کاهش سرعت

واکنش شاهد، سیگنال تجزیه‌ای افزایش می‌یابد به گونه‌ای که با تزریق محلول پتاسیم نیترات به تنهایی سیگنال جذبی مشاهده می‌شود. در ناحیه ۰/۰۷۵ تا ۰/۵۰ مولار پتاسیم نیترات سیگنال جذبی ثابت شد.

جدول (۳-۱۷): نتایج حاصل از بررسی اثر قدرت یونی تزریقی بر روی اختلاف جذب

غلظت پتاسیم نیترات (مولار)	اختلاف جذب
۰	۰/۰۶۶
۰/۰۰۵	۰/۰۸۴
۰/۰۱۰	۰/۰۸۸
۰/۰۲۵	۰/۰۹۳
۰/۰۵۰	۰/۰۹۴
۰/۰۷۵	۰/۰۹۷
۰/۱۰۰	۰/۰۹۸
۰/۲۰۰	۰/۰۹۸
۰/۵۰۰	۰/۰۹۹



شکل (۳-۱۶): بررسی اثر قدرت یونی تزریقی بر روی اختلاف جذب

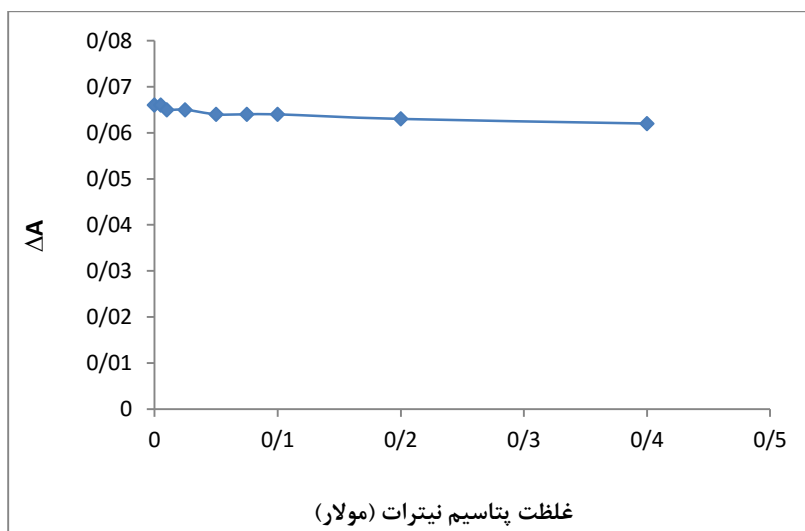
شرایط: تیواوره ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، سولفوریک اسید ۰/۷۵ مولار، متاکرزول پرپل  $۱۰^{-۴} \times ۱/۸۵$ ، پتاسیم برومات ۰/۰۲۵ مولار، پتاسیم برمید  $۱۰^{-۳} \times ۵/۰$  مولار، دمای ۲۵/۰ درجه سانتیگراد، طول موج ۵۲۵ نانومتر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر، طول مارپیچ ۹۵ سانتی‌متر، سرعت جریان آب ۳۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت، سرعت جریان واکنشگرها ۱۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت.

به منظور تثبیت قدرت یونی برای اندازه‌گیری تیواوره در نمونه‌های حقیقی، پتاسیم نیترات با غلظت ۰/۱۰۰ مولار مخلوط با پتاسیم برمید از کانال دو (R<sub>2</sub>) پمپ شدند و اثر قدرت یونی در محدوده غلظتی  $۱۰^{-۳} \times ۵/۰$  تا ۰/۴۰ مولار پتاسیم نیترات مخلوط با تیواوره تزریقی در شرایط ثابت دمای ۲۵/۰ درجه سانتیگراد، طول مارپیچ واکنش ۹۵ سانتی‌متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر و در طول موج ۵۲۵ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. روش کار به این صورت بود که مطابق شکل (۳-۴) ابتدا واکنشگرها شامل مخلوط پتاسیم برمید  $۱۰^{-۳} \times ۵/۰$  مولار و پتاسیم نیترات با غلظت ۰/۱۰۰ مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۲۵ مولار، سولفوریک اسید ۰/۷۵ مولار و متاکرزول پرپل  $۱۰^{-۴} \times ۱/۸۵$  مولار به ترتیب از کانال‌های دو (R<sub>2</sub>)، سه (R<sub>3</sub>)، چهار (R<sub>4</sub>) و پنج (R<sub>5</sub>) با سرعت ۱۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت و آب به عنوان جریان حامل از کانال شماره یک (R<sub>1</sub>) با سرعت ۳۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت پمپ شدند. پس از ثابت شدن جذب، محلول نمونه حاوی مخلوط تیواوره با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و پتاسیم نیترات با غلظت‌های متفاوت به کانال شماره یک تزریق شد. هر نمونه سه بار متوالی تزریق

شد و میزان افزایش جذب توسط ثبات ثابت شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۸) و شکل (۳-۱۷) آمده است. نتایج حاصل نشان می‌دهد که سیگنال تجزیه‌ای تا غلظت ۰/۴۰ مولار از پتاسیم نیترات (بیشترین غلظت آزمایش شده) مستقل از قدرت یونی می‌باشد.

جدول (۳-۱۸): نتایج حاصل از بررسی اثر قدرت یونی بر روی اختلاف جذب

غلظت پتاسیم نیترات (مولار)	اختلاف جذب
۰	۰/۰۶۶
۰/۰۰۵	۰/۰۶۶
۰/۰۱	۰/۰۶۵
۰/۰۲۵	۰/۰۶۵
۰/۰۵	۰/۰۶۴
۰/۰۷۵	۰/۰۶۴
۰/۱	۰/۰۶۴
۰/۲	۰/۰۶۳
۰/۴	۰/۰۶۲



شکل (۳-۱۷): بررسی اثر قدرت یونی بر روی اختلاف جذب  
 شرایط: تیواوره ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، سولفوریک اسید ۰/۷۵ مولار، متاکرزول پرپل  $10^{-4} \times 1/85$ ، پتاسیم برومات ۰/۰۲۵ مولار، پتاسیم برمید  $10^{-3} \times 5/0$  مولار، دمای ۲۵/۰ درجه سانتیگراد، طول موج ۵۲۵ نانومتر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر، طول مارپیچ ۹۵ سانتی‌متر، سرعت جریان آب ۳۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت، سرعت جریان واکنشگرها ۱۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت.

### ۳-۱-۱۲- شرایط بهینه حاصل

با توجه به نتایج به دست آمده در بررسی و بهینه سازی پارامترهای مؤثر بر عملکرد سیستم شرایط بهینه زیر در رسم منحنی کالیبراسیون مورد استفاده قرار گرفت که در جدول (۳-۱۹) نشان داده شده است.

جدول (۳-۱۹): شرایط بهینه سیستم برای اندازه‌گیری تیواوره

سولفوریک اسید	نوع اسید
۵۲۵	طول موج (نانومتر)
۰/۷۵	غلظت سولفوریک اسید (مولار)
۰/۰۲۵	غلظت پتاسیم برومات (مولار)
۰/۰۰۵	غلظت پتاسیم برمید (مولار)
$۱/۸۵ \times ۱۰^{-۴}$	غلظت متاکرزول پرپل (مولار)
۱۰/۰	سرعت جریان واکنشگرها (میلی لیتر بر ساعت)
۳۰/۰	سرعت جریان حامل (میلی لیتر بر ساعت)
۹۵	طول مارپیچ واکنش (سانتی متر)
۱۸۰	حجم نمونه تزریقی (میکرو لیتر)
۲۵/۰	دما (درجه سانتیگراد)
۰/۱۰	غلظت پتاسیم نیترات (مولار)

### ۳-۱-۱۳- بررسی مزاحمت‌ها

یکی از مهم‌ترین مراحل در توسعه یک روش تجزیه‌ای بررسی مزاحمت احتمالی گونه‌های مختلف در اندازه‌گیری گونه مورد نظر به منظور استفاده از آن در تجزیه نمونه‌های حقیقی است. به منظور تعیین میزان گزینش‌پذیری روش، اثر گونه‌های مختلف بر روی سیگنال حاصل از تزریق محلول تیواوره با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر بررسی شد. اثر مزاحمت گونه‌های (آنیون‌ها و

کاتیون‌ها) مختلف در شرایط بهینه غلظتی و دستگای ذکر شده در جدول (۳-۱۹)، مورد بررسی قرار گرفت.

در بررسی مزاحمت‌ها در حالی که واکنشگرها شامل مخلوط پتاسیم برمید و پتاسیم نترات، پتاسیم برومات، سولفوریک اسید و متاکرزول پرپل در شرایط غلظتی بهینه جدول (۳-۱۹) به ترتیب از کانال‌های دو (R<sub>2</sub>)، سه (R<sub>3</sub>)، چهار (R<sub>4</sub>) و پنج (R<sub>5</sub>) و جریان حامل از کانال شماره یک (R<sub>1</sub>) با سرعت‌های بهینه پمپ می‌شدند، ابتدا شش بار محلول تیواوره با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به کانال یک (R<sub>1</sub>) تزریق و سیگنال مربوطه ثبت شد و میانگین ( $\bar{x}$ ) و انحراف استاندارد (S) سیگنال‌های جذبی (در غیاب گونه مزاحم) محاسبه گردید. سپس هر گونه مزاحم به میزان هزار برابر وزنی تیواوره تهیه و به سیستم تزریق شد و سیگنال مربوطه ثبت گردید. اگر سیگنال جذبی در این حالت، در محدوده  $\bar{x} \pm 3s$  باشد به این معناست که یون مورد نظر با نسبت موجود، مزاحم نیست در غیر این صورت نسبت گونه مزاحم به تیواوره مرتبا کم می‌شد تا مزاحمت مشاهده نشود. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۲۰) آمده است. با توجه به نتایج فوق مشخص گردید که بسیاری از گونه‌های مورد بررسی حتی هنگامی که به میزان هزار برابر تیواوره حضور داشتند مزاحم نیستند. یون I<sup>-</sup> به دلیل واکنش با برومات و تولید I<sub>2</sub> باعث افزایش سرعت واکنش شاهد شده و میزان جذب را کاهش می‌دهد. یون Ag<sup>+</sup> به دلیل واکنش با Br<sup>-</sup> و تشکیل رسوب AgBr باعث کاهش سرعت واکنش شاهد شده و میزان جذب را افزایش می‌دهد. گونه آسکوربیک اسید به دلیل واکنش با Br<sub>2</sub> اکسید می‌شود و باعث می‌شود Br<sub>2</sub> کمتری با متاکرزول پرپل واکنش دهد و از این طریق باعث کاهش سرعت واکنش شاهد شده و سیگنال جذبی را افزایش می‌دهد. اثر مزاحمت برای یون‌های Pb<sup>2+</sup> و Ba<sup>2+</sup> با عبور از روی رزین کاتیونی به ترتیب تا سطح ۲۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کاهش یافت و مزاحمت Ni<sup>2+</sup> با اضافه کردن ۱/۰ میلی‌لیتر NaOH (۱/۰ مولار) به محلول و سپس صاف کردن محلول توسط کاغذ صافی و خنثی کردن محلول با سولفوریک اسید رقیق تا ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کاهش یافت. اثر مزاحمت آسکوربیک اسید با رفلکس تا سطح ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کاهش یافت.

جدول (۳-۲۰): نتایج حاصل از بررسی اثر گونه‌های مزاحم در اندازه‌گیری تیواوره ۱/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر

حد مجاز غلظت گونه به غلظت تیواوره	گونه‌های مورد بررسی
۱۰۰۰	Na <sup>+</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> <sup>2-</sup> , K <sup>+</sup> , Al <sup>3+</sup> , Ca <sup>2+</sup> , اوره، تارتاریک اسید، EDTA, Zn <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , گلوکز
۸۰۰	سیترات
۶۰۰	Cd <sup>2+</sup>
۵۰۰	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , Mn <sup>2+</sup>
۴۰۰	Mg <sup>2+</sup> , CN <sup>-</sup> , PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
۳۰۰	Co <sup>2+</sup> , F <sup>-</sup>
۲۰۰	CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup>
۱۰۰	Fe <sup>3+</sup> , Hg <sup>2+</sup>
۸۰	Cl <sup>-</sup>
۵۰	Ni <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup> , Ba <sup>2+</sup> فرمات
۱۰	سالیسیلات، Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>2-</sup>
۲	آسکوربیک اسید، Fe <sup>2+</sup>
۱	Ag <sup>+</sup> , I <sup>-</sup>

### ۳-۱-۱۴- منحنی کالیبراسیون

پس از دستیابی به شرایط بهینه برای اندازه‌گیری تیواوره، منحنی کالیبراسیون رسم گردید. برای

رسم منحنی کالیبراسیون مطابق روش زیر عمل شد:

در شرایط بهینه غلظتی و دستگاهی یعنی سولفوریک اسید ۰/۷۵ مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۲۵ مولار، مخلوط پتاسیم برمید ۵/۰×۱۰<sup>-۳</sup> مولار و پتاسیم نیترات ۰/۱ مولار، متاکرزول پرپل ۱/۸۵×۱۰<sup>-۴</sup> مولار، سرعت جریان واکنشگرها ۱۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت، سرعت جریان حامل ۳۰/۰ میلی‌لیتر بر ساعت، طول مارپیچ واکنش ۹۵ سانتی‌متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر و دمای ۲۵/۰ درجه سانتیگراد محلول‌های استاندارد از تیواوره در محدوده غلظتی ۲/۵۰ - ۰/۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به کانال شماره یک تزریق شد و سیگنال مربوطه در طول موج ۵۲۵ نانومتر ثبت شد. با توجه به نتایج به دست آمده در جدول (۳-۲۱) مشخص شد که در شرایط بهینه در محدوده غلظتی ۰/۱۰-۲/۰۰

میکروگرم بر میلی لیتر تیواوره رابطه خطی بین سیگنال اندازه گیری شده و غلظت تیواوره وجود دارد. نتایج حاصل در شکل های (۳-۱۸)، (۳-۱۹) و جدول (۳-۲۱) نشان داده شده است.

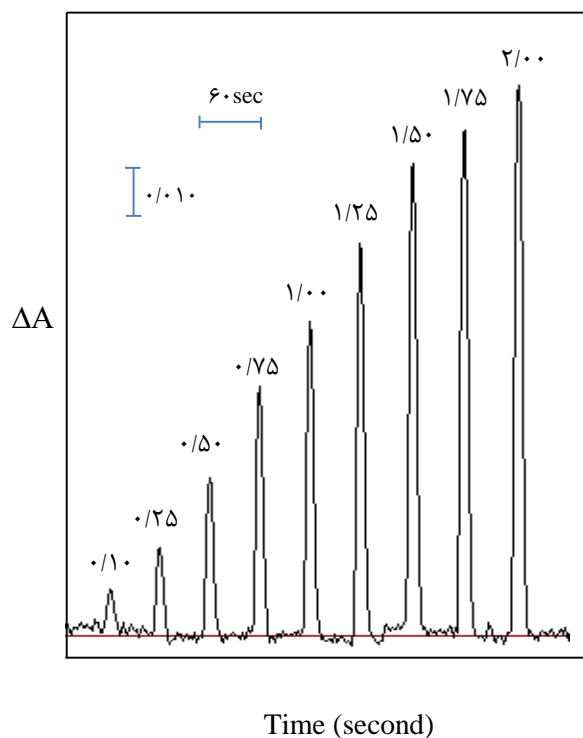
با تغییر شرایط بهینه غلظتی و در شرایط ثابت دستگاهی یعنی سولفوریک اسید ۱/۰۰ مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۴۰ مولار، مخلوط پتاسیم برمید ۰/۰۱۰ مولار و پتاسیم نیترات ۰/۱۰ مولار، متاکرزول پرپل  $10^{-4} \times 1/85$  مولار، سرعت جریان واکنشگرها ۱۰/۰ میلی لیتر بر ساعت، سرعت جریان حامل ۳۰/۰ میلی لیتر بر ساعت، طول مارپیچ واکنش ۹۵ سانتی متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر و دمای ۲۵/۰ درجه سانتیگراد محلول های استاندارد از تیواوره در محدوده غلظتی ۱۶/۰-۲/۰ میکروگرم بر میلی لیتر به کانال شماره یک تزریق شد و سیگنال مربوطه در طول موج ۵۲۵ نانومتر ثبت شد. با توجه به نتایج به دست آمده در جدول (۳-۲۲) مشخص شد که در شرایط ذکر شده محدوده غلظتی ۱۳/۰-۲/۰ میکروگرم بر میلی لیتر تیواوره رابطه خطی بین سیگنال اندازه گیری شده و غلظت تیواوره وجود دارد. نتایج حاصل در شکل های (۳-۲۰)، (۳-۲۱) و جدول (۳-۲۲) نشان داده شده است.

معادله منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۰/۱ تا ۲/۰ میکروگرم بر میلی لیتر به صورت  $\Delta A = 0.0575 C_{Tu} + 0.0048$  و در ناحیه غلظتی ۲/۰ تا ۱۳/۰ میکروگرم بر میلی لیتر به صورت  $\Delta A = 0.0231 C_{Tu} - 0.0356$  است. که در آن  $\Delta A$  اختلاف جذب و  $C_{Tu}$  غلظت تیواوره بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر است.

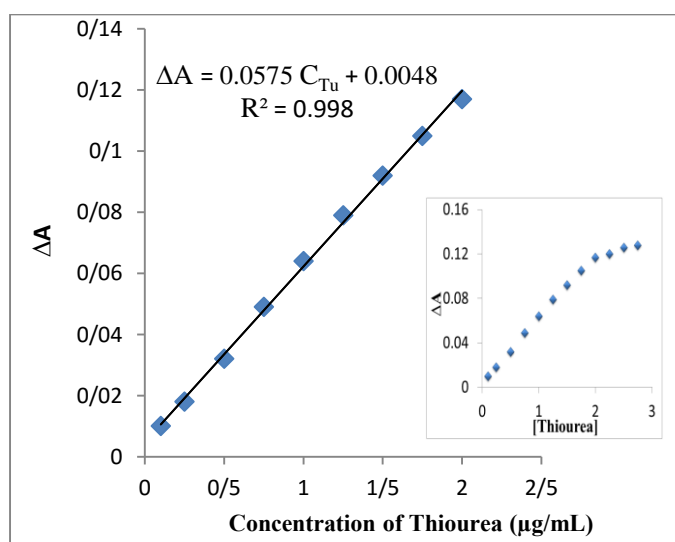


جدول (۳-۲۱) اطلاعات مربوط به منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۰/۱ تا ۲/۰ میکروگرم بر میلی لیتر تیواوره

$C_{Tu}$ (ppm)	$\Delta A$
۰/۱۰	۰/۰۱۰
۰/۲۵	۰/۰۱۸
۰/۵۰	۰/۰۳۲
۰/۷۵	۰/۰۴۹
۱/۰۰	۰/۰۶۴
۱/۲۵	۰/۰۷۹
۱/۵۰	۰/۰۹۲
۱/۷۵	۰/۱۰۵
۲/۰۰	۰/۱۱۷
۲/۲۵	۰/۱۲۰
۲/۵۰	۰/۱۲۶
۲/۷۵	۰/۱۲۸



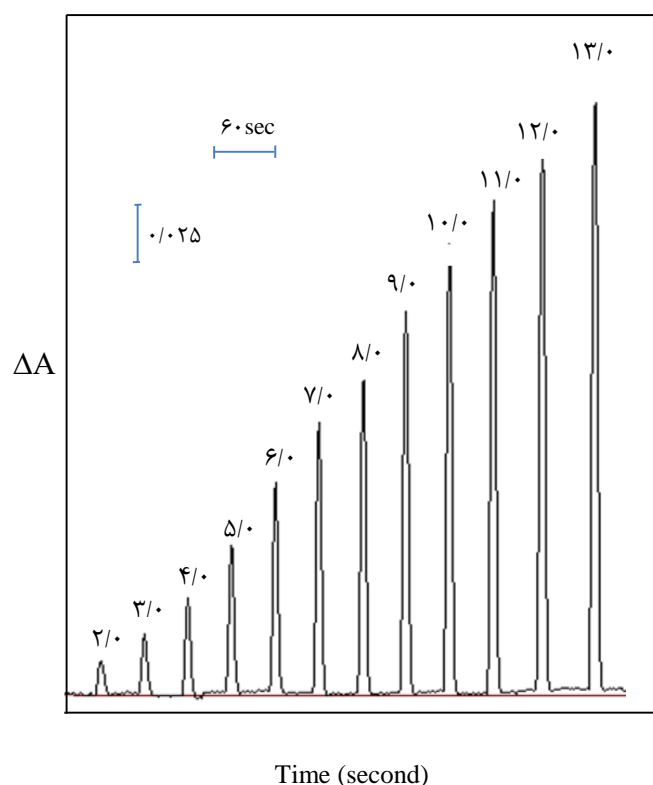
شکل ۳-۱۸: منحنی FIA مربوط به ناحیه غلظتی ۰/۱۰ تا ۲/۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر تیواوره شرایط: سولفوریک اسید ۰/۷۵ مولار، متاکرزول پرپل<sup>-۴</sup>  $1/85 \times 10^{-4}$  مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۲۵ مولار، پتاسیم برمید  $5/0 \times 10^{-3}$  مولار، پتاسیم نیترات ۰/۱۰ مولار، دمای ۲۵/۰ درجه سانتی گراد، طول موج ۵۲۵ نانومتر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر، طول مارپیچ ۹۵ سانتی متر، سرعت جریان آب ۳۰/۰ میلی لیتر بر ساعت و سرعت جریان واکنشگرها ۱۰/۰ میلی لیتر بر ساعت.



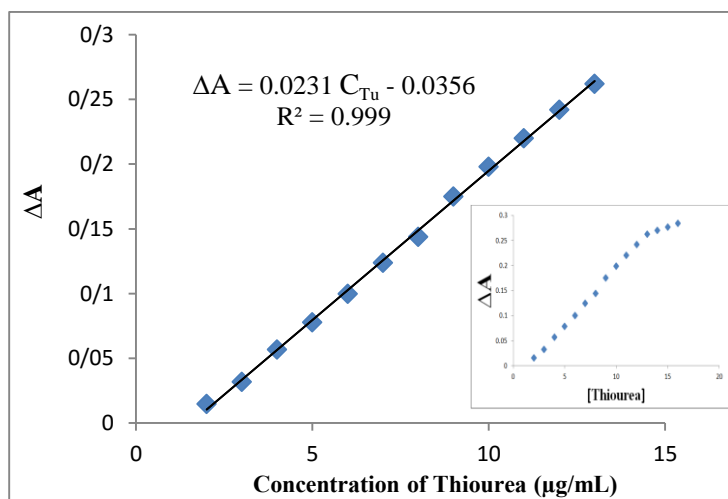
شکل ۳-۱۹: منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۰/۱۰ تا ۲/۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر تیواوره در شرایط: سولفوریک اسید ۰/۷۵ مولار، متاکرزول پرپل<sup>-۴</sup>  $1/85 \times 10^{-4}$  مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۲۵ مولار، پتاسیم برمید  $5/0 \times 10^{-3}$  مولار، دمای ۲۵/۰ درجه سانتی گراد، طول موج ۵۲۵ نانومتر، طول مارپیچ ۹۵ سانتی متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر، سرعت جریان آب ۳۰/۰ میلی لیتر بر ساعت و سرعت جریان واکنشگرها ۱۰/۰ میلی لیتر بر ساعت.

جدول (۳-۲۲) اطلاعات مربوط به منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۲/۰ تا ۱۳/۰ میکروگرم بر میلی لیتر تیواوره

$C_{Tu}$ (ppm)	$\Delta A$
۲/۰	۰/۰۱۵
۳/۰	۰/۰۳۲
۴/۰	۰/۰۵۷
۵/۰	۰/۰۷۸
۶/۰	۰/۱۰۰
۷/۰	۰/۱۲۴
۸/۰	۰/۱۴۴
۹/۰	۰/۱۷۵
۱۰/۰	۰/۱۹۸
۱۱/۰	۰/۲۲۰
۱۲/۰	۰/۲۴۲
۱۳/۰	۰/۲۶۲
۱۴/۰	۰/۲۷۰
۱۵/۰	۰/۲۷۶
۱۶/۰	۰/۲۸۴



شکل ۳-۲: منحنی FIA مربوط به ناحیه غلظتی ۲/۰ تا ۱۳/۰ میکروگرم بر میلی لیتر تیواوره شرایط: سولفوریک اسید ۱/۰ مولار، متاکرزول پرپل<sup>-۴</sup>  $10 \times 1/85$  مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۴۰ مولار، پتاسیم برمید ۰/۰۱۰ مولار، پتاسیم نیترات ۰/۱۰ مولار، دمای ۲۵/۰ درجه سانتیگراد، طول موج ۵۲۵ نانومتر، طول مارپیچ ۹۵ سانتی متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر، سرعت جریان آب ۳۰/۰ میلی لیتر بر ساعت و سرعت جریان واکنشگرها ۱۰/۰ میلی لیتر بر ساعت.



شکل ۳-۲: منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۲/۰ تا ۱۳/۰ میکروگرم بر میلی لیتر تیواوره در شرایط: سولفوریک اسید ۱/۰ مولار، متاکرزول پرپل<sup>-۴</sup>  $10 \times 1/85$  مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۴۰ مولار، پتاسیم برمید ۰/۰۱۰ مولار، پتاسیم نیترات ۰/۱۰ مولار، دمای ۲۵/۰ درجه سانتیگراد، طول موج ۵۲۵ نانومتر، طول مارپیچ ۹۵ سانتی متر، حجم نمونه تزریقی ۱۸۰ میکرولیتر، سرعت جریان آب ۳۰/۰ میلی لیتر بر ساعت و سرعت جریان واکنشگرها ۱۰/۰ میلی لیتر بر ساعت.

### ۳-۱-۱۵- حد تشخیص

برای تعیین حد تشخیص این روش از معادله (۷-۳) استفاده شد. در این رابطه  $S_b$  انحراف استاندارد سیگنال شاهد و  $m$  شیب منحنی کالیبراسیون است. برای تخمین انحراف استاندارد شاهد به این صورت عمل شد که ابتدا نویز پیک به پیک<sup>۱</sup> با توجه به اختلاف بین حداکثر و حداقل نوسانات خط مبنا اندازه‌گیری گردید. از آنجایی که نویز پیک به پیک حدود پنج برابر نویز  $rms^2$  (انحراف استاندارد شاهد) می‌باشد مقدار انحراف استاندارد سیگنال شاهد،  $0/0006$  به دست آمد. با توجه به شیب منحنی کالیبراسیون ( $m=0/0575$ ) و معادله (۷-۳) حد تشخیص روش  $0/031$  میکروگرم بر میلی‌لیتر تیواوره به دست آمد.

$$LOD = \frac{3S_b}{m} \quad \text{معادله (۷-۳)}$$

### ۳-۱-۱۶- دقت و صحت روش

برای مطالعه دقت و صحت روش محلول استاندارد از تیواوره با غلظت  $0/50$  میکروگرم بر میلی‌لیتر در محدوده دامنه خطی منحنی کالیبراسیون اول و محلول‌های استاندارد از تیواوره با غلظت  $5/0$  و  $12/0$  میکروگرم بر میلی‌لیتر در محدوده دامنه خطی منحنی کالیبراسیون دوم انتخاب شد. به این منظور ۶ تزریق تکراری از محلول‌های انتخاب شده در شرایط منحنی کالیبراسیون اول و منحنی کالیبراسیون دوم به سیستم انجام شد و سیگنال جذبی مربوطه ثبت شد. پس از ثبت سیگنال‌ها با استفاده از منحنی کالیبراسیون غلظت مربوط به میانگین سیگنال‌ها اندازه‌گیری شد. سپس انحراف استاندارد و انحراف استاندارد نسبی غلظت به کمک معادلات (۳-۸) و (۳-۹) محاسبه گردید.

---

1- Peak to peak noise  
2- Root mean square

$$S_C = \left[ \frac{\sum(C_i - \bar{C})^2}{n-1} \right]^{1/2} \quad \text{معادله (۸-۳)}$$

$$\%RSD = \frac{S_C}{\bar{C}} \times 100 \quad \text{معادله (۹-۳)}$$

در این روابط  $S_C$ ، مقدار انحراف استاندارد غلظت،  $RSD$  انحراف استاندارد نسبی غلظت،  $C_i$  غلظت اندازه‌گیری شده در هر مرحله،  $\bar{C}$  غلظت میانگین و  $n$  تعداد دفعات تکرار اندازه‌گیری می‌باشد. مقدار  $t$  بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای ۶ اندازه‌گیری، ۲/۵۷ می‌باشد. همچنین بررسی آزمون  $t$  نشان می‌دهد که بین مقدار تیواوره اندازه‌گیری شده و مقدار تیواوره واقعی موجود در محلول، اختلاف معناداری وجود نداشته و روش دارای خطای سیستماتیک (یا خطای معین) نمی‌باشد. مقادیر  $RSD$  و درصد بازیابی به ترتیب نشان دهنده دقت و صحت خوب روش است. جدول (۳-۲۳) دقت و صحت روش را در شرایط منحنی کالیبراسیون اول و منحنی کالیبراسیون دوم نشان می‌دهد.

جدول (۳-۲۳) بررسی دقت و صحت روش در شرایط منحنی کالیبراسیون اول و منحنی کالیبراسیون دوم

درصد بازیابی	نتایج آزمون $t$	%RSD n=6	میزان تیواوره اندازه‌گیری شده* (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	غلظت تیواوره (میکروگرم بر میلی‌لیتر)
۹۸/۰	۱/۲۲	۴/۰۸	۰/۴۹ ± ۰/۰۲	۰/۵۰
۹۹/۰	۱/۳۶	۱/۸۲	۴/۹۵ ± ۰/۰۹	۵/۰۰
۱۰۱/۱	۱/۵۹	۱/۶۵	۱۲/۱۳ ± ۰/۲	۱۲/۰۰

\* مقدار میانگین ± انحراف استاندارد شش اندازه‌گیری تکراری

### ۳-۱-۱۷: کاربرد روش در اندازه‌گیری تیواوره در نمونه‌های حقیقی

برای بررسی کارایی روش پیشنهادی به منظور استفاده در نمونه‌های حقیقی با بافت‌های مختلف، این روش برای اندازه‌گیری تیواوره در نمونه آب شهر شاهرود و همچنین دو نمونه آب پرتقال و پوست پرتقال با اعمال شرایط روش پیشنهادی به کار گرفته شد. برای انجام این بررسی، ابتدا آب شهر با

کاغذ صافی صاف و سپس به نمونه آب شهر مقادیر مشخصی از محلول تیواوره افزوده شد و با استفاده از منحنی کالیبراسیون غلظت تیواوره در نمونه‌های آب اندازه‌گیری شد. هراندازه‌گیری سه بار تکرار شد که نتایج آن در جدول (۳-۲۴) آورده شده است. مقادیر  $t$  و درصد‌های بازیابی نشان دهنده صحت خوب روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری تیواوره در نمونه‌های آب می‌باشد.

آماده سازی نمونه آب پرتقال و پوست پرتقال طبق روش ذکر شده در مرجع (۵) انجام شد. نحوه کار به این صورت بود که ابتدا پرتقال‌ها شسته و خشک شدند و سپس پوست آن‌ها جدا شده و با دستگاه آبمیوه گیری آب آن‌ها گرفته شد. در مرحله بعد آب پرتقال توسط کاغذ صافی واتمن صاف و محلول زیر صافی به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد در نهایت محلول به مدت ۱۰ دقیقه رفلاکس گردید تا مزاحمت آسکوربیک اسید موجود در آب پرتقال رفع شود. سپس محلول خنک گردید. لازم به ذکر است که در آزمایش‌های مربوط به اندازه‌گیری بازیابی، مقادیر معینی از تیواوره به محلول آب پرتقال قبل از فرآیند آماده‌سازی نمونه اضافه گردید و مراحل گفته شده در بالا عینا برای این نمونه‌های اسپایک<sup>۱</sup> شده تکرار شد. سپس برای تمام نمونه‌ها، ۲۵/۰ میلی‌لیتر از محلول آماده شده به روش افزایش استاندارد (حجم‌های ۵۰/۰ میلی‌لیتر) به روش پیشنهادی مورد بررسی قرار گرفت. هراندازه‌گیری سه بار تکرار گردید که نتایج آن در جدول (۳-۲۴) آورده شده است. نحوه آماده‌سازی پوست پرتقال به این صورت است که ابتدا پرتقال‌ها شسته و خشک شدند و پوست آن‌ها جدا گردید. پس از خشک شدن پوست پرتقال آن را به صورت پودر تبدیل کرده و مقدار ۱/۱۵ گرم از آن توزین و در ۱۰/۰ میلی‌لیتر از سولفوریک اسید غلیظ حل شد و تا حجم حدودی ۲۵/۰ میلی‌لیتر با آب مقطر رقیق گردید. سپس محلول توسط کاغذ صافی واتمن صاف شده و با استفاده از محلول سود ۱/۰ مولار خنثی گردید. در ادامه برای حذف آسکوربیک اسید محلول زیر صافی به مدت ۱۰ دقیقه رفلاکس گردید در نهایت محلول خنک و به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسید. ذکر این نکته ضروری است که در آزمایش‌های مربوط به اندازه‌گیری بازیابی، مقادیر معینی از تیواوره

---

۱- Spike

به محلول پوست پرتقال قبل از فرآیند آماده‌سازی نمونه اضافه گردید و مراحل گفته شده در بالا عیناً برای این نمونه‌های اسپایک<sup>۱</sup> شده تکرار شد. سپس محلول آماده شده به روش افزایش استاندارد (حجم‌های ۱۰۰/۰ میلی‌لیتر) به روش پیشنهادی مورد بررسی قرار گرفت. هراندازه‌گیری سه بار تکرار شد که نتایج آن در جدول (۳-۲۴) آورده شده است.

جدول (۳-۲۴): نتایج حاصل از اندازه‌گیری تیواوره در نمونه‌های حقیقی

نمونه	تیواوره اضافه شده (میلی‌گرم بر لیتر)	تیواوره اندازه‌گیری شده* (میلی‌گرم بر لیتر)	%RSD (n=3)	نتایج آزمون t	درصد بازیابی
آب شهرشاهرود	-	< LOD	-	-	-
	۰/۵۰	۰/۵۲ ± ۰/۰۲	۳/۸۵	۱/۷۳	۱۰۴/۰
	۱/۰	۱/۰۲ ± ۰/۰۲	۱/۹۶	۱/۷۳	۱۰۲/۰
	۴/۰	۴/۰۳ ± ۰/۰۷	۱/۳۷	۰/۷۴	۱۰۰/۷
	۷/۰	۶/۹۱ ± ۰/۱۱	۱/۵۹	۱/۴۲	۹۸/۷
آب پرتقال	-	< LOD	-	-	-
	۰/۵۰	۰/۵۱ ± ۰/۰۱	۱/۹۶	۱/۷۳	۱۰۲/۰
	۱/۰	۱/۰۱ ± ۰/۰۲	۱/۹۸	۰/۸۷	۱۰۱/۰
	۴/۰	۴/۰۲ ± ۰/۰۴	۰/۹۹	۰/۸۷	۱۰۰/۵
	۷/۰	۶/۹۶ ± ۰/۱۵	۲/۱۶	۰/۴۶	۹۹/۴
پوست پرتقال	-	< LOD	-	-	-
	۰/۵۰	۰/۵۳ ± ۰/۰۲	۳/۷۷	۲/۵۹	۱۰۶/۰
	۴/۰	۴/۰۶ ± ۰/۰۷	۱/۷۲	۱/۴۸	۱۰۱/۵
	۷/۰	۶/۸۴ ± ۰/۲۶	۳/۸۰	۱/۰۷	۹۷/۷

\* مقدار میانگین ± انحراف استاندارد سه اندازه‌گیری تکراری

۱- Spike



فصل چہارم:

بحث و نتیجہ گیری

#### ۴-۱- اثر بازداری تیواوره بر اکسیداسیون متاکرزول پرپل توسط برومات در حضور پتاسیم

برمید

#### ۴-۱-۱- ارقام شایستگی روش

نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در جدول (۳-۲۱) و (۳-۲۲) نشان می‌دهد که در محدوده غلظتی ۰/۱-۱۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر تیواوره، بین غلظت تیواوره و سیگنال تجزیه‌ای رابطه خطی وجود دارد. معادلات مربوطه و مقادیر ضریب همبستگی در بخش (۳-۳) آمده است.

مقدار انحراف استاندارد نسبی برای ۶ اندازه‌گیری تکراری غلظت‌های ۰/۵۰، ۵/۰ و ۱۲/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب برابر با ۴/۰۸، ۱/۸۲ و ۱/۲۴ درصد می‌باشد که نشان دهنده دقت خوب روش است. مقادیر درصد بازیابی نشان داده شده در جدول (۳-۲۳) بیانگر صحت روش است. مقدار حدتشخیص روش ۰/۰۵۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بدست آمد.

نتایج نشان داده شده در جدول (۳-۲۰) بیان می‌کند که بیشتر کاتیون‌ها و آنیون‌ها در اندازه‌گیری تیواوره مزاحم نیستند و روش از انتخابگری بالایی برخوردار است.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری تیواوره در نمونه‌های حقیقی در جدول (۳-۲۴) آمده است. این نتایج نشان می‌دهد که روش پیشنهادی دقت و صحت خوبی در اندازه‌گیری تیواوره در نمونه‌های حقیقی دارد.

سرعت اندازه‌گیری نمونه با روش پیشنهادی ۱۲۰ نمونه بر ساعت است.

#### ۴-۱-۲- مقایسه روش با سایر روش‌های موجود در اندازه‌گیری غلظت تیواوره

در این بخش، روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری تیواوره با برخی روش‌های دیگر که در آن‌ها تیواوره با استفاده روش‌های مختلف اندازه‌گیری شده مقایسه شده است. روش پیشنهادی نسبت به تمام روش‌های گزارش شده از لحاظ ارقام شایستگی، هزینه روش، پیچیدگی، جنبه‌های زیست محیطی و سرعت دارای برتری می‌باشد. در مقایسه با روش‌های غیر سینتیکی که پیچیده و هزینه‌بر هستند و در برخی از آن‌ها به علت استفاده از حلال‌های آلی مشکل آلودگی محیط زیست وجود دارد، روش‌های سینتیکی-اسپکتروفتومتری معمولا دارای حساسیت بالاتری می‌باشند. روش ارائه شده دارای سرعت نمونه‌گیری بالایی است و نمونه‌های زیادی را می‌توان در زمان کوتاهی اندازه‌گیری کرد. جدول (۴-۱) مقایسه بین روش پیشنهادی با سایر روش‌های اندازه‌گیری تیواوره را نشان می‌دهد.

جدول ۴-۱: مقایسه روش جریان تزریق برای اندازه‌گیری تیواوره با روش‌های دیگر

سال	مرجع	ناحیه خطی (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	حد تشخیص (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	روش اندازه‌گیری
۱۹۸۴	۱۰	۷/۶۱ - ۷۶/۱۲	-	اسپکتروفتومتری
۱۹۸۴	۱۱	۷/۶۱ - ۷۶/۱۲	۵/۳۲	سینتیکی - کاتالیتیکی اسپکتروفتومتری
۱۹۹۵	۱۲	۰/۰۴ - ۰/۷۶	-	جریان تزریقی - فلورومتری
۱۹۹۷	۱۴	۰/۰۱ - ۵	۰/۰۰۱	طیف‌سنجی جرمی
۲۰۰۵	۱۸	۰/۲ - ۵/۷	-	جریان متوقف
۲۰۰۶	۱۹	۷۶ - ۶۰۹	-	ولتامتری چرخه‌ای
۲۰۰۹	۴	۰/۰۳ - ۱۰	۰/۰۲	سینتیکی-اسپکتروفتومتری
۲۰۱۰	۶	۰/۰۱ - ۱۲	۰/۰۰۸	سینتیکی - کاتالیتیکی اسپکتروفتومتری
۲۰۱۱	۲۰	۰/۴۸ - ۲/۲۸	۰/۱۰	ولتامتری چرخه‌ای
۲۰۱۲	کار پیشنهادی	۰/۱۰۰ - ۱۳/۰	۰/۰۳۱	سینتیکی-اسپکتروفتومتری جریان تزریقی

#### ۴-۱-۳- نتیجه‌گیری

برای اولین بار تیواوره توسط روش تزریق در جریان پیوسته با استفاده از اثر بازداری آن بر واکنش متاکرزول پرپل اندازه‌گیری شده است. روش پیشنهادی به راحتی در آزمایشگاه‌های معمولی و با صرف هزینه اندک قابل انجام و کنترل است و هیچ گونه مشکل آلودگی محیط زیست را به همراه ندارد و سرعت نمونه‌گیری روش بالا است.

#### ۴-۱-۴- آینده‌نگری

۱- اندازه‌گیری مقادیر کم تیواوره در نمونه‌های آب و فاضلاب با روش پیشنهادی و بسط واکنشگرهای جدیدتر و استفاده از اکسندهای بهتر.

۲- اندازه‌گیری نمونه‌هایی با خصوصیات مشابه تیواوره که سبب بازداری واکنش متاکرزول پرپل با پتاسیم برومات می‌شود.

## منابع و مراجع:

- [1]. ای. آ. بوسیف، ای. پی. افینوف، (۱۳۷۲) " فرهنگ اصطلاحات شیمی و کاربرد مواد در صنعت " جلد اول، ترجمه شهریار آشوری، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه ۴۰۷.
- [2]. س. احمدی، (۱۳۸۳) "دایرة المعارف فشرده شیمی و مهندسی شیمی " جلد اول، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه ۲۸۱.
- [3]. K. Kargosha, M. Khanmohammadi, M. Ghadiri. (2001) "Fourier transform infrared spectrometric determination of thiourea in the presence of sulphur dioxide in aqueous solution" *Analytica Chimica Acta*, 437, pp 139–143.
- [4]. S. Abbasi, H. Khani, M. B. Gholivand, A. Naghipour, A. Farmany, F. Abbasi. (2009) "A kinetic method for the determination of thiourea by its catalytic effect in micellar media" *Spectrochimica Acta*, 72, pp 327–331.
- [5]. Sh. Abbasi, H. Khani, L. Hosseinzadeh, Z. Safari. (2010) "Determination of thiourea in fruit juice by a kinetic spectrophotometric method" *Journal of Hazardous Materials*, 174, pp 257–262.
- [6]. N. Spataru, T. Spataru, A. Fujishima. (2005) "Voltammetric determination of thiourea at conductive diamond electrodes" *Electroanalysis*, 17, pp 800–805.
- [7]. M. K. Papay, K. Toth, E. Pungor. (1971) "Potentiometric determination of thiourea with a sulphide-selective membrane electrode" *Analytica Chimica Acta*, 56, pp 291–296.
- [8]. K. K. Verma, M. P. Sahasrabudhhey, S. Bose. (1997) "Determination of thiourea and its organic derivatives with iodine trichlorides" *Talanta*, 24, Issue8, pp 515–516.
- [9]. A. Cyganski. (1978) "Determination of some organic thio-compounds by precipitation of mercuric sulphide from mercury II ammine complexes. Determination of thiourea and some of its derivatives" *Talanta*, 25, pp 52–53.
- [10]. A. K. Abd El-kader, Y. Z. Ahmed, M. Abd El-mottalb. (1984) "Spectrophotometric determination of thiosulfate, thiocyanate and thiourea ions by using sodium nitroprusside as a complexing agent" *Analytical Letters*, 17, pp 2259–2266.

- [11]. S. Pentel. (1984) "Catalytic-kinetic determination of substituted thiourea and thioacetamide by an absorptiostat method with bromopyrogaller red/hydrogen proxide as the indicator reaction" *Analytica Chimica Acta*, 158, pp 86–91.
- [12]. T. P. Ruiz, C. M. Lozano, V. Tomas, R. Casajus. (1995) "Flow injection fluorimetric determination of thiourea" *Talanta*, 42, pp 391–394.
- [13]. J. Komljenovic, N. J. Radic. (1995) "Design and properties of flow-through electrode with AgI-based membrane hydrophobized by PTFE; application to flow injection determination of thiourea" *Sensor and actuators B*, 24, pp 312–316.
- [14]. A. Raffaelli, S. Pucci, R. Lazzaroni, P. Salvadori. (1997) "Rapid determination of thiourea in waste water by atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry using selected-reaction monitoring" *Rapid Commun Mass Spectrom*, 11, pp 259–26.
- [15]. Z. He, F. Wu, H. Meng, L. Ling, L. Yuan, Q. Luo, Y. Zeng. (1999) "Chemiluminescence determination of thiourea using tris (2, 2'-bipyridyl) ruthenium (II)-KMnO<sub>4</sub> system" *Analytical Sciences*, 15, pp 381–383.
- [16]. J. Rethmeier, G. Neumann, C. Stumpf, A. Rabenstein, C. Vogt. (2001) "Determination of low thiourea concentrations in industrial process water and natural samples using reversed-phase high-performance liquid chromatography" *Journal of Chromatography A*, 934, pp 129–134.
- [17]. A. N. de Oliveira, H. de Santana, C. T. B. V. Zaia, D. A. M. Zaia. (2004) "A study of reaction between quinones and thiourea: determination of thiourea in orange juice" *Journal of Food Composition and Analysis*, 17, pp 165–177.
- [18]. J. Kurzawa, K. Janowicz. (2005) "Used of stopped-flow technique for investigation and determination of thiourea and its N-methyl derivatives as inducer for the iodine-azide reaction" *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382, pp 1584–1589.
- [19]. F. Manea, C. Radovan, J. Schoonman. (2006) "Amperometric determination of thiourea in alkaline media on a copper oxide–copper electrode" *Journal of Applied Electrochemistry*, 36, pp 1075–1081.
- [20]. A. Levent, E. Keskin, Y. Yardım, Z. Senturk. (2011) "Electrooxidation of thiourea and its square-wave voltammetric determination using pencil graphite electrode" *Analytical Chemistry*, 30, pp 45–51.

[21]. غ. ع. پارسافر، ب. نجفی، (۱۳۸۷) "سینتیک شیمیایی (مبانی و کاربردها)"، چاپ اول، مرکز نشر دانشگاه صنعتی اصفهان.

[22]. D. Perez. Bendito, M. Silva. (1988) "*Kinetic methods in analytical chemistry*" Ellishorwood, chichester.

[23]. G. D. Christian, J. E. Orelliy. (1986) "*Instrumental analysis*", 2<sup>nd</sup> ed, Prenticehall.

[24]- E. B. Sandell, I.M. Kolthoff. (1934) *Journal of American chemical society*, 56, p 1426.

[25]. H. A. Mottola. (1998) "*Kinetic Aspects of analytical chemistry*", Johan Wiley and sons.

[26]. M. Arab Chamjangali, G. Bagherian, S. Ameri. (2009) "A new induction period based reaction rate method for determination trace amounts of phenylhydrazine in water samples" *Journal of Hazardous Materials*, 166, pp 701–705.

[27]. M. Arab Chamjangali, G. Bagherian, N. Salek-Gilani. (2007) "Determination of trace amounts of thiocyanate by a new kinetic procedure based on an induction period" *Spectrochimica Acta A*, 67, pp 1252–1256.

[28]. ل. نیکوکار، (۱۳۹۰) " تعیین مقدار مس (II) به روش اسپکتروسکوپی جذب اتمی

شعله‌ای پس از پیش تغلیظ آن بر روی پلی ونیل کلرید اصلاح شده با ۳- (۲-تیا زولیل آزو)

۲،۶- دی آمینو پیریدین"، دانشکده شیمی، دانشگاه صنعتی شاهرود، پایان نامه کارشناسی ارشد.

[29]. ا. اسکوگ، (۱۳۸۷) "اصول تجزیه دستگاهی"، جلد سوم، ترجمه ع. سلاجقه، چاپ سوم،

مرکز نشر دانشگاهی، تهران

[30]. H. Hansene, J. Ruzicka, (1988) "*Flow Injection Analysis*", John Wiley and Sons.

[31]. <http://www.chemistry.gatech.edu>

[32]. T. Ghous (1999) "Flow injection analysis" *Journal of chemical society*, 21, pp 375-381.

[33]. B. Karlberg, G.E. pacey (1989) "Flow injection analysis, A partical guide" , *Elsevier science publishers B*, pp 13-90.

[34]. <http://www.vici.com>.

[35]. ج. ان. میلر، (۱۳۸۸) "آمار و کمومتریکس برای شیمی تجزیه"، ترجمه م. گلابی، انتشارات دانشگاه تبریز، چاپ سوم.

[36]. J. A. Nelder, R. Mead (1965) *Computer J.*, 7, pp 308-313.

[37]. S. N. Deming, S. L. Morgan, (1973) *Analytical chemistry*, 745, pp 278-283.

[38]. H. Reuben, Simoyi, R. Irving, Epstein, K. Kenneth, (1994) " Kinetics and Mechanism of the Oxidation of Thiourea by Bromate in Acidic Solution " *The journal of physical chemistry*, 98, pp 551-557.



## **Abstract**

In this study, a flow injection method was described for determination of trace amounts of thiourea in water. The method is based on the inhibition effect of thiourea on the reaction between Meta Cresol Purple (MCP) and potassium bromate. The reaction is catalyzed by bromide ions. In the presence of thiourea an induction period was appeared in the reaction system, which is proportional to the thiourea concentration. The reaction was monitored spectrophotometrically by measuring the change in absorbance of MCP at 525 nm. The chemical and FIA variables were studied and optimized using the univariate and Simplex optimization methods. Under the optimum conditions, thiourea can be determined in the range of 0.100-13.0  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . The limit of detection ( $3\sigma$ ) for thiourea was 0.031  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . The relative standard deviation for six replicate determination of 0.500, 5.00 and 12.0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  thiourea were 4.08%, 1.82% and 1.24%, respectively. The proposed method was applied to the determination of thiourea in water, orange juice and orange peels sample with satisfactory results.

## **Keywords**

Thiourea, Induction period, Potassium bromate, Meta Cresol Purple, Spectrophotometry



Shahrood University of Technology

**Introducing an automated flow injection method for determination of thiourea based on an induction period**

Ahmad Gouchani Moghaddam

Supervisor:

Dr. Mansour Arab Chamjangali

Advisor:

Dr. Nasser Goudarzi

2012 November