

دانشگاه صنعتی شاهرود

دانشکده: علوم پایه

گروه: شیمی

عنوان:

اندازه‌گیری سینتیکی - اسپکتروفتومتری مقادیر کم نیتريت و نیترات بر اساس اثر کاتالیزوری نیتريت بر واکنش اکسایش برومات با ۲-(۵- برم-۲- پیریدیل آزو)-۵- دی اتیل آمینو فنول در

محیط اسیدی

دانشجو: وحید مصیبي

اساتید راهنما:

دکتر قدمعلی باقریان دهقی

دکتر منصور عرب چم جنگلی

پایان نامه کارشناسی ارشد جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد

اسفند ماه ۱۳۸۹

## تقدیر و تشکر:

سپاس خدای را که منت نهاد، هستی بخشید و توفیق کسب علم و دانش داد. اکنون که به فضل خدا در

این موقعیت قرار گرفته‌ام بر خود لازم می‌دانم تا از تمامی عزیزانی که در این پروژه از راهنمایی‌ها و مساعدت‌های ایشان بهره برده‌ام، قدردانی نمایم.

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگی؛

به پاس عاطفه سرشار و گرمای امیدبخش وجودشان که در این سردترین روزگاران بهترین پشتیبان است؛

به پاس قلب‌های بزرگشان که فریاد رس است و سرگردانی و ترس در پناهمان به شجاعت می‌گراید؛

و به پاس محبت‌های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی‌کند؛

## **این مجموعه را به پدر و مادر عزیزم تقدیم می‌کنم.**

بدین وسیله از کلیه اساتید گرانقدرم که در تمام مراحل انجام پروژه همواره حامی و پشتیبان من بوده‌اند،

بی‌نهایت سپاسگزارم. لازم است از زحمات و راهنمایی‌های اساتید ارزشمند جناب آقای دکتر قدمعلی باقریان و

جناب آقای دکتر منصور عرب چم جنگلی در انجام این پروژه کمال تشکر و قدردانی را داشته باشم. همچنین از اساتید محترم جناب آقای دکتر گودرزی و سرکار خانم دکتر مصدراامور که زحمت داوری این پایان نامه را بر عهده داشته‌اند، نهایت تشکر و قدردانی را دارم. از پدر و مادر عزیزتر از جانم که هیچگاه محبت‌های خود را نسبت به این کمترین دریغ ننموده‌اند، تشکر و قدردانی می‌کنم هر چند جبران یک قطره از دریای لایزال عطوفت الهی که در سینه والدین نهاده شده است ناممکن می‌نماید. از برادر و خواهران عزیزم که از آغاز تا کنون با تمام وجود برایم زحمت کشیده و همواره مشوق و پشتیبانم بوده‌اند، با تمام وجود تشکر می‌نمایم. در پایان بر خود لازم می‌دانم از همکلاسی‌های عزیزم خانم‌ها نصراله زاده، کاویان، فهیمی و آقایان مخلصیان، میرحیدری، کلهر و تمامی دیگر دوستان که در مدت دوران تحصیل در کارشناسی ارشد همواره پشتیبان اینجانب بوده‌اند، نهایت قدردانی و تشکر را داشته باشم.

## تعهدنامه

اینجانب وحید مصیبی دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته شیمی تجزیه دانشکده شیمی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده

پایان‌نامه: اندازه‌گیری سینتیکی - اسپکتروفتومتری مقادیر کم نیتريت و نیترات بر اساس اثر کاتالیزوری نیتريت بر واکنش اکسایش ۲- (۵- برم-۲- پیریدیل آزو)-۵- دی اتیل آمینو فنول با برومات در محیط اسیدی تحت راهنمایی دکتر منصور عرب چمنگلی و دکتر قدمعلی باقریان دهقی متعهد می‌شوم:

- تحقیقات در این پایان‌نامه 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 پایان‌نامه تا کنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می‌باشد 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 پایان‌نامه تاثیرگذار بوده‌اند در مقالات مستخرج از پایان‌نامه رعایت می‌گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که از موجودات زنده (یا بافت‌های آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.

## تاریخ

## امضای دانشجو

### مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه‌های رایانه‌ای، نرم‌افزارها و تجهیزات ساخته شده) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می‌باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان‌نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی‌باشد.

## چکیده

### قسمت اول

در قسمت اول این پروژه، یک روش سریع، ساده و حساس اسپکتروفتومتری برای اندازه‌گیری نیتريت ارائه شده است. روش بر پایه اثر کاتالیزوری نیتريت بر واکنش ۲- (۵-برمو-۲- پیریدیل آزو)-۵- دی اتیل آمینو فنول (برموپاداپ) و برومات در محیط اسیدی می‌باشد. در این روش اختلاف جذب نمونه و شاهد در فاصله زمانی ۳۰ تا ۲۴۰ ثانیه، در طول موج ۴۶۶ نانومتر (برموپاداپ در محیط اسیدی در این طول موج دارای ماکزیمم جذب است)، به عنوان سیگنال تجزیه ای انتخاب شد. اثر پارامترهای مختلف بر روی حساسیت روش بررسی شد. تحت شرایط بهینه و با استفاده از روش زمان ثابت، دامنه خطی منحنی کالیبراسیون برای نیتريت در گستره ۰/۳۶-۰/۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر حاصل شد. حد تشخیص روش برای نیتريت برابر ۰/۰۱۸ میکروگرم بر میلی می باشد. انحراف استاندارد نسبی روش برای ۶ اندازه گیری تکراری در غلظت های ۰/۰۶، ۰/۱، ۰/۱۵ میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت به ترتیب برابر ۶/۶٪، ۶/۱٪ و ۳/۳٪ می باشد. این روش به طور موفقیت آمیزی برای اندازه گیری نیتريت در آب و نمونه های غذایی به کار گرفته شده است.

لغات کلیدی: نیتريت، کاتالیتیکی، اسپکتروفتومتری، برموپاداپ.

### قسمت دوم

برای اندازه‌گیری نیتريت و نترات در نمونه‌ها، نیتريت مانند قسمت اول با استفاده از اثر کاتالیزوری آن بر واکنش اکسایش برموپاداپ با برومات در محیط اسیدی اندازه‌گیری می‌شود. نترات هم ابتدا توسط عامل کاهنده کادمیوم- جیوه به نیتريت تبدیل شده سپس مشابه حالتی که فقط نیتريت وجود دارد، اندازه‌گیری می‌شود. مانند قبل اختلاف جذب نمونه و شاهد در فاصله زمانی ۳۰ تا ۲۴۰ ثانیه، در طول موج ۴۶۶ نانومتر به عنوان سیگنال تجزیه ای انتخاب شد. اثر پارامترهای مختلف بر روی حساسیت روش بررسی شد. تحت شرایط بهینه و با استفاده از روش زمان ثابت، دامنه خطی منحنی کالیبراسیون برای نترات ۰/۴۴-۰/۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر حاصل شد. حد تشخیص روش برای نترات برابر ۰/۰۳۲ میکروگرم بر میلی لیتر می‌باشد. انحراف استاندارد

نسبی روش برای ۶ اندازه‌گیری تکراری برای غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۲۰، ۰/۳۰ میکروگرم بر میلی لیتر نیترات برابر ۸/۶، ۴/۰ و ۲/۷ می باشد. این روش به طور موفقیت آمیزی برای اندازه گیری نیتريت و نیترات در نمونه های آب به کار گرفته شده است.

لغات کلیدی: نیتريت، نیترات، کاتالیتیکی، سینتیک، اسپکتروفتومتری، برموپاداپ.



## فهرست مطالب

### فصل اول: مقدمه

۱-۱-نیتريت	۲
۱-۱-۱- بررسی ویژگی های درمانی نیتريت	۲
۲-۱-۱- احیای نیتريت در شکمبه	۴
۳-۱-۱- مکانیسم و چگونگی ایجاد مسمومیت	۴
۴-۱-۱- علائم ناشی از مسمومیت	۵
۵-۱-۱- منابع نیتريت	۵
۶-۱-۱- کاربردها و موارد مصرف نیتريت [۱۰]	۵
۷-۱-۱- غلظت مجاز نیتريت در آب های آشامیدنی و در بدن انسان	۶
۸-۱-۱- مروری بر کارهای انجام شده برای اندازه گیری نیتريت	۶
۱-۲-۱- ویژگی های نیتريت	۱۳
۲-۲-۱- راههای تبدیل نیتريت به نیتريت	۱۳
۳-۲-۱- موارد استفاده نیتريت	۱۴
۴-۲-۱- منابع نیتريت در آب های آشامیدنی	۱۴
۵-۲-۱- مقدار مجاز نیتريت در آب آشامیدنی	۱۴
۶-۲-۱- مروری بر کارهای انجام شده در زمینه اندازه گیری نیتريت و نیتريت	۱۵
۱-۲- انواع روشهای سینتیکی در شیمی تجزیه	۲۱

- ۲-۲- سینتیک چیست؟ ..... ۲۱
- ۳-۲- تاریخچه روشهای سینتیکی ..... ۲۲
- ۴-۲- طبقه بندی روشهای سینتیکی ..... ۲۳
- ۵-۲- مقایسه روش های سینتیکی و تعادلی ..... ۲۵
- ۶-۲- سرعت واکنش و معادلات سینتیکی ..... ۲۶
- ۷-۲- روشهای اندازه گیری یک گونه منفرد به روش سینتیکی - کاتالیتیکی [۷۰] ..... ۲۸
- ۱-۷-۲- روشهای دیفرانسیلی [۷۰] ..... ۲۹
- ۱-۱-۷-۲- روش سرعت ابتدائی ..... ۳۰
- ۲-۱-۷-۲- روش زمان ثابت ..... ۳۱
- ۲-۷-۲- روشهای انتگرالی ..... ۳۳
- ۱-۲-۷-۲- روش تانژانت ..... ۳۴
- ۲-۲-۷-۲- روش زمان ثابت ..... ۳۵
- ۳-۲-۷-۲- روش زمان متغیر ..... ۳۵
- ۳-۷-۲- روشهای عملی مطالعه سینتیک واکنشها ..... ۳۶
- ۴-۷-۲- واکنشها در محلول ..... ۳۸
- ۱-۴-۷-۲- روشهای اسپکتروسکوپی ..... ۳۸
- ۵-۷-۲- روشهای اندازه گیری بر پایه تغییر سرعت واکنش های کاتالیز شده در محلول ..... ۳۸
- ۱-۵-۷-۲- بازداري ..... ۳۹

- ۴۰ ..... ۲-۷-۵-۲- فعال سازی
- ۴۰ ..... ۲-۷-۵-۳- اندازه گیری براساس زمان القائی
- ۴۱ ..... ۲-۸-۱- عوامل موثر بر سرعت واکنشها [۸۰]
- ۴۱ ..... ۲-۸-۱- اثر دما
- ۴۲ ..... ۲-۸-۲- اثر غلظت واکنشگرها [۸۱]
- ۴۳ ..... ۲-۸-۳- اثر حلال
- ۴۳ ..... ۲-۸-۴- اثر قدرت یونی
- ۳-۱- اندازه گیری سینتیکی - اسپکتروفتومتری مقادیر کم نیتريت براساس اثر کاتالیزوری آن بر واکنش اکسایش برومات با ۲-۵- برم-۲- پیریدیل آزو-۵- دی اتیل آمینو فنول در محیط اسیدی ..... ۴۶
- ۳-۱-۱- مواد شیمیایی مورد نیاز ..... ۴۶
- ۳-۱-۲- تهیه محلول های مورد استفاده ..... ۴۷
- ۳-۱-۳- دستگاه های مورد استفاده ..... ۴۷
- ۳-۱-۴- رسم طیف جذبی ..... ۴۸
- ۳-۱-۵- بررسی پارامترها و بهینه سازی متغیرهای مؤثر بر واکنش ..... ۵۰
- ۳-۱-۶- روش کار در بهینه سازی پارامترهای مؤثر بر واکنش ..... ۵۰
- ۳-۱-۷- بررسی اثر نوع اسید بر سیگنال تجزیه ای ..... ۵۱
- ۳-۱-۸- بررسی اثر غلظت سولفوریک اسید بر سیگنال تجزیه ای ..... ۵۲
- ۳-۱-۹- بررسی اثر غلظت پتاسیم برومات بر میزان اختلاف تغییرات جذب نمونه و شاهد ..... ۵۳

- ۳-۱-۱۰- بررسی اثر غلظت برموپاداپ بر سیگنال تجزیه ای ..... ۵۵
- ۳-۱-۱۱- بررسی اثر دما بر سیگنال تجزیه ای ..... ۵۷
- ۳-۱-۱۲- بررسی اثر زمان بر اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه ..... ۵۹
- ۳-۱-۱۳- بررسی اثر قدرت یونی بر سیگنال تجزیه ای ..... ۶۲
- ۳-۲-۱۴- شرایط بهینه ..... ۶۳
- ۳-۲-۱۵- رسم منحنی کالیبراسیون ..... ۶۴
- ۳-۱-۱۶- بررسی دقت و صحت روش ..... ۶۶
- ۳-۱-۱۷- حد تشخیص روش ..... ۶۶
- ۳-۱-۱۸- بررسی اثر مزاحمت ها ..... ۶۷
- ۳-۱-۱۹- بررسی کارایی روش در تجزیه نمونه های حقیقی ..... ۶۹
- ۳-۱-۲۰- اندازه گیری نیتريت در نمونه سوسیس ..... ۷۰
- ۴-۱- اندازه گیری نیترات و نیتريت به روش اسپکتروفتومتری ..... ۷۲
- ۴-۱-۱- مواد شیمیایی مورد نیاز ..... ۷۲
- ۴-۱-۲- مواد و محلول های مورد استفاده ..... ۷۳
- ۴-۱-۳- تهیه کاهنده کادمیوم- جیوه ..... ۷۳
- ۴-۱-۴- دستگاه های مورد استفاده ..... ۷۴
- ۴-۱-۵- رسم طیف جذبی ..... ۷۴
- ۴-۱-۶- بهینه سازی پارامترهای موثر بر راندمان تبدیل نیترات به نیتريت ..... ۷۶

- ۴-۱-۷- روش کار بهینه سازی پارامترهای موثر بر راندمان تبدیل نیترات به نیتريت ..... ۷۶
- ۴-۱-۸- بررسی اثر pH محیط بر راندمان تبدیل نیترات به نیتريت ..... ۷۷
- ۴-۱-۹- اثر مقدار کاهنده کادمیوم- جیوه بر روی سیگنال تجزیه‌ای ..... ۷۸
- ۴-۱-۱۰- بررسی اثر مدت زمان تماس محلول نیترات با کاهنده کادمیوم- جیوه ..... ۸۰
- ۴-۱-۱۱- شرایط بهینه ..... ۸۱
- ۴-۱-۱۲- بررسی اثر احتمالی جذب سطحی نیتريت بر روی کاهنده کادمیوم- جیوه ..... ۸۲
- ۴-۱-۱۲-۱- رسم منحنی کالیبراسون نیتريت در حضور کاهنده کادمیوم- جیوه ..... ۸۲
- ۴-۱-۱۳- رسم منحنی کالیبراسیون ..... ۸۵
- ۴-۱-۱۴- بررسی دقت و صحت روش ..... ۸۷
- ۴-۱-۱۵- حد تشخیص روش ..... ۸۸
- ۴-۱-۱۶- بررسی اثر مزاحمت‌ها ..... ۸۹
- ۴-۱-۱۷- بررسی کارایی روش ..... ۹۱
- ۴-۱-۱۸- اندازه‌گیری نیترات و نیتريت در حضور هم ..... ۹۱
- ۵-۱- سیستم شیمیایی به کار برده شده ..... ۹۶
- ۵-۲- اندازه‌گیری سینتیکی- اسپکتروفوتومتری مقادیر کم نیتريت بر اساس اثر کاتالیزوری آن بر واکنش برومات با برموپاداپ ..... ۹۸
- ۵-۲-۱- ارقام شایستگی روش ..... ۹۸
- ۵-۲-۲- تجزیه نمونه‌های حقیقی ..... ۹۸

- ۵-۲-۳- مقایسه روش پیشنهادی با برخی از روش‌های اسپکتروفتومتری موجود در اندازه‌گیری نیتريت . ۹۹
- ۵-۳- اندازه‌گیری نیتريت و نیتريت به روش اسپکتروفتومتری ..... ۱۰۰
- ۵-۳-۱- ارقام شایستگی روش ..... ۱۰۰
- ۵-۳-۲- تجزیه نمونه‌های حقیقی ..... ۱۰۱
- ۵-۳-۳- مقایسه روش پیشنهادی با برخی از روش‌های اسپکتروفتومتری موجود در اندازه‌گیری نیتريت و نیتريت ..... ۱۰۱

### فهرست اشکال

- شکل (۱-۲): روش سرعت ابتدایی ..... ۳۰
- شکل (۲-۲): روش زمان ثابت ..... ۳۲
- شکل (۳-۲): روش زمان متغیر ..... ۳۳
- شکل (۴-۲): روش تانژانسی ..... ۳۴
- شکل (۵-۲): اثر دما بر سرعت واکنش در واکنشهای مختلف ..... ۴۲
- شکل (۱-۳): تغییرات طیف جذبی نمونه ..... ۴۹
- شکل (۲-۳): تغییرات طیف جذبی شاهد ..... ۴۹
- شکل (۳-۳): بررسی غلظت اسید سولفوریک ..... ۵۳
- شکل (۴-۳): اثر غلظت پتاسیم برومات بر سیگنال تجزیه ای ..... ۵۴
- شکل (۵-۳): بررسی غلظت برموپاداپ بر تغییرات جذب شاهد، نمونه و سیگنال تجزیه ای ..... ۵۶
- شکل (۶-۳): نتایج حاصل از بررسی دما ..... ۵۸

- شکل (۷-۳): بررسی اثر زمان ..... ۶۱
- شکل (۸-۳): اثر قدرت یونی بر حساسیت ..... ۶۳
- شکل (۹-۳) منحنی کالیبراسیون در محدوده غلظتی ۰/۳۶۰ - ۰/۰۲۰ میکرو گرم بر میلی لیتر نیتريت ..... ۶۵
- شکل (۱-۴): تغییرات طیف جذبی نمونه ..... ۷۵
- شکل (۲-۴): تغییرات طیف جذبی شاهد ..... ۷۵
- شکل (۳-۴): بررسی pH محیط ..... ۷۸
- شکل (۴-۴): بررسی مقدار ملغمه کادمیوم- جیوه در احیای نیتريت ..... ۷۹
- شکل (۵-۴): بررسی اثر مدت زمان تماس محلول نیتريت با ملغمه بر راندمان تبدیل ..... ۸۱
- شکل (۶-۴): منحنی کالیبراسیون نیتريت در حضور ملغمه کادمیوم - جیوه ..... ۸۳
- شکل (۷-۴): منحنی کالیبراسیون نیتريت در غیاب ملغمه کادمیوم- جیوه ..... ۸۴
- شکل (۸-۴): منحنی کالیبراسیون در محدوده غلظتی ۰/۴۴۰ - ۰/۰۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت ..... ۸۷
- شکل (۹-۴): منحنی کالیبراسیون در محدوده غلظتی ۰/۳۶۰ - ۰/۰۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت ..... ۹۳
- شکل (۱۰-۴): منحنی کالیبراسیون در محدوده غلظتی ۰/۴۴۰ - ۰/۰۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت ..... ۹۳
- شکل (۱-۵): ساختار گسترده برموپاداپ ..... ۹۶

## فهرست جداول

- جدول (۱-۲): طبقه بندی روش های سینتیکی بر اساس شیمی واکنشها ..... ۲۴
- جدول (۲-۲): روشهای اندازه گیری ..... ۲۹
- جدول (۱-۳) مواد شیمیایی مورد استفاده ..... ۴۶
- جدول ۲-۳- بررسی اثر نوع اسید بر روی اختلاف تغییرات جذب نمونه و شاهد ..... ۵۱
- جدول ۳-۳- بررسی اثر غلظت سولفوریک اسید بر روی اختلاف تغییرات جذب نمونه و شاهد ..... ۵۲
- جدول ۴-۳- بررسی غلظت پتاسیم برومات بر روی سرعت واکنش ..... ۵۴
- جدول ۳-۵- بررسی اثر غلظت برموپاداپ بر روی سیگنال تجزیه ای ..... ۵۶
- جدول ۳-۶- بررسی اثر دما بر روی اختلاف جذب شاهد و نمونه ..... ۵۸
- جدول ۳-۷- نتایج حاصل از بررسی اثر زمان ..... ۶۰
- جدول ۳-۸- نتایج حاصل از بررسی قدرت یونی ..... ۶۲
- جدول (۳-۹): سیگنال تجزیه ای بدست آمده برای غلظتهای مختلف نیتريت در محدوده غلظتی ۰/۳۶۰-۰/۰۲۰ ..... ۶۵
- میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت ..... ۶۵
- جدول (۳-۱۰): نتایج مربوط به بررسی دقت و صحت روش پیشنهادی ..... ۶۶
- جدول (۳-۱۱): نتایج حاصل از بررسی اثر مزاحمتها در اندازه گیری غلظت ۰/۱۰ میکرو گرم بر میلی لیتر نیتريت ..... ۶۸
- جدول (۳-۱۲): تعیین مقدار نیتريت در نمونه آب شهر شاهرود ..... ۶۹
- جدول ۳-۱۳- اندازه گیری نیتريت در نمونه سوسیس ..... ۷۰
- جدول (۴-۱) مواد شیمیایی مورد استفاده ..... ۷۲



- جدول ۴-۲- بررسی اثر pH بر راندمان تبدیل ..... ۷۷
- جدول ۴-۳- اثر مقدار گرانول کادمیوم جیوه دار شده بر راندمان تبدیل ..... ۷۹
- جدول ۴-۴- بررسی اثر مدت زمان تماس محلول نیترات با ملغمه بر راندمان تبدیل ..... ۸۰
- جدول (۴-۵): منحنی کالیبراسیون برای نیتريت در حضور ملغمه ..... ۸۳
- جدول (۴-۶): منحنی کالیبراسیون برای نیتريت در غياب ملغمه ..... ۸۴
- جدول (۴-۷): سیگنال تجزیه ای بدست آمده برای غلظتهای مختلف نیترات در محدوده غلظتی ۰/۴۰-۰/۴۴۰ ..... ۸۶
- میکروگرم بر میلی لیتر نیترات ..... ۸۶
- جدول (۴-۸): نتایج مربوط به بررسی دقت و صحت روش پیشنهادی ..... ۸۸
- جدول (۴-۹): بررسی اثر مزاحمتها ..... ۹۰
- جدول (۴-۱۰): تعیین مقدار نیترات در نمونه آب شهر شاهرود ..... ۹۱
- جدول (۴-۱۱): سیگنال تجزیه ای بدست آمده برای غلظتهای مختلف نیتريت و نیترات در حضور یکدیگر... ۹۲
- جدول (۴-۱۲): تعیین مقدار نیترات و نیتريت در حضور هم در نمونه آب شهر شاهرود..... ۹۵
- جدول (۵-۱): مقایسه روشهای موجود با روش پیشنهادی برای اندازه گیری نیتريت ..... ۹۹
- جدول (۵-۲): مقایسه روشهای موجود با روش پیشنهادی برای اندازه گیری نیترات ..... ۱۰۱

# فصل اول:

## بخش مقدمه

## ۱-۱-نیتريت

نیتريت يونی است که بصورت طبیعی ایجاد می‌شود و تشکیل آن یک مرحله مهم در چرخه نیتروژن می‌باشد. نیتريت یکی از آلاینده‌های سمی مهم است که بطور وسیعی در خاک، آب‌های طبیعی و پساب‌های صنعتی وجود دارد [۱]. غلظت‌های بالای نیتريت در آب آشامیدنی بخصوص برای سلامتی کودکان و زنان باردار خطرناک می‌باشد. نیتريت از اکسایش ناقص آمونیاک و یا از احیای نیترات حاصل می‌شود و نیز می‌تواند از تخریب بیوشیمیایی مواد آلی نیتروژن دار بوجود آید. اولین خطری که به دلیل نوشیدن آب های دارای نیترات سلامتی انسان را تهدید می‌کند، تبدیل آن به نیتريت است. از این رو لازم است که مقادیر نیتريت و نیترات بخصوص در آب‌های آشامیدنی کنترل شود. برخی از گونه‌های خاص باکتریایی مانند ای کولای<sup>۱</sup> و هافنیا<sup>۲</sup>، نیترات را به نیتريت تبدیل می‌کنند [۲و۳]

### ۱-۱-۱- بررسی ویژگی های درمانی نیتريت

دانشمندان انستیتوی ملی بهداشت آمریکا سرگرم تحقیقاتی درباره خواص دارویی نیتريت سدیم در درمان بیماری‌هایی از قبیل کم خونی و آنوریزم<sup>۳</sup> مغزی هستند. به گزارش روزنامه «یو اس ای تو دی»<sup>۴</sup> آمریکا در اینترنت، از این نمک که در نگهداری و حفظ مواد گوشتی استفاده می‌شود به چندین داوطلب داده شده است تا اثرات آن در مقابله با حملات قلبی، آنوریزم مغزی و همچنین درمان نوعی کم خونی ژنتیکی مورد ارزیابی دقیق قرار بگیرد. همه این بیماری‌هایی که از آنها نام برده شد وجه مشترکی با یکدیگر دارند و آن وابستگی آنها به مشکلاتی است که بر اثر میزان کم اکسیژن و کمبود آن در بافت‌ها به وجود می‌آید. دانشمندان مدعی شده اند که نیتريت سدیم بافت ها را در برابر مرگ سلولی بر اثر کمبود اکسیژن در حملات قلبی و بیماری‌های ریوی محافظت می‌کند و برای اثبات این امر دست به تحقیقات گسترده ای زده‌اند. اگر خواص التیام بخش نیتريت

---

۱- E. Coli

۲ - Hofnia

۳ - anorism

۴-USA2day

سدیم ثابت شود دارویی ارزان قیمت در اختیار بسیاری از بیماران قلبی، عروقی و مغزی قرار خواهد گرفت. همزمان با این تحقیقات، مطالعاتی نیز بر روی تاثیر مثبت این نمک در درمان بیماری کشنده‌ای در میان نوزادان به نام فشار خون بالای ریوی آغاز شده است. دانشمندان به طور تصادفی و در حالیکه سرگرم مطالعه بر روی خواص ترکیبی به نام اکسید نیتریک بر روی جریان خون و دیواره رگ‌های خونی بودند به خواص التیام بخش نیتريت سدیم پی بردند. آنها با تزریق نیتريت سدیم به داوطلبان دریافتند که حتی میزان کمی از آن نیز جریان خون را تا حد قابل ملاحظه ای افزایش می دهد. علاوه بر آن دریافتند زمانیکه فرد ورزش می کند سطح نیتريت سدیم در عضلاتی که حرکات ورزشی در آنها صورت می‌گیرد هم به شدت پایین می‌رود و این نشان می‌دهد که بدن شخص سرگرم استفاده از این ترکیب است. لازم به ذکر است مقادیر زیاد نیتريت سدیم برای درمان مسمومیت با سیانور مورد استفاده قرار می‌گیرد ولی همین میزان نیز برای بدن سمی است. ولی تصور می‌شود مقادیر کمی از آن که در بدن نیز موجود می‌باشد، خواص سمی ندارد. محققان می‌گویند زمانیکه سطح اکسیژن در بافتی در بدن کاهش می‌یابد، ذخایر طبیعی نیتريت سدیم در بدن به اکسید نیتريك یا اکسید ازتیک مبدل می‌شود که باعث گشاد شدن رگ‌های خونی می‌گردد تا خون همراه با اکسیژن بیشتری به آن بافت برسد که این نشان می‌دهد نیتريت سدیم می‌تواند در مواقع کمبود اکسیژن از بافت‌ها حفاظت کند. یکی دیگر از خواص احتمالی نیتريت سدیم ارتباط آن با هموگلوبین<sup>۱</sup> یعنی پروتئین مسئول حمل اکسیژن در خون است. نوعی کم خونی ژنتیکی که در آن اختلال در تولید هموگلوبین در خون بروز می کند، درد شدید در بیمار ایجاد می‌کند که به واسطه ترشح مقادیر زیادی هموگلوبین در پلاسماي خون است و علاوه بر آن سلول‌های قرمز خون نیز به هم چسبیده و باعث بسته شدن رگ‌های خون می‌شوند. در این جا نیتريت سدیم می‌تواند مفید واقع شده و باعث گشاد شدن دیواره رگ‌های خونی شود و درد بیمار را نیز کم کند [۴].

از نیتترات و نیتريت سدیم برای ایجاد رنگ قرمز روشن ( صورتی ) و جلوگیری از تیره شدن رنگ در فرآورده‌های گوشتی و نیز در حکم نگهدارنده از نظر میکروبی و ایجاد طعم مخصوص در این نوع محصولات استفاده می‌شود.

---

۱ - Hemoglobin

از دیرباز، نیترات و نیتريت برای تولید محصول مرغوب در صنایع گوشت کاربرد داشته است. نیترات هنگامی در به وجود آوردن رنگ قرمز فرآورده‌ی گوشتی موثر است که احیا شده و به نیتريت تبدیل شود. نیتريك اکسید با مواد رنگی (میوگلوبین<sup>۱</sup> و هموگلوبین) ترکیب می‌شود و ایجاد اکسید نیتريك میوگلوبین و اکسید نیتريك هموگلوبین می‌کند [۵].

### ۱-۱-۲- احیای نیترات در شکمبه

ساعاتی اندک پس از ورود نیترات به شکم، بیش از ۲۵ درصد آن توسط آنزیم نیترات ردوکتاز باکتریایی به نیتريت تبدیل می‌شود [۶].

### ۱-۱-۳- مکانیسم و چگونگی ایجاد مسمومیت

ظهور ناگهانی نیتريت در خون نشان می‌دهد که نیتريت از دیواره شکمبه جذب می‌شود. بیش از ۲۵ درصد نیتريت پس از جذب در ادرار ظاهر می‌شود. اوج غلظت در ساعات اندکی پس از مصرف غذا رخ می‌دهد. پس از ورود نیتريت به جریان خون نشخوارکنندگان و غیر نشخوارکنندگان، با یون آهن دو ظرفیتی که ممکن است با اکسیژن پیوند داشته یا نداشته باشد، واکنش داده و آن را به یون آهن سه ظرفیتی تبدیل می‌کند. به این ترتیب از هموگلوبین، مت هموگلوبین<sup>۲</sup> ایجاد می‌شود که توانایی حمل اکسیژن را ندارد. به بیماری حاصل از تبدیل هموگلوبین به مت هموگلوبین هموگلوبینیا<sup>۳</sup> گفته می‌شود. این عامل، باعث کمی اکسیژن و مرگ می‌شود<sup>۴</sup>. در طول مدت ۵ دقیقه ۷۰ درصد از هموگلوبین به مت هموگلوبین تبدیل می‌شود. در صورتی که بیش از ۷۵ درصد هموگلوبین به مت هموگلوبین تبدیل شود، این ترکیب مسمومیت آفرین است [۶].

---

۱- Mioglobin

۲- Methemoglobin

3- Hemoglobinia

۴ -Anoxia and Death

نیتريت ممکن است در معده با ترکیبات نیتروژندار<sup>۱</sup> (آمین‌های دوتایی و سه تایی و آمیدهای موجود در غذا) واکنش داده و ترکیبات آن - نیتروزو<sup>۲</sup> که بسیار سرطان زا هستند را ایجاد کند [۷]. میزان تشکیل نیتروز آمین‌ها با مجذور غلظت نیتريت سدیم ارتباط مستقیم دارد. از این رو با کاهش حتی مقدار کم نیتريت افزوده شده می‌توان تشکیل نیتروز آمین‌ها را به میزان قابل ملاحظه ای کاهش داد [۸].

#### ۱-۱-۴- علائم ناشی از مسمومیت

سطوح مت هموگلوبین در خون با تغییر میزان جذب نیتريت تغییر پیدا می‌کند که عموماً ۴ تا ۸ ساعت پس از مصرف غذای پر نیترات به اوج خود می‌رسد و کاهش مت هموگلوبین توسط آنزیم آن. ای. دی. پی. اچ. ردوکتاز<sup>۳</sup> کاهش یافته و مجدداً به هموگلوبین تبدیل می‌شود. با ایجاد مت هموگلوبین خون به رنگ قهوه ای شکلاتی در می‌آید ولیکن تجزیه در سلول‌های خون رخ نمی‌دهد. تغییر رنگ خون منجر به ایجاد تغییر رنگ در پوست و غشاهای موكوسی مثل واژن و اطراف دهان می‌شود [۶].

دیگر علائم شامل کسالت، لرزش عضلانی، ضربان سریع قلب، سرعت تنفس بالا ( بخاطر کمی اکسیژن) و راه رفتن با سرگیجه می‌باشد. تزریق مقداری از متیلن بلو<sup>۴</sup> (بعنوان رایج ترین ترکیب پیشگیری کننده) مت هموگلوبین را دوباره اکسید می‌کند و بعنوان درمان رایج و معمول مسمومیت نیتريتی بکار گرفته می‌شود [۶].

#### ۱-۱-۵- منابع نیتريت

سبزیجات برگ‌دار و برخی صیفی جات مانند اسفناج، چغندر، کاهو، کلم، سیب زمینی و هویج یک منبع مهم نیتريت در بدن ما هستند. معمولاً نیترات‌ها به وفور در غذاها وجود دارند، زیرا سبزی ها نیتروژن را به این

---

۱ -nitrosable

۲ -N-Nitroso

۳ - NADPH reductase

۴- Methylene blue

فرم از خاک می‌گیرند که در نهایت این نیترات موجود در غذا می‌تواند توسط برخی از باکتری های فعال به نیتريت تبدیل شود [۹].

#### ۱-۱-۶- کاربردها و موارد مصرف نیتريت [۱۰]

نیتريت در موارد زیادی بکار می‌رود که برخی از آنها عبارتند از:

- ۱) نگهدارنده غذا
- ۲) در شوینده‌ها
- ۳) بعنوان نگهدارنده در هسته چوب
- ۴) ضد خورنده در فرایندهای صنعتی و فیبر سنتزی صنعتی
- ۵) تثبیت رنگ
- ۶) آنتی‌اکسیدان
- ۷) مهار رشد میکروارگانیسم‌ها
- ۸) بهبود طعم در فرآورده‌های گوشتی

#### ۱-۱-۷- غلظت مجاز نیتريت در آب‌های آشامیدنی و در بدن انسان

طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی غلظت مجاز نیتريت در آب آشامیدنی ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد [۱۱]. در بدن انسان نیز وقتی نیتريت در غلظت‌های بالاتر از محدوده ۰/۴-۲۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم از وزن بدن در خون وجود داشته باشد، می‌تواند سمی باشد. البته این محدوده متفاوت می‌باشد. محدوده خطرناک برای انسان حدود ۲۵۰-۳۳ میلی‌گرم در هر کیلوگرم از بدن تخمین زده شده است [۱۲].

## ۱-۱-۸- مروری بر کارهای انجام شده برای اندازه گیری نیتريت

روش‌های متعددی برای اندازه گیری نیتريت گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به روش‌های پتانسیومتری<sup>۱</sup> [۱۲]، کروماتوگرافی گاز- مایع<sup>۲</sup> [۱۳]، اسپکتروفلوریمتری<sup>۳</sup> [۱۴ و ۱۵]، حسگر نوری<sup>۴</sup> [۱۶]، الکتروشیمیایی<sup>۵</sup> [۱۷] و روش‌های سینتیکی و غیر سینتیکی اسپکتروفوتومتری<sup>۶</sup> [۳۴-۱۹] اشاره کرد. در زیر به طور خلاصه اساس هر یک از روش‌های اسپکتروفوتومتری مورد استفاده، دامنه خطی و حد تشخیص آن‌ها آورده می‌شود.

در سال ۱۹۹۴ آقای نیکونوروف<sup>۷</sup> با کمک همکارش توانست یک روش اسپکتروفوتومتری برای اندازه گیری نیتريت ارائه کند. در این روش نیتريت با نیتروژن مشتقات پاراهالوژنه ترکیب N,N دی متیل آنیلین واکنش می‌دهد. در حین واکنش یک حد واسط شامل نیتريت تشکیل می‌شود. با گذشت زمان جذب حد واسط تشکیل شده کاهش می‌یابد. زمان انجام واکنش در این روش ۱۵ دقیقه و حد تشخیص آن ۲ میکروگرم بر لیتر می‌باشد [۱۸].

در سال ۱۹۹۷ علی انصافی<sup>۸</sup> و همکارانش یک روش سینتیکی- کاتالیتیکی- اسپکتروفوتومتری برای اندازه گیری مقادیر کم نیتريت ارائه نمودند. این روش بر پایه ی اثر کاتالیزوری نیتريت بر اکسایش زایلن ارنج<sup>۹</sup> توسط برومات در محیط اسیدی می‌باشد. جذب زایلن ارنج با گذشت زمان در طول موج ۴۳۰ نانومتر کاهش می‌یابد. دامنه خطی روش از ۰/۱-۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر و حد تشخیص آن ۰/۰۰۳ میلی گرم بر لیتر می‌باشد [۱۹].

---

۱-Potentiometric

۲- Gas- liquid chromatography

۳ - Spectrofluorimetry

۴ - Optical sensor

۵- Electrochemical

۶ - Spectrophotometry

۷-V. V. Nikonorov

۸ - A.Ensafi

۹ - Xylen Orange



در سال ۲۰۰۰ ال. مرسی خالد<sup>۱</sup> و همکارانش یک روش اسپکتروفتومتری برای اندازه گیری نیتريت ارائه نمودند. این روش بر اساس اثر کاتالیزوری نیتريت روی واکنش برومات با مالاچیت گرین<sup>۲</sup> می باشد. دامنه خطی این روش ۵۰۰ - ۲۵ نانوگرم بر میلی لیتر و حد تشخیص آن ۵ نانوگرم بر میلی لیتر می باشد [۲۰].

در سال ۲۰۰۱ روانا سیداپا<sup>۳</sup> و همکارانش یک روش اسپکتروفتومتری آسان و سریع برای اندازه گیری نیتريت در آب و نمونه های خاک ارائه نمودند. این روش بر اساس واکنش نیتريت با پارا نیترو آنیلین برای تشکیل یون دی آزونوم در یک محیط بازی می باشد. ماکسیمم جذب رنگدانه در طول موج ۴۹۰ نانومتر می باشد. حد تشخیص و دامنه خطی روش به ترتیب برابر ۰/۰۳۵ و ۱/۴-۰/۰۵ میکرو گرم بر میلی لیتر می باشد [۲۱].

در سال ۲۰۰۲ ناگاراچا<sup>۴</sup> و همکارانش واکنشگر جدید داپسون<sup>۵</sup> را برای اندازه گیری نیتريت در نمونه های پساب و آب طبیعی بکار بردند. این روش بر اساس واکنش جفت شدگی یون دی آزونوم بین داپسون و فلوروگلوکوسینول<sup>۶</sup> در محیط اسیدی می باشد. پس از آن نیتريت با یون دی آزونوم تشکیل یک حد واسط رنگی می دهد که جذب آن در طول موج ۴۳۰ نانومتر اندازه گیری می شود. دامنه خطی روش ۱- ۰/۰۰۸ میکروگرم بر میلی لیتر می باشد [۲۲].

در سال ۲۰۰۴ پور اعتدال<sup>۷</sup> و همکارش یک روش سینتیکی- اسپکتروفتومتری برای اندازه گیری مقادیر کم نیتريت در دو دامنه خطی ۱۰۰-۲ و ۵۰۰-۱۰۰ نانو گرم بر میلی لیتر ارائه نمودند. این روش بر اساس اثر کاتالیزوری نیتريت بر واکنش بین متیلن بلو و پتاسیم برومات در محیط اسیدی می باشد. ماکسیمم جذب متیلن بلو در طول موج ۴۳۷ نانومتر و حد تشخیص روش ۰/۶ نانو گرم بر میلی لیتر می باشد [۲۳].

---

۱- L.Morsy. Khaled

۲ - Malachite Green

۳ -Revana. Sidapa

۴- Nagaraja.P

۵- Dapson

۶- phloroglucinol

۷- H.Pouretedal

در سال ۲۰۰۵ پور حسین<sup>۱</sup> و همکارانش یک روش اسپکتروفوتومتری تزریق در جریان برای اندازه‌گیری نیتريت ارائه نمودند. در این روش نیتريت همراه تیواوره به درون سیستم واکنش تزریق می‌شود و یون تیو سیانات تشکیل شده برای ایجاد یک محصول رنگی با یون آهن (III) واکنش می‌دهد. حد تشخیص و دامنه خطی روش بترتیب برابر ۰/۳۶ میکرو گرم بر میلی لیتر و ۰/۳۶-۹۰ میکرو گرم بر میلی لیتر می‌باشد [۲۴].

در سال ۲۰۰۶ مبارک<sup>۲</sup> و همکارانش یک روش سینتیکی- اسپکتروفوتومتری برای اندازه‌گیری نیتريت بر اساس واکنش اکسایش پرپنازین با برومات<sup>۳</sup> ارائه کردند. در این روش نیتريت بر روی واکنش اکسایش پرپنازین توسط برومات اثر گذاشته و سرعت کاهش جذب را افزایش می‌دهد. حد تشخیص این روش ۰/۰۷ نانوگرم بر میلی لیتر می‌باشد [۲۵].

در سال ۲۰۰۶ چریان<sup>۴</sup> و همکارش یک سیستم جدید برای اندازه‌گیری اسپکتروفوتومتری مقادیر کم نیتريت در نمونه‌های محیطی ارائه نمودند. در این روش ابتدا نیتريت در محیط اسیدی با پارانیتروانیلین<sup>۵</sup> یون دی آزونیموم را تشکیل می‌دهد، حال این ترکیب در محیط بازی با اتوکسی اتیلن مالئیک استر<sup>۶</sup> و اتیل سیانوآستات<sup>۷</sup> جفت می‌شود که به ترتیب در طول موج های ۴۳۹ و ۴۶۵ نانومتر دارای ماکسیمم جذب می‌باشند. ناحیه خطی این روش از ۱۶-۰/۵ میکروگرم بر میلی لیتر و حد تشخیص آن ۰/۰۷ میکروگرم بر میلی لیتر می‌باشد [۲۶].

در سال ۲۰۰۷ دایاناندا<sup>۸</sup> و همکارش یک روش اسپکتروفوتومتری سریع و حساس برای اندازه‌گیری نیتريت در نمونه‌های آب و خاک ارائه نمودند. این روش شامل واکنش نیتريت با گروه آمینی نوع اول در رنگدانه

---

۱- Pourhosein.Mohammad

۲ - Ahmed.Mobarak

۳ - Perpenasine

۴- Tom.Cherian

۵- Paranitroaniline

۶- Maleicester

۷- Cianoacetate

۸- Dayanda

کاتیونی تیونین<sup>۱</sup> در محیط اسیدی می باشد. کاهش رنگ در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه گیری می شود. کاهش جذب به طور مستقیم با غلظت نیتريت ارتباط دارد. دامنه خطی روش از ۰/۵-۰/۰۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر و حد تشخیص آن ۷ نانوگرم بر میلی لیتر می باشد [۲۷].

در سال ۲۰۰۸ ملدوان<sup>۲</sup> یک روش سینتیکی- اسپکتروفتومتری برای اندازه گیری نیتريت در آب ارائه نمود. این روش بر اساس اثر کاتالیزوری نیتريت روی واکنش اکسایش متیلن بلو<sup>۳</sup> با برومات در محیط اسید سولفوریک می باشد. ناحیه خطی این روش از ۰/۵-۰/۰۰۵ میکروگرم بر میلی لیتر و حد تشخیص آن ۰/۰۰۱۵ میکروگرم بر میلی لیتر می باشد [۲۸].

در سال ۲۰۰۸ نوروزی<sup>۴</sup> و میرشافیان<sup>۵</sup> یک روش سینتیکی- اسپکتروفتومتری- تزریق جریان برای اندازه گیری مقادیر کم نیتريت ارائه نمودند. این روش بر اساس اثر کاتالیزوری نیتريت بر روی واکنش اکسایش بین سولفونازو<sup>۶</sup> و پتاسیم برومات در محیط اسیدی می باشد. این روش دارای ناحیه خطی از ۰/۳-۰/۰۰۸ میکروگرم بر میلی لیتر (با شیب ۲/۴) و ۱/۸-۰/۳۵ میکروگرم بر میلی لیتر (با شیب ۰/۴۲) و حد تشخیص ۰/۰۰۶ میکروگرم بر میلی لیتر می باشد [۲۹].

در سال ۲۰۰۸ ناگاراچا<sup>۷</sup> و همکارانش یک روش اسپکتروسکوپی برای تشخیص نیتريت در نمونه های آبی ارائه نمودند. در این روش داپسون<sup>۸</sup> در حضور نیتريت در محیط اسیدی تشکیل یک حد واسط را داده که این حد حد واسط با آلفا نفتول<sup>۹</sup> ترکیبی را تشکیل می دهد که در طول موج ۵۳۰ نانومتر دارای ماکسیمم جذب می باشد.

---

۱- Thionine

۲ - Zenovia Moldovan

۳- Methylen blue

۴- S.noruzi

5- M.Mirshafian

۶- Sulfonazo

۷ - Padmarajaiah Nagaraja

۸ - Dapson

۹ - Alphanaphtpl

می‌باشد. این روش دارای ناحیه خطی  $1/4-0/2$  میکروگرم بر میلی لیتر و حد تشخیص  $0/82$  میکروگرم بر میلی لیتر می‌باشد [۳۰].

در سال ۲۰۰۹ چمساز<sup>۱</sup> و همکارانش یک روش اسپکتروفتومتری برای اندازه گیری نیتريت با استفاده از دی فنیل آمین بعنوان عامل کمپلکس دهنده ارائه دادند. در این روش نیتريت با دی فنیل آمین در حضور سولفوریک اسید تشکیل یک کمپلکس آبی رنگ را داده که جذب آن در طول موج ۵۸۸ نانومتر اندازه گیری می‌شود. ناحیه خطی این روش  $1150-38$  نانوگرم بر میلی لیتر و حد تشخیص آن  $38$  نانوگرم بر میلی لیتر می‌باشد [۳۱].

در سال ۲۰۰۹ زی تائو جیانگ<sup>۲</sup> و همکارانش یک روش اسپکتروفتومتری برای اندازه گیری مقادیر کم نیتريت ارائه نمودند. اساس این روش بر پایه اکسایش بریلینت کرسیل بلو<sup>۳</sup> توسط نیتريت در محیط اسیدی می‌باشد که منجر به کاهش جذب در  $636$  نانومتر می‌شود. ناحیه خطی روش از  $10^{-3} \times 0/8$  -  $10^{-3} \times 0/2$  گرم بر لیتر و حد تشخیص آن  $4 \times 10^{-6}$  گرم بر لیتر می‌باشد [۳۲].

در سال ۲۰۱۰ ناگاراچا و همکارانش یک روش حساس و ساده اسپکتروفتومتری را برای اندازه گیری مقادیر کم نیتريت در نمونه های محیطی و بیولوژیکی که اساس آن از برهم کنشهای جفت شده درون ملکولی گروههای دی آزو در کاتیون الکترون دوست دی آزونیم با نمک ۴- آمینو-۵- هیدروکسی نفتالن-۲ و ۷- دی سولفونیک اسید منو سدیم می‌باشد ارائه نمودند. در این روش ناحیه خطی از  $1/6-0/1$  میکروگرم بر میلی لیتر و حد تشخیص آن  $0/075$  میکروگرم بر میلی لیتر می‌باشد [۳۳].

---

۱ - M.Chamsaz

۲- Zi-Tao Jiang

۳ - Brilliant creyasil blue

## ۱-۲- نیترات

نیترات ترکیبی است شیمیایی با فرمول  $\text{NO}_3^-$  که به صورت طبیعی در ساختار بدن موجود زنده نیز تولید می‌شود. نیترات در گیاهان منبع مهم نیتروژن برای پروتئین سازی به حساب می‌آید. باکتریها نیز نیترات را به عنوان منبع نیتروژن استفاده می‌کنند. باکتری‌های دستگاه گوارش در تک معده ایها و نشخوارکنندگان (چند معده ایها) از نیترات موجود در آب و غذای مصرفی استفاده می‌کنند و بر روی آن تغییراتی ایجاد می‌کنند تا نیتروژن آن قابل استفاده برای ساختن پروتئین‌ها باشد. این تغییرات شامل یک سری واکنش‌های احیایی است که در مسیر این واکنشها ترکیباتی تولید می‌شوند که همگی متابولیت‌های نیترات به حساب می‌آیند. مهمترین این ترکیبات را میتوان نیتريت ( $\text{NO}_2^-$ ) و یون آمونیوم ( $\text{NH}_4^+$ ) ذکر کرد [۳۴]. غلظت نیترات در سبزیجات تازه از ۳۲۴۰-۳۷۷ میلی گرم بر کیلوگرم و در اسفناج تازه از ۱۱۹۰-۵۴۵ میلی گرم بر کیلوگرم می‌باشد [۳۵]. نیترات، نیتريت و آمونیوم در کنار هم وجود دارند و در خاک بوسیله فاکتورهایی مثل شرایط

اکسایش- کاهش، دما، محیط ژئوشیمیایی و میکروبیولوژیکی، pH، عمق نمونه برداری و غیره که چرخه بیولوژیکی نیتروژن را نظم می‌دهند، روی هم تاثیر می‌گذارند [۳۶]. نیتريت و نترات از آلاینده‌های مهم در اتمسفرهای آبی و آبهای سطحی می‌باشند، زیرا از طریق تشکیل رادیکال هیدراکساید<sup>۱</sup> که یک اکسنده قوی در محلولهای آبی می‌باشد، باعث بالا رفتن فتو اکسایش طبیعی و ایجاد آلودگی می‌شوند [۳۷]. غلظت بالای نترات در آب آشامیدنی منجر به تولید نیتريت می‌شود که آن هم باعث ایجاد مت هموگلوبین یا سندروم نوزاد آبی<sup>۲</sup> می‌گردد [۳۸].

#### ۱-۲-۱- ویژگی های نترات

نترات بدون رنگ، بو و طعم بوده و در آبهای آشامیدنی بدون آزمایش قابل تشخیص نمیباشد. لذا پیشنهاد می‌گردد، آب مصرفی گروه سنی کودکان، زنان باردار، مادران شیرده و سالمندان آزمایش و نترات آن محاسبه گردد. گروه های مذکور جزء گروه های در معرض خطر آلودگی آب به نترات و نیتريت هستند. نترات بطور طبیعی در حد غلظت کمتر از حد مجاز، در آبهای آشامیدنی و آبهای زیرزمینی وجود دارد. آزمایش اولیه، برای تعیین میزان نترات منابع آب ضروری است، بنابراین اگر تا کنون نترات منابع آبی آزمایش نگردیده، لازم است آزمایش اولیه انجام گیرد. هر نوع فعالیتی در نزدیک چاههای آب میتواند سبب آلودگی شود [۳۹].

#### ۱-۲-۲- راههای تبدیل نترات به نیتريت

نترات خودش به تنهایی در غلظتهای پایین مضر نیست بلکه وقتی به نیتريت احیا می‌شود سلامتی را تهدید می‌کند. یکی از راههای تبدیل نترات به نیتريت بکمک آنزیم نترات ردوکتاز می‌باشد. این آنزیم در

---

<sup>۱</sup> - Hydroxide

<sup>۲</sup> - Blue baby syndrome

گیاهان وجود دارد. برخی گونه های خاص باکتریایی و بافتهای بدن پستانداران هم این آنزیم را دارند. به این ترتیب می توان این نتیجه را پیشگویی کرد که احیای نیترات به نیتريت همانگونه که در شکمبه یا سکوم قابل انجام است در بافتهای گیاهی و سیلوها نیز انجام پذیر است [۴۰].

نیترات از طرق مختلف می تواند به نیتريت احیا شود برخی از این روشها عبارتند از:

(۱) باکتری های ردوکتاز [۴۱].

(۲) کادمیوم<sup>۱</sup> [۴۲].

(۳) وانادیوم(III) کلراید<sup>۲</sup> [۴۳].

#### ۱-۲-۳- موارد استفاده نیترات

نمک های سدیم نیترات و سدیم نیتريت بعنوان نگهدارنده به محصولات گوشتی اضافه می شوند تا این محصولات را در برابر کلستریدیوم بوتولینیوم<sup>۲</sup> و دیگر گونه های کلستریدیوم محافظت کنند. نمک های پتاسیم نیترات همچنین در کودهای کشاورزی و در ساخت باروت و شیشه استفاده می شوند. نمک سدیم نیترات هم در خمیر دندان بکار می رود [۴۴].

#### ۱-۲-۴- منابع نیترات در آبهای آشامیدنی

نیتروژن بعنوان یک ماده مغذی (کود) به مقدار زیاد در چمنزار، باغات و کشاورزی کاربرد دارد. علاوه بر کود، نیتروژن، در خاک به فرم آلی از تجزیه گیاهان و حیوانات بوجود می آید. فرم های مختلف نیتروژن در خاک توسط باکتریها به نیترات تبدیل می شود. مطلوب این است که نیتروژن به فرم نیترات جذب گیاهان شود. به هر

---

1. Cadmium  
2. Vanadium(III) chloride

حال نیترات، به راحتی با عبور آب از لایه های خاک به زمین نفوذ پیدا کرده و در اثر بارش یا آبیاری های شدید، به ریشه گیاهان و نهایتاً به آبهای زیرزمینی می‌رسد. نیترات در آبهای زیر زمینی از منابع نقطه ای مانند دفع فاضلاب، دامداریها و یا منابع غیر نقطه ای مانند مصرف کود کشاورزی در پارک ها، زمین های گلف، چمن زارها و باغات و یا از منابع طبیعی ناشی می شود.

### ۱-۲-۵- مقدار مجاز نیترات در آب آشامیدنی

بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی بیشترین مقدار مجاز نیترات در آب آشامیدنی ۴۵ میلی گرم بر لیتر اعلام شده است [۴۵].

### ۱-۲-۶- مروری بر کارهای انجام شده در زمینه اندازه گیری نیتريت و نیترات

روش های متعددی برای اندازه گیری نیتريت و نیترات گزارش شده است که می توان به روش های آمپرومتری<sup>۱</sup> [۴۶]، کروماتوگرافی [۴۷]، کمی لومینسانس<sup>۲</sup> [۴۸]، اسپکتروفتومتری [۴۹]، تزریق در جریان به همراه آشکارسازی اسپکتروفتومتری [۶۱-۵۰] و غیره اشاره کرد. تعداد مقالات اندازه گیری اسپکتروفتومتری نیتريت و نیترات بصورت ناپیوسته (در این روش تبدیل به صورت دستی و به عنوان یک مرحله جدا انجام می شود) کم است، لذا در زیر علاوه بر خلاصه ای از اساس هر یک از روش های اسپکتروفتومتری به خلاصه ای از اساس بعضی روش های تزریق در جریان به همراه آشکارسازی اسپکتروفتومتری (پیوسته) نیز اشاره می کنیم و دامنه خطی و حد تشخیص آنها به طور خلاصه آورده می شود.

در سال ۱۹۸۵ باجیک<sup>۳</sup> و همکارش یک روش اسپکتروفتومتری برای اندازه گیری همزمان نیتريت و نیترات آب طبیعی و آب دریا ارائه نمودند. در این روش نیتريت و نیترات همزمان از روی عامل کاهنده ملغمه روی در محلول آهن (III) - فروزین با  $pH = 3/4$  عبور داده می شود و نیتريت کل اندازه گیری می شود. حد تشخیص این روش ۰/۲ میکروگرم بر میلی لیتر می باشد [۴۹].

---

1- Amperometry  
2- Chemiluminescence  
3 -Bajic



در سال ۱۹۹۴ کوچ<sup>۱</sup> و همکارش یک روش اسپکتروفتومتری برای اندازه گیری همزمان نیتريت و نیترات با یک سیستم تزریق در جریان ارائه نمودند. اساس این روش بر پایه تشکیل یون دی آزنویم و پس از آن تشکیل یک حد واسط می باشد. این حد واسط رنگی بوده و در طول موج ۵۱۲ نانومتر دارای جذب می باشد. نیترات هم به کمک یک ستون پر شده با کادمیوم پوشیده شده با مس به نیتريت تبدیل می شود. حد تشخیص روش برای نیتريت و نیترات به ترتیب برابر ۰/۱ و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر می باشد [۵۰].

در سال ۱۹۹۵ پرات پی. اف<sup>۲</sup> و همکارانش یک روش تزریق در جریان به همراه آشکارسازی با اسپکتروفتومتری برای اندازه گیری همزمان نیتريت و نیترات ارائه نمودند. روش بر پایه واکنش با واکنشگر گریس<sup>۳</sup> می باشد. محلول نمونه به صورت مساوی به دو کانال تزریق می شود. کانال اول نیتريت خالص و نیتريتی که از احیای نیترات حاصل می شود را نشان می دهد و کانال دوم فقط نشانگر نیتريت می باشد. جذب محلولها در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه گیری می شود. حد تشخیص روش برای هر دو گونه نیتريت و نیترات ۲۵ نانومولار گزارش شده است [۵۱].

در سال ۱۹۹۹ هیگوچی<sup>۴</sup> و همکارش یک روش تزریق در جریان به همراه آشکارسازی اسپکتروفتومتری برای اندازه گیری نیتريت و نیترات در نمونه های بیولوژیکی ارائه نمودند. در این روش نیتريت و نیترات به درون یک محلول حامل شامل EDTA و بافر آمونیاکی تزریق و به درون یک ستون کادمیوم که با مس پوشیده شده است هدایت می شود. اساس این روش شامل یک واکنش تشکیل یون دی آزنویم و سپس تشکیل حد واسط رنگی می باشد. نیترات نیز بعد از عبور از روی ستون به نیتريت تبدیل می شود. حال با یک آشکارساز اسپکتروفتومتر جذب محصول اندازه گیری می شود. حد تشخیص روش برای هر دو گونه نیتريت و نیترات  $5 \times 10^{-8}$  مولار می باشد [۵۲].

---

۱ - Anatol koj

۲ - Pratt. P. F

۳ - Greece

۴ - Higuchi

در سال ۲۰۰۱ کاظم زاده و همکارش یک روش اسپکتروفتومتری متوالی برای اندازه‌گیری نیتريت و نیترات ارائه نمودند. این روش بر اساس واکنش نیتريت با سفرانین<sup>۱</sup> برای تشکیل نمک دی آزنویم می باشد که منجر به ایجاد یک رنگدانه قرمز مایل به قهوه‌ای می‌گردد که در طول موج ۵۲۰ نانومتر دارای بیشترین جذب می‌باشد. سیستم واکنش شامل دو مسیر می‌باشد. مسیر اول ستونی شامل ملغمه مس - کادمیوم می‌باشد که نیترات را به نیتريت تبدیل می‌کند. مسیر دوم محل واکنش نیتريت با سفرامین می‌باشد. دامنه خطی روش برای نیتريت و نیترات به ترتیب برابر ۰/۰۰۱-۳/۰ میکرو گرم بر میلی لیتر و ۰/۰۰۵-۳/۴۰ میکرو گرم بر میلی لیتر و حد تشخیص ۰/۵ نانو گرم بر میلی لیتر و ۳ نانوگرم بر میلی لیتر می‌باشد [۵۳].

در سال ۲۰۰۱ زلاتوس لگرنروا<sup>۲</sup> و همکارانش یک روش خودکار برای اندازه‌گیری همزمان نیتريت و نیترات در نمونه‌های آب بر اساس آنالیز متوالی تزریق ارائه نمودند. در این روش نیتريت مستقیماً با روش گریس تعیین می‌شود و رنگدانه آزو تشکیل شده پس از تشکیل حد واسط جذب آن در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. دامنه خطی روش و حد تشخیص برای نیتريت به ترتیب ۰/۰۵-۱/۰۰ و ۰/۰۱۵ میکرو گرم بر لیتر و برای نیترات ۰/۵-۵۰ و ۰/۱ میلی گرم بر لیتر می‌باشد [۵۴].

در سال ۲۰۰۳ راکوئل آندرید<sup>۳</sup> و همکارانش یک روش تزریق در جریان به‌همراه آشکارسازی اسپکتروفتومتری برای اندازه‌گیری همزمان نیتريت و نیترات ارائه نمودند. اساس روش احیای نیتريت و نیترات به نیتريك اکساید و سپس واکنش آن با یون آهن (II) برای تشکیل کمپلکس  $FeSCNNO^+$  می‌باشد. نیتريك اکساید از دو طریق ایجاد می‌شود، (۱) احیای نیترات به نیتريت با استفاده از یک ستون پوشیده شده با مس (۲) احیای نیتريت به نیتريك اکساید در محیط اسید سولفوریک. جذب کمپلکس در طول موج ۴۶۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. دامنه خطی روش و حد تشخیص برای نیتريت به ترتیب ۰/۰۳-۳/۰۰ و ۰/۰۱۵ میلی گرم بر لیتر و برای نیترات ۱-۱۰ و ۰/۱ میلی گرم بر لیتر می‌باشد [۵۵].

---

<sup>۱</sup> - Safranin

<sup>۲</sup> - Zlatuse Legnerov

<sup>۳</sup> - Raquel Andrade

در سال ۲۰۰۳ ژان فنگ<sup>۱</sup> و همکارانش یک روش تزریق در جریان به همراه آشکارسازی اسپکتروفتومتری برای اندازه گیری همزمان نیتريت و نیترات ارائه دادند. این روش شامل اثر کاتالیزوری نیتريت بر واکنش اکسایش کریستال ویولت و برومات در محیط اسید فسفریک بوده و نیترات بصورت پیوسته توسط ستون کادمیوم پوشیده شده با روی به نیتريت تبدیل می شود. دامنه خطی روش و حد تشخیص آن برای نیتريت به ترتیب ۵۰-۱/۰ و ۰/۳ نانو گرم بر میلی لیتر و برای نیترات ۱۵۰-۳/۰ و ۱/۰ نانو گرم بر میلی لیتر می باشد [۵۶].

در سال ۲۰۰۴ رودجانا بوراکام<sup>۲</sup> و همکارانش یک سیستم ساده تزریق- جریان برای اندازه گیری همزمان نیتريت و نیترات در نمونه های آبی طراحی کردند. اساس این روش بر پایه واکنش نیتريت با فلوروگلوکوسینول (۱ و ۳ و ۵- تری هیدروکسی بنزن) می باشد. سیستم واکنش شامل دو مسیر می باشد. در یک مسیر واکنش بین نیتريت و عامل واکنش دهنده صورت می گیرد و جذب حد واسط رنگی تشکیل شده در طول موج ۳۱۲ نانومتر اندازه گیری می شود. در مسیر دوم نیترات از روی ستون مس- کادمیوم عبور کرده به نیتريت تبدیل می شود. دامنه خطی و حد تشخیص روش برای نیتريت به ترتیب ۰/۳-۰/۰۳ میکروگرم بر میلی لیتر و ۲/۹ نانو گرم بر لیتر و برای نیترات ۱/۰-۰/۱ میکرو گرم بر لیتر و ۲/۳ نانوگرم بر میلی لیتر می باشد [۵۷].

در سال ۲۰۰۴ اس. ام. الیویرا<sup>۳</sup> و همکارانش یک روش دقیق و ساده برای اندازه گیری اسپکتروفتومتری متوالی نیتريت و نیترات ارائه نمودند. در این روش سولفونامید و N-(۱-نفتیل)- اتیلن دی آمین دی هیدرو کلراید تشکیل یک ترکیب دی آزو را داده و یک حد واسط بوجود می آید که رنگی بوده و دارای ماکسیمم جذب در طول موج ۵۳۸ نانومتر می باشد. نیترات هم از طریق یک ستون پوشیده شده با کادمیوم- مس به نیتريت تبدیل می شود. دامنه خطی و حد تشخیص برای نیتريت بترتیب برابر ۱/۲۲-۰/۰۳ میلی گرم بر لیتر و ۹

---

1 - Xuan-Feng

۲- Rodjana Burakham

۳ - S.M.Oliviera

میکروگرم بر لیتر و برای نیترات به ترتیب برابر و  $3/95 - 0/34$  میلی گرم بر لیتر و  $9$  میکروگرم بر لیتر می- باشد [۵۸].

در سال  $2006$  ام. جی. ریس. لیما<sup>۱</sup> و همکارانش یک روش متوالی تزریق به همراه آشکارسازی اسپکتروفتومتری برای اندازه گیری نیتريت و نیترات با استفاده از یک ستون احیا کننده کادمیوم ارائه نمودند. اساس این روش واکنش گریس می‌باشد. در این روش نیتريت و نیترات به درون یک محلول حامل شامل EDTA و بافر آمونیاکی تزریق و به درون یک ستون کادمیوم که با مس پوشیده شده است هدایت می‌شود. نیترات بعد از عبور از روی ستون به نیتريت تبدیل شده و جذب ناشی از آن با کمک یک آشکارساز اسپکتروفتومتر اندازه گیری می‌شود. برای تعیین مقدار نیتريت، جذب بخش دیگری از نمونه شامل فقط نیتريت مستقیماً بدون وارد شدن به احیا کننده، توسط آشکارساز اندازه‌گیری می‌شود. حد تشخیص روش برای هر دو گونه نیتريت و نیترات  $0/15$  میلی گرم بر لیتر و دامنه خطی برای نیترات و نیتريت به ترتیب برابر  $2/0 - 0/5$  میلی گرم بر لیتر و  $4/0 - 0/5$  میلی گرم بر لیتر می‌باشد [۵۹].

در سال  $2009$  راکوئل بتریز<sup>۲</sup> و همکارانش یک سیستم تزریق متوالی برای اندازه‌گیری نیتريت و نیترات در نمونه‌های آب با شوری متفاوت ارائه نمودند. این روش بر اساس واکنش بین نیتريت، سولفونامید و N-(۱-نفتیل)-اتیلن دی آمین دی هیدرو کلراید می‌باشد. حد واسط تشکیل شده در طول موج  $543$  نانومتر دارای جذب می‌باشد. اندازه‌گیری نیترات هم پس از تبدیل آن به نیتريت توسط یک ستون پوشیده شده با مس- کادمیوم صورت می‌گیرد. دامنه خطی روش برای نیتريت و نیترات به ترتیب برابر  $8/0 - 0/5$  میکرومولار و  $305 - 12/5$  میکرو مولار و حد تشخیص به ترتیب برابر  $0/11$  میکرو مولار و  $3/7$  میکرو مولار می‌باشد [۶۰].

---

1 - M.J. Reis Lima

۲ - Raquel.Beatriz

## فصل دوم:

# بخش تئوری

## مطالعه روش‌های سینتیکی و کاربرد آن‌ها در شیمی تجزیه

### ۲-۱- انواع روش‌های سینتیکی در شیمی تجزیه

امروزه مطالعه و کاربرد واکنش‌های شیمیایی در فاز محلول قسمت اعظمی از شیمی تجزیه را تشکیل می‌دهد. در واقع برخی از روشها و تکنیک‌های تجزیه‌ای بر اساس اندازه‌گیری یک خاصیت فیزیکی یا شیمیایی سیستم یا اجزای شیمیایی مورد نظر می‌باشد در این راستا اندازه‌گیری‌های تجزیه‌ای به دو روش صورت می‌گیرند [۶۱].

۱- روش‌های سینتیکی

۲- روش‌های ترمودینامیکی یا تعادلی

روش‌های تجزیه‌ای سینتیکی و ترمودینامیکی با هم متفاوت هستند. در روش‌های سینتیکی اندازه‌گیری‌ها در شرایط دینامیک<sup>۱</sup> صورت می‌گیرد که غلظت واکنش‌دهنده‌ها و محصولات پیوسته در حال تغییر است. در روش‌های تعادلی اندازه‌گیری‌ها در زمانی صورت می‌گیرد که سیستم به تعادل رسیده است و بنابراین غلظتها در حالت ایستا<sup>۲</sup> هستند.

---

1-Dynamic

2-Static

## ۲-۲- سینتیک چیست؟

واژه سینتیک اندازه گیری سرعت واکنش های شیمیایی را در ذهن تداعی می کند. علم شیمی عمدتاً به بررسی واکنشهای شیمیایی می پردازد. در نتیجه علمی که سرعت واکنش های شیمیایی را بررسی می کند از جایگاه مهمی برخوردار است.

علم سینتیک علاوه بر تعیین سرعت واکنشها، به مکانیزم آنها نیز می پردازد. واضح است که چنین علم فراگیری ارتباط های قوی و مستحکمی با سایر شاخه های علوم مانند دینامیک، مکانیک آماری و اسپکتروسکوپی دارد. علم سینتیک در تعیین مکانیزم واکنش ها نقش کلیدی دارد و در بررسی شیمی اتمسفری نقش اصلی را بازی می کند [۶۲].

## ۲-۳- تاریخچه روشهای سینتیکی

سال ۱۸۵۰ میلادی را می توان سال تولد علم سینتیک دانست. در آن سال یک شیمیدان آلمانی به نام ویلهلمی<sup>۱</sup> (۱۸۶۴-۱۸۱۲) نشان داد که سرعت هیدرولیز ساکارز و تبدیل آن به گلوکز و فروکتوز با توان اول غلظت ساکارز متناسب می باشد. دهه ۱۹۳۰-۱۹۲۰ سالهای طلایی برای علم سینتیک شیمیایی می باشد. ویلهلمی سرعت واکنش را با یک معادله دیفرانسیلی تفسیر نمود و وابستگی دمای آنرا با یک رابطه تجربی بیان کرد. کارهای ویلهلمی برای ۳۰ سال به فراموشی سپرده شد تا اینکه استوالد<sup>۲</sup> (۱۹۳۲-۱۸۵۳) به اهمیت آن پی برد. قبل از بررسی سینتیک واکنشها توسط ویلهلمی (از اوایل قرن ۱۸ میلادی) تحقیقاتی در ارتباط با سرعت واکنش های شیمیایی انجام شده بود. در سال ۱۷۳۳ شخصی به نام ونزل<sup>۳</sup> سرعت حل شدن فلزات در اسیدها را اندازه گیری کرد. در سال ۱۸۱۸ شیمیدان فرانسوی به نام تنارد<sup>۴</sup> (۱۷۷۷-۱۸۵۷) تجزیه شدن هیدروژن پراکسید را که به تازگی کشف نموده بود بررسی کرد.

---

1-Wilhelmy  
2- Ostwald  
3- Wenzel  
4-Thenard

برتوله<sup>۱</sup> (۱۹۰۷-۱۸۲۷) با چاپ مقاله ای در سال ۱۸۶۲ کارهای ویلهلمی را دنبال کرد. در این مقاله واکنش بین اتانول و استیک اسید که منجر به تولید اتیل استات در آب می شود، بررسی گردید. هر چند توجه عمده آنها به برقراری تعادل بین واکنشگرها و محصولات واکنش بود. ولی به نتایجی در مورد سرعت ترکیب شدن اتانول و اسید استیک نیز رسیدند. بر اساس این نتایج سرعت واکنش با حاصلضرب غلظت واکنشگرها متناسب بود [۶۳].

در سال ۱۸۷۶ گویارد<sup>۲</sup> اثر کاتالیزوری وانادیوم در اکسایش آنیلین توسط یون کلرات را مورد بررسی قرار داد و از واکنش مذکور برای آشکار سازی حضور وانادیوم استفاده نمود. سپس وتیز<sup>۳</sup> و اسموند<sup>۴</sup> یک روش نیمه کمی را برای تخمین مقادیر وانادیوم ارائه کردند [۶۳]. سپس در سال ۱۸۸۵ شخصی به نام کولتف و ساندل<sup>۵</sup> اثر کاتالیزوری یدید در واکنش اکسایش آرسنیک توسط سریم را گزارش نموده و از آن برای تعیین مقدار یدید استفاده کردند [۶۴].

## ۲-۴ - طبقه بندی روشهای سینتیکی

روشهای سینتیکی را می توان براساس معیارهایی از قبیل شیمی واکنشهای به کار رفته، طریقه مخلوط کردن محلول واکنش دهنده ها و روش های اندازه گیری<sup>۶</sup> تقسیم بندی نمود. بر اساس شیمی واکنش های به کار گرفته می توان روش های سینتیکی را به سیستم های هموژن<sup>۷</sup> و سیستم های غیر هموژن<sup>۸</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 جدول (۱-۲) خلاصه شده است [۶۵].

---

1- Berthelot  
۲-Guyard  
3-Wetiz  
4-Osmond  
5-Kolthoff and Sandell  
6- Measurement Approach  
7-Homogeneous System  
8-Heterogeneous System



جدول (۱-۲): طبقه بندی روش های سینتیکی بر اساس شیمی واکنشها

۱- سیستم های هموزن

۱-۱- روشهای کاتالیزوری

۱-۱-الف- روشهای آنزیمی که از آنزیمهای محلول استفاده می کنند.

۱-۱-ب- روشهای غیر آنزیمی (کاتالیز کردن واکنشهای ردوکس توسط یونهای

فلزات واسطه)

۲-۱- روشهای غیر کاتالیزوری

۲-۱-الف- تعیین یک جزء تنها

۲-۱-ب- تعیین مخلوط چند جزئی (روش های سرعت واکنش دیفرانسیلی)

۳-۱- روشهای لومینسانس شیمیایی

۲- سیستم های غیر هموزن

۲-۱- روشهای سینتیکی بر مبنای واکنشهای الکترودی

۲-۲- روشهای آنزیمی که از آنزیمهای تثبیت شده استفاد می کنند.

## ۲-۵- مقایسه روش های سینتیکی و تعادلی

امتیازاتی که روشهای سینتیکی بر روشهای ترمودینامیکی دارند [۶۶] عبارتند از:

۱- با استفاده از روشهای ترمودینامیکی نمی توان غلظت ترکیبات مشابه (ایزومرها) را اندازه گیری نمود. در حالی که سینتیک ترکیبات فوق، با یک معرف مشترک با یکدیگر تفاوت دارد که، به دلیل تفاوت کوچک ساختاری این ترکیبات است که باعث تفاوت انرژی فعالسازی می گردد. با کنترل عواملی مانند اثرات قطبی، اثرات فضایی، رزونانس و ... می توان سرعت واکنش آنها را کنترل کرد.

۲- در برخی واکنشها به دلیل اینکه زمان طولانی برای رسیدن به تعادل نیاز دارند و از طرفی با نزدیک شدن به پایان واکنش، سرعت واکنش های جانبی افزایش می یابد، در حالت تعادل نمی توان آنها را توسط روشهای ترمودینامیکی بررسی کرد. از طرف دیگر ممکن است این واکنش ها به قدر کافی کمی نباشند، که در این حالت می توان تجزیه سینتیکی را در مورد آنها به کار برد. بنابراین هر واکنشی که بتوان سرعت اولیه آن را اندازه گیری نمود در روش تجزیه سینتیکی قابل استفاده است.

۳- روشهای سینتیکی در مورد واکنشهای کاتالیزوری از روش های ترمودینامیکی مشابه انتخابی تر می باشند.

۴- از روشهای سینتیکی تجزیه ای می توان برای تعیین غلظتهای نسبتاً زیاد و یا خیلی کم مواد استفاده کرد.

۵- یکی از جدی ترین مشکلات در روش های سینتیکی ، نیاز به تکرار پذیری دقیق شرایط واکنش است، تا بتوان نتایج دقیق و تکرار پذیری را به دست آورد.

علاوه بر مزیت های گفته شده در مورد روش های سینتیکی این روشها دارای محدودیت هایی نیز می باشند

که تعدادی از آنها ذکر خواهد شد:

۱- سرعت واکنش بایستی درگستره مناسبی باشد. نیمه عمرهایی در محدوده چند میلی ثانیه تا دهها دقیقه

مختص روشهای سینتیکی است.

۲- شرایط واکنش همانند دما، pH و غلظت واکنشگرها بایستی به دقت کنترل شود، زیرا این عوامل اثر زیادی بر روی سرعت واکنش دارند (نسبت به اثر آنها در روشهای تعادلی) زیرا در این اندازه گیریها قسمتی از واکنش، مورد توجه قرار می‌گیرد (تغییرات در جذب اندازه گیری شده خیلی کمتر از جذب نهایی موجود در تعادل است).

## ۲-۶- سرعت واکنش و معادلات سینتیکی

تعیین مقدار یک گونه معین به روش سینتیکی بر اساس اندازه گیری مستقیم یا غیر مستقیم سرعت واکنش آن گونه می‌باشد، که شامل اندازه گیری تغییر غلظت محصول 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.

یک مفهوم تجزیه‌ای مهم در سینتیک شیمیایی مربوط به ارتباط بین غلظتها و سرعت تغییر غلظت‌ها است. بنابراین زمان همیشه یک نقش اساسی در اندازه گیری‌های سینتیکی ایفا میکند. به همین دلیل تکرار صحیح شرایط واکنش دارای اهمیت است. معادله سرعت یک واکنش معادله‌ای است که سرعت واکنش را در هر لحظه به غلظت‌های تمام موادموثر در واکنش ارتباط میدهد [۶۷].

واکنش کلی زیر را در نظر بگیرید:

P (محصول است)



سرعت واکنش در زمان  $t$ ، به صورت مشتق غلظت هر کدام از اجزاء درگیر در واکنش، نسبت به زمان داده می‌شود. بنابراین تعریف ریاضی سرعت واکنش به صورت زیر است:

$$\text{سرعت} = \frac{d[P]}{dt} = \frac{-d[A]}{dt} = \frac{-d[B]}{dt} \quad (1-2)$$

سرعت واکنش متناسب با غلظت تمام اجزاء درگیر در واکنش است. اگر سرعت واکنش به صورت تغییر در غلظت یکی از محصولات واکنش (مثلاً  $P$ ) اندازه گیری شود، در این صورت:

$$\text{سرعت} = \frac{d[P]}{dt} = k[A][B] \quad (2-2)$$

ضریب  $k$  را ثابت سرعت<sup>۱</sup> می نامند و بیانگر سرعت واکنش در غلظت های واحد از واکنشگرها می باشد.

مجموع توان های  $[A]$  و  $[B]$  در معادله (۲-۲) درجه واکنش<sup>۲</sup> نامیده می شود.

مرتبه یا درجه واکنش<sup>۲</sup> یک پارامتر تجربی بوده و از نظر عددی می تواند برابر واحد، بزرگتر از واحد یا کسری باشد. اگر مقدار اضافی از یکی از واکنشگرها مورد استفاده قرار گیرد (مثلاً  $B$ )، تغییرات غلظت آن ناچیز است و در

معادله (۲-۲) میتوان  $[B]$  را در ثابت  $k$  ادغام کرد.

در این صورت واکنش به صورت شبه درجه یک<sup>۳</sup> نسبت به  $A$  و شبه درجه صفر<sup>۴</sup> نسبت به  $B$  در نظر گرفته می

شود، یعنی:

$$\frac{d[P]}{dt} = k'[A] \quad k' = k[B] \quad (3-2)$$

عبارت غلظت در رابطه (۲-۲) میتواند توسط یک کمیت قابل اندازه گیری متناسب با غلظت جایگزین شود. تغییر

در غلظت واکنشگر یا محصول را میتوان به عنوان تابعی از زمان با استفاده از یک کمیت فیزیکی و شیمیایی

تجزیه ای دنبال کرد [۶۸].

در روش های شیمیایی، چند ظرف واکنش با ترکیبات اولیه یکسان را در یک حمام با دمای ثابت قرار می

دهند، سپس در فواصل زمانی معین نمونه ها را از حمام در می آورند، واکنش را کند یا متوقف و مخلوط را فوراً

تجزیه شیمیایی می کنند. روش های کند کردن واکنش شامل سرد کردن نمونه، خارج کردن کاتالیزور، رقیق

کردن زیاد مخلوط واکنش و افزودن گونه هایی است که به سرعت با یک واکنشگر ترکیب می شوند. در روش های

فیزیکی یک خاصیت فیزیکی سیستم در حال واکنش مانند حجم، هدایت الکتریکی، جذب و یا ضریب شکست

محلول را به صورت تابعی از زمان اندازه گیری می کنند. معمولاً روش های فیزیکی دقیق ترند و نسبت به روش

---

1- Rate Constante

2- Reaction Order

3 - Pseudo first order

4 - Pseudo zero order

های شیمیایی وقت کمتری می گیرند و این امکان را فراهم می کنند تا بتوان واکنش را همان طور که پیش می رود به طور مداوم دنبال کرد [۶۹].

## ۲-۷- روشهای اندازه گیری یک گونه منفرد به روش سینتیکی – کاتالیتیکی [۷۰]

کاربرد هر روش سینتیکی برای اندازه گیری یک کاتالیزور مستلزم رسم تغییر خاصیت اندازه گیری شده به صورت تابعی از زمان میباشد، که این کار به صورت اتوماتیک یا نیمه اتوماتیک انجام می پذیرد. منحنی های حاصل بسته به اینکه محصول واکنش یا واکنشگر دنبال میشود ممکن است افزایشی یا کاهشی باشند. سپس مقدار کاتالیزور با استفاده از یک منحنی درجه بندی که با روش مناسب برای هر مورد به دست می آید تعیین میشود.

روشهای سینتیکی بر حسب درجه سینتیکی واکنش شناساگر به صورت زیر طبقه بندی میشوند:

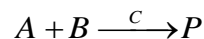
۱- روشهای دیفرانسیلی یا شبه درجه صفر

۲- روشهای انتگرالی یا شبه درجه یک و دو

با هر دو روش تکنیکهای تانژانت<sup>۱</sup>، زمان متغیر<sup>۲</sup>، و زمان ثابت<sup>۳</sup> میتوانند به کار روند. روش تانژانتی در نوع دیفرانسیلی به روش سرعت ابتدایی معروف است. در این طبقه بندی روشهای مبتنی بر منحنی های سینتیکی یا اندازه گیری های دوره القائی نیز قرار میگیرند (جدول ۲-۲).

برای واکنشهای کاتالیز شده اغلب از روشهای دیفرانسیلی و انتگرالی استفاده می شود که در زیر مورد بررسی قرار می گیرند:

برای واکنش کاتالیز شده زیر:



معادله سرعت به صورت زیر است:

---

1-Tangent  
2-Variable Time  
3-Fixed Time

$$\text{سرعت} = -\frac{d[A]}{dt} = k[A][C]_0 + k_1[A] \quad (۴-۲)$$

$$\text{سرعت} = \frac{d[P]}{dt} = k([A]_0 - [P])[C]_0 + k_1([A]_0 - [P]) \quad (۵-۲)$$

$[A]_0$  غلظت ابتدایی  $A$ ،  $[P]$  غلظت محصول تشکیل شده و  $[C]_0$  غلظت کاتالیزور می باشد.  $k$  و  $k_1$  به ترتیب ثابت سرعت واکنش های کاتالیز شده و کاتالیز نشده است.

برای هر مورد با توجه به اینکه واکنشگر دنبال میشود و از آنجایی که غلظت کاتالیزور در طی واکنش تغییر نمیکند واکنش باید شبه درجه یک باشد.

جدول (۲-۲): روشهای اندازه گیری

روشهای دیفرانسیلی
- سرعت ابتدایی
- زمان ثابت
- زمان متغیر
روشهای انتگرالی
- تانژانتی
- زمان ثابت
- زمان متغیر

## ۲-۷-۱- روشهای دیفرانسیلی [۷۰]

این روش ها شامل واکنش های شبه درجه صفر هستند و اندازه گیری ها در شروع فرآیند، یعنی زمانی که تغییرات غلظت مواد اولیه یا محصولات واقعاً قابل صرف نظر کردن هستند، انجام میشود.



اشکال عمده این روش اندازه گیری شیب ابتدائی است که در هر روش گرافیکی باعث بروز خطا میشود. این روش مزیت‌هایی نیز در بردارد، از آن جمله میتوان گفت که چون مقدار محصول تولید شده در ضمن اندازه گیری کم است، واکنش برگشت سرعت خالص را به طور جزئی کاهش میدهد. پیچیدگی حاصل از واکنش‌های آهسته تر معمولاً حداقل هستند، غلظت واکنشگر به مقدار کمی تغییر میکند و از سینتیک شبه درجه صفر پیروی میکند. برای واکنش‌هایی که سرعت‌های آنها در این محدوده قابل استفاده است اندازه گیری سرعت اولیه دقیق تر از اندازه گیری سرعت در زمانهای طولانی است. زیرا سرعت واکنش بیشتر بوده و لذا نسبت علامت به نوفه<sup>۱</sup> بهبود می یابد. در نهایت از واکنش‌هایی که دارای ثابت های تشکیل کوچک بوده و برای واکنش‌های تعادلی مناسب نیستند، می توان از این روش استفاده کرد.

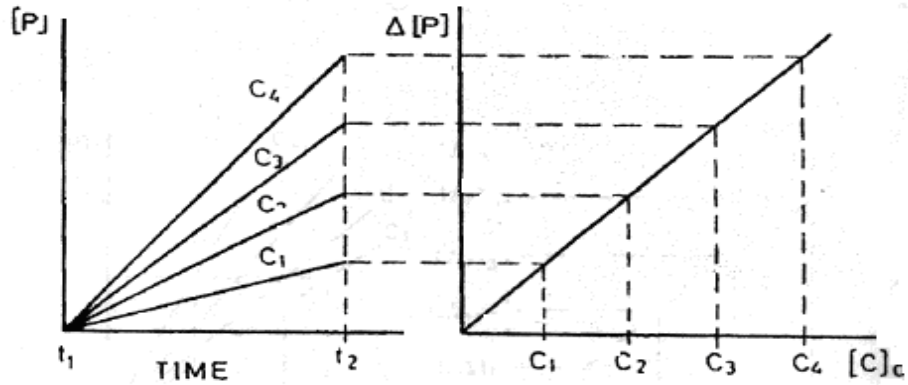
## ۲-۱-۷-۲- روش زمان ثابت

در این روش ماده اولیه یا محصول در یک زمان از پیش تعیین شده بعد از شروع واکنش اندازه گیری می شود. در این صورت معادله (۲-۶) به صورت زیر نوشته می شود:

$$\Delta[P] = (k'[C]_0 + k_1') \Delta t = k'[C]_0 \Delta t + k_1' \Delta t \quad (۲-۸)$$

اگر  $\Delta t$  ثابت باشد غلظت کاتالیزور مستقیماً با تغییر در غلظت محصول واکنش شناساگر متناسب خواهد بود. جزئیات بیشتر در کاربرد این روش در شکل (۲-۲) نشان داده شده است.





شکل (۲-۲): روش زمان ثابت [۷۰]

اینگل و کروچ<sup>۱</sup> نشان دادند که در واکنشهای برگشت پذیر نیز  $\Delta[P]$  و  $[C]_0$  متناسب هستند و روش زمان ثابت هم از نظر تئوری و هم از نظر عملی برای واکنشهای شبیه درجه یک ترجیح داده می شود [۷۱].

### ۲-۷-۱-۳- روش زمان متغیر

این روش که روش غلظت ثابت<sup>۱</sup> نیز نامیده می شود مستلزم اندازه گیری زمان لازم جهت حصول یک تغییر از پیش تعیین شده در محصول می باشد. برای این تکنیک معادله (۲-۸) به صورت زیر نوشته می شود:

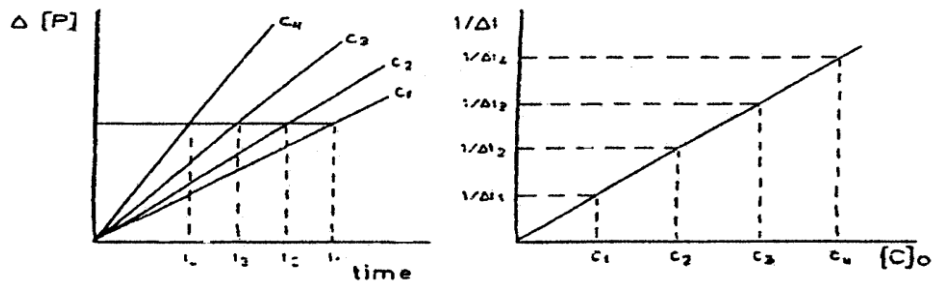
$$\frac{1}{\Delta t} = \frac{k'[C]_0 + k_1'}{\Delta[P]} \quad (۲-۹)$$

چون  $\Delta[P]$  مقدار ثابتی دارد رسم منحنی  $\frac{1}{\Delta t}$  در برابر  $[C]_0$  یک خط مستقیم خواهد شد که شیب آن برابر با  $k' / \Delta[P]$  است و عرض از مبدا آن  $k_1' / \Delta[P]$  است. اگر سرعت واکنش غیر کاتالیزوری ناچیز باشد ( $k_1' = 0$ ) در این صورت رابطه (۲-۲۲) به صورت زیر نوشته می شود:

$$\frac{1}{\Delta t} = k''[C]_0 \quad k'' = k' / \Delta[P] \quad (۲-۱۰)$$

که در این صورت عرض از مبدا منحنی حاصل برابر صفر خواهد شد.

در عمل برای رسم منحنی کالیبراسیون، حد معینی برای پارامتر مورد نظر اندازه گیری (مثلاً جذب) در نظر گرفته می شود. سپس زمانهای لازم برای رسیدن به چنین حدی در غلظتهای متفاوت و معمولی از کاتالیزور اندازه گیری می شود. از رسم  $\frac{1}{\Delta t}$  در مقابل غلظت کاتالیزور منحنی کالیبراسیون به دست می آید. جزئیات بیشتر در شکل (۳-۲) نشان داده شده است.



شکل (۳-۲): روش زمان متغیر [۷۰]

## ۲-۷-۲- روش‌های انتگرالی

وقتی نتوان از  $[P]$  در مقابل  $[A]_0$  در معادله (۵-۲) صرفنظر کرد، با انتگرال گیری از معادله (۵-۲) در فاصله زمانی  $\Delta t$  و در محدوده  $[A]_1$  تا  $[A]_2$  خواهیم داشت:

$$\ln\left(\frac{[A]_1}{[A]_2}\right) = (k[C]_0 + k_1)(t_2 - t_1) \quad (11-2)$$

$[A]_1$  و  $[A]_2$  به ترتیب مقادیر  $[A]_t$  در زمانهای  $t_1$  و  $t_2$  هستند با فرض اینکه  $t_1 = 0$  باشد داریم:

$$\ln\frac{[A]_0}{[A]_0 - [P]} = (k[C]_0 + k)t \quad (12-2)$$

وقتی واکنش از طریق یکی از واکنشگرها دنبال می شود،  $t_1$  می تواند مخالف صفر باشد، در حالی که اگر واکنش از طریق محصول دنبال شود، در این صورت  $t_1 = 0$  بوده و معادله ساده شده (۲-۱۲) را می توان مورد استفاده قرار داد. این معادلات اصول روش های تانژانت، زمان ثابت و زمان متغیر هستند که در زیر شرح داده خواهند شد.

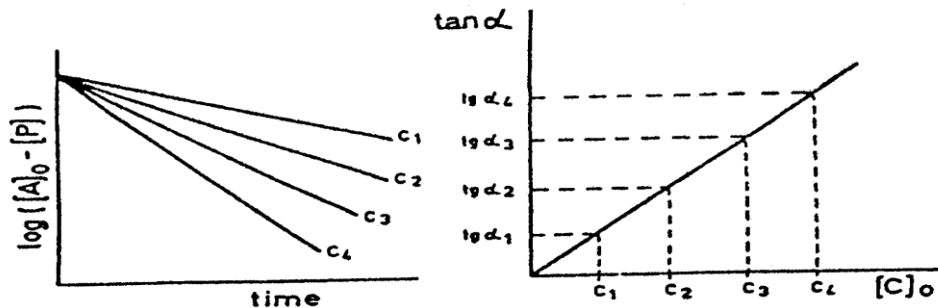
## ۲-۷-۲-۱- روش تانژانت

از معادله (۲-۱۲) می توان رابطه زیر را به دست آورد.

$$\text{Log}([A]_0 - [P]) = \text{Log}[A]_0 - \left[\frac{1}{2/303}\right](k[C]_0 + k_1)t \quad (۲-۱۳)$$

شیب های منحنی های  $\text{Log}([A]_0 - [P])$  در مقابل زمان در غلظت های متفاوتی از کاتالیزور تابعی از غلظت کاتالیزور می باشد. بنابراین با رسم شیب این خطوط در برابر غلظت کاتالیزور می توان منحنی کالیبراسیون را به دست آورد.

در عمل می توان  $\text{Log}[P]$  (یا لگاریتم جذب) را به صورت تابعی از زمان رسم کرد، که در این صورت خطوط مستقیمی با شیب های مثبت به دست می آید که از آنها در رسم منحنی درجه بندی میتوان استفاده کرد.



شکل (۲-۴): روش تانژانتی [۷۰]

## ۲-۷-۲-۲- روش زمان ثابت

از معادله (۲-۱۱) و با فرض اینکه  $\Delta t$  مقدار ثابتی است داریم:

$$\ln \frac{[A]_1}{[A]_0} = \Delta(\ln[A]) = K'[C]_0 + K'_1 \quad (۲-۱۴)$$

که  $k' = k\Delta t$  و  $k'_1 = k_1\Delta t$  است. با رسم منحنی  $\Delta(\ln[A])$  در مقابل  $[C]_0$  در مقدار ثابتی از  $[A]_0$  منحنی درجه بندی به دست می آید.

اگر واکنش به جای از بین رفتن  $A$  توسط اطلاعات مربوط به محصول واکنش ( $P$ ) دنبال شود و اگر  $t_1 = 0$  باشد، آنگاه  $[A]_1 = [A]_0$  و  $[A]_2 = [A]_0 - [P]$  بوده و:

$$\ln \frac{[A]_0}{[A]_0 - [P]} = k'[C]_0 + k_1 \quad (۲-۱۵)$$

با رسم منحنی  $\ln \frac{[A]_0}{[A]_0 - [P]}$  در مقابل غلظت کاتالیزور میتوان منحنی درجه بندی را به دست آورد.

## ۲-۷-۲-۳- روش زمان متغیر

با فرض اینکه  $\Delta A$  ثابت باشد از معادله (۲-۱۱) نتیجه میشود:

$$\frac{1}{\Delta t} = k''[C]_0 + k_1'' \quad (۲-۱۶)$$

که در آن  $k_1'' = \frac{k_1}{\Delta(\ln[A])}$  و  $k'' = \frac{k}{\Delta(\ln[A])}$  است. این معادله در مواردی که واکنش از طریق واکنشگر یا از

طریق محصول دنبال میشود معتبر است. اغلب منحنی کالیبراسیون با رسم منحنی  $\frac{1}{\Delta t}$  به عنوان تابعی از غلظت

های استاندارد کاتالیزور به دست می آید. نشان داده شده است که خطای اندازه گیری کاتالیزور وقتی کمترین

مقدار است که نسبت  $\frac{[A]_1}{[A]_2}$  در معادله (۲-۱۱) برابر با  $e$  باشد.

در این صورت:

$$\frac{1}{t_e} = k[C] + k_1 \quad (17-2)$$

در این رابطه  $t_e$  زمان مورد نیاز است تا اینکه  $\frac{[A]_1}{[A]_2}$  برابر با  $e$  گردد. رابطه فوق در این حالت اساس اندازه گیری های کاتالیزور است [۷۲].

### ۲-۷-۳- روشهای عملی مطالعه سینتیک واکنشها

برای بررسی سینتیک یک واکنش و تعیین سرعت آن لازم است که تغییرات یکی از واکنش دهنده ها و یا محصولات نسبت به زمان دنبال گردد. برای اندازه گیری غلظت یک گونه در زمانهای مختلف میتوان از روشهای شیمیایی یا فیزیکی- شیمیایی استفاده کرد. روشهای تجزیه شیمیایی تنها برای واکنشهای خیلی کند قابل استفاده هستند. برای واکنشهایی که در سرعت قابل ملاحظه ای انجام میگیرند لازم است که پیشرفت آنها به یکی از روشهای زیر متوقف شود:

- ۱- به وسیله سرد کردن ناگهانی مخلوط واکنش از طریق قرار دادن آن در یک حلال خیلی سرد.
  - ۲- به وسیله اضافه کردن یک کند کننده که با کاتالیزور تولید یک ترکیب پایدار کرده و باعث مسموم شدن آن گردد.
  - ۳- توسط افزایش ناگهانی یک ماده که با یکی از واکنشگرها خیلی سریع وارد واکنش میشود.
  - ۴- به وسیله تغییر ناگهانی در  $pH$  محلول و غیره.
- بعد از اینکه واکنش به یکی از روشهای فوق متوقف گردید مخلوط واکنش آنالیز میگردد. در بین روشهای شیمیایی روشهای حجم سنجی بیش از بقیه روشها استفاده میشود.

حسن روشهای شیمیایی این است که توسط این روشها غلظت مطلق واکنشگرها و یا محصولات تعیین میشوند. عیب این روشها این است که امکان اندازه گیری پیوسته غلظت وجود ندارد، و علاوه بر آن استفاده از این روشها وقت گیر است.

با استفاده از روشهای تجزیه شیمی-فیزیک تغییر برخی از خصوصیات فیزیکی مانند دانسیته نوری، ضریب شکست، هدایت الکتریکی محلول [۷۳]، جریان انتشار [۷۴]، پتانسیل الکتروود [۷۵]، حجم گاز آزاد شده و غیره با زمان اندازه گیری میشود. سرعت بالای اندازه گیری، امکان اندازه گیری بدون به هم خوردن شرایط واکنش و امکان اندازه گیری پیوسته از مزایای این روشها می باشند.

در میان روشهای مطالعه واکنشهای شیمیایی در محلول ها روشهای رنگ سنجی و اسپکتروسکوپی به میزان زیادی به کار گرفته شده اند [۷۶-۷۹].

یکی از مزیت های تجزیه فیزیکی این است که به دلیل سریع بودن اندازه گیری میتوان داده های تجربی بیشتری را در یک محدوده زمانی بدست آورد. اندازه گیریها معمولاً در ظرف واکنش انجام میگردد. بنابراین خطاهای مربوط به نمونه گیری حذف میشود. علاوه برآن به کارگیری روشهای فیزیکی باعث نابود شدن و یا مصرف شدن اجزاء واکنش نميگردد. حتی میتوان چند خاصیت مختلف یک سیستم را به طور همزمان بدست آورد. یکی از محدودیت های روش تجزیه فیزیکی آن است که مقدار مطلق غلظت را مستقیماً بدست نمیدهد، از طرفی خطاهای مربوط به واکنش های جانبی ممکن است اثر زیادی بر روی نتایج داشته باشند. به عنوان مثال در بررسی های سینتیکی، مقادیر کمی از ناخالصی های رنگی یا محصولات جانبی یک واکنش باعث ایجاد خطا در اندازه گیری کمیت های مورد نظر میشود. در بررسی جامع سینتیکی یک واکنش باید بیش از یک روش بکار رود. نکته مهم دیگر آن است که استوکیومتری واکنش باید کاملاً شناخته شده باشد تا واکنش مورد مطالعه همان واکنشی باشد که محصولات آن با اطمینان شناخته شده است.

## ۲-۷-۴- واکنشها در محلول

روشهای متعددی برای بررسی سینتیکی واکنشها در محلول وجود دارد، که در اینجا به چند روش با بیشترین کاربرد اشاره می‌شود. روشهای متداول شامل روشهای اسپکتروسکوپی به ویژه ماوراء بنفش، مادون قرمز، فلورسانس، پلاریمتری و *NMR* میباشند.

## ۲-۷-۴-۱- روشهای اسپکتروسکوپی

کاربرد روشهای اسپکتروفتومتری در اندازه گیری سینتیکی بسیار متداول بوده و اساس این روشها نیز بسیار ساده است. شدت چند خط طیفی مشخصه یک گونه خاص، بر حسب زمان، اندازه گیری شده و شدت این خطوط طیفی بر حسب غلظت کالیبره میگردد. در روشهای اسپکتروفتومتری از محدوده های طیفی مادون قرمز، مرئی و ماوراء بنفش استفاده نموده و از هر دو روش جذبی و نشری نیز استفاده میشود. محدودیت عمده در این روشها زمان لازم برای اندازه گیری شدت خطوط طیفی است. این زمان در اسپکتروفتومترهای معمولی حدود یک ثانیه است. ولی میتواند در اسپکتروفتومترهای مادون قرمز با ثبات سریع تا حدود میکرو ثانیه نیز رسانده شود.

## ۲-۷-۵- روشهای اندازه گیری بر پایه تغییر سرعت واکنش های کاتالیز شده در محلول

کاربرد مهم گسترش روشهای تجزیه ای بر پایه تغییر سرعت واکنشهای کاتالیز شده در اندازه گیری گونه های آلی است. تغییر سرعت واکنشهای کاتالیز شده با این گونه ها امکان دست یابی به حد تشخیص های پایین و حساسیت های بالا را در روشهای کاتالیزوری برای گونه هایی که معمولاً از نظر شیمیایی غیر کاتالیزوری اند فراهم می سازد .

تاثیر گونه های مختلف در تغییر اثرات کاتالیزوری و استفاده تجزیه ای آنها به ویژه در مورد سیستمهای کاتالیز شده با یونهای فلزی مورد توجه قرار گرفته است. روشهای تجزیه ای مبتنی بر تغییر سرعت واکنشها بر اساس دو پدیده متضاد زیر هستند:

۱- بازداری

۲- فعالسازی

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

## ۲-۷-۵-۱- بازداری

بازدارنده ها گونه های شیمیایی هستند که با کاتالیزور ترکیب می شوند تا برخی از انواع کمپلکس ها را تشکیل دهند. این کمپلکس ها می توانند اثر کاتالیزوری کمتری نسبت به یون فلزی آزاد اعمال نمایند ( بازداری جزئی)<sup>۱</sup> یا تشکیل کمپلکس، کاتالیزور را کاملاً غیر فعال سازد ( بازداری کامل)<sup>۲</sup>. در هر دو حالت تاثیر بر روی سرعت واکنش متناسب با غلظت باز دارنده است و می تواند برای اندازه گیری آن به کار رود.

روشی که معمولاً برای نشان دادن کاهش سرعت واکنش در سیستم هایی که حاوی مقادیر ثابتی از کاتالیزور هستند به کار می رود شامل اضافه کردن مقادیری از بازدارنده ها برای به دست آوردن منحنی های کالیبراسیون از طریق روش سرعت اولیه یا روش تانژانت می باشد. این روش حد تشخیص نسبتاً خوبی دارد اما دامنه خطی غلظت های قابل اندازه گیری محدود است. مثال هایی از این روش شامل اندازه گیری اتیلن دی آمینو- $N',N',N,N$ -تترا استیک اسید ( $EDTA$ ) در سطح  $10^{-6}$  مولار و همچنین آمینو اسید های ( گلیسین ،  $DL$  - سرین ،  $DL$  - فنیل آلانین ،  $DL$  - گلوتامیک اسید و  $L$  - آرچینین ) میباشد . اندازه گیری  $EDTA$  براساس بازداری کلی آن در اثر کاتالیزوری یونهای منگنز بر روی واکنش شناساگر پریدات با مالاچیت سبز<sup>۱</sup> استوار است. اندازه گیری آمینو اسیدها بر اساس بازداری جزئی آنها به وسیله تشکیل کمپلکس ۱ : ۱ بیس مس ( کاتالیزور) و آن آمینواسید می باشد. کمپلکس تشکیل شده فعالیت کاتالیزوری کمتری از خود مس بر روی واکنش اکسیداسیون پیروکتکول بنفش با هیدروژن پراکسید دارد.



## ۲-۷-۵-۲- فعال سازی

فعال سازی یک اصلاح اثر کاتالیزوری است که از دیدگاه تجزیه ای باعث حساسیت بهتر و حد تشخیص پایین تر در یک اندازه گیری کاتالیزوری می شود. در کاتالیز هموزن یک فعال کننده به صورت یک گونه شیمیایی تعریف می شود که واکنش شیمیایی را کاتالیز نمی کند ولی حضورش باعث افزایش قابل توجهی در سرعت واکنش می شود. فعال کننده ها بسته به نقش کاتالیزور، برهمکنش فعال کننده با کاتالیزور و مرحله ای از واکنش که به واسطه حضور فعال کننده متاثر می شود به سه گروه طبقه بندی می شود:

۱ - فعال کننده هایی که بر روی بر همکنش کاتالیزور- واکنشگر موثرند.

۲ - فعال کننده هایی که در تولید دوباره کاتالیزور شرکت می کنند.

۳ - فعال کننده هایی که به طور غیر مستقیم در فرآیندهای کاتالیزوری اثر می گذارند.

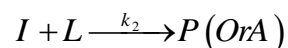
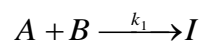
به عنوان مثال افزایش ۲ و ۲ - بای پیریدین<sup>۱</sup> که ۵۰۰۰ برابر حساسیت اندازه گیری نقره را بر اساس اثر کاتالیزوری آن بر روی واکنش اکسیداسیون سولفانیلیک اسید<sup>۲</sup> به وسیله پرسولفات افزایش می دهد و یا منگنز که در حضور نیتروتری استیک اسید<sup>۳</sup> (NTA) در ناحیه ۴۰-۴ میکروگرم قابل اندازه گیری است ولی در غیاب آن در ناحیه ۲/۰ - ۰/۱ میکروگرم می تواند اندازه گیری شود، نام برد.

## ۲-۷-۵-۳- اندازه گیری براساس زمان القائی

اندازه گیری بر اساس مدت زمان القائی می تواند 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 هالوژن ها در حالتیهای اکسایش مختلف، زمان القایی را نشان می دهد. لندولت نخستین کسی بود که این رفتار را مشاهده کرد و این روش اندازه گیری اثر لندولت نامیده شد. یک طرح ساده و عمومی برای واکنشهای لندولت می تواند به صورت زیر نوشته شود:

---

1- Bipyridine  
2- Sulfanilic Acid  
3- Nitrolotriactic Acid



که در آن  $k_1 < k_2$  است. به دلیل تفاوت سرعت دو واکنش، محصول  $I$  تنها وقتی می تواند تشخیص داده شود که واکنشگر  $L$  (واکنش گر لندولت) مصرف شده باشد. اگر یک کاتالیزور بتواند انرژی فعال سازی واکنش بین گونه های  $I$  و  $L$  را کاهش دهد، مدت زمان القائی می تواند برای تخمین غلظت کاتالیزور به کار رود. در بیشتر موارد رابطه زیراساس اندازه گیری کاتالیزور را تشکیل می دهد:

$$[C]_0 = \frac{I}{t_{ip}} \quad (18-2)$$

که در این رابطه  $[C]_0$  غلظت کاتالیزور و  $t_{ip}$  مدت زمان القائی است [۶۳].

## ۲-۸- عوامل موثر بر سرعت واکنشها [۸۰]

### ۲-۸-۱- اثر دما

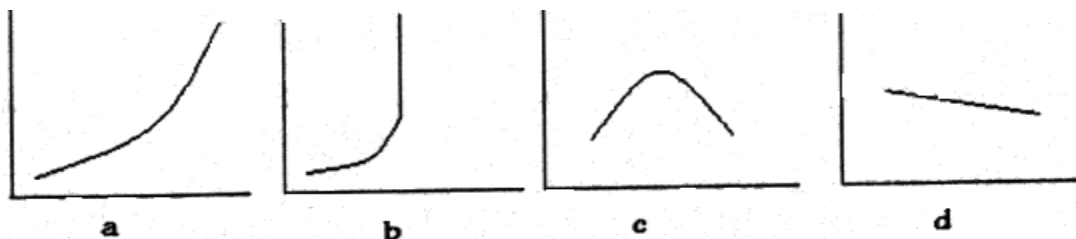
اثر دما بر سرعت واکنش ها و یا ثابت های سرعت واکنش های مختلف، متفاوت می باشد (شکل ۲-۵). منحنی  $a$  نشان دهنده وابستگی دمایی آرنیوس<sup>۱</sup> سرعت واکنش می باشد. این مورد از معمولی ترین موارد میباشد و مورد بحث قرار میگیرد.

منحنی  $b$  در واکنشهای انفجاری<sup>۲</sup>، منحنی  $c$  در واکنشهایی از قبیل هیدروژناسیون کاتالیتیکی و واکنشهای آنزیمی و منحنی  $d$  در واکنش  $NO$  با  $O_2$  مشاهده میشود. منحنی های  $b$  تا  $d$  وابستگی دمایی غیر آرنیوس<sup>۳</sup> را نشان میدهند و بیانگر مکانیزم های چند مرحله ای یا مکانیزمهایی که با افزایش دما تغییر میکند میباشد.

1 - Arrhenius temperature dependence

2 - Explosive reactions

3 - Anti Arrhenius



شکل (۲-۵): اثر دما بر سرعت واکنش در واکنشهای مختلف

در حالت عمومی (منحنی  $a$ ) سرعت واکنش با فاکتور ۲ تا ۳ به ازای ۱۰ درجه سانتی‌گراد افزایش دما، افزایش می‌یابد. نتایج تجربی نشان می‌دهند که سرعت واکنش با دما در این مورد، از رابطه آرنیوس تبعیت میکند:

$$\frac{d \ln k}{dT} = \frac{E_a}{RT^2} \quad (۲-۱۹)$$

که در آن  $R$  ثابت گازها،  $k$  ثابت سرعت  $E_a$  انرژی اکتیواسیون میباشد. با انتگرال‌گیری از رابطه بالا خواهیم داشت:

$$\ln k = \frac{E_a}{RT} + \ln A \quad \text{یا} \quad k = A e^{\frac{E_a}{RT}} \quad (۲-۲۰)$$

$A$  فاکتور نمایی یا فاکتور فرکانس بوده و دیمانسیون آن با دیمانسیون ثابت سرعت یکسان است. با رسم  $\ln k$  بر حسب  $\frac{1}{T}$  میتوان مقادیر  $E_a$  و  $A$  را به دست آورد.

## ۲-۸-۲- اثر غلظت واکنشگرها [۸۱]

یکی از مهمترین مراحل در مطالعات سینتیکی تعیین اجزایی از واکنش می باشد که فعال سینتیکی<sup>۱</sup> هستند. گونه فعال سینتیکی ماده ای است که در اثر تغییر غلظت آن، سرعت واکنش تغییر میکند. وابستگی سرعت واکنش به غلظت واکنش دهنده‌ها به صورت قانون جرم بیان میشود. قانون جرم بیانگر این است که سرعت واکنش با غلظت هر کدام از مواد شرکت کننده در واکنش که فعال سینتیکی هستند متناسب می باشد.

1-Kinetically active

## ۲-۸-۳- اثر حلال

تغییر ثابت دی الکتریک حلال به صورت زیر بر سرعت واکنشها موثر است:

۱- با افزایش ثابت دی الکتریک حلال، سرعت واکنش بین دو یون با بار مشابه افزایش می یابد.

۲- با افزایش ثابت دی الکتریک حلال، سرعت بین دو یون با بار مخالف کاهش می یابد.

۳- سرعت واکنش بین دو گونه خنثی که یک ترکیب قطبی ایجاد میکنند با افزایش ثابت دی الکتریک افزایش

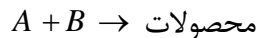
می یابد [۸۲].

۳- سرعت واکنش بین یک یون و یک مولکول خنثی با تغییر ثابت دی الکتریک حلال تغییر محسوسی نمی کند.

## ۲-۸-۴- اثر قدرت یونی<sup>۱</sup>

تغییر ثابت های سرعت واکنش در مورد واکنش بین یونها، با تغییر قدرت یونی همانند وابستگی ثابت تعادل

به قدرت یونی است. واکنش زیر را در نظر می گیریم:



در حلال آب در ۲۵ درجه سانتی گراد میتوان نوشت:

$$\text{Log}k = \text{Log}k_0 + 1.02Z_A Z_B I^2 \quad (2-21)$$

که در آن  $Z_A$  و  $Z_B$  به ترتیب بار گونه های  $A$  و  $B$  و  $I$  قدرت یونی است که به صورت زیر تعریف میشود:

$$I = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n C_i Z_i^2 \quad (2-22)$$

$C_i$  غلظت مولار یون  $i$  است.

باتوجه به معادله (۲-۲۲) مشاهده میشود که اثر قدرت یونی در ثابت سرعت به مقادیر بار واکنش دهنده ها

و علامت بارها بستگی دارد. مقدار ثابت سرعت با افزایش نیروی یونی در مورد واکنشهای بین یونها با بار یکسان

افزایش می یابد و برای واکنشهای بین یونهای با بار مخالف کاهش پیدا میکند، و در مورد واکنشهایی که یکی از ذرات بدون بار باشند، تغییر نخواهد کرد [۸۲].

# فصل سوم

## بخش تجربی

۳-۱- اندازه‌گیری سینتیکی - اسپکتروفتومتری مقادیر کم نیتريت براساس اثر کاتالیزوری آن بر واکنش اکسایش برومات با ۲-۵- برم-۲- پیریدیل آزو-۵- دی اتیل آمینو فنول در محیط اسیدی همانگونه که در بخش ۷-۱-۱ آورده شده است، نیتريت در غلظت‌های کمتر از ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر برای سلامتی انسان مفید است درحالیکه غلظت‌های بالاتر از آن برای سلامتی انسان مضر است. با توجه به اینکه یکی از اثرات مضر نیتريت، تشکیل ترکیبات سرطانزا با آمین‌ها و آمیدها می‌باشد، لذا کنترل و تعیین غلظت آن برای سلامتی انسان حائز اهمیت است. برای تعیین غلظت آن به روشی ساده و گزینش پذیر نیاز می‌باشد. در این پایان نامه یک روش سینتیکی - اسپکتروفتومتری ساده و گزینش پذیر با صحت خوب برای تعیین مقدار نیتريت در نمونه‌های آبی ارائه شده است.

### ۳-۱-۱- مواد شیمیایی مورد نیاز

کلیه مواد مورد استفاده در این پروژه موادی با خلوص تجزیه‌ای بوده که این مواد همراه با فرمول شیمیایی و نام شرکت سازنده آن‌ها در جدول (۳-۱) آورده شده است. در تهیه تمام محلول‌ها از آب دو بار تقطیر استفاده شده است.

جدول (۳-۱) مواد شیمیایی مورد استفاده

شرکت	فرمول	ماده
مرک <sup>۱</sup>	NaNO <sub>2</sub>	سدیم نیتريت
فلوکا <sup>۲</sup>	C <sub>15</sub> N <sub>4</sub> BrOH <sub>17</sub>	۲-۵- برم-۲- پیریدیل آزو-۵- دی اتیل آمینو فنول (برمو پاداب)
مرک	KBrO <sub>3</sub>	پتاسیم برومات
مرک	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	سولفوریک اسید

<sup>۱</sup>.Merck

<sup>۲</sup>.Fluka

### ۳-۱-۲- تهیه محلول‌های مورد استفاده

محلول ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت از حل کردن ۰/۱۵۰۰ گرم سدیم نیتريت در یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری و رقیق کردن آن تا خط نشانه به دست آمد. سایر محلول‌های استاندارد نیتريت از رقیق کردن محلول استاندارد فوق تهیه گردید.

محلول ۰/۰۰۵۰ مولار برومات از حل کردن ۰/۰۸۳۵ گرم پتاسیم برومات در یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری و رقیق کردن آن تا خط نشانه به دست آمد.

محلول  $10^{-4}$  مولار برموپاداپ از حل کردن ۰/۰۱۰۰ گرم برموپاداپ جامد در اتانول و رقیق کردن آن در یک بالن حجمی ۲۵۰ میلی لیتری تهیه گردید.

محلول ۲/۰ مولار سولفوریک اسید از رقیق کردن ۱۱/۰ میلی لیتر از اسید غلیظ در یک بالن ۱۰۰ میلی لیتری تهیه شد و سپس با استفاده از سود استاندارد شده با پتاسیم هیدروژن فتالات، استاندارد گردید. محلول‌های رقیق‌تر از این محلول تهیه گردید.

### ۳-۱-۳- دستگاه‌های مورد استفاده

برای ثبت طیف‌های مرئی- ماوراء بنفش از یک اسپکتروفتومتر مرئی- ماوراء بنفش شیمادزو<sup>۱</sup> مدل-UV ۱۶۰ با یک جفت سل شیشه‌ای با طول مسیر عبور نور ۱/۰ سانتی‌متر استفاده شد. برای اندازه‌گیری زمان از یک کرنومتر، برای کنترل و بررسی دما از یک حمام آب ترموستات دار n-BIOTEK مدل- NB۳۰۱ و برای اندازه‌گیری‌های pH از یک دستگاه pH- متر مترام<sup>۲</sup> مدل ۷۴۴ مجهز به یک الکتروود مرکب شیشه- کالومل (۳/۰۰ مولار) استفاده شد.

---

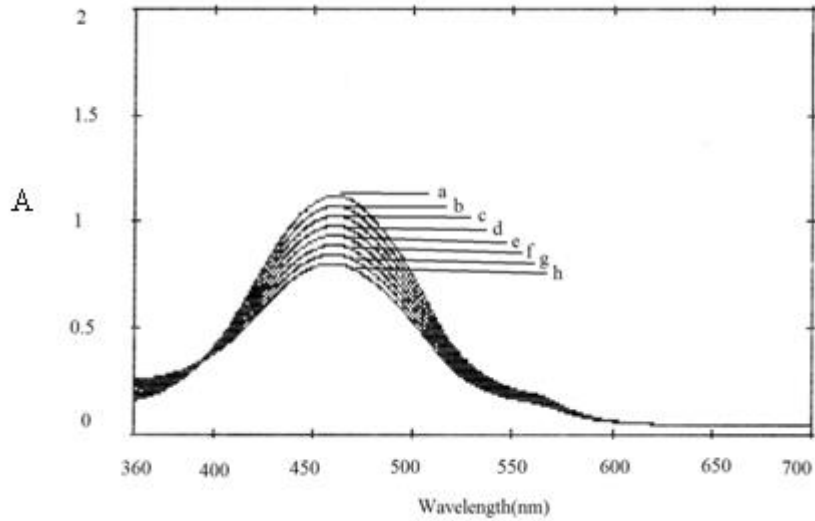
1 - Shimadzu  
2-. Metrohm



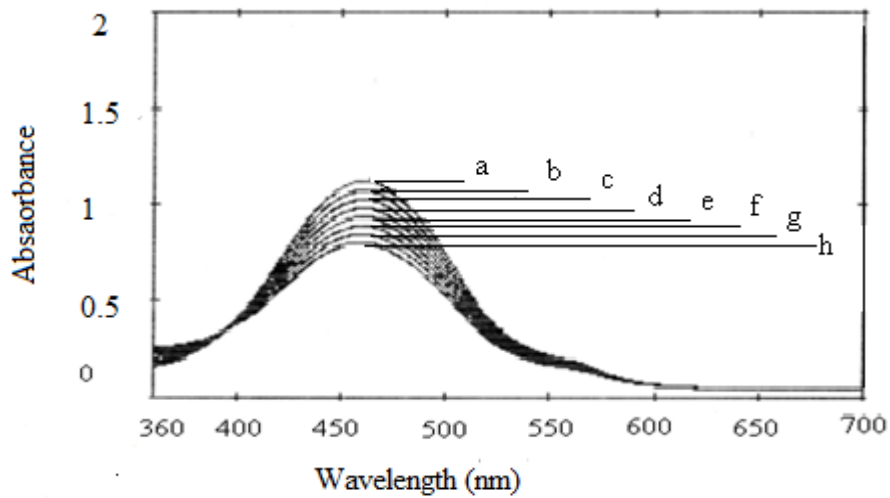
### ۳-۱-۴- رسم طیف جذبی

برای به دست آوردن طیف جذبی محلول نمونه و شاهد به صورت زیر عمل شد:

به یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی لیتر محلول سولفوریک اسید ۱/۳ مولار، ۱/۰ میلی لیتر نیتريت ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر، ۱/۰ میلی لیتر برموپاداپ  $10^{-4} \times 2/53$  مولار افزوده شد. پس از رقیق کردن تا حجم تقریبی ۸ میلی لیتر، ۲ میلی لیتر از پتاسیم برومات ۰/۰۰۵۰ مولار اضافه شد و پس از افتادن آخرین قطره کرنومتر روشن شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول مقدار معینی از محلول به سل اسپکتروفوتومتر منتقل شد. پس از گذشت ۳۰ ثانیه از شروع واکنش در محدوده طول موجی ۳۶۰-۷۰۰ نانومتر ۸ طیف جذبی متوالی با فواصل زمانی ۳۰ ثانیه ثبت گردید (شکل ۳-۱). برای ثبت طیف جذبی محلول شاهد نیز به همین صورت عمل شد با این تفاوت که نیتريت اضافه نگردید. طیفهای جذبی شاهد در شکل (۳-۲) نشان داده شده است. همانگونه که در شکل (۳-۱) مشخص است حضور نیتريت در نمونه باعث افزایش سرعت کاهش جذب در طول موج ۴۶۶ نانومتر می شود که این نشان دهنده خاصیت کاتالیزوری نیتريت بر واکنش اکسایش برموپاداپ با برومات می باشد. این مطلب در جدول (۳-۷) به طور کامل نشان داده شده است. اختلاف تغییرات جذب نمونه و شاهد ( $\Delta A = \Delta A_s - \Delta A_b$ ) در فاصله زمانی ۳۰ و ۲۴۰ ثانیه در طول موج ۴۶۶ نانومتر در بررسی های بعدی به عنوان سیگنال تجزیه ای انتخاب گردید.



شکل (۳-۱): تغییرات طیف جذبی نمونه با زمان  
 شرایط: برموپاداپ  $2/53 \times 10^{-5}$  مولار،  $0/10$  میکروگرم بر میلی لیتر محلول نیتريت، سولفوریک اسید  $0/13$  مولار،  $0/0010$  مولار پتاسیم برومات و دمای  $20/0$  درجه سانتی گراد. (a)  $30$ ، (b)  $60$ ، (c)  $90$ ، (d)  $120$ ، (e)  $150$ ، (f)  $180$ ، (g)  $210$ ، (h)  $240$  ثانیه پس از شروع واکنش.



شکل (۳-۲): تغییرات طیف جذبی شاهد با زمان  
 شرایط: برموپاداپ  $2/53 \times 10^{-5}$  مولار، سولفوریک اسید  $0/13$  مولار،  $0/0010$  مولار پتاسیم برومات و دمای  $20/0$  درجه سانتی گراد. (a)  $30$ ، (b)  $60$ ، (c)  $90$ ، (d)  $120$ ، (e)  $150$ ، (f)  $180$ ، (g)  $210$ ، (h)  $240$  ثانیه پس از شروع واکنش.

### ۳-۱-۵- بررسی پارامترها و بهینه سازی متغیرهای مؤثر بر واکنش

پارامترهایی که در این پروژه مورد بررسی قرار گرفتند به ترتیب عبارتند از:

۱- نوع اسید

۲- غلظت اسید

۳- غلظت پتاسیم برومات

۴- غلظت برموپاداپ

۵- اثر دما

۶- اثر زمان

۷- اثر قدرت یونی

### ۳-۱-۶- روش کار در بهینه سازی پارامترهای مؤثر بر واکنش

کلیه محلول‌ها قبل از انجام هر آزمایش حداقل به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۲۰/۰ درجه سانتی گراد قرار می‌گرفتند.

برای بهینه کردن متغیرهای مؤثر بر واکنش از روش بهینه سازی یک متغیر در یک زمان استفاده شد. در این روش همه متغیرها ثابت در نظر گرفته شده و فقط پارامتری که باید بهینه شود تغییر داده می‌شود. برای بهینه کردن پارامترهای غلظتی حجم‌های مختلفی از محلول گونه مورد نظر با غلظت مشخص و ثابت به مخلوط واکنش اضافه گردید و جهت ثابت ماندن حجم کلی محلول میزان آب مقطر به تناسب تغییر داده شد. برای حصول صحت لازم، هر اندازه‌گیری حداقل دو بار تکرار شد. کمیت اندازه‌گیری شده در بهینه کردن متغیرهای فوق، اختلاف تغییرات جذب نمونه و شاهد ( $\Delta A_s - \Delta A_b$ ) در فاصله زمانی ۲۴۰-۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش در طول موج ۴۶۶ نانومتر بود.

### ۳-۱-۷- بررسی اثر نوع اسید بر سیگنال تجزیه‌ای

به منظور بررسی اثر نوع اسید بر روی سیگنال تجزیه‌ای به ترتیب زیر عمل شد:

برای تهیه محلول‌های نمونه، در سه بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری به ترتیب در بالن اول ۱/۰ میلی لیتر سولفوریک اسید ۰/۵۰ مولار، در بالن دوم ۱/۰ میلی لیتر هیدروکلریک اسید ۱/۰ مولار و در بالن سوم ۱/۰ میلی لیتر نیتریک اسید ۱/۰ مولار منتقل شد. سپس به هر بالن ۱/۰ میلی لیتر نیتريت با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر و ۱/۰ میلی لیتر محلول برموپاداپ  $10^{-4} \times 2/53$  مولار افزوده و تا حجم تقریبی ۸/۰ میلی لیتر رقیق شد. سپس ۲/۰ میلی لیتر پتاسیم برومات ۰/۰۰۵۰ مولار افزوده شد و پس از افتادن آخرین قطره کرنومتر روشن شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول، در مدت ۳۰ ثانیه، قسمتی از آن به سل دستگاه منتقل و تغییرات جذب محلول در برابر آب مقطر در گستره زمانی ۲۴۰-۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش، در طول موج ۴۶۶ نانومتر اندازه‌گیری گردید ( $\Delta A_s$ ). برای محلول شاهد نیز به همین ترتیب عمل شد با این تفاوت که به محلول شاهد نیتريت اضافه نگردید ( $\Delta A_b$ ). نتایج حاصله در جدول (۳-۲) و شکل (۳-۲) آورده شده است. در صورت استفاده از کلریدریک اسید بدلیل اینکه یون کلرید مزاحمت ایجاد کرده و موجب افزایش تغییرات جذب شاهد می‌شود، سیگنال تجزیه‌ای کاهش می‌یابد. در حضور یون کلرید واکنش نمونه قبل از اندازه‌گیری به میزان زیادی انجام شده در نتیجه اختلاف تغییرات جذب نمونه کاهش می‌یابد که این موجب کاهش سیگنال تجزیه‌ای می‌شود. از آنجا که در قسمت دوم این پایان نامه هدف اندازه‌گیری نیتريت و نیتريت می‌باشد، از نیتريت اسید نیز استفاده نشد تا بافت نمونه عاری از نیتريت ناشی از نیتريت اسید باشد. لذا سولفوریک اسید برای بررسی‌های بعدی انتخاب شد.

جدول ۳-۲- بررسی اثر نوع اسید بر روی اختلاف تغییرات جذب نمونه و شاهد

نوع اسید	$\Delta A_s - \Delta A_b$
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	۰/۰۴۵
HCl	۰/۰۳۶

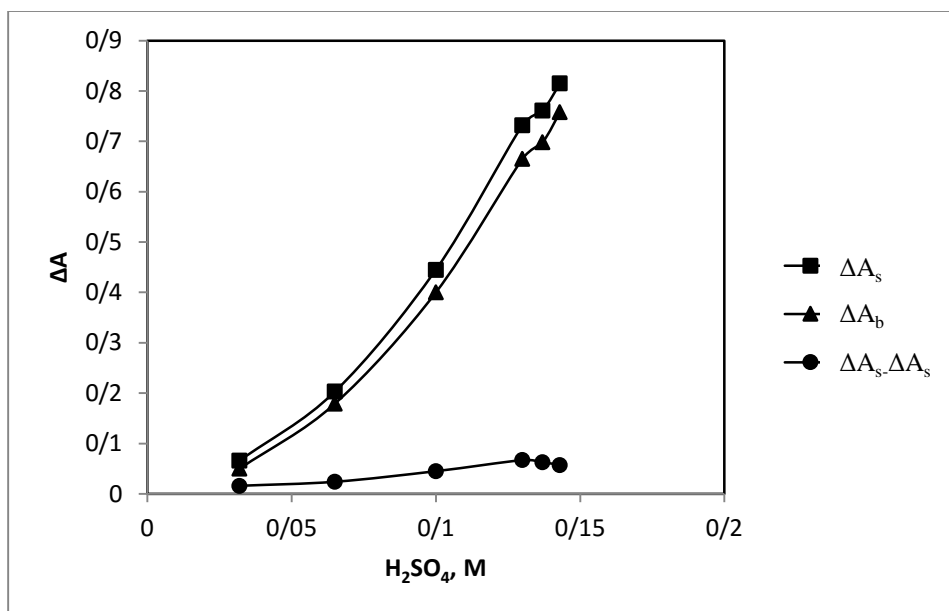
### ۳-۱-۸- بررسی اثر غلظت سولفوریک اسید بر سیگنال تجزیه‌ای

به منظور بررسی اثر غلظت سولفوریک اسید بر روی سیگنال کل بصورت زیر عمل شد:

برای تهیه محلول‌های نمونه، در یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری به ترتیب حجم‌های مختلفی از سولفوریک اسید ۰/۶۵ مولار، ۱/۰ میلی لیتر از نیتريت با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر، ۱/۰ میلی لیتر محلول برموپاداپ  $10^{-4} \times 2/53$  مولار افزوده و تا حجم تقریبی ۸/۰ میلی لیتر رقیق شد. سپس ۲/۰ میلی لیتر پتاسیم برومات ۰/۰۵۰ مولار افزوده شد و پس از افتادن آخرین قطره کرنومتر روشن شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول، در مدت ۳۰ ثانیه، قسمتی از آن به سل دستگاه منتقل و تغییرات جذب محلول در برابر آب مقطر در گستره زمانی ۲۴۰-۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش، در طول موج ۴۶۶ نانومتر اندازه‌گیری گردید. برای محلول شاهد نیز به همین ترتیب عمل شد با این تفاوت که به محلول شاهد نیتريت اضافه نگردید. نتایج حاصله در جدول (۳-۳) و شکل (۳-۳) آورده شده است. با افزایش غلظت اسید تا ۰/۱۳ مولار افزایش تغییرات جذب نمونه بیشتر از شاهد می‌باشد ولی پس از آن در غلظت‌های بالاتر اسید به دلیل اینکه بیشتر واکنش نمونه تا قبل از اندازه‌گیری انجام شده است، اختلاف تغییرات آن کاهش یافته در نتیجه اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه کاهش می‌یابد. با توجه به نتایج حاصل، بیشترین اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه در غلظت ۰/۱۳ مولار مشاهده می‌شود. لذا غلظت ۰/۱۳ مولار سولفوریک اسید به عنوان غلظت بهینه برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

جدول ۳-۳- بررسی اثر غلظت سولفوریک اسید بر روی اختلاف تغییرات جذب نمونه و شاهد

H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , M	$\Delta A_s$	$\Delta A_b$	$\Delta A_s - \Delta A_b$
۰/۰۳۲	۰/۰۶۶	۰/۰۵۰	۰/۰۱۶
۰/۰۶۵	۰/۲۰۳	۰/۱۷۹	۰/۰۲۴
۰/۱۰۰	۰/۴۴۵	۰/۴۰۰	۰/۰۴۵
۰/۱۳۰	۰/۷۳۲	۰/۶۶۵	۰/۰۶۷
۰/۱۳۷	۰/۷۶۱	۰/۶۹۸	۰/۰۶۳
۰/۱۴۳	۰/۸۱۵	۰/۷۵۸	۰/۰۵۷



شکل (۳-۳): بررسی غلظت اسید سولفوریک

شرایط:  $10^{-3} \times 1/0$  مولار پتاسیم برومات،  $0/10$  میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت،  $2/53 \times 10^{-5}$  مولار برموپاداپ، اندازه‌گیری سیگنال در فاصله زمانی ۲۴۰-۳۰ ثانیه در دمای ۲۰/۰ درجه سانتی‌گراد.

### ۳-۱-۹- بررسی اثر غلظت پتاسیم برومات بر میزان اختلاف تغییرات جذب نمونه و شاهد

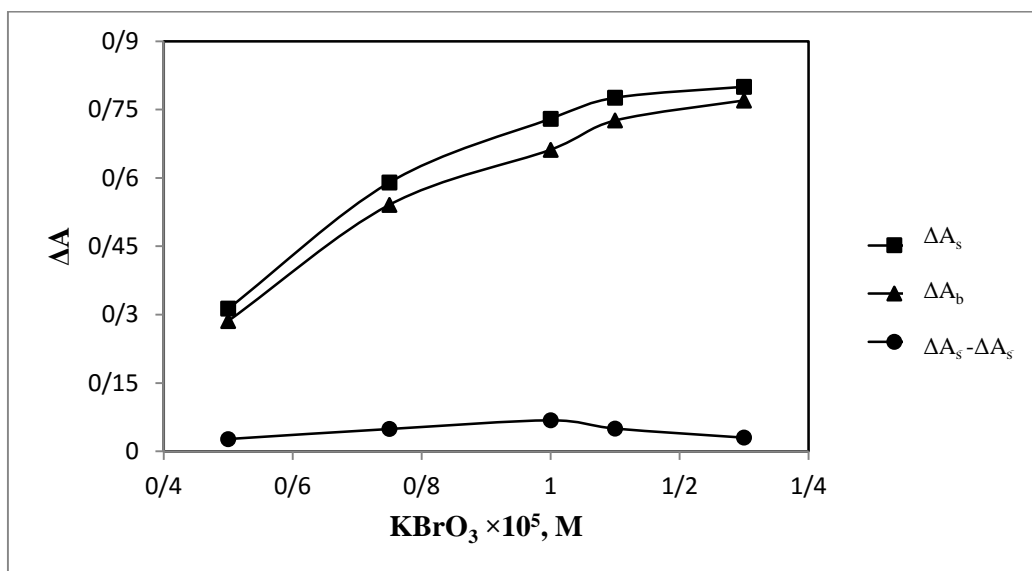
به منظور بررسی اثر غلظت پتاسیم برومات بر روی سیگنال کل بصورت زیر عمل شد:

برای تهیه محلول‌های نمونه، در یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری به ترتیب  $1/0$  میلی لیتر از سولفوریک اسید  $1/3$  مولار،  $1/0$  میلی لیتر از نیتريت با غلظت  $1/0$  میکروگرم بر میلی لیتر،  $1/0$  میلی لیتر محلول برموپاداپ  $2/53 \times 10^{-4}$  مولار افزوده و تا حجم تقریبی  $8/0$  میلی لیتر رقیق شد. سپس حجم‌های مختلف از پتاسیم برومات  $0/050$  مولار افزوده شد و پس از افتادن آخرین قطره کرنومتر روشن شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول، در مدت ۳۰ ثانیه، قسمتی از آن به سل دستگاه منتقل و تغییرات جذب محلول در برابر آب مقطر در گستره زمانی ۲۴۰-۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش، در طول موج ۴۶۶ نانومتر اندازه‌گیری گردید. برای محلول شاهد نیز به همین ترتیب عمل شد با این تفاوت که به محلول شاهد نیتريت اضافه نگردید. با افزایش غلظت پتاسیم برومات تا  $0/010$  مولار سیگنال تجزیه‌ای افزایش می‌یابد ولی در غلظت‌های بالاتر از پتاسیم برومات بدلیل اینکه سرعت واکنش نمونه بسیار افزایش می‌یابد، بخش زیادی از

واکنش تا قبل از اندازه‌گیری جذب اولیه نمونه انجام شده است. به همین دلیل تغییرات جذب نمونه کاهش می‌یابد که در نتیجه سیگنال تجزیه‌ای کاهش می‌یابد. نتایج حاصله در جدول (۳-۴) و شکل (۳-۴) آورده شده است. با توجه به نتایج حاصل، بیشترین اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه در غلظت ۰/۰۰۱۰ مولار مشاهده می‌شود. لذا غلظت ۰/۰۰۱۰ مولار پتاسیم برومات به عنوان غلظت بهینه برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

جدول ۳-۴- بررسی غلظت پتاسیم برومات بر روی سرعت واکنش

غلظت پتاسیم برومات بر حسب مولار $\times 10^2$	$\Delta A_s$	$\Delta A_b$	$\Delta A_s - \Delta A_b$
۰/۵۰	۰/۳۱۳	۰/۲۸۶	۰/۰۲۷
۰/۷۵	۰/۵۹۰	۰/۵۴۱	۰/۰۴۹
۱/۰	۰/۷۳۰	۰/۶۶۲	۰/۰۶۸
۱/۱	۰/۷۷۶	۰/۷۲۶	۰/۰۵۰
۱/۳	۰/۸۰۰	۰/۷۷۰	۰/۰۳۰



شکل (۳-۴): اثر غلظت پتاسیم برومات بر سیگنال تجزیه‌ای

شرایط: ۰/۱۳ مولار سولفوریک اسید، ۰/۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت،  $2/53 \times 10^{-5}$  مولار برموپاداپ در فاصله زمانی ۲۴۰-۳۰ ثانیه و دمای ۲۰/۰ درجه سانتی‌گراد.

### ۳-۱-۱۰- بررسی اثر غلظت برموپاداپ بر سیگنال تجزیه‌ای

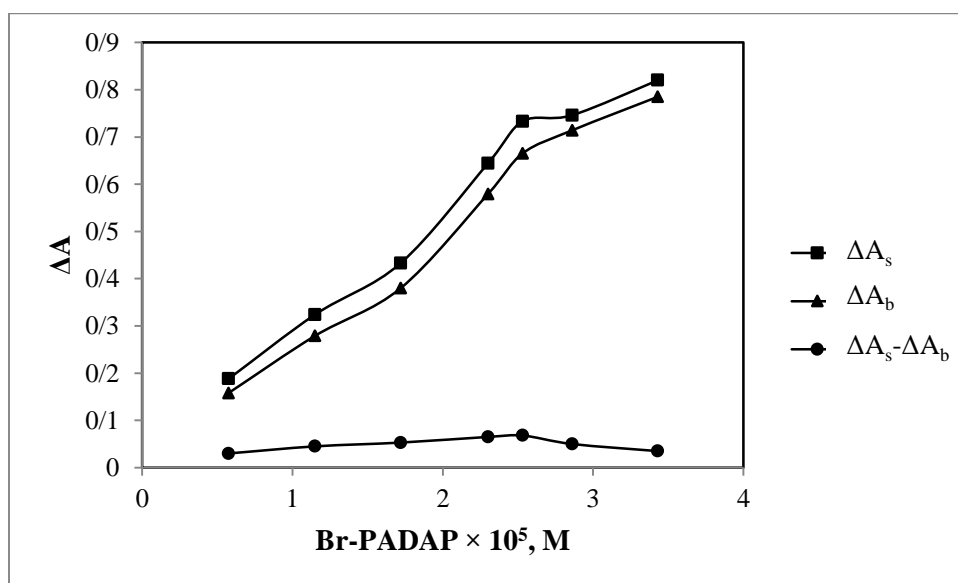
به منظور بررسی اثر غلظت برموپاداپ بر روی سیگنال کل بصورت زیر عمل شد:

برای تهیه محلول‌های نمونه، در یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی لیتر از سولفوریک اسید ۱/۳ مولار، ۱/۰ میلی لیتر از نیتريت با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر، حجم‌های مختلف از محلول برموپاداپ  $10^{-4} \times 1/15$  مولار افزوده و تا حجم تقریبی ۸/۰ میلی لیتر رقیق شد. سپس ۲/۰ میلی لیتر از پتاسیم برومات ۰/۰۰۵۰ مولار افزوده شد و پس از افتادن آخرین قطره کرنومتر روشن شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول، در مدت ۳۰ ثانیه، قسمتی از آن به سل دستگاه منتقل و تغییرات جذب محلول در برابر آب مقطر در گستره زمانی ۲۴۰-۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش، در طول موج ۴۶۶ نانومتر اندازه‌گیری گردید. برای محلول شاهد نیز به همین ترتیب عمل شد با این تفاوت که به محلول شاهد نیتريت اضافه نگردید. نتایج حاصله در جدول (۳-۵) و شکل (۳-۵) آورده شده است. با افزایش غلظت برموپاداپ تا  $10^{-5} \times 2/53$  سیگنال تجزیه‌ای افزایش می‌یابد اما در غلظت‌های بیشتر از  $10^{-5} \times 2/53$  مولار برموپاداپ، به علت عدم تبعیت از قانون بیر، جذب برای محلول نمونه نسبت به محلول شاهد کمتر افزایش می‌یابد، لذا سیگنال تجزیه‌ای کاهش یافته است. با توجه به نتایج حاصل، بیشترین اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه در غلظت  $10^{-5} \times 2/53$  مولار از برموپاداپ مشاهده می‌شود. لذا غلظت  $10^{-5} \times 2/53$  مولار برموپاداپ به عنوان غلظت بهینه برای مطالعات بعدی انتخاب شد.



جدول ۳-۵- بررسی اثر غلظت برموپاداپ بر روی سیگنال تجزیه ای

غلظت برموپاداپ بر حسب مولار $\times 10^5$	$\Delta A_s$	$\Delta A_b$	$\Delta A_s - \Delta A_b$
۰/۵۷۵	۰/۱۸۸	۰/۱۵۸	۰/۰۳۰
۱/۱۵	۰/۳۲۴	۰/۲۷۹	۰/۰۴۵
۱/۷۲	۰/۴۳۳	۰/۳۸۰	۰/۰۵۳
۲/۳۰	۰/۶۴۴	۰/۵۷۹	۰/۰۶۵
۲/۵۳	۰/۷۳۳	۰/۶۶۵	۰/۰۶۸
۲/۸۶	۰/۷۶۴	۰/۷۱۴	۰/۰۵۰
۳/۴۳	۰/۸۲۰	۰/۷۸۵	۰/۰۳۵



شکل (۳-۵): بررسی غلظت برموپاداپ بر تغییرات جذب شاهد، نمونه و سیگنال تجزیه ای  
 شرایط: ۰/۱۳ مولار سولفوریک اسید، ۰/۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت،  $10^{-3} \times 10^{-3}$  مولار پتاسیم برومات، در فاصله  
 زمانی ۲۴۰-۳۰ ثانیه، دمای ۲۰/۰ درجه سانتی گراد.

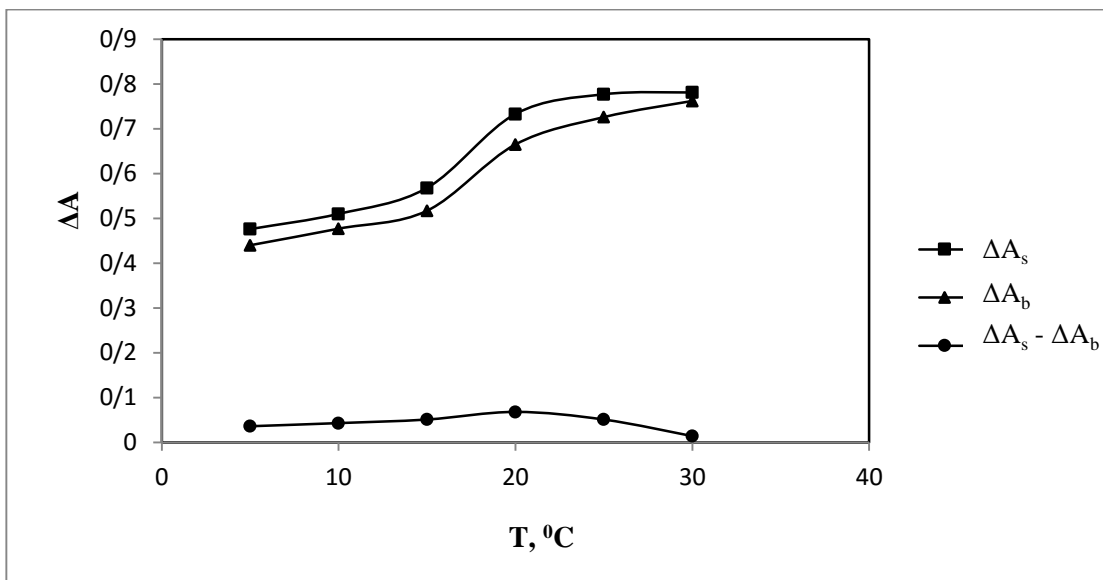
### ۳-۱-۱۱- بررسی اثر دما بر سیگنال تجزیه‌ای

اثر دما بر روی سرعت واکنش در محدوده ۳۰/۰-۵/۰ درجه سانتی گراد به صورت زیر بررسی شد:

برای انجام آزمایش در هر دمایی، ابتدا محلول‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در آن دما قرار می‌گرفتند، سپس برای تهیه محلول‌های نمونه، در یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی لیتر از سولفوریک اسید ۱/۳ مولار، ۱/۰ میلی لیتر از نیتريت با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر، ۱/۰ میلی لیتر از محلول برموپاداپ<sup>۴</sup>  $\times 10^{-4}$  ۲/۵۳ مولار افزوده و با آب تا حجم تقریبی ۸/۰ میلی لیتر رقیق شد. سپس ۲/۰ میلی لیتر از پتاسیم برومات ۰/۰۰۵۰ مولار افزوده شد و پس از افتادن آخرین قطره کرنومتر روشن شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول، در مدت ۳۰ ثانیه، قسمتی از آن به سل دستگاه منتقل و تغییرات جذب محلول در برابر آب مقطر در گستره زمانی ۲۴۰-۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش، در طول موج ۴۶۶ نانومتر اندازه‌گیری گردید. برای محلول شاهد نیز به همین ترتیب عمل شد با این تفاوت که به محلول شاهد نیتريت اضافه نگردید. نتایج حاصله در جدول (۳-۶) و شکل (۳-۶) آورده شده است. با افزایش دما تا ۲۰/۰ درجه سانتیگراد سیگنال تجزیه‌ای افزایش می‌یابد که این نشان دهنده ماهیت سینتیکی این واکنش است. اما در دماهای بالاتر از ۲۰/۰ درجه سانتی گراد، قبل از اندازه‌گیری تغییرات جذب برای نمونه، واکنش به مقدار زیادی پیشرفت می‌کند لذا در فاصله زمانی ۳۰ تا ۲۴۰ ثانیه پس از شروع واکنش، تغییرات جذب اندازه‌گیری شده برای نمونه کاهش می‌یابد، به همین دلیل سیگنال تجزیه‌ای کاهش می‌یابد. با توجه به نتایج حاصل، بیشترین اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه در دمای ۲۰/۰ درجه سانتی گراد مشاهده می‌شود. لذا دمای ۲۰/۰ درجه سانتی گراد به عنوان دمای بهینه برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

جدول ۳-۶- بررسی اثر دما بر روی اختلاف جذب شاهد و نمونه

T, °C	$\Delta A_s$	$\Delta A_b$	$\Delta A_s - \Delta A_b$
۵/۰	۰/۴۷۶	۰/۴۴۰	۰/۰۳۶
۱۰/۰	۰/۵۱۰	۰/۴۷۷	۰/۰۴۳
۱۵/۰	۰/۵۶۸	۰/۵۱۷	۰/۰۵۱
۲۰/۰	۰/۷۳۱	۰/۶۶۵	۰/۰۶۸
۲۵/۰	۰/۷۷۷	۰/۷۲۶	۰/۰۵۱
۳۰/۰	۰/۷۸۱	۰/۷۶۲	۰/۰۱۴



شکل (۳-۶): نتایج حاصل از بررسی دما

شرایط: ۰/۱۳ مولار سولفوریک اسید، ۰/۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت،  $۲/۵۳ \times ۱۰^{-۵}$  مولار برموپاداپ،  $۱/۰ \times ۱۰^{-۳}$  مولار پتاسیم برومات، در فاصله زمانی ۲۴۰-۳۰ ثانیه.

### ۳-۱-۱۲- بررسی اثر زمان بر اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه

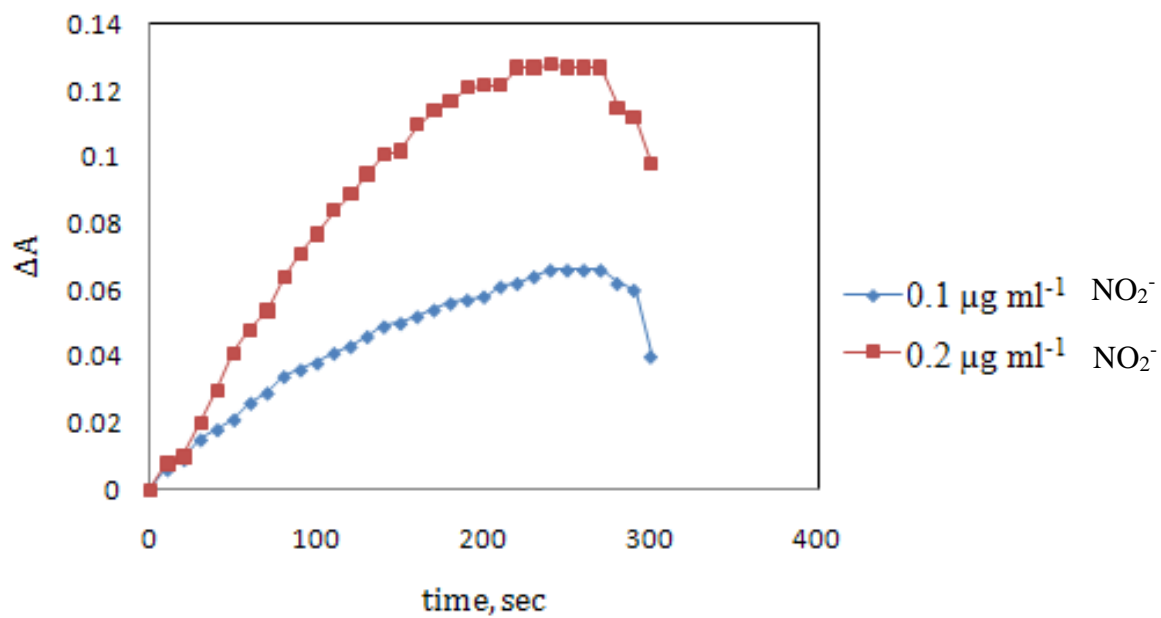
برای بررسی اثر زمان بر روی واکنش در شرایط بهینه غلظتی و دمای انتخاب شده، ثبت زمان در گستره ۳۰ تا ۳۰۰ ثانیه پس از شروع واکنش انجام شد. نحوه کار به این صورت بود که:

در یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی لیتر از سولفوریک اسید ۱/۳ مولار، ۱/۰ میلی لیتر از نیتريت با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر، ۱/۰ میلی لیتر از محلول برموپاداپ  $10^{-4} \times 2/53$  مولار افزوده و تا حجم تقریبی ۸/۰ میلی لیتر رقیق شد. سپس ۲/۰ میلی لیتر از پتاسیم برومات  $0/0050$  مولار افزوده شد و پس از افتادن آخرین قطره کرنومتر روشن شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول، در مدت ۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش، قسمتی از آن به سل دستگاه منتقل و تغییرات جذب محلول در برابر آب مقطر در گستره زمانی ۳۰-۳۰۰ ثانیه پس از شروع واکنش، با فاصله زمانی ۱۰ ثانیه در طول موج ۴۶۶ نانومتر اندازه گیری گردید. برای محلول شاهد نیز به همین ترتیب عمل شد با این تفاوت که به محلول شاهد نیتريت اضافه نگردید. برای بررسی نتایج، زمان ۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش به عنوان زمان مبدا انتخاب شد و اختلاف بین جذب در زمانهای مختلف و زمان ۳۰ ثانیه برای محلولهای شاهد و نمونه محاسبه شد. سپس سیگنال تجزیه ای برای زمانهای مختلف محاسبه گردید. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۷) و شکل (۳-۷) آمده است. با توجه به نتایج بدست آمده، با افزایش زمان تا ۲۴۰ ثانیه اختلاف تغییرات جذب افزایش می یابد و پس از آن تا ۲۷۰ ثانیه ثابت مانده، سپس در زمانهای بالاتر کاهش می یابد. بنابراین در آزمایشهای بعدی سیگنال تجزیه ای در گستره ی زمانی ۳۰-۲۴۰ ثانیه ثبت گردید.

جدول ۳-۷- نتایج حاصل از بررسی اثر زمان

زمان	$\Delta A_s - \Delta A_b$ ۰/۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت	$\Delta A_s - \Delta A_b$ ۰/۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت
۰	۰/۰۰	۰/۰۰
۱۰	۰/۰۰۶	۰/۰۰۸
۲۰	۰/۰۰۹	۰/۰۱۰
۳۰	۰/۰۱۵	۰/۰۲۰
۴۰	۰/۰۱۸	۰/۰۳۰
۵۰	۰/۰۲۱	۰/۰۴۱
۶۰	۰/۰۲۶	۰/۰۴۸
۷۰	۰/۰۲۹	۰/۰۵۴
۸۰	۰/۰۳۴	۰/۰۶۴
۹۰	۰/۰۳۶	۰/۰۷۱
۱۰۰	۰/۰۳۸	۰/۰۷۷
۱۱۰	۰/۰۴۱	۰/۰۸۴
۱۲۰	۰/۰۴۳	۰/۰۸۹
۱۳۰	۰/۰۴۶	۰/۰۹۵
۱۴۰	۰/۰۴۹	۰/۱۰۱
۱۵۰	۰/۰۵۰	۰/۱۰۲
۱۶۰	۰/۰۵۲	۰/۱۱۰
۱۷۰	۰/۰۵۴	۰/۱۱۴
۱۸۰	۰/۰۵۶	۰/۱۱۷
۱۹۰	۰/۰۵۷	۰/۱۲۱
۲۰۰	۰/۰۵۸	۰/۱۲۲
۲۱۰	۰/۰۶۱	۰/۱۲۱
۲۲۰	۰/۰۶۲	۰/۱۲۶

۲۳۰	۰/۰۶۴	۰/۱۲۷
۲۴۰	۰/۰۶۶	۰/۱۲۷
۲۵۰	۰/۰۶۶	۰/۱۲۸
۲۶۰	۰/۰۶۶	۰/۱۲۷
۲۷۰	۰/۰۶۶	۰/۱۲۷
۲۸۰	۰/۰۶۲	۰/۱۱۵
۲۹۰	۰/۰۶۰	۰/۱۱۲
۳۰۰	۰/۰۴۰	۰/۰۹۸



شکل (۷-۳): بررسی اثر زمان

شرایط: ۰/۱۳ مولار سولفوریک اسید،  $۲/۵۳ \times ۱۰^{-۵}$  مولار برموپاداپ،  $۱/۰ \times ۱۰^{-۳}$  مولار پتاسیم برومات، دمای ۲۰/۰ درجه سانتی گراد.

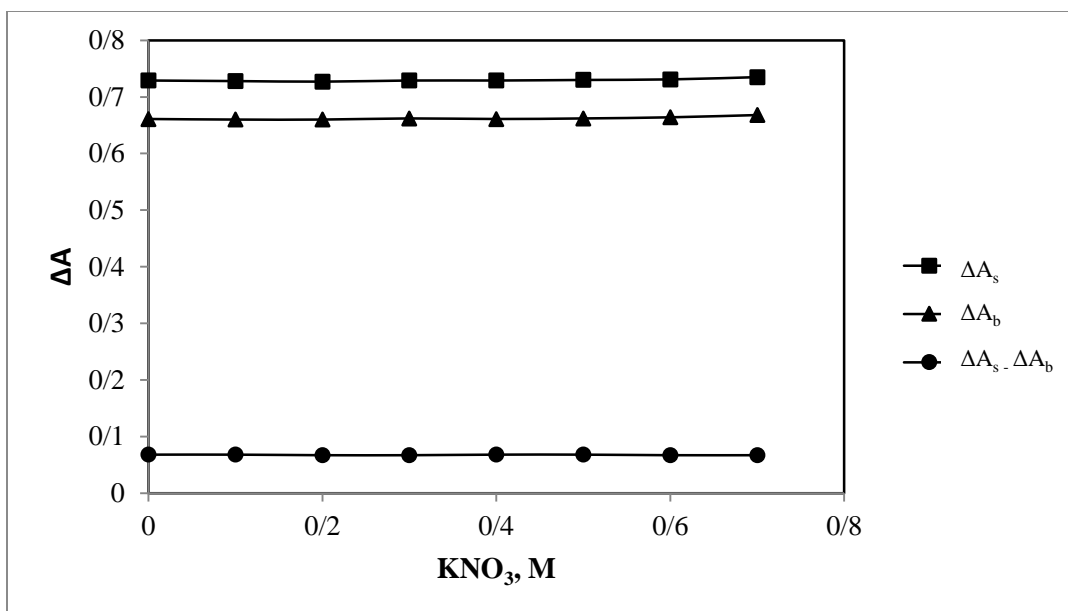
### ۳-۱-۱۳- بررسی اثر قدرت یونی بر سیگنال تجزیه‌ای

اثر قدرت یونی بر حساسیت روش در محدوده غلظتی ۰/۷۰ - ۰/۱۰ مولار پتاسیم نیترات در شرایط بهینه غلظتی و در دمای ۲۰/۰ °C مورد بررسی قرار گرفت. شرایط کار به صورت زیر بود:

در یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی لیتر از سولفوریک اسید ۱/۳ مولار، ۱/۰ میلی لیتر از نیتريت با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر، ۱/۰ میلی لیتر از محلول برموپاداپ  $10^{-4} \times 2/53$  مولار افزوده و تا حجم تقریبی ۸/۰ میلی لیتر رقیق شد. سپس حجم‌های مختلفی از پتاسیم نیترات ۲/۰ مولار افزوده شد و در نهایت ۲/۰ میلی لیتر از پتاسیم برومات ۰/۰۰۵۰ مولار افزوده شد و پس از افتادن آخرین قطره کرنومتر روشن شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول، در مدت ۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش، قسمتی از آن به سل دستگاه منتقل و تغییرات جذب محلول در برابر آب مقطر در گستره زمانی ۲۴۰-۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش، در طول موج ۴۶۶ نانومتر اندازه‌گیری گردید. برای محلول شاهد نیز به همین ترتیب عمل شد با این تفاوت که به محلول شاهد نیتريت اضافه نگردید. نتایج حاصله در جدول (۳-۸) و شکل (۳-۸) آورده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که قدرت یونی در دامنه ۰/۷۰ - ۰/۱۰ مولار پتاسیم نیترات اثری بر سیگنال تجزیه‌ای ندارد.

جدول ۳-۸- نتایج حاصل از بررسی قدرت یونی

KNO <sub>3</sub> , M	$\Delta A_s$	$\Delta A_b$	$\Delta A_s - \Delta A_b$
۰	۰/۷۲۹	۰/۱۶۶۱	۰/۰۶۸
۰/۱۰	۰/۷۲۸	۰/۱۶۶۰	۰/۰۶۸
۰/۲۰	۰/۷۲۷	۰/۱۶۶۰	۰/۰۶۷
۰/۳۰	۰/۷۲۹	۰/۱۶۶۲	۰/۰۶۷
۰/۴۰	۰/۷۲۹	۰/۱۶۶۱	۰/۰۶۸
۰/۵۰	۰/۷۳۰	۰/۱۶۶۲	۰/۰۶۸
۰/۶۰	۰/۷۳۱	۰/۱۶۶۴	۰/۰۶۷
۰/۷۰	۰/۷۳۵	۰/۱۶۶۸	۰/۰۶۷



شکل (۳-۸): اثر قدرت یونی بر حساسیت

شرایط: ۰/۱۳ مولار سولفوریک اسید، ۰/۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت،  $2/53 \times 10^{-5}$  مولار برموپاداپ،  $1/0 \times 10^{-3}$  مولار پتاسیم برومات، دمای ۲۰/۰ درجه سانتی گراد.

### ۳-۲-۱۴- شرایط بهینه

با توجه به نتایج به دست آمده از بررسی و بهینه سازی پارامترهای موثر بر واکنش، شرایط بهینه زیر

انتخاب شد و در رسم منحنی کالیبراسیون مورد استفاده قرار گرفت.

۱- سولفوریک اسید ۰/۱۳ مولار

۲-  $1/0 \times 10^{-3}$  مولار پتاسیم برومات.

۳-  $2/53 \times 10^{-5}$  مولار برموپاداپ

۴- دمای ۲۰/۰ درجه سانتی گراد



### ۳-۲-۱۵- رسم منحنی کالیبراسیون

در شرایط بهینه غلظتی منحنی کالیبراسیون (درجه بندی) برای اندازه‌گیری نیتريت به دست آمد. روش کار برای استخراج منحنی کالیبراسیون به صورت زیر بود:

به یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری، ابتدا ۱/۰ میلی لیتر سولفوریک اسید ۱/۳ مولار، حجم‌های متفاوتی از محلول استاندارد نیتريت با غلظت معین، ۱/۰ میلی لیتر محلول برموپاداپ  $10^{-4} \times 2/53$  مولار افزوده و تا حجم تقریبی ۸/۰ میلی لیتر رقیق شد. سپس ۲/۰ میلی لیتر از پتاسیم برومات  $0/0050$  مولار افزوده شد و پس از افتادن آخرین قطره کرنومتر روشن شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول، در مدت ۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش، قسمتی از آن به سل دستگاه منتقل و تغییرات جذب محلول در برابر آب مقطر در گستره زمانی ۲۴۰-۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش، در طول موج ۴۶۶ نانومتر اندازه‌گیری گردید. برای محلول شاهد نیز به همین ترتیب عمل شد با این تفاوت که به محلول شاهد نیتريت اضافه نگردید. منحنی کالیبراسیون از رسم اختلاف تغییرات جذب محلول نمونه و شاهد ( $\Delta A_s - \Delta A_b$ ) در طول موج ۴۶۶ نانومتر، بر حسب غلظت نیتريت به دست آمد.

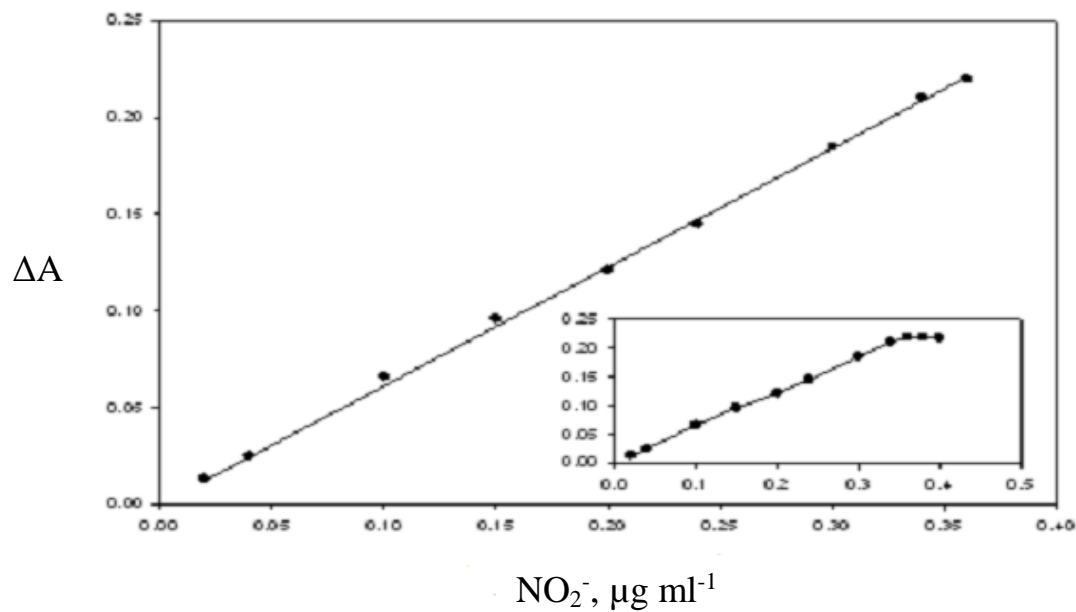
نتایج به دست آمده و منحنی کالیبراسیون به ترتیب در جدول (۳-۹) و شکل (۳-۹) آورده شده است. معادله منحنی کالیبراسیون برای محدوده غلظتی  $0/360 - 0/20$  میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت به صورت زیر است.

$$\Delta A = 0/608 C_{\text{Nitrite}} + 0/003 \quad (n=9, r=0/999)$$

در این رابطه  $\Delta A$  اختلاف تغییرات جذب محلول نمونه و شاهد ( $\Delta A_s - \Delta A_b$ ) و  $C_{\text{Nitrite}}$  غلظت نیتريت بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر است.

جدول (۳-۹): سیگنال تجزیه ای بدست آمده برای غلظت‌های مختلف نیتريت در محدوده غلظتی ۰/۰۲۰-۰/۳۶۰ میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت

$C_{NO_2^-}$ (میکرو گرم بر میلی لیتر)	$\Delta A_{NO_2^-}$
۰/۰۲۰	۰/۰۱۴
۰/۰۴	۰/۰۲۵
۰/۱۰۰	۰/۰۶۶
۰/۱۵۰	۰/۰۹۶
۰/۲۰۰	۰/۱۳۰
۰/۲۴۰	۰/۱۴۸
۰/۳۰۰	۰/۱۸۶
۰/۳۴۰	۰/۲۱۰
۰/۳۶۰	۰/۲۲۰



شکل (۳-۹) منحنی کالیبراسیون در محدوده غلظتی ۰/۰۲۰ - ۰/۳۶۰ میکرو گرم بر میلی لیتر نیتريت  
شرایط: ۰/۱۳ مولار سولفوریک اسید،  $۲/۵۳ \times 10^{-5}$  مولار برمویاداپ،  $۱/۰ \times 10^{-3}$  مولار پتاسیم برومات، دمای ۲۰/۰ درجه سانتی گراد.

### ۳-۱-۱۶- بررسی دقت و صحت روش

برای مطالعه دقت و صحت روش، غلظت‌های متفاوتی از نیتريت در محدوده خطی منحنی کالیبراسیون انتخاب شد و محلول‌هایی با غلظت انتخاب شده نیتريت و شرایط بهینه سایر اجزاء ساخته شد. برای هر یک از غلظت‌های انتخاب شده ۶ بار اندازه‌گیری تکراری انجام شد و با استفاده از منحنی کالیبراسیون مربوطه، غلظت معادل به دست آمد. سپس میانگین و انحراف استاندارد برای هر غلظت محاسبه گردید. نتایج به دست آمده در جدول (۳-۱۰) نشان داده شده است. با توجه به نتایج بدست آمده درصد بازیابی عبارت از نسبت میانگین مقدار به دست آمده به مقدار افزوده شده می‌باشد.

جدول (۳-۱۰): نتایج مربوط به بررسی دقت و صحت روش پیشنهادی

درصد بازیابی	نیتريت اندازه‌گیری شده بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر	نیتريت موجود بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر
۱۰۱/۸	۰/۰۶۰۵ (±۰/۰۰۴)	۰/۰۶۰
۹۴/۸	۰/۰۹۸۴ (±۰/۰۰۶)	۰/۱۰۰
۹۹/۴	۰/۱۴۹ (±۰/۰۰۵)	۰/۱۵۰

\*اعداد داخل پرانتز نشان دهنده انحراف استاندارد ۶ اندازه‌گیری تکراری می‌باشد.

### ۳-۱-۱۷- حد تشخیص روش

حد تشخیص یک روش را می‌توان با استفاده از رابطه زیر محاسبه نمود:

$$L.O.D = \frac{k \cdot S_b}{m} \quad (۳-۱)$$

در این رابطه  $k$  ضریب اطمینان و بر اساس تعریف کیزر، برابر ۳ تعریف می‌شود [۶۱].  $S_b$  انحراف استاندارد سیگنال‌های تکراری اندازه‌گیری شده برای شاهد و  $m$  شیب منحنی کالیبراسیون است. برای به دست آوردن حد تشخیص تئوری روش به صورت زیر عمل شد، به یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری ابتدا ۱/۰ میلی لیتر سولفوریک اسید ۱/۳ مولار، ۱/۰ میلی لیتر محلول برموپاداپ  $10^{-4} \times 2/53$  مولار افزوده و تا حجم تقریبی

۸/۰ میلی لیتر رقیق شد و سپس ۲/۰ میلی لیتر پتاسیم برومات ۰/۰۰۵۰ مولار افزوده و با آب مقطر به حجم رسانده شد. پس از یکنواخت کردن محلول و انتقال قسمتی از آن به سل دستگاه، جذب محلول در طول موج ۴۶۶ نانومتر اندازه‌گیری گردید. جذب این محلول شاهد ده بار اندازه‌گیری شد و مقدار انحراف استاندارد برای اختلاف جذب شاهد محاسبه گردید. در نتیجه با توجه به رابطه (۳-۱) مقدار حد تشخیص تئوری روش ۰/۰۱۸۰ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد.

$$LOD = \frac{k \cdot S_b}{m} = \frac{3 \times (3.64 \times 10^{-3})}{0.608} = 0.018 \mu\text{g/ml}$$

### ۳-۱-۱۸- بررسی اثر مزاحمت‌ها

یکی از مهمترین مراحل در توسعه یک روش تجزیه‌ای بررسی مزاحمت‌های احتمالی گونه‌های مختلف در اندازه‌گیری گونه مورد نظر به منظور استفاده از آن روش در تجزیه نمونه‌های حقیقی است. با بررسی مزاحمت‌ها می‌توان به میزان گزینش پذیری یک روش پی برد. به همین منظور مزاحمت احتمالی تعداد زیادی از آنیون‌ها و کاتیون‌ها مورد بررسی قرار گرفت. روش کار به صورت زیر بود:

در نمونه حاوی نیتريت ۰/۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر، سولفوریک اسید ۰/۱۳ مولار، برموپاداپ<sup>۵</sup>  $\times 10^{-5}$  ۲/۵۳ مولار و پتاسیم برومات ۰/۰۰۱۰ مولار، مزاحمت احتمالی کاتیون‌ها و آنیون‌های مختلف در طول موج ۴۶۶ نانومتر بررسی شد. در بررسی مزاحمت‌ها ابتدا تغییر جذب نمونه در غیاب گونه مزاحم در شرایط فوق ۶ بار اندازه‌گیری شد و انحراف استاندارد و سیگنال میانگین محاسبه گردید و محدوده سیگنال  $(\Delta\bar{A} \pm 3S)$  به دست آمد. برای بررسی اثر مزاحمت هر گونه، گونه مزاحم به میزان هزار برابر وزنی نیتريت اضافه گردید و سیگنال اندازه‌گیری شد. اگر این سیگنال در حضور گونه مزاحم در محدوده سیگنال  $(\Delta\bar{A} \pm 3S)$  قرار داشت، به این معنا است که گونه مورد نظر با نسبت موجود مزاحم نیست. در غیر این صورت نسبت گونه مزاحم به نیتريت مرتبا کم شد تا مزاحمت مشاهده نشود. نتایج حاصل از بررسی در جدول (۳-۱۲) نشان داده شده است و این نتایج نشان

می‌دهد که تعداد زیادی از کاتیون‌ها و آنیون‌ها مزاحمتی در اندازه‌گیری نیتريت ندارند. برای برطرف نمودن مزاحمت مس(II)، در یک بالن ۱۰ میلی لیتری که نسبت به نیتريت ۰/۱۰ میلی گرم بر لیتر و نسبت به مس(II) ۱۰ میلی گرم بر لیتر بود، به میزان ۲۰۰۰ برابر وزنی-وزنی EDTA افزوده شد و سیگنال تجزیه‌ای اندازه‌گیری شد. مشاهده شد که مزاحمت مس(II) تا ۱۰۰ برابر وزنی-وزنی برطرف شد. مزاحمت یون برمید نیز با افزودن ۱۰۰۰ برابر وزنی نقره تا ۵۰۰ برابر برطرف شد.

جدول (۳-۱۱): نتایج حاصل از بررسی اثر مزاحمت‌ها در اندازه‌گیری غلظت ۰/۱۰ میکرو گرم بر میلی لیتر نیتريت

نوع گونه مورد بررسی	حد مجاز گونه مورد بررسی به نیتريت (w/w)
EDTA	۵۰۰۰*
Ag <sup>+</sup>	۲۵۰۰
K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>۲-</sup> , Cd <sup>۲+</sup> , Pb <sup>۲+</sup> , Sn <sup>۲+</sup> , Mn <sup>۲+</sup> , Co <sup>۲+</sup> , Zn <sup>۲+</sup> , Cr <sup>۳+</sup> , Al <sup>۳+</sup> , PO <sub>4</sub> <sup>۳-</sup> , C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>۲-</sup> , IO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , IO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , CN <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , فرمات،	۱۰۰۰
بنزوئیک اسید	۸۰۰
Ba <sup>۲+</sup>	۵۰۰
Cl <sup>-</sup>	۴۰۰
Ca <sup>۲+</sup>	۳۰۰
Ni <sup>۲+</sup>	۲۰۰
آسکوربیک اسید	۱۸۰
Fe <sup>۳+</sup> , Fe <sup>۲+</sup>	۱۰۰
Br <sup>-</sup>	۴۰
Cu <sup>۲+</sup>	۱

• بالاترین حد گونه بررسی شده

### ۳-۱-۱۹- بررسی کارایی روش در تجزیه نمونه‌های حقیقی

برای بررسی کارایی یک روش باید آن را در تجزیه نمونه‌های حقیقی به کار گرفت. روش پیشنهادی برای تعیین مقدار نیتريت در نمونه آب شهر شاهرود و سوسیس به کار برده شده است. در تهیه نمونه های آب، از آب شهر شاهرود به عنوان بافت ثابت نمونه استفاده شد. روش کار به این صورت بود در چندین بالن ۱۰۰ میلی لیتری حجم ثابتی از آب شهر (۸۰ میلی لیتر) منتقل و سپس مقادیر مشخصی از نیتريت به آنها اضافه گردیده به حجم رسانیده شد (در اولین بالن نیتريت اضافه نگردید) و سپس این نمونه‌ها با روش پیشنهادی مورد تجزیه قرار گرفت و نیتريت موجود در آنها اندازه‌گیری شد. هر اندازه‌گیری ۳ بار تکرار شد و در اندازه‌گیری‌ها از روش افزایش استاندارد استفاده گردید. نتایج در جدول (۳-۱۳) آمده است. مقدار بحرانی t برای ۳ اندازه‌گیری در سطح اطمینان ۹۵٪ برابر ۴/۳ می‌باشد. مقادیر بدست آمده برای t در جدول کمتر از این مقدار می‌باشند که نشان دهنده‌ی دقت و صحت خوب روش در اندازه‌گیری نیتريت در نمونه آب شهر می‌باشد.

جدول (۳-۱۲): تعیین مقدار نیتريت در نمونه آب شهر شاهرود

مقادیر محاسبه شده t	درصد بازیابی	نیتريت اندازه‌گیری شده (میکروگرم بر میلی لیتر)	نیتريت اضافه شده (میکروگرم بر میلی لیتر)	نمونه
-	-	<DL	-	۱
۱/۵	۹۰	۰/۰۳۶ (±۰/۰۰۴۶)	۰/۰۴۰	۲
۱	۹۵	۰/۰۵۷ (±۰/۰۰۵۲)	۰/۰۶۰	۳
۱/۳۸	۹۷/۵	۰/۰۷۸ (±۰/۰۰۲۵)	۰/۰۸۰	۴

اعداد داخل پرانتز نشان دهنده انحراف استاندارد ۳ اندازه‌گیری تکراری می‌باشند.

### ۳-۱-۲۰- اندازه گیری نیتريت در نمونه سوسيس

برای اندازه گیری نیتريت در نمونه سوسيس به این صورت عمل شد:

۱۰/۰ گرم از یک نمونه سوسيس را به دقت توزين کرده درون یک هاون کوبیده و ۵/۰۰ گرم از آن را در حجم مشخصی آب مقطر (کمتر از ۵۰ میلی لیتر) حل نموده سپس چندین بار به کمک قیف بوختر صاف شد. محلول حاصل به کمک کاغذ صافی واتمن شماره ۱ چندین بار صاف گردید. در مرحله بعد محلول زیر صافی رفلاکس شد. پس از جمع آوری محلول رفلاکس شده و صاف کردن، آن را به یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری منتقل نموده و توسط آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رساندیم. در هر اندازه گیری از ۱/۰ میلی لیتر از این محلول استفاده شد. برای اندازه گیری نیتريت در نمونه آماده شده سوسيس، از روش افزایش استاندارد استفاده شده است. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۴) آورده شده است. مانند قبل مقادير بدست آمده برای t در جدول کمتر از مقدار بحرانی t برای ۳ اندازه گیری یعنی ۴/۳ می باشد که نشان دهنده ی دقت و صحت خوب روش در اندازه گیری نیتريت در نمونه سوسيس می باشد.

جدول ۳-۱۳- اندازه گیری نیتريت در نمونه سوسيس

نمونه	نیتريت اضافه شده (میکروگرم بر میلی لیتر)	نیتريت اندازه گیری شده (میکروگرم بر میلی لیتر)	درصد بازیابی	مقادير محاسبه شده t	نیتريت موجود در نمونه سوسيس (میکروگرم بر گرم)
۱	-	۰/۰۳۵۹ (±۰/۰۰۳۴)	-	-	
۲	۰/۰۲۰۰	۰/۰۵۸۰ (±۰/۰۰۱۷)	۱۱۰/۵	۲/۱۴	۰/۷۲۰ (±۰/۰۶۸)
۳	۰/۰۳۰۰	۰/۰۶۴۰ (±۰/۰۰۵۹)	۹۳/۷	۰/۵۵	
۴	۰/۰۴۰۰	۰/۰۷۴۰ (±۰/۰۰۵۰)	۹۵/۳	۰/۶۶	

اعداد داخل پرانتز نشان دهنده ۳ بار اندازه گیری تکراری می باشد.

## **فصل چهارم**

### **اندازه‌گیری نیتريت و نیترات به روش**

### **اسپکتروفوتومتری**



#### ۴-۱- اندازه‌گیری نیترات و نیتريت به روش اسپكتروفتمتری

با توجه به اهمیت وجود نیترات در منابع مختلف که در بخش (۱-۲-۱) آورده شده است، امکان آلوده شدن محیط به ویژه آب‌ها توسط این ماده وجود دارد. اثرات سمی ناشی از غلظت‌های بالای نیترات، می‌طلبد تا یک روش با صحت و سرعت مناسب برای اندازه‌گیری آن ارائه شود. همچنین با توجه به حضور نیترات و نیتريت با هم در نمونه‌های آبی و امکان تبدیل نیترات به نیتريت در آنها ارائه یک روش برای اندازه‌گیری هر دوی آنها با هم ضروری است. در این پروژه، یک روش ساده و سریع با صحت خوب برای اندازه‌گیری نیترات و نیتريت ارائه می‌شود.

#### ۴-۱-۱- مواد شیمیایی مورد نیاز

کلیه مواد مورد استفاده در این پروژه موادی با خلوص تجزیه‌ای بوده که این مواد همراه با فرمول شیمیایی و نام شرکت سازنده آن‌ها در جدول (۴-۱) آورده شده است. در تهیه تمام محلول‌ها از آب دو بار تقطیر شده استفاده شده است.

جدول (۴-۱) مواد شیمیایی مورد استفاده

شرکت	فرمول	ماده
مرک	$KNO_3$	پتاسیم نیترات
فلوکا	$C_{15}N_4BrOH_{17}$	۲-۵-برمو-۲-پیریدیل آزو-۵-دی اتیل آمینو فنول (برموباداپ)
مرک	$KBrO_3$	پتاسیم برومات
مرک	$Cd$	گرانول کادمیوم
مرک	$HgCl_2$	جیوه کلراید
مرک	$H_2SO_4$	سولفوریک اسید
مرک	$NaOH$	سدیم هیدروکساید

#### ۴-۱-۲- مواد و محلول‌های مورد استفاده

محلول ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر نیترات از حل کردن ۰/۱۶۳ گرم پتاسیم نیترات در یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری و رقیق کردن آن تا خط نشانه به دست آمد. سایر محلول‌های استاندارد نیترات از رقیق کردن محلول استاندارد فوق تهیه گردید.

محلول ۰/۰۰۵۰ مولار برومات از حل کردن ۰/۰۸۳۵ گرم پتاسیم برومات در آب مقطر در یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری و رقیق کردن آن تا خط نشانه به دست آمد.

محلول  $10^{-4} \times 1/15$  مولار برموپاداپ از حل کردن ۰/۰۱۰۰ گرم برموپاداپ جامد در اتانول و رقیق کردن آن در یک بالن حجمی ۲۵۰ میلی لیتری تهیه گردید.

محلول سولفوریک ۲/۰ مولار از رقیق کردن ۱۱/۰ میلی لیتر از اسید غلیظ در یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری تهیه گردید سپس با سود استاندارد شده با پتاسیم هیدروژن فتالات، استاندارد شد. محلول‌های رقیق‌تر از این محلول تهیه گردید.

محلول ۲/۰ درصد وزنی- حجمی جیوه (II) کلراید از حل نمودن ۲/۰ گرم از نمک جیوه (II) کلراید در آب مقطر در یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری و رقیق نمودن آن تا خط نشانه بدست آمد.

#### ۴-۱-۳- تهیه کاهنده کادمیوم- جیوه

برای استفاده از گرانول‌های کادمیوم ابتدا مقدار مشخص از آنها را توزین نموده و سپس برای بر طرف نمودن ناخالصی‌های احتمالی آنها را ابتدا با ۱۰ میلی لیتر کلریدریک اسید ۱/۰ نرمال و سپس چندین بار با آب مقطر شستشو دادیم [۸۳]. برای تبدیل نیترات به نیتريت از عامل کاهنده کادمیوم- جیوه (ملغمه) استفاده شد، که روش آماده سازی به این صورت می باشد که در ابتدا مقدار ۲/۰ گرم گرانول کادمیوم شسته شده با ۱۰۰ میلی لیتر محلول ۲/۰ درصد جرمی- حجمی جیوه (II) کلراید برای مدت ۵/۰ دقیقه همزده شد سپس چندین بار با آب مقطر شسته شد [۸۴].

#### ۴-۱-۴- دستگاه های مورد استفاده

برای ثبت طیف‌های مرئی- ماوراء بنفش از یک اسپکتروفتومتر مرئی- ماوراء بنفش شیمادزو مدل-UV 160 با یک جفت سل شیشه‌ای ۱/۰ سانتی‌متری استفاده شد. برای اندازه‌گیری زمان از یک زمان سنج و برای کنترل و بررسی دما از یک حمام آب ترموستات دار n-BIOTEK مدل -NB301 و برای اندازه‌گیری‌های pH از یک دستگاه pH- متر مترام مدل ۷۴۴ مجهز به یک الکتروود مرکب شیشه- کالومل (۳/۰۰ مولار) استفاده شد. برای همزدن مخلوط جیوه (II) کلراید و گرانول کادمیوم از یک همزدن برقی هیدولف<sup>۱</sup> استفاده شد.

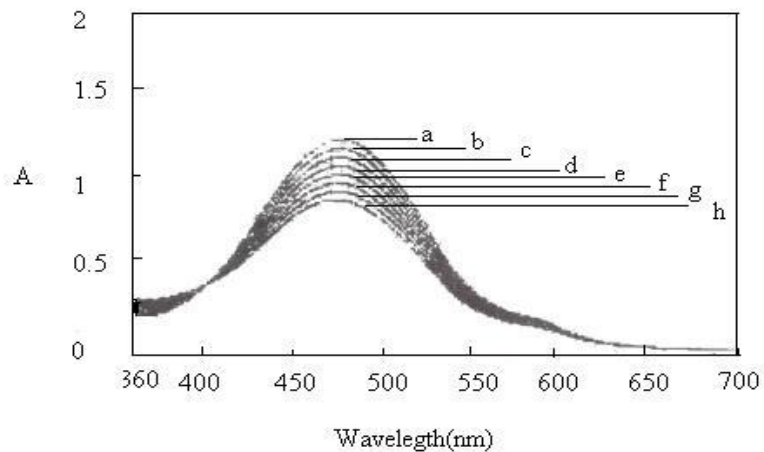
#### ۴-۱-۵- رسم طیف جذبی

برای به دست آوردن طیف جذبی محلول نمونه و شاهد به صورت زیر عمل شد:

۵۰ میلی لیتر محلول نیترات با غلظت ۱/۰ میلی گرم بر لیتر را به ۲/۰ گرم ملغمه کادمیوم- جیوه افزوده و سپس برای مدت ۲۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی همزده شد که در این مرحله نیترات به نیتريت تبدیل شده است. پس از تبدیل نیترات به نیتريت، به یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی لیتر محلول سولفوریک اسید ۱/۳ مولار، ۱/۰ میلی لیتر محلول احیا شده نیترات که صاف گردیده است با غلظت ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر، ۱/۰ میلی لیتر برموپاداپ  $10^{-4} \times 2/53$  مولار افزوده شد. پس از رقیق کردن تا حجم تقریبی ۸/۰ میلی لیتر، ۲/۰ میلی لیتر از پتاسیم برومات ۰/۰۰۵۰ مولار اضافه شد و پس از افتادن آخرین قطره کرونومتر روشن شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول مقدار معینی از محلول به سل اسپکتروفتومتر منتقل شد. پس از گذشت ۳۰ ثانیه از شروع واکنش در محدوده طول موجی ۳۶۰-۷۰۰ نانومتر ۸ طیف جذبی متوالی با فواصل زمانی ۳۰ ثانیه ثبت گردید (شکل ۴-۱). برای ثبت طیف جذبی محلول شاهد نیز به همین صورت عمل شد با این تفاوت که نیترات احیا شده اضافه نگردید. طیف‌های حاصل در شکل (۴-۲) نشان داده شده است. همانگونه که در این شکل مشخص است مانند قبل حضور نیتريت در نمونه باعث کاهش بیشتر جذب در طول موج ۴۶۶ نانومتر می شود. این مطلب همچنین در جدول (۳-۷) به تفصیل آورده شده

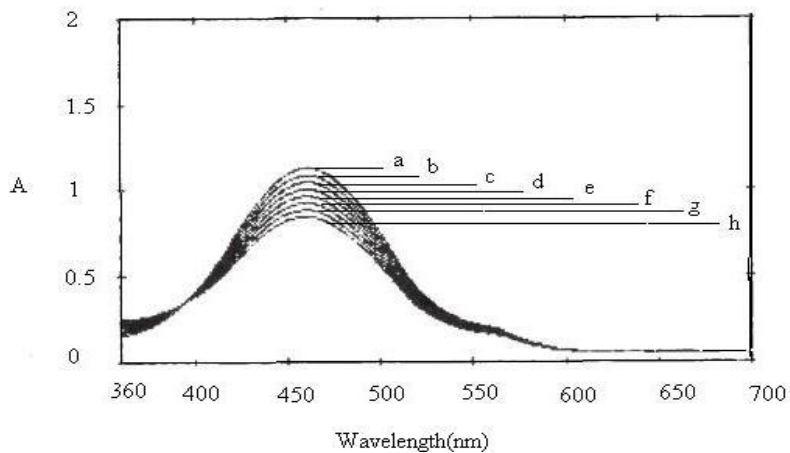
۱ - Hiedolph

است. بنابراین اختلاف تغییرات جذب نمونه و شاهد ( $\Delta A = \Delta A_s - \Delta A_b$ ) در فاصله ۳۰ تا ۲۴۰ ثانیه در طول موج ۴۶۶ نانومتر در بررسی‌های بعدی به عنوان سیگنال تجزیه‌ای انتخاب گردید.



شکل (۴-۱): تغییرات طیف جذبی نمونه با زمان

شرایط: نیترات ۰/۱۰ میلی گرم بر لیتر، برموپاداپ  $2/53 \times 10^{-5}$  مولار، سولفوریک اسید ۰/۱۳ مولار، ۰/۰۰۱۰ مولار پتاسیم برومات و دمای ۲۰/۰ درجه سانتی گراد، ۲/۰ گرم ملغمه کادمیوم-جیوه، زمان تماس محلول نیترات با ملغمه ۲۰ دقیقه، (a) ۳۰، (b) ۶۰، (c) ۹۰، (d) ۱۲۰، (e) ۱۵۰، (f) ۱۸۰، (g) ۲۱۰، (h) ۲۴۰ ثانیه پس از شروع واکنش.



شکل (۴-۲): تغییرات طیف جذبی شاهد با زمان

شرایط: برموپاداپ  $2/53 \times 10^{-5}$  مولار، سولفوریک اسید ۰/۱۳ مولار، ۰/۰۰۱۰ مولار پتاسیم برومات و دمای ۲۰/۰ درجه سانتی گراد، ۲/۰ گرم ملغمه کادمیوم-جیوه، زمان تماس محلول نیترات با ملغمه ۲۰ دقیقه، (a) ۳۰، (b) ۶۰، (c) ۹۰، (d) ۱۲۰، (e) ۱۵۰، (f) ۱۸۰، (g) ۲۱۰، (h) ۲۴۰ ثانیه پس از شروع واکنش.

#### ۴-۱-۶- بهینه سازی پارامترهای موثر بر راندمان تبدیل نیترات به نیتريت

پارامترهایی که بر راندمان تبدیل نیترات به نیتريت موثرند و مورد بررسی قرار گرفتند، عبارتند از:

۱- pH محیط

۲- مقدار گرم کاهنده کادمیوم- جیوه

۳- مدت زمان تماس محلول نیترات با کاهنده کادمیوم- جیوه

برای بررسی متغیرهای موثر بر واکنش از روش بهینه سازی یک متغیر در یک زمان استفاده شد. در این روش همه متغیرها ثابت در نظر گرفته شده و فقط پارامتری که باید بهینه شود تغییر داده می‌شود. برای حصول صحت لازم، هر اندازه‌گیری دو بار تکرار شد. کمیت اندازه‌گیری شده در بهینه کردن متغیرهای فوق، اختلاف تغییرات جذب نمونه و شاهد ( $\Delta A = \Delta A_s - \Delta A_b$ ) در فاصله زمانی ۳۰ تا ۲۴۰ ثانیه پس از شروع واکنش در طول موج ۴۶۶ نانومتر بود.

#### ۴-۱-۷- روش کار بهینه سازی پارامترهای موثر بر راندمان تبدیل نیترات به نیتريت

در بهینه سازی پارامترهای موثر بر راندمان تبدیل نیترات به نیتريت بصورت زیر عمل شد:

به یک بالن حجمی ۱۰/۰ میلی لیتری، به ترتیب ۱/۰ میلی لیتر سولفوریک اسید ۱/۳ مولار، ۱/۰ میلی لیتر محلول حاصل از تبدیل نیترات ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر به نیتريت و ۱/۰ میلی لیتر محلول برم—و پاداپ  $10^{-4} \times 2/53$  مولار افزوده و تا حجم تقریبی ۸/۰ میلی لیتر رقیق شد. سپس ۲/۰ میلی لیتر از پتاسیم برومات ۰/۰۵۰ مولار افزوده شد و پس از افتادن آخرین قطره کرنومتر روشن شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول، در مدت ۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش، قسمتی از آن به سل دستگاه منتقل و تغییرات جذب محلول در گستره زمانی ۳۰-۲۴۰ ثانیه پس از شروع واکنش، در طول موج ۴۶۶ نانومتر اندازه‌گیری و  $\Delta A_s$  محاسبه گردید. برای ثبت تغییرات جذب محلول شاهد نیز به همین ترتیب عمل شد با این تفاوت که به آن محلول حاصل از تبدیل نیترات به نیتريت افزوده نشد ( $\Delta A_b$ ). اختلاف تغییرات جذب شاهد ( $\Delta A_b$ ) و نمونه ( $\Delta A_s$ )،  $(\Delta A = \Delta A_s - \Delta A_b)$ ، بعنوان سیگنال تجزیه‌ای انتخاب شد.

#### ۴-۱-۸- بررسی اثر pH محیط بر راندمان تبدیل نیترات به نیتريت

اثر pH محیط بر روی سیگنال تجزیه‌ای در محدوده ۹/۰-۲/۰ pH با استفاده از سولفوریک اسید و سدیم هیدروکسید بررسی شد. در این بررسی بصورت زیر عمل شد:

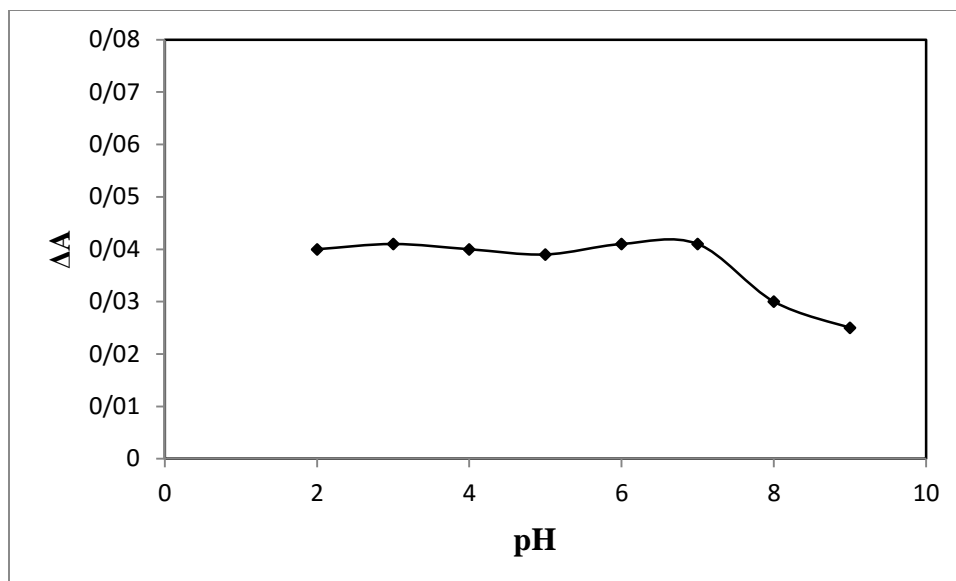
در یک بالن حجمی ۵۰ میلی لیتری ۵/۰ میلی لیتر محلول نیترات ۱۰/۰ میلی گرم بر لیتر افزوده شد سپس با آب مقطر تا حدود ۴۰ میلی لیتر رقیق گردید. سپس با افزودن سولفوریک اسید یا سدیم هیدروکسید pH محیط بین ۲/۰ تا ۹/۰ تنظیم شد، سپس به حجم رسانیده شد. در مرحله بعد نیترات به ۲/۰ گرم کاهنده کادمیوم- جیوه افزوده شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیقه هم زده شد. سیگنال تجزیه‌ای مطابق روش ارائه شده در قسمت (۴-۱-۶) اندازه‌گیری شد. نتایج حاصله در جدول (۴-۲) و شکل (۴-۳) آورده شده است. با توجه به نتایج حاصل، pH محیط تا ۷/۰ تاثیری بر راندمان تبدیل نیترات به نیتريت ندارد ولی در pH های بالاتر سیگنال تجزیه‌ای کاهش می‌یابد.



با توجه به واکنش بالا در محیط بازی (در حضور غلظت بالای  $\text{OH}^-$ ) طبق اصل لوشاتلیه واکنش به سمت راست جابجا شده در نتیجه راندمان تبدیل نیترات به نیتريت کاهش می‌یابد. بنابراین در بررسی‌های بعدی برای تبدیل نیترات به نیتريت، pH نمونه‌های آب در محدوده ۲-۷ نگه داشته شد.

جدول ۴-۲- بررسی اثر pH بر راندمان تبدیل

pH	$\Delta A_s$	$\Delta A_b$	$\Delta A_s - \Delta A_b$
۲/۰	۰/۷۲۵	۰/۶۸۵	۰/۰۴۰
۳/۰	۰/۷۲۷	۰/۶۸۶	۰/۰۴۱
۴/۰	۰/۷۱۹	۰/۶۷۹	۰/۰۴۰
۵/۰	۰/۷۲۱	۰/۶۸۲	۰/۰۳۹
۶/۰	۰/۷۲۸	۰/۶۸۷	۰/۰۴۱
۷/۰	۰/۷۳۱	۰/۶۹۰	۰/۰۴۱
۸/۰	۰/۷۱۲	۰/۶۸۲	۰/۰۳۰
۹/۰	۰/۷۱۴	۰/۶۸۹	۰/۰۲۵



شکل (۴-۳): بررسی pH محیط

شرایط: سولفوریک اسید ۰/۱۳ مولار، ۰/۱۰ میکرو گرم بر میلی لیتر نیترات، برموپاداپ  $2/53 \times 10^{-5}$  مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۰۱۰ مولار، ۲/۰ گرم کاهنده کادمیوم- جیوه، زمان تماس محلول نیترات با ملغمه ۱۵ دقیقه.

#### ۴-۱-۹- اثر مقدار کاهنده کادمیوم- جیوه بر روی سیگنال تجزیه‌ای

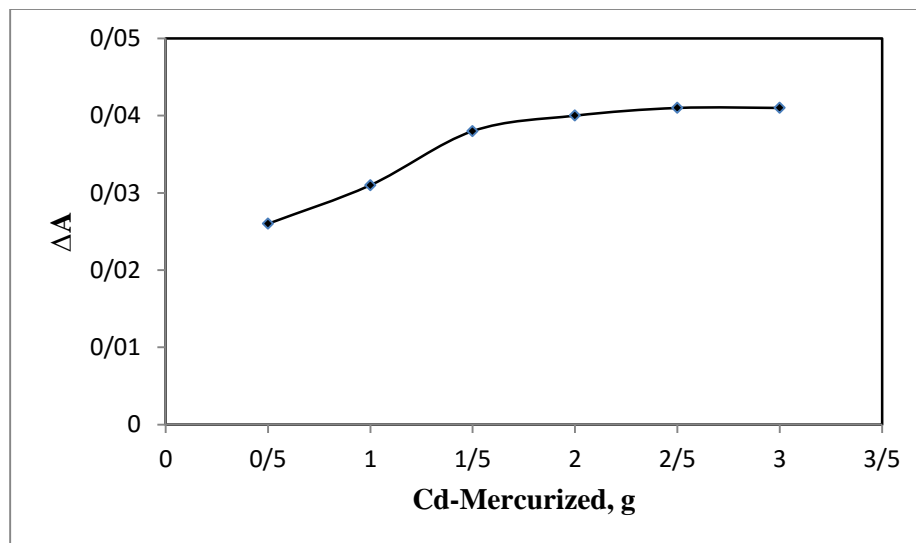
اثر مقدار کاهنده کادمیوم- جیوه بر روی سیگنال تجزیه‌ای در محدوده ۳/۰-۰/۵۰ گرم از آن بررسی شد.

در این بررسی روش کار به صورت زیر بود:

۵۰ میلی لیتر نیترات با غلظت ۱/۰ میلی گرم بر لیتر به وزن‌های معینی از ملغمه کادمیوم- جیوه افزوده شد و برای مدت ۱۵ دقیقه روی همزن مغناطیسی همزده شد. سپس سیگنال تجزیه‌ای مطابق روش ارائه شده در قسمت (۴-۱-۶) اندازه‌گیری شد. نتایج حاصله در جدول (۴-۳) و شکل (۴-۴) آورده شده است. با توجه به نتایج حاصل، با افزایش وزن ملغمه کادمیوم- جیوه تا ۱/۵ گرم سیگنال تجزیه‌ای افزایش یافته و پس از آن سیگنال تجزیه‌ای ثابت می‌باشد. می‌توان گفت که با افزایش مقدار ملغمه کادمیوم- جیوه سطح تماس آن با محلول نیترات افزایش یافته در نتیجه راندمان تبدیل افزایش می‌یابد. بنابراین برای اطمینان از کافی بودن مقدار ملغمه کادمیوم- جیوه، وزن ۲/۰ گرم از آن برای بررسی‌های بعدی انتخاب شد.

جدول ۴-۳- اثر مقدار ملغمه کادمیوم- جیوه بر راندمان تبدیل

ملغمه (گرم)	$\Delta A_s$	$\Delta A_b$	$\Delta A_s - \Delta A_b$
۰/۵	۰/۷۰۶	۰/۶۸۰	۰/۰۲۶
۱/۰	۰/۷۰۹	۰/۶۷۸	۰/۰۳۱
۱/۵	۰/۷۱۹	۰/۶۸۱	۰/۰۳۸
۲/۰	۰/۷۲۴	۰/۶۸۴	۰/۰۴۰
۲/۵	۰/۷۲۷	۰/۶۸۶	۰/۰۴۱
۳/۰	۰/۷۲۹	۰/۶۸۸	۰/۰۴۱



شکل (۴-۴): بررسی مقدار کاهنده کادمیوم- جیوه در احیای نیترات

شرایط: سولفوریک اسید ۰/۱۳ مولار، ۰/۱ میکروگرم بر میلی لیتر نیترات، برموپاداپ  $10^{-5} \times 2/53$  مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۰۱۰ مولار، زمان تماس محلول نیترات با ملغمه کادمیوم- جیوه ۱۵ دقیقه.



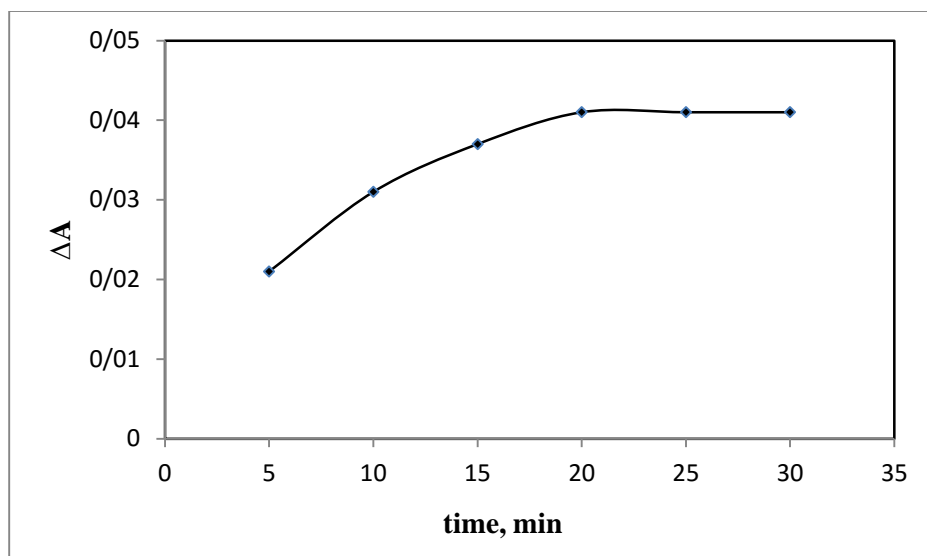
#### ۴-۱-۱۰- بررسی اثر مدت زمان تماس محلول نیترات با کاهنده کادمیوم- جیوه

اثر مدت زمان تبدیل نیترات به نیتريت بر روی سیگنال تجزیه‌ای در محدوده ۳۰/۰-۵/۰ دقیقه بررسی شد. در این بررسی بصورت زیر عمل شد:

۵۰ میلی لیتر نیترات با غلظت ۱/۰ میلی گرم بر لیتر به ۲/۰ گرم کاهنده کادمیوم- جیوه افزوده و در زمان‌های مختلف هم زده شد. سیگنال تجزیه‌ای مطابق روش ارائه شده در قسمت (۴-۱-۶) اندازه‌گیری شد. نتایج حاصله در جدول (۴-۴) و شکل (۴-۵) آورده شده است. با توجه به نتایج حاصل، با افزایش مدت زمان تماس محلول نیترات با کاهنده کادمیوم- جیوه تا ۱۵ دقیقه سیگنال تجزیه‌ای افزایش و پس از آن سیگنال تجزیه‌ای ثابت باقی مانده است. واضح است که با افزایش زمان تماس، محلول نیترات فرصت بیشتری دارد تا در تماس با ملغمه کادمیوم- جیوه قرار گرفته و به نیتريت تبدیل شود. لذا برای اطمینان از کافی بودن مدت زمان تماس محلول نیترات با ملغمه، مدت زمان ۲۰ دقیقه به عنوان زمان تماس بهینه محلول نمونه با ملغمه کادمیوم- جیوه انتخاب شد.

جدول ۴-۴- بررسی اثر مدت زمان تماس محلول نیترات با ملغمه بر راندمان تبدیل

زمان تبدیل (دقیقه)	$\Delta A_s$	$\Delta A_b$	$\Delta A_s - \Delta A_b$
۵/۰	۰/۶۹۲	۰/۶۶۹	۰/۰۲۳
۱۰/۰	۰/۷۰۷	۰/۶۷۶	۰/۰۳۱
۱۵/۰	۰/۷۱۲	۰/۶۷۳	۰/۰۳۹
۲۰/۰	۰/۷۱۷	۰/۶۷۶	۰/۰۴۱
۲۵/۰	۰/۷۲۱	۰/۶۸۰	۰/۰۴۱
۳۰/۰	۰/۷۲۴	۰/۶۸۳	۰/۰۴۱



شکل (۴-۵): بررسی اثر مدت زمان تماس محلول نیترات با ملغمه بر راندمان تبدیل شرایط: سولفوریک اسید ۰/۱۳ مولار، ۰/۱۰ میکرو گرم بر میلی لیتر نیترات، برموپاداپ  $10^{-5} \times 2/53$  مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۰۱۰ مولار، ۲/۰ گرم ملغمه کادمیوم- جیوه، pH در محدوده ۲-۷.

#### ۴-۱-۱۱- شرایط بهینه

با توجه به نتایج به دست آمده از بررسی و بهینه سازی پارامترهای موثر بر واکنش تبدیل نیترات به نیتريت، شرایط بهینه زیر برای تبدیل نیترات به نیتريت انتخاب شد و سپس در شرایط بهینه منحنی کالیبراسیون رسم شد.

۱- pH در محدوده ۲-۷

۲- ۲/۰ گرم کاهنده کادمیوم- جیوه

۴- مدت زمان تماس محلول نیترات با ملغمه کادمیوم- جیوه ۲۰ دقیقه.

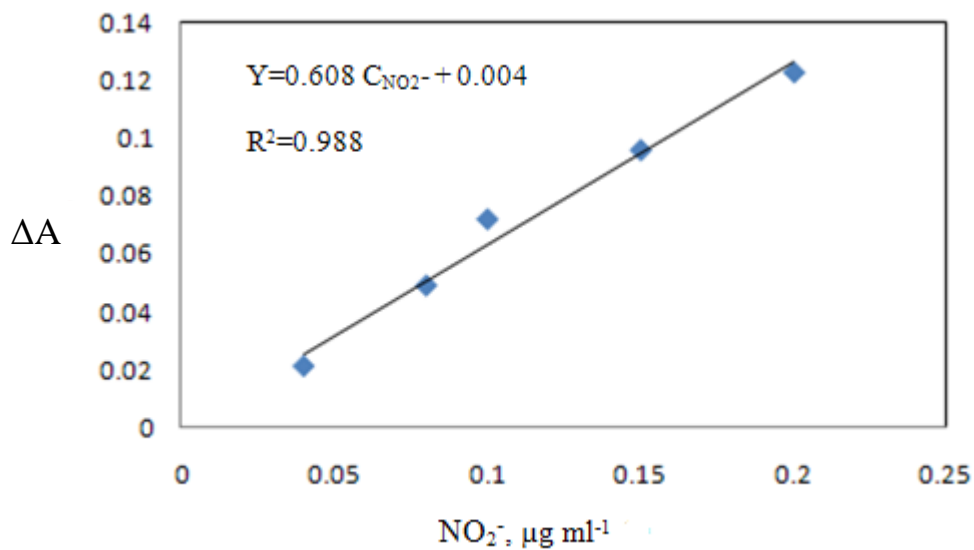
#### ۴-۱-۱۲- بررسی اثر احتمالی جذب سطحی نیتريت بر روی کاهنده کادميوم- جيوه

##### ۴-۱-۱۲-۱- رسم منحنی کالیبراسون نیتريت در حضور کاهنده کادميوم- جيوه

برای اندازه‌گیری نیتريت لازم است که محلول نمونه حاوی نیتريت به ملغمه افزوده شود تا نیتريت به نیتريت کاهیده شود. از آنجا که احتمال میرفت که نیتريت در طی تبدیل به نیتريت، بر روی ملغمه جذب سطحی شود، اثر احتمالی جذب سطحی نیتريت بر روی ملغمه مورد بررسی قرار گرفت. روش کار به این صورت بود که پنج غلظت مختلف نیتريت در دامنه خطی آن انتخاب شد. محلول نمونه حاوی نیتريت به ۲/۰ گرم ملغمه کادميوم- جيوه افزوده شد و به مدت ۲۰ دقیقه همزده شد. سپس سیگنال تجزیه‌ای برای محلول‌های نیتريت در حضور ملغمه (جدول (۴-۵) و شکل (۴-۶)) و نیز در غیاب ملغمه (جدول (۴-۶) و شکل (۴-۷)) اندازه‌گیری گردید و منحنی کالیبراسيون برای هر یک جداگانه رسم شد. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که نیتريت بر روی ملغمه جذب سطحی نمی‌شود.

جدول (۴-۵): منحنی کالیبراسیون برای نیتريت در حضور ملغمه

غلظت نیتريت بر حسب میلی گرم بر لیتر	$\Delta A_s - \Delta A_b$
۰/۰۴	۰/۰۲۷
۰/۰۸	۰/۰۴۹
۰/۱۰	۰/۰۷۲
۰/۱۵	۰/۰۹۶
۰/۲۰	۰/۱۲۴



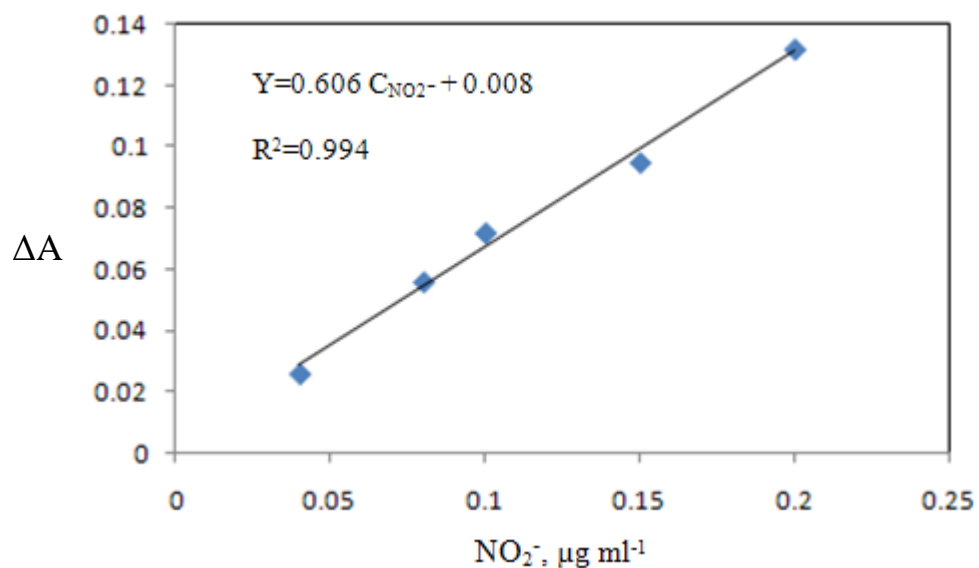
شکل (۴-۶): منحنی کالیبراسیون نیتريت در حضور کاهنده کادمیوم - جیوه

شرایط: سولفوریک اسید ۰/۱۳ مولار ، برموپاداپ  $2/53 \times 10^{-5}$  مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۰۱۰ مولار، ۲/۰ گرم کاهنده

کادمیوم- جیوه ، زمان تماس محلول نیتريت با ملغمه ۲۰ دقیقه، pH در محدوده ۷-۲.

جدول (۴-۶): منحنی کالیبراسیون نیتريت در غياب کاهنده

غلظت نیتريت بر حسب ميلي گرم بر ليتر	$\Delta A_s - \Delta A_b$
۰/۰۴	۰/۰۳۳
۰/۰۸	۰/۰۵۶
۰/۱۰	۰/۰۷۲
۰/۱۵	۰/۰۹۵
۰/۲۰	۰/۱۳۲



شکل (۴-۷): منحنی کالیبراسیون نیتريت در غياب کاهنده کادمیوم- جیوه

شرایط: سولفوریک اسید ۰/۱۳ مولار ، برموپاداپ  $2/53 \times 10^{-5}$  مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۰۱۰ مولار دمای ۲۰/۰ درجه سانتی گراد، pH در محدوده ۲-۷.

#### ۴-۱-۱۳- رسم منحنی کالیبراسیون

در شرایط بهینه غلظتی منحنی کالیبراسیون (درجه بندی) برای اندازه‌گیری نیترات به دست آمد. روش کار برای استخراج منحنی کالیبراسیون به صورت زیر بود:

به یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری، ابتدا ۱/۰ میلی لیتر سولفوریک اسید ۱/۳ مولار، غلظت‌های متفاوت از محلول نیترات احیا شده به نیتريت (سیگنال ۰/۱ میلی گرم بر لیتر هم با ۱/۰ میلی لیتر از ۱/۰ میلی گرم بر لیتر و هم با ۰/۵ میلی لیتر از ۲/۰ میلی گرم بر لیتر اندازه‌گیری شد که نتایج یکسان بود) و سپس ۱/۰ میلی لیتر محلول برموپاداپ با غلظت  $2/53 \times 10^{-4}$  مولار افزوده و تا حجم تقریبی ۸/۰ میلی لیتر رقیق شد. سپس ۲/۰ میلی لیتر از پتاسیم برومات ۰/۰۰۵۰ مولار افزوده شد و پس از افتادن آخرین قطره کرنومتر روشن شد. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول، در مدت ۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش، قسمتی از آن به سل دستگاه منتقل و تغییرات جذب محلول در برابر آب مقطر در گستره زمانی ۲۴۰-۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش، در طول موج ۴۶۶ نانومتر اندازه‌گیری گردید. برای محلول شاهد نیز به همین ترتیب عمل شد با این تفاوت که به محلول شاهد نیتريت حاصل از احیا نیترات اضافه نگردید. منحنی کالیبراسیون از رسم اختلاف تغییرات جذب محلول نمونه و شاهد ( $\Delta A_s - \Delta A_b$ ) در طول موج ۴۶۶ نانومتر، بر حسب غلظت نیترات به دست آمد.

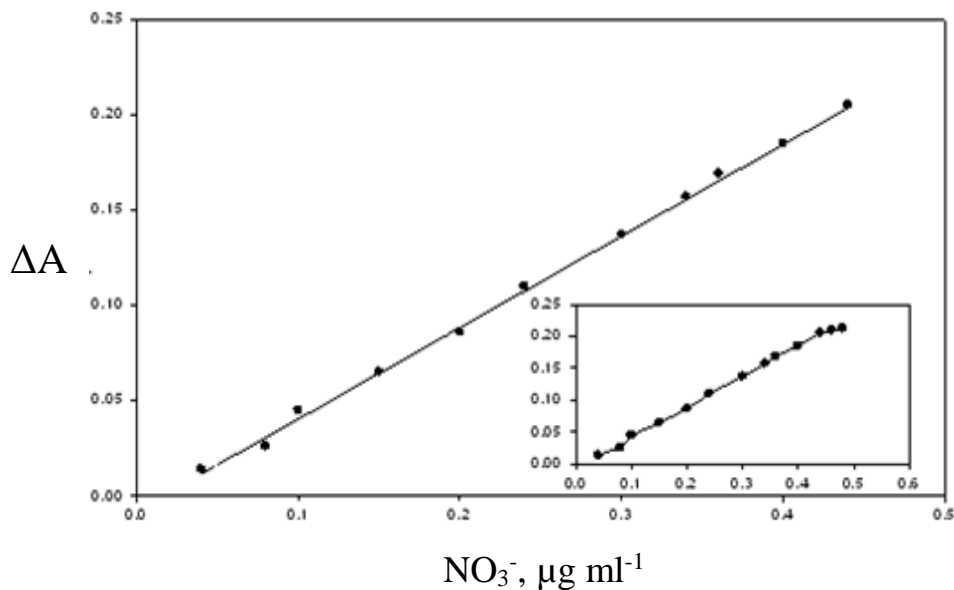
نتایج به دست آمده و منحنی کالیبراسیون به ترتیب در جدول (۴-۷) و شکل (۴-۸) آورده شده است. معادله منحنی کالیبراسیون برای محدوده غلظتی ۰/۴۴۰-۰/۰۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر نیترات به صورت زیر است.

$$\Delta A = 0/475 C_{NO_3^-} - 0/004 \quad (n=11, r=0/999)$$

در این رابطه  $\Delta A$  اختلاف تغییرات جذب محلول نمونه و شاهد در فاصله زمانی ۳۰ تا ۲۴۰ ثانیه پس از شروع واکنش در طول موج ۴۶۶ نانومتر ( $\Delta A_s - \Delta A_b$ ) و  $C_{NO_3^-}$  غلظت نیترات بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر است.

جدول (۴-۷): سیگنال تجزیه ای بدست آمده برای غلظت‌های مختلف نیترات در محدوده غلظتی ۰/۰۴۰-۰/۴۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر نیترات

(میکرو گرم بر میلی لیتر) $C_{Nitrate}$	$\Delta A$
۰/۰۴۰	۰/۰۱۴
۰/۰۸	۰/۰۳۶
۰/۱۰۰	۰/۰۴۲
۰/۱۵۰	۰/۰۶۵
۰/۲۰۰	۰/۰۸۶
۰/۲۴۰	۰/۱۱۰
۰/۳۰۰	۰/۱۳۸
۰/۳۴۰	۰/۱۵۷
۰/۳۶۰	۰/۱۶۹
۰/۴۰۰	۰/۱۸۵
۰/۴۴۰	۰/۲۰۵



شکل (۴-۸): منحنی کالیبراسیون در محدوده غلظتی ۰/۴۰-۰/۰۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر نیترات شرایط: سولفوریک اسید ۰/۱۳ مولار ، برموپاداپ  $2/53 \times 10^{-5}$  مولار، پتاسیم برومات ۰/۰۰۱۰ مولار، ۲/۰ گرم گرانول کادمیوم جیوه دار شده ، زمان تماس محلول نیترات با ملغمه ۲۰ دقیقه، pH در محدوده ۲-۷.

#### ۴-۱-۱۴- بررسی دقت و صحت روش

برای مطالعه دقت و صحت روش، غلظت‌های متفاوتی از نیترات در محدوده خطی منحنی کالیبراسیون انتخاب شد و محلول‌هایی با غلظت انتخاب شده نیترات و شرایط بهینه سایر اجزاء ساخته شد. برای هر یک از غلظت‌های انتخاب شده ۶ بار اندازه‌گیری تکراری انجام شد و با استفاده از منحنی کالیبراسیون مربوطه، غلظت معادل به دست آمد. سپس میانگین و انحراف استاندارد نتایج برای هر غلظت محاسبه گردید. نتایج به دست آمده در جدول (۴-۸) نشان داده شده است.



جدول (۴-۸): نتایج مربوط به بررسی دقت و صحت روش پیشنهادی

مقادیر محاسبه شده $t$	درصد بازیابی	نیترات اندازه‌گیری شده بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر	نیترات موجود بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر
۲/۳۳	۹۲/۰	۰/۰۴۶ ( $\pm 0/004$ )	۰/۰۵۰
۰/۲۱۰	۹۹/۵	۰/۱۹۹ ( $\pm 0/008$ )	۰/۲۰۰
۱/۰۸	۹۸/۳	۰/۲۹۵ ( $\pm 0/008$ )	۰/۳۰۰

\*اعداد داخل پرانتز نشان دهنده انحراف استاندارد ۶ اندازه‌گیری تکراری می‌باشد.

#### ۴-۱-۱۵- حد تشخیص روش

حد تشخیص یک روش را می‌توان با استفاده از رابطه زیر محاسبه نمود:

$$L.O.D = \frac{k \cdot S_b}{m} \quad (1-4)$$

در این رابطه  $k$  ضریب اطمینان و بر اساس تعریف کیزر، برابر ۳ تعریف می‌شود [۶۱].  $S_b$  انحراف استاندارد سیگنال‌های تکراری اندازه‌گیری شده برای شاهد و  $m$  شیب منحنی کالیبراسیون است. برای به دست آوردن حد تشخیص تئوری روش به صورت زیر عمل شد:

به یک بالن حجمی ۱۰ میلی‌لیتری ابتدا ۱/۰ میلی‌لیتر سولفوریک اسید ۱/۳ مولار، ۱/۰ میلی‌لیتر محلول برموپاداپ  $10^{-4} \times 2/53$  مولار برموپاداپ افزوده و تا حجم تقریبی ۸/۰ میلی‌لیتر رقیق شد و سپس ۲/۰ میلی‌لیتر پتاسیم برومات ۰/۰۰۵۰ مولار افزوده و با آب مقطر به حجم رسانده شد. پس از یکنواخت کردن محلول و انتقال قسمتی از آن به سل دستگاه، تغییرات جذب محلول در فاصله زمانی ۳۰ تا ۲۴۰ ثانیه پس از شروع واکنش در طول موج ۴۶۶ نانومتر اندازه‌گیری گردید. تغییرات جذب محلول شاهد ده بار اندازه‌گیری شد و مقدار انحراف استاندارد برای تغییرات جذب شاهد محاسبه گردید. در نتیجه با توجه به رابطه (۳-۱) مقدار حد تشخیص تئوری روش ۰/۰۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد.

$$L.O.D = \frac{3 \times 0.00507}{0.475} = 0.032 \mu\text{gml}^{-1}$$

#### ۴-۱-۱۶- بررسی اثر مزاحمت‌ها

یکی از مهمترین مراحل در توسعه یک روش تجزیه‌ای بررسی مزاحمت‌های احتمالی گونه‌های مختلف در اندازه‌گیری گونه مورد نظر به منظور استفاده از آن روش در تجزیه نمونه‌های حقیقی است. با بررسی مزاحمت‌ها می‌توان به میزان گزینش پذیری یک روش پی برد. به همین منظور مزاحمت احتمالی تعداد زیادی از آنیون‌ها و کاتیون‌ها مورد بررسی قرار گرفت. روش کار به صورت زیر بود:

در یک بالن ۵۰ میلی لیتری که نسبت به نیترات ۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود، مقدار مشخص از گونه مزاحم افزوده شده و پس از تبدیل نیترات به نیتريت سیگنال یک میلی لیتر از این محلول مطابق روش ارائه شده در قسمت (۴-۱-۵) اندازه‌گیری شد و مزاحمت احتمالی کاتیون‌ها و آنیون‌های مختلف در طول موج ۴۶۶ نانومتر بررسی شد. در بررسی مزاحمت‌ها ابتدا تغییرات جذب نمونه در غیاب گونه مزاحم در شرایط فوق ۶ بار اندازه‌گیری شد و انحراف استاندارد و سیگنال میانگین محاسبه گردید و محدوده سیگنال ( $\Delta\bar{A} \pm 3S$ ) به دست آمد. برای بررسی اثر مزاحمت هر گونه، گونه مزاحم به میزان هزار برابر وزنی نیترات اضافه گردید و سیگنال اندازه‌گیری شد. اگر این سیگنال در حضور گونه مزاحم در محدوده سیگنال ( $\Delta\bar{A} \pm 3S$ ) قرار داشت، به این معنا است که گونه مورد نظر با نسبت موجود مزاحم نیست. در غیر این صورت نسبت گونه مزاحم به نیترات مرتبا کم شد تا مزاحمت مشاهده نشود. نتایج حاصل از بررسی در جدول (۴-۹) نشان داده شده است. تنها مزاحم جدی گونه مس(II) بود که برای برطرف نمودن مزاحمت آن در یک بالن ۵۰ میلی لیتری که نسبت به نیترات ۱/۰ میلی گرم بر لیتر و نسبت به مس(II) ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر بود، به میزان ۲۰۰۰ برابر وزنی EDTA افزوده شد و پس از تبدیل نیترات به نیتريت سیگنال تجزیه‌ای اندازه‌گیری شد. مشاهده شد که مزاحمت مس(II) تا ۱۰۰ برابر برطرف شد.

جدول (۴-۹): نتایج حاصل از بررسی اثر مزاحمت‌ها در اندازه‌گیری غلظت ۰/۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر نیترات

نوع گونه مورد بررسی	حد مجاز گونه مورد بررسی به نیترات (w/w)
EDTA	۴۰۰۰*
$K^+$ , $Na^+$ , $Sn^{2+}$ , $Mn^{2+}$ , $Co^{2+}$ , $Zn^{2+}$ , $Cr^{3+}$ , $Al^{3+}$ , $SO_4^{2-}$	۱۰۰۰
بنزوئیک اسید	۸۰۰
$Pb^{2+}$ , $CN^-$ , $Cl^-$ , $Cd^{2+}$	۴۰۰
$Ca^{2+}$ , $IO_3^-$ , $IO_4^-$	۳۰۰
فرمات, اگزالات	۲۵۰
$Ni^{2+}$	۲۰۰
آسکوربیک اسید	۱۵۰
$Fe^{2+}$ , $Fe^{3+}$ , $Ba^{2+}$	۱۰۰
$PO_4^{3-}$ , $Br^-$	۵۰
$Cu^{2+}$	۱

• بالاترین حد گونه بررسی شده

#### ۱۷-۱-۴- بررسی کارایی روش

برای بررسی کارایی یک روش باید آن را در تجزیه نمونه‌های حقیقی به کار گرفت. روش پیشنهادی برای تعیین مقدار نیترات در نمونه آب شهر به کار برده شده است. در تهیه نمونه های آب، از آب شهر شاهرود به عنوان بافت ثابت نمونه استفاده شد. روش کار به این صورت بود که در چندین بالن ۵۰ میلی لیتری حجم ثابتی از آب شهر (۳۰ میلی لیتر) منتقل و سپس مقادیر مشخصی از نیترات به آنها اضافه گردید و به حجم رسانیده شد (در اولین بالن نیترات اضافه نگردید). سپس هر نمونه در شرایط بهینه ذکر شده در بخش (۱۰-۱-۴) به نیتريت تبدیل شد و با روش پیشنهادی مورد تجزیه قرار گرفت و نیترات موجود در آنها اندازه گیری شد. هر اندازه گیری ۳ بار تکرار شد و در اندازه گیری‌ها از روش افزایش استاندارد استفاده گردید. نتایج در جدول (۱۰-۴) آمده است.

جدول (۱۰-۴): تعیین مقدار نیترات در نمونه آب شهر شاهرود

مقادیر محاسبه شده $t$	درصد بازیابی	نیترات اندازه گیری شده (میکروگرم بر میلی لیتر)	نیترات افزوده شده (میکروگرم بر میلی لیتر)
-	-	<D.L	۰/۱۰۰
۱/۳۳	۹۵/۰	۰/۰۹۵ ( $\pm 0/0065$ )	۰/۱۰۰
۱/۰۱	۱۰۲/۵	۰/۲۰۵ ( $\pm 0/0085$ )	۰/۲۰۰
۱/۳۸	۱۰۲/۰	۰/۳۰۶ ( $\pm 0/0075$ )	۰/۳۰۰

اعداد داخل پرانتز نشان دهنده ۳ بار اندازه گیری تکراری است.

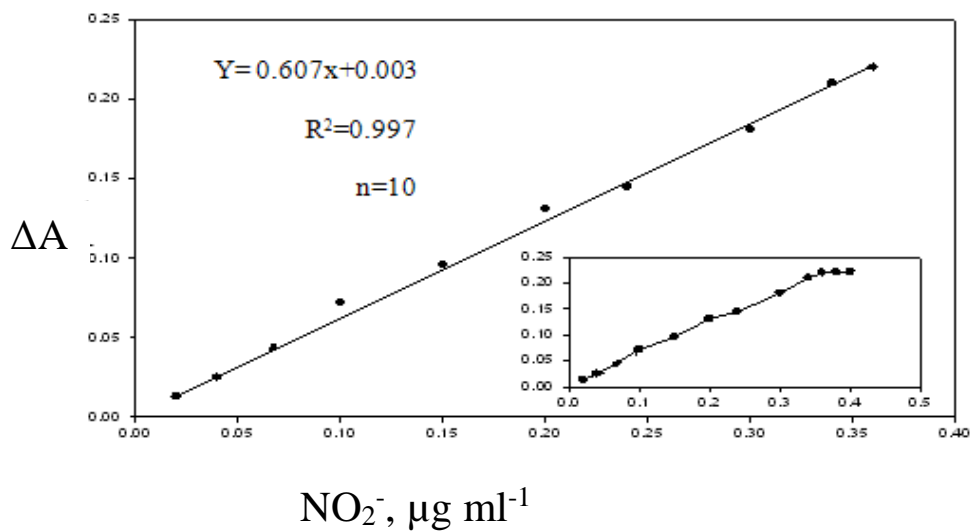
#### ۱۸-۱-۴- اندازه گیری نیترات و نیتريت در حضور هم

در این قسمت ابتدا منحنی کالیبراسیون برای نیتريت (جدول (۱۱-۴) و شکل (۹-۴)) در حضور غلظت‌های یکسان از نیترات رسم شد بدون اینکه محلول حاصل در تماس با ملغمه قرار بگیرد ( $\Delta A_{NO_2}$ ). این عمل تا آخرین نقطه از دامنه خطی نیتريت ادامه پیدا کرد. پس از آن منحنی کالیبراسیون برای نیترات (جدول (۱۱-۴))

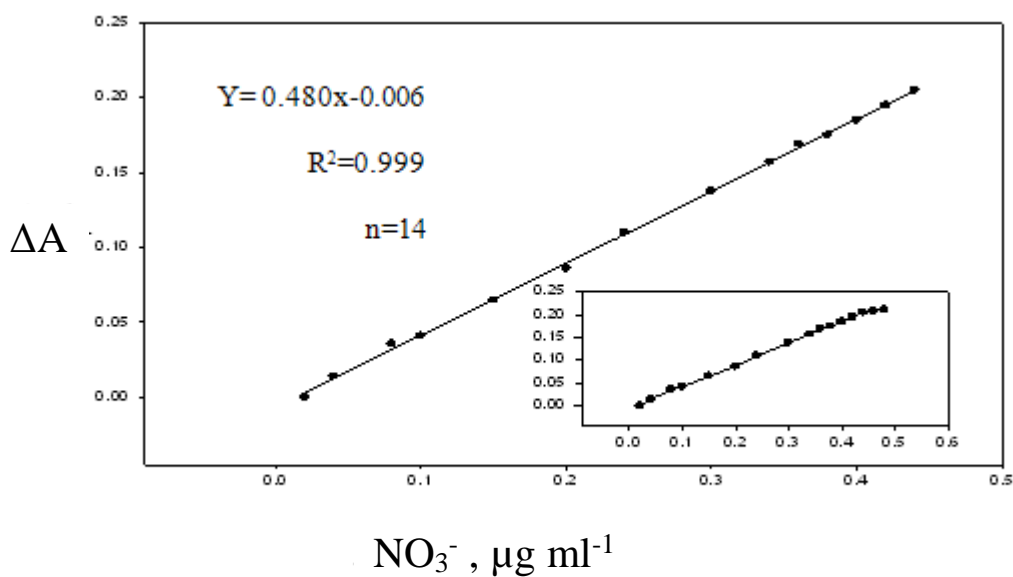
و شکل (۴-۱۰) رسم شد با این تفاوت که هر محلول این بار به مدت ۲۰ دقیقه در تماس با ملغمه قرار گرفت. در این مرحله اختلاف تغییرات جذب برای مجموع نیترات و نیتريت بدست آمد ( $\Delta A_T$ ) لذا از تفاضل اختلاف تغییرات جذب نیتريت و جذب کل ( $\Delta A_{NO_3^-} = \Delta A_T - \Delta A_{NO_2^-}$ )، اختلاف تغییرات جذب نیترات و شاهد بدست می‌آید. لازم به ذکر است که در این اندازه‌گیری ها نیز  $\Delta A_b$  در شرایط بهینه اندازه‌گیری شد. بنابراین  $\Delta A_{NO_2^-}$  برابر است با  $\Delta A_s - \Delta A_b$ .

جدول (۴-۱۱): سیگنال تجزیه ای بدست آمده برای غلظت‌های مختلف نیتريت و نیترات در حضور یکدیگر

$C_{NO_3^-}$ (میکرو گرم بر میلی لیتر)	$C_{NO_2^-}$ (میکرو گرم بر میلی لیتر)	$\Delta A_{NO_2^-}$	$\Delta A_T$	$\Delta A_{NO_3^-}$
۰/۰۲۰	۰/۰۲۰	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۰۰
۰/۰۴۰	۰/۰۴	۰/۰۲۵	۰/۰۳۹	۰/۰۱۴
۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۴۹	۰/۰۸۵	۰/۰۳۶
۰/۱۰۰	۰/۱۰۰	۰/۰۷۲	۰/۱۱۳	۰/۰۴۱
۰/۱۵۰	۰/۱۵۰	۰/۰۹۶	۰/۱۶۱	۰/۰۶۵
۰/۲۰۰	۰/۲۰۰	۰/۱۳۱	۰/۲۱۷	۰/۰۸۶
۰/۲۴۰	۰/۲۴۰	۰/۱۴۸	۰/۲۵۸	۰/۱۱۰
۰/۳۰۰	۰/۳۰۰	۰/۱۸۵	۰/۳۲۳	۰/۱۳۸
۰/۳۴۰	۰/۳۴۰	۰/۲۱۰	۰/۳۶۷	۰/۱۵۷
۰/۳۶۰	۰/۳۶۰	۰/۲۲۰	۰/۳۸۹	۰/۱۶۹
۰/۳۸۰	۰/۳۶۰	۰/۲۲۰	۰/۳۹۵	۰/۱۷۵
۰/۴۰۰	۰/۳۶۰	۰/۲۲۰	۰/۴۰۵	۰/۱۸۵
۰/۴۲۰	۰/۳۶۰	۰/۲۲۰	۰/۴۱۵	۰/۱۹۵
۰/۴۴۰	۰/۳۶۰	۰/۲۲۰	۰/۴۲۵	۰/۲۰۵



شکل (۴-۹): منحنی کالیبراسیون در محدوده غلظتی  $0.20-0.360$  میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت شرایط: سولفوریک اسید  $0.13$  مولار، برموپاداپ  $2/53 \times 10^{-5}$  مولار، پتاسیم برومات  $0.010$  مولار، دمای  $20/0$  درجه سانتیگراد، pH در محدوده ۲-۷.



شکل (۴-۱۰): منحنی کالیبراسیون در محدوده غلظتی  $0.40-0.440$  میکروگرم بر میلی لیتر نیترات شرایط: سولفوریک اسید  $0.13$  مولار، برموپاداپ  $2/53 \times 10^{-5}$  مولار، پتاسیم برومات  $0.010$  مولار،  $2/0$  گرم کاهنده کادمیوم- جیوه، زمان تماس محلول نیترات با ملغمه ۲۰ دقیقه، دمای  $20/0$  درجه سانتیگراد، pH در محدوده ۲-۷.

برای اندازه‌گیری نیترات و نیتريت در نمونه حقيقي در حضور يکديگر به اين صورت عمل شد که:

در يک بالن ۵۰ ميلي ليتري که حاوی ۳۰ ميلي ليتر آب شهر بود همزمان مقادير متفاوتی از نیترات و نیتريت با غلظت‌های مشخص افزوده شد و سپس با آب مقطر به حجم رسانيده شد. حالت‌های مختلف از غلظت‌های هر دو گونه که در محدوده منحنی کالبراسيون قرار داشتند، انتخاب شد. در اندازه‌گیری به اين صورت عمل شد که در يک بالن حجمی ۱۰ ميلي ليتري به ترتيب ۱/۰ ميلي ليتر از سولفوریک اسيد ۱/۳ مولار، ۱/۰ ميلي ليتر از محلول شامل نیتريت و نیترات، ۱/۰ ميلي ليتر از محلول برموپاداپ  $10^{-4} \times 2/53$  مولار افزوده و تا حجم تقریبی ۸/۰ ميلي ليتر رقيق شد. سپس ۲/۰ ميلي ليتر از پتاسيم برومات ۰/۰۰۵۰ مولار افزوده شد و پس از افتادن آخرين قطره کرنومتر روشن شد. پس از به حجم رساندن و يکنواخت کردن محلول، در مدت ۳۰ ثانيه پس از شروع واکنش، قسمتی از آن به سل دستگاه منتقل و تغييرات جذب محلول در برابر آب مقطر در گستره زمانی ۲۴۰-۳۰ ثانيه پس از شروع واکنش، در طول موج ۴۶۶ نانومتر اندازه‌گیری گرديد ( $\Delta A_s$ ). برای محلول شاهد نیز به همين ترتيب عمل شد با اين تفاوت که به محلول شاهد نمونه حاوی نیتريت و نیترات اضافه نگريد ( $\Delta A_b$ ). اختلاف تغييرات جذب نمونه و شاهد محاسبه گرديد ( $\Delta A_{NO_2^-} = \Delta A_s - \Delta A_b$ ). سپس در مرحله بعد مقدار مشخص از همان محلول‌های شامل غلظت‌های مختلف و مشخص نیتريت و نیترات، پس از آنکه ۲۰ دقيقه در تماس با ملغمه کادميوم- جيوه قرار گرفتند، طبق روش ارائه شده در قسمت (۴-۱-۶) تغييرات جذب آن در فاصله زمانی ۳۰ تا ۲۴۰ ثانيه پس از شروع واکنش اندازه‌گیری شد ( $\Delta A_T$ ). اختلاف تغييرات جذب محلول‌های شامل نیترات و نیتريت که در مرحله اول در تماس با ملغمه قرار نگرفته و در مرحله دوم که در تماس با ملغمه قرار گرفته است، نشان دهنده اختلاف تغييرات جذب ناشی از نیترات به تنهایی می‌باشد. هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد و در اندازه‌گیری‌ها از روش استاندارد خارجی استفاده شد که نتایج در جدول (۴-۱۲) آمده است.

جدول (۴-۱۲): تعیین مقدار نیترات و نیتريت در حضور هم در نمونه آب شهر شاهرود

Added (mg l <sup>-1</sup> )		Found (mg l <sup>-1</sup> )		Recovery %		مقادیر t محاسبه شده	
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
۰/۰۰	۰/۰۷۰	<DL	۰/۰۷۲(±۰/۰۰۲۵)	-	۱۰۲/۸	-	۱/۶۰
۰/۰۰	۰/۲۰۰	<DL	۰/۱۹۴(±۰/۰۰۳۶)	-	۹۷/۰	-	۲/۱۱
۰/۰۶۰	۰/۰۰	۰/۰۶۵(±۰/۰۰۵۰)	<DL	۱۰۸/۳	-	۱/۵۸	-
۰/۱۵۰	۰/۰۰	۰/۱۵۱(±۰/۰۰۲۰)	<DL	۱۰۰/۷	-	۰/۴۳۰	-
۰/۱۰۰	۰/۱۰۰	۰/۱۰۳(±۰/۰۰۴۰)	۰/۰۹۴(±۰/۰۰۳۵)	۱۰۳/۰	۹۴/۰	۰/۶۶	۲/۱۹
۰/۲۵۰	۰/۱۶۰	۰/۲۵۲(±۰/۰۰۲۵)	۰/۱۵۹(±۰/۰۰۱۵)	۱۰۰/۸	۹۹/۴	۰/۸۶	۱/۴۸
۰/۰۵۰	۰/۰۵۰	۰/۰۵۲(±۰/۰۰۱۵)	۰/۰۵۲(±۰/۰۰۲۰)	۱۰۴/۰	۱۰۴/۴	۱/۰۵	۱/۹۰

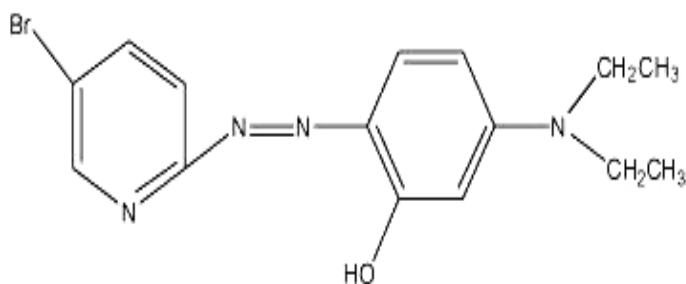


## فصل پنجم

### بحث و نتیجه‌گیری

#### ۵-۱- سیستم شیمیایی به کار برده شده

ترکیب ۲- (۵- برم-۲- پیریدیل آزو)-۵- دی اتیل آمینو فنول (برمو پاداپ) جامدی با رنگ نارنجی و از دسته رنگدانه‌های آزو است. برموپاداپ و مشتقات آن به عنوان واکنشگرهای اسپکتروفتومتری برای تعیین مقدار کاتیون‌های فلزی بکار رفته‌اند. برخی از آنها مانند ۴- (۲- پیریدیل آزو)- رزورسینول (PAR)، دارای اتمهای کئوردینه شونده مانند N, N و O می‌باشند، اما برموپاداپ دارای ضریب جذب مولی و حساسیت بالاتری می‌باشد. برموپاداپ یکی از حساسترین واکنشگرها می‌باشد که برای استخراج و تعیین مقدار فلزات مختلف به کار رفته است. برموپاداپ در اتانول به راحتی حل می‌شود. فرمول کلی برموپاداپ در شکل (۵-۱) نشان داده شده است [۸۵].

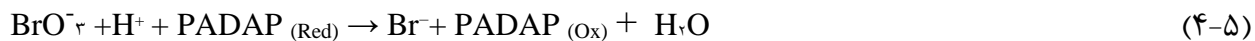


شکل (۵-۱): ساختار گسترده برموپاداپ

همانطور که از رابطه (۱-۵) قابل دریافت است، نیتريت در محیط اسیدی با برومات تولید یون برمید کرده و خود به نیترات تبدیل می‌شود و نیز با توجه به رابطه (۲-۵) برومات باقیمانده در محیط اسیدی با یون برمید تولید برم می‌کند [ ۸۶ و ۸۸]. برم گونه اصلی در مکانیسم رنگبری از برموپاداپ می‌باشد که مطابق رابطه (۳-۵) عمل می‌کند [۸۷].



برای واکنش شاهد نیز داریم:



۵-۲- اندازه‌گیری سینتیکی - اسپکتروفتومتری مقادیر کم نیتريت بر اساس اثر کاتالیزوری آن بر

واکنش برومات با برموپاداپ

۵-۲-۱- ارقام شایستگی روش

نتایج حاصل از بررسی‌ها نشان می‌دهد که در شرایط بهینه، منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۰/۳۶ - ۰/۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت در طول موج ۴۶۶ نانومتر خطی است که معادله مربوط و ضریب همبستگی آن در بخش (۳-۲-۱۵) آمده است. مقادیر انحراف استاندارد نسبی برای اندازه‌گیری‌های تکراری غلظت‌های ۰/۰۶، ۰/۱۰ و ۰/۱۵ میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت به ترتیب برابر با ۶/۶، ۶/۱ و ۳/۳ درصد به دست آمد که بیانگر دقت نسبتاً خوب روش می‌باشد.

مقادیر درصد‌های بازیابی به دست آمده در جدول (۳-۱۰) بیانگر صحت مناسب روش است. حد تشخیص روش ۰/۰۱۸ میکروگرم بر میلی لیتر نیتريت به دست آمد.

نتایج جدول (۳-۱۱) نشان می‌دهد که تعداد زیادی از کاتیون‌ها و آنیون‌ها تا ۱۰۰۰ برابر وزنی، مزاحمتی در اندازه‌گیری نیتريت ندارند. زیرا محیط اسیدی می‌باشد و از تشکیل بسیاری از رسوب‌های مزاحم جلوگیری می‌کند.

۵-۲-۲- تجزیه نمونه‌های حقیقی

کارایی روش در تجزیه نمونه‌های حقیقی با اندازه‌گیری نیتريت در نمونه‌های آب شهر و سوسیس مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر درصد‌های بازیابی و انحراف استانداردهای نسبی در اندازه‌گیری نیتريت نمونه‌های آب در جدول (۳-۱۲) و سوسیس در جدول (۳-۱۳) نشان دهنده صحت و دقت خوب این روش در تعیین مقدار نیتريت است.

۵- ۲- ۳- مقایسه روش پیشنهادی با برخی از روش‌های اسپکتروفتومتری موجود در اندازه‌گیری

نیتريت

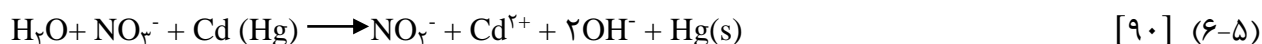
با توجه به جدول (۵- ۱) روش پیشنهادی نسبت به روش‌های گزارش شده در مراجع ۱، ۲۴ و ۲۶ دارای حد تشخیص بهتری بوده و همچنین روش پیشنهادی نسبت به روش‌های گزارش شده در مراجع ۳۰ و ۳۳ دارای دامنه خطی وسیعتر بوده و نیاز به زمان کمتری برای آنالیز نسبت به روش‌های گزارش شده در مراجع ۱، ۱۸ و ۳۲ دارد. بنابراین روش پیشنهادی، روشی ساده، سریع و دارای حد تشخیص مناسب برای اندازه‌گیری نیتريت در نمونه‌های آب می‌باشد.

جدول (۵-۱): مقایسه روش‌های موجود با روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری نیتريت

محدوده دامنه خطی منحنی کالیبراسیون	حد تشخیص	مرجع
۰/۰-۵/۲۲ میکروگرم بر میلی لیتر	۱/۶۶ میکروگرم بر میلی لیتر	۱
۰/۰۰۸-۱/۵ میکروگرم بر میلی لیتر	۰/۰۰۱ میکروگرم بر میلی لیتر	۱۶
-	۰/۰۰۲ میکروگرم بر میلی لیتر	۱۸
۰/۰۰۲-۰/۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر	۰/۰۰۰۶ میکروگرم بر میلی لیتر	۲۳
۰/۳۶-۹۰ میکروگرم بر میلی لیتر	۰/۳۶۰ میکروگرم بر میلی لیتر	۲۴
۰/۵-۱۸ میکروگرم بر میلی لیتر	۰/۰۷۰ میکروگرم بر میلی لیتر	۲۶
۰/۰۰۵-۰/۵ میکروگرم بر میلی لیتر	۰/۰۰۱۵ میکروگرم بر میلی لیتر	۲۸
۰/۰۶-۰/۷۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر	۰/۰۰۱۱ میکروگرم بر میلی لیتر	۳۰
۰/۰۲-۰/۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر	۰/۰۰۴ میکروگرم بر میلی لیتر	۳۲
۰/۱۰۰-۱/۶۰ میکروگرم بر میلی لیتر	۰/۰۰۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر	۳۳
۰/۰۲۰-۰/۳۶۰ میکروگرم بر میلی لیتر	۰/۰۱۸ میکروگرم بر میلی لیتر	روش پیشنهادی

### ۵-۳- اندازه‌گیری نیترات و نیتريت به روش اسپكتروفوتومتري

سيستم شيميايي به كار برده شده براي تعيين مقدار نيترات مشابه سيستم شيميايي به كار برده شده براي تعيين مقدار نيتريت است كه در بخش (۵-۱) آورده شده است، با اين تفاوت كه ابتدا نيترات به نيتريت تبديل شده و سپس مشابه قبل نيتريت با برموپاداپ واكنش مي‌دهد. براي کاهش يون نيترات به نيتريت از كاهنده‌هاي مختلفی از جمله كادميوم، كادميوم مس دار شده و كادميوم جيوه‌دار شده استفاده شد است. به علت اينكه مس (II) در اندازه‌گيري نيتريت مزاحمت داشت از كاهنده كادميوم- مس استفاده نشد. همچنين از كادميوم تنها نيز استفاده نشد زيرا راندمان تبديل با استفاده از آن كم بوده و زمان تبديل نيز طولاني مي‌باشد [۸۹].



### ۵-۳-۱- ارقام شايستگي روش

نتايج حاصل از بررسي‌ها نشان مي‌دهد كه در شرايط بهينه، منحنی كاليراسيون در ناحیه غلظتی ۰/۴۴ - ۰/۰۴ ميكروگرم بر ميلي ليتر نيترات در طول موج ۴۶۶ نانومتر خطی است كه معادله مربوط و ضريب همبستگی آن در بخش (۴-۱-۱۳) آمده است. مقادير انحراف استاندارد نسبی براي اندازه‌گيري‌هاي تكراری غلظت‌هاي ۰/۰۵، ۰/۲۰ و ۰/۳۰ ميكروگرم بر ميلي ليتر نيترات در طول موج ۴۶۶ نانومتر برابر با ۸/۶، ۴/۰ و ۲/۷ درصد به دست آمد كه بيانگر دقت خوب روش مي‌باشد.

مقادير درصد‌هاي بازيايي به دست آمده در جدول (۴-۸) بيانگر صحت مناسب روش است. مقدار حد تشخيص روش ۰/۰۳۲ ميكروگرم بر ميلي ليتر نيترات به دست آمد.

## ۵-۳-۲- تجزیه نمونه‌های حقیقی

کارایی روش در تجزیه نمونه‌های حقیقی با اندازه‌گیری نیترات در نمونه‌های آب شهر و نیترات و نیتريت با هم مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر درصدی بازیابی و انحراف استانداردهای نسبی در اندازه‌گیری نیترات در نمونه آب در جدول (۴-۱۰) و اندازه‌گیری نیترات و نیتريت با هم در جدول (۴-۱۲) نشان دهنده صحت و دقت خوب این روش است.

## ۵-۳-۳- مقایسه روش پیشنهادی با برخی از روش‌های اسپکتروفتومتری موجود در اندازه‌گیری نیترات و نیتريت

با توجه به جدول (۵-۲) روش پیشنهادی نسبت به روش‌های گزارش شده در مراجع ۵۲، ۵۴ و ۵۹ دارای حد تشخیص پایین تری بوده و نسبت به روش‌های گزارش شده در مراجع ۵۵ و ۵۷ و ۵۹ دارای دامنه خطی وسیعتری می‌باشد. بنابراین روش پیشنهادی، روشی ساده و دارای حد تشخیص مناسب برای اندازه‌گیری نیترات در نمونه‌های آب می‌باشد.

جدول (۵-۲): مقایسه روش‌های موجود با روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری نیترات

مرجع	حد تشخیص	محدوده دامنه خطی منحنی کالیبراسیون
۳۶	۰/۰۱۳ میکروگرم بر میلی لیتر	۰/۰۲-۱/۶ میکروگرم بر میلی لیتر
۴۶	-	۱۰۰-۱۳۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر
۴۷	۰/۰۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر	۰/۰۳-۱۵ میکروگرم بر میلی لیتر
۴۸	۰/۰۲ میکروگرم بر میلی لیتر	۰/۰۵-۸ میکروگرم بر میلی لیتر
۵۲	۰/۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر	-
۵۴	۰/۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر	۰/۵۰-۵۰/۰ میکروگرم بر میلی لیتر
۵۵	-	۰/۳-۳/۰ میکروگرم بر میلی لیتر
۵۷	۰/۰۲۳ میکروگرم بر میلی لیتر	۰/۱-۱/۰ میکروگرم بر میلی لیتر
۵۹	۰/۱۵ میکروگرم بر میلی لیتر	۰/۵۰-۲/۰ میکروگرم بر میلی لیتر
روش پیشنهادی	۰/۰۳۲ میکروگرم بر میلی لیتر	۰/۰۴-۰/۴۴ میکروگرم بر میلی لیتر

## آینده نگری

روش ارائه شده روشی سریع، ساده و دارای گزینش پذیری خوب می باشد که ممکن است در آینده بتواند به عنوان یک روش متداول برای تعیین مقدار نیترات در نمونه های مختلف استفاده شود. علاوه بر این از ترکیب ۲- (۵- برم-۲- پیریدیل آزو)-۵- دی اتیل آمینو فنول (برمو پاداپ) می توان در دیگر روشهای تجزیه ای مانند استخراج استفاده کرد. این ترکیب با فلزاتی مانند کبالت، پالادیوم، نیکل و ... کمپلکس های نسبتا پایداری تشکیل می دهد. در میکرو استخراج مایع- مایع پخشی از این ترکیب برای استخراج انتخاب گزین مقادیر کم پالادیوم استفاده شده است. در اسپکتروفتومتری از این ترکیب می توان برای اندازه گیری همزمان برخی گونه های فلزی استفاده نمود.

- [1] A. Aydın, O. Ercan, S. Tas, (2005) " A novel method for the spectrophotometric determination of nitrite in water", *Talanta*, 66, pp, 1181-1186.
- [2] M. S. Abdul Galil, M.S Mahadevaiah, Y. Kumar, G. Nagendrappa (2006)" A simple and rapid spectrophotometric method for the determination of nitrite by its decolorizing effect on peroxovanadate complex" *Spectrochim. Acta*, Part A 67, pp 76-82.
- [3] J. Gabbay, Y. Almong, M. Davidson,(1977).," spectrophotometric micro-determination of nitrites in water " *Analyst*, 102, pp, 372-376.
- [4] www.jomhourieslami.com
- [5] www.zaros.persianblog.ir
- [6] www.parsbiology.com
- [7] W. Lijinsky, & S. S. Epstein, (1970), "Nitrosamines as environmental carcinogens", *Nature*, 225, pp 21-23.
- [۸]- ر. خاکسار ، ه. حسینی، ر. فردوسی، ح. اخوان طباطبایی ، ح. احمدی ، م. عباسی (۱۳۸۶) " بررسی الگوی باقیمانده نیتريت سدیم در چهار گروه فراورده گوشتی (قرمز) حرارت دیده در مدت زمان نگهداری در دمای ۴°C"، *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*، سال دوم، شماره ۲، صفحات ۴۵ تا ۵۰.
- [9] Weekepedia.com
- [10] B. Sırıken, M. Zdemir, H. Yavuz, S. Pamuk, (2005). "The microbiological quality and residual nitrate/nitrite levels in turkish sausage (soudjouck) produced in Afyon Province, Turkey "Food Control. *Article Inpress*, 25, pp, 225-230.
- [11] APHA, (1995), "Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water", *American Public Health Association*, Washington, DC, 12, pp 220-223.
- [12] S. S .M. Hassan, S. A. M. Marzouk, H. E. M. Sayour. (2003), "Selective potentiometric determination of nitrite ion using a novel (4-sulphophenylazo-)1-naphthylamine membrane sensor ", *Talanta*, 59,pp 1237-1240.
- [13] V. D. Matteo, E. Esposito, (1997), "method for determination of nitrite by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection", *J. Chromatogr, A* 789, pp 213-219.



- [14]. Z. Huang, T. Korenaga, and M. I. H. Helaleh (2000) "Kinetic Spectrofluorimetric Determination of Nitrite in Water Samples and Nitrogen Dioxide in the Atmosphere Sampled by the Liquid Droplet Method" *Mikrochim. Acta*, 134, 179-183 (2000).
- [15]. K. Huang, H. Wang, Y. Guo, R. Fan, H. Zhang. (2006) "Spectrofluorimetric determination of trace nitrite in food products with a new fluorescent probe 1, 3, 5, 7-tetramethyl-2,6-dicarbethoxy-8-(3\_4\_diaminophenyl) difluoroboradiaza-s-indacene" *Talanta*, 69 (2006) 73–78.
- [16] A. Kazemzadeha, S. Daghighi. (2004) "Optical nitrite sensor based on chemical modification of a polymer film" *Spectrochim. Acta, part A*, 61, pp, 1871-1875.
- [17]. T. Tian-Fang Kang, L. Lu, Y. Zhang, S. Cheng. (2001) "Au-Fe(III) nanoparticle modified glassy carbon electrode for electrochemical nitrite sensor " *J. Electroanalytical Chem*, 632 (2009) 197–200.
- [18] V. V. Nikonorov and L. N. Moskvina (1994) " Spectrophotometric determination of nitrite with 4-iodo-N, N-dimethylaniline". *Elsevier*, 33, pp 135-139.
- [19] A. A. Ensafi, M. E. Amini, M. Mazloum. (1997) " Determination of trace amounts of nitrite by catalytic-kinetic spectrophotometric method" *Indian. J. Chem. Section one*, 36, pp, 226-228.
- [20]. E. Khaled, N. A. Hassan, B. N. Barsoum, and K. Vytras. (2000) " Kinetic Catalytic Determination of Trace Nitrite Based on the Oxidation of Malachite Green with Bromate Monitored Potentiometrically Using Coated-Wire Electrodes" *Microchem. Journal*, 69, pp 51-57.
- [21] R. Evanasiddappa, K. Kumar and M. Bilwa2 (2004) "A Facile Spectrophotometric Determination of Nitrite Using Diazotization with p-Nitroaniline and Coupling with Acetyl Acetone " *Mikrochim. Acta*, 137, PP, 249-253.
- [22] P. Nagaraja, M. S. Hemantha Kumar, N. N. Mallikarjuna. (2002), " Dapsone a new diazotizing reagent for the spectrophotometric determination of nitrite in waste and natural water samples" , *Anal. Chim*, 92, pp-127-134.
- [23] H. Pouretedal and B. Nazari (2004), "Kinetic Spectrophotometric Determination of Trace Amounts of Nitrite by Catalytic Reaction between Methylthymol Blue and Bromate" *J. Chinese Chem. Soc*, 51, pp 1353-1356.
- [24] M. PourHosein, M. Aminim, (2005) "A Simple Flow Injection Spectrophotometric Determination of Nitrite Based on Its Reaction with Thiourea," *Anal. Science*, 21, pp 661-665.

- [25] A. T. Mubarak, A. Mohamed, K. F. Fawy, and A. S. Al-Shihry (2006), "A novel kinetic determination of nitrite based on the perphenazine-bromate redox reaction", *Mikrochim Acta*, 157, pp 99-105.
- [26] T. Cherian and B. Narayana.(2006) "A New System for the Spectrophotometric Determination of Trace Amounts of Nitrite in Environmental Samples" *J. Braz. Chemistry. Society.*, 17 , pp, 577-581 .
- [27]. B. P. Dayananda and H. D. Revanasiddappa. (2007), " A facile analytical method for the determination of nitrite in water and soil samples" *Electronic journal and environ*, 6, pp 2263-2271.
- [28] Z. Moldovan. (2008), " A novel kinetic-spectrophotometric method for determination of nitrites in water" *Chemical Papers*, 63, pp, 385-390.
- [29] S. Nouroozi, R. Mirshafian.( 2009) " Flow injection kinetic spectrophotometric method for the determination of trace amounts of nitrite" *Talanta*, 79, pp, 1149-1153.
- [30] P Nagaraj & J. S. Prakash, A. Shivakumar & A. K. Shrestha. (2008) "Sensitive spectrophotometric methods for the assessment of nitrite in water sample" *Environ Monit Assess*, 147, pp 235-241.
- [31] M. Chamsaz, M. H. Arbab-Zavar, J. Akhondzadeh. (2009) "Spectrophotometric Determination of Nitrite using Diphenylamine as Complexing Agent" *A. journal. Chem*, Issue: 2, pp, 903-906.
- [32]. Z. Tao Jiang, Y. X. Guo & R. Li. (2009) "Spectrophotometric Determination of Trace Nitrite with Brilliant Cresyl Blue Using  $\beta$ -Cyclodextrin as a Sensitizer" *Food Analytical Methods*, 3, pp 47-53.
- [33] P. Nagaraja, N. Ghllab S. Al-Tayar, A. Shivakumar, A. K. Shrestha, A. K. Gowda, (2010) "A simple and sensitive spectrophotometric method for the determination of trace amounts of nitrite in environmental and biological samples using 4-amino-5-hydroxynaphthalene-2,7-disulphonic acid monosodium salt" *Spectrochem. Acta*, part A 75, pp, 1411-1416 .
- [34]. M. J. Allison, and C .A. Reddy. (1984) "Adaptations of gastrointestinal bacteria in response to changes in dietary oxalate and nitrate" *Michigan State Univ.* p, 248.

- [35]. P. Hoai Nama, B. Alejandrab, H. Frederic, B. Didierc, S. Oliviera, P. Andre. (2008) “A new quantitative and low-cost determination method of nitrate in vegetables, based on deconvolution of UV spectra” *Talanta*, 76, pp, 936-940.
- [36] C. E. Lopez Pasqualia, P. Fernandez Hernandob, J. S. Durand Alegri. (2007) “Spectrophotometric simultaneous determination of nitrite, nitrate and ammonium in soils by flow injection analysis” , *Anal. Chim. Acta*, 600, pp 1777-1782.
- [37]. X. L. Zhou, H. J. Beine, R. E. Honrath, J. D. Fuentes, W. Simpson, P. B. Shepson, “Snowpack Photochemical Production of HONO: a Major Source of OH in the Arctic Boundary Layer in Springtime” (2001), *Bottenheim. Geophys. Res. Lett.* 28, pp, 4087 - 4090.
- [38]. D. Reyter, D. Belanger, L. Roue (2010) “Nitrate removal by a paired electrolysis on copper and Ti/IrO<sub>2</sub> coupled electrodes – Influence of the anode/cathode surface area ratio” *Water Research*, 44, pp 1918-1926.
- [39] [www.environmentalhealth.com/pasages/274](http://www.environmentalhealth.com/pasages/274).
- [40] Okine E (2001): Water quality requirements for cattle.
- [41]. M. J. Allison, and C. A. Reddy. (1984) “ Adaptations of gastrointestinal bacteria in response to changes in dietary oxalate and nitrate”, *Microb. Ecology*. p 248
- [42]. N. K. Cortas, and N. W. Wakld (1990) “Determination of inorganic nitrate in the serum and urine by a kinetic cadmium reduction method” *Clin. Chemistry*. 36, pp 1440–1443.
- [43]. K. M. Miranda, M. G. Espey, and D. A. Wink, (2001) “A rapid spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite”. *Nitric Oxide Biol. Chem.* 5, pp 62–71.
- [44]. [www.forum.iaransalamat.com](http://www.forum.iaransalamat.com)
- [45] WHO (World Health Organization), Guide lines for Drinking-Water Quality, vol. 1, 3rd ed., *World Health Organization*, Geneva, 2004.
- [46]. J. R. Caetano da Rocha, L. Angnes, M. Bertotti, K. Araki, H. Eisi Toma. (2002) “Amperometric detection of nitrite and nitrate at tetra-ruthenated porphyrin-modified electrodes in a continuous-flow assembly” *Anal. Chim. Acta*, 452, pp, 23–28.
- [47]. I. M. P. L. V. O. Ferreira, S. Silva. (2008) “ Quantification of residual nitrite and nitrate in ham by reverse-phase performance liquid chromatography/diode array detector,” *Talanta*, 74 pp, 1598–1602.
- [48]. P. Mikuska, Z. Vecera. (2003) “Simultaneous determination of nitrite and nitrate in water by chemiluminescent flow-injection analysis.” *Anal. Chim. Acta*, 495, pp, 225– 232.

- [49]. S. J. Bajic, B. Jaselskis, (1985) "Spectrophotometric determination of nitrate and nitrite in natural and sea water," *Talanta*, 74, pp, 1598–1602.
- [50] A. Koj and E. Gorodkiewicz. (1994) "Simultaneous spectrophotometric determination of nitrite and nitrate in a flow-injection system " *Talanta*, 15, pp, 615-618.
- [51]. P. F. Pratt, K. Nithipatikom, W. B. Campbell (1995) " Simultaneous determination of nitrate and nitrite in biological samples by multichannel flow injection analysis" *Anal. Biochem*, 231, pp, 383-386.
- [52]. K. Higuchi, S. Motomizu (1999) "Flow-injection spectrophotometric determination of nitrite and nitrate in biological samples" *Anal. Science*, 15, pp, 129-134.
- [53] A. Kazemzadeh and A. Ensafi, (2001), " Sequential flow injection spectrophotometric determination of nitrite and nitrate in various samples", *Anal. Chim. Acta*, 442, pp, 319-326.
- [54]. Z. Legnerov, P. Solich, H. Sklenrov, D. Satinsk, R. Karlcek. (2001) "Automated simultaneous monitoring of nitrate and nitrite in surface water by sequential injection analysis" *Water Research*, 36, pp, 2777–2783.
- [55]. R Andradea, C. O.Viana, S. G.Guadagnin, F. G. R. Reyesb, S. Ratha, (2003) "A flow-injection spectrophotometric method for nitrate and nitrite determination through nitric oxide generation" *Food Chemistry*, 80, pp, 597–602.
- [56]. X. F. Yue, Z. Q. Zhang, H. T. Yan. (1999) "Flow injection catalytic spectrophotometric simultaneous determination of nitrite and nitrate" *Talanta*, 62, pp, 97–101.
- [57]. R. Burakham, M. Oshima, K. Grudpan, S. Motomizu. (2004) "Simple flow-injection system for the simultaneous determination of nitrite and nitrate in water samples" *Talanta*, 64, pp, 1259–1265.
- [58] S. M. Oliveira, T. I. M. S. Lopes, A. O. S. S. Rangel, (2006), " Spectrophotometric Determination of Nitrite and Nitrate in Cured Meat by Sequential Injection Analysis" *J. Food Science*, 69, pp, 690-695.
- [59]. M. J. Reis Limaa, S. M. V. Fernandesb, A. O. S. S. Rangel. (2006) "Determination of nitrate and nitrite in dairy samples by sequential injection using an in-line cadmium-reducing column " *International Dairy Journal*, 16, pp, 1442–1447.
- [60] R. Beatriz, R. Mesquita, M. Teresa, S. Oliveira, B. Ferreira, R. Luiz, A. Segundo, C.Fernanda, C. P. Teixeira, A. A. Bordalo, A. O. Santos and S.Rangel, (2009), "Development of

a sequential injection system for the determination of nitrite and nitrate in waters with different salinity Application to estuaries in NW Portugal " *Anal. Methods* , 1, pp, 195-202.

[61] D. A. Skoog, D. N. West, F. J. Holler (1998) "*Fundamental. Anal Chem*" 6<sup>th</sup> ed, Philadelphia. Andress collage publishing.

[۶۲]. غ. ع. بارسافر، ب. نجفی، (۱۳۸۷) "سینتیک شیمیایی (مبانی و کاربردها)" مرکز نشر دانشگاه صنعتی اصفهان، چاپ اول، ص ۱-۲۳.

[63] H. A. Motta.(1998) "Kinetic Aspects of analytical chemistry" Jhon Wiley and sons.

[64] E. B. Sandell and I. M. Kolthoff. (1934) "J. American chemical society", 56, p 1426.

[65] G. D. Christian, J. E. Orielly. (1986) "*Instrumental Analysis*", 2<sup>th</sup> ed, Prentice-hall.

[۶۶]. م. عرب چم جنگلی، (۱۳۷۶) "اندازه گیری سینتیکی - اسپکتروفتومتری رودیم بر اساس اثر کاتالیزوری آن بر اکسایش نیل بلو به وسیله سدیم پریدات و روش تزریق جریان پیوسته"، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده شیمی، پایان نامه کارشناسی ارشد.

[67] D. P. Bendito, M. Silva. (1988) "*Kinetic methods in analytic chemistry*" Ellishorwood, chichester.

[68] D. A. Skoog and J. J. Leary.(1992) "*Principle of instrumental analysis*" saundres, cillage. Publishing.

[۶۹]. لواین، (۱۳۷۷) "شیمی فیزیک" ترجمه غ. اسلام پور، پارسافر، ع. مقاری، ب. نجفی، انتشارات فاطمی.

[۷۰] ش. مهرجو ایرانی، (۱۳۸۸) "ارائه روشهای جدید و حساس اسپکتروفتومتری برای تجزیه ترکیبات دارویی"، دانشگاه صنعتی شاهرود، دانشکده شیمی، پایان نامه کارشناسی ارشد.

[71] J. D. Ingle, J. R and S. R. Grouch.(1971) "Signal-to-noise ratio comparison of photomultipliers and phototubes" *Anal. Chem*, 43, p 1331-1334.

[72] L. G. Papa, J. H. Paterson, H. B. Mark.(1963) "A rapid kinetic assay method for chromatography and its application" *Anal. Chem*. 53, p, 1889-1895.

[73] J. A. Ambeson, G, Svehla (1985) "Time measurement- visual analysis of nicel (II) using utocatalytic reaction with sodium sulfite/hydrogen peroxide system and its application to the length detection – flow analysis" *Anal. Chem. Acta*, 178 ,pp 225-231.

[74] T. Kakizaki, K. Hasebe, H. Yoshida. (1985) "A catalytic Hydrogen Wave of the osmium-cystein system" *Analyst*, 112, pp1593-1597.

- [75] F. L. Hahn. (1954) "Preparation and characterization of the double potassium salt of sulfosalicylic acid as a standard substance in alkalimetry" *Anal. Chem. Acta*, 11, p, 482-487.
- [76] W. J. Jardim, J. J. Rohweder. (1986) "Catalytic spectrophotometric determination of trace amounts of copper(II) based on the oxidation of 2,4-dinitrophenyl hydrazone-1,2-naphthocinone-4-sulfonic acid by hydrogen peroxide" *Analyst*, 111, pp, 489-496.
- [77] P. Vinas, M. Hernandez-Corduba, Anan, C. Sanchez. Pedreno. (1978) "Ruthenium catalyzed oxidation of phenosafarine by periodate ion. Catalytic kinetic determination of nanogram amounts of ruthenium" *Talanta*, 34, pp 351-359.
- [78] D. J. Themlis, G. S. Vasilikiotis. (1987) "Determination of copper by radiochemical displacement method" *Analyst*, 112, pp 780-791.
- [79] T. Fakasava, S. Kwakuhbo, A. unno(1986) "Kinetic determination of morphine by means of Bray-Liebhaufsky oscillatory reaction system using analyte pulse perturbation technique" *Anal. Chem. Acta*, 175, p 269-275.
- [۸۰]. ق. باقریان دهقی (۱۳۷۳) "اندازه گیری مقادیر کم سلنیم و تیوسولفات به روش سینتیکی- اسپکتروفومتری" دانشکده شیمی، دانشگاه صنعتی اصفهان، پایان نامه کارشناسی ارشد.
- [81] R. Weston, JR and H. A. Schwarz. (1972) " *Chemical Kinetics*", Prentice- Hall, Inc.
- [82] S. Wold, kemisk. (1972), "The simultaneous quantitative determination of cephalothin and cefazolin in serum by high pressure liquid chromatography" *Clinica Chem. Acta*, 78, pp 203-207.
- [83] K. V. H. Sastry, R. P. Moudgal, J. Mohan, J. S. Tyagi and G. S. Rao, (2002), "Spectrophotometric Determination of Serum Nitrite and Nitrate by Copper-Cadmium Alloy" *Anal. Biochem*, 306, pp, 79-82.
- [84] A. A. Ensafi, M. Arab. Chamjangali & H. Rahimi. (2004), "Sequential Determination of Iron (II) and Iron (III) by Flow Injection Analysis with Spectrophotometric Detection", *Anal. Sciences*, 29, pp, 645-650.
- [85] A. Matsumoto, T. Fukumoto, H. Adachi, H. Watarai, (1999), "Electrospray ionization mass spectrometry of metal complexes. Gas phase formation of a binuclear copper (II)-5-Br-PADAP complex" *Anal. Chim. Acta*, 390, pp, 193-199.
- [86] H. Z. Mousani and H. Shir Khanloo, (1969), "Spectrophotometric determination of nitrite based on its catalytic effect on the reaction of nuclear fast red and potassium bromate", *J. Serb. Chem. Soc.* 74, pp, 985-992.

- [87] M. Geoge, K. S. Nagaraja and M. Balasubramanian, (2007), "Spectrophotometric determination of hydrazine using bromine and methyl red", *Indian. J. Chem*, 46, pp, 1621-1624.
- [88] B. Li, M. Liu, Z. Zhang and C. Xu, (2003), Flow-Injection Chemiluminescence Determination of Formaldehyde with a Bromate-Rhodamine 6G System, *Anal. Science*, 19, pp, 1643-1646.
- [89] J. B. Mullin and J. P. Riley, (1955), The spectrophotometric determination of nitrate in natural waters with particular referensses to sea-waters, *Analytica chimica acta*, 12, pp, 464-480.
- [90] V. V. Nikonorov and T. A. Belyanskaya, (1999), "Comparative Study of Various Methods of the Heterogeneous Reduction of Nitrate Ions ", *J. Anal. Chem*, 55, pp, 116-120.

**Kinetic- Spectrophotometric Determination of trace amount of Nitrite based on its catalytic effect on the reaction on 2-(5-Bromo-2-pyridilazo)-5- diethylamino phenol (Br-PADAP) with bromate in acidic medium.**

**Abstract**

**Part1:** A rapid, simple and accurate spectrophotometric method is proposed for the determination of nitrite. The method is based on nitrite catalytic effect on the reaction of 2-(5-Bromo-2-pyridilazo)- 5- diethylamino phenol (Br-PADAP) and bromate in acidic medium and make it colorless. The reaction was monitored spectrophotometrically at 466 nm. Under the optimum conditions, nitrite could be determined in the concentration range of 0.020-0.36  $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ . The detection limit of the method is 0.018  $\mu\text{g ml}^{-1}$  for nitrite. The relative standard deviations for 6 replicated determinations of 0.060, 0.100, 0.150  $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$  nitrite are 6.6%, 6.1% 3.3%. Interferences due to foreign ions are studied and the method is applied for the determination of nitrite in water and food samples.

**Keyword:** Nitrite, Kinetic, Spectrophotometric, 2-(5-Bromo-2-pyridilazo)-5- diethylamino phenol.

**Part2:** For determination of nitrite and nitrate in sample, nitrite is determined based on catalytic effect on the reaction of PADAP and  $\text{BrO}_3^-$  in acidic medium. Nitrate is determined after reduction it into nitrite by cadmium- mercurized redactor. Under the optimum conditions, nitrate could be determined in the concentration range of 0 0.040-0.44  $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ . The detection limit of the method is 0.032  $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ . The relative standard deviations for 6 replicated determinations of 0.050, 0.20 and 0.30  $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$  nitrate are 8.6%, 4.0% and 2.7%, respectively. The method was applied to the determination of nitrite and nitrate in tab water samples

**Keyword:** Nitrite, Nitrate, Spectrophotometric, 2-(5-Bromo-2-pyridilazo)-5- diethylamino phenol (Br-PADAP)





Shahrood University of Technology

Faculty of Chemistry

**Kinetic- Spectrophotometric Determination of trace amount of Nitrite and Nitrate based on Nitrite catalytic effect on the reaction on 2-(5-Bromo-2-pyridilazo) - resorsinol (Br-PADAP) and bromate.**

**Vahid Mosayebi**

Supervisors:

**Dr. Ghadamali Bagherian Dehaghi**

**Dr. Mansour Arab Chanjangali**

March 2011