

اندازه‌گیری و پیش‌تعلیظ مقادیر اندک پارانیتروانیلین با تکنیک میکرواستخراج مایع -

مایع پخشی در نمونه‌های پساب کارخانه‌ی نساجی

محمد علیمرادی^۱، مرضیه قریب^۱، سید محمد حسینی^{۲*}، روح اله حیدری^۳^۱دانشگاه آزاداسلامی، واحد اراک، دانشکده علوم پایه، اراک، ایران^۲دانشگاه آزاداسلامی، واحد اراک، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، اراک، ایران^۳دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی، خرم‌آباد، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۰۸

تاریخ تصحیح: ۹۴/۱۰/۱۰

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۴/۲۰

چکیده

در این تحقیق از روش ساده، سریع و حساس میکرواستخراج مایع - مایع پخشی برای پیش‌تعلیظ و اندازه‌گیری مقادیر ناچیز پارانیتروانیلین در نمونه‌ی پساب کارخانه‌ی نساجی استفاده گردید. در این روش، مخلوطی از حلال‌ها شامل ۲۰۰ میکرولیتر دی‌کلرومتان (حلال استخراج‌کننده) و ۱۰۰ میکرولیتر استون (حلال پخش‌کننده) به ۹ میلی‌لیتر از محلول ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر پارانیتروانیلین (نمونه) تزریق شد و پس از ابری شدن مخلوط نمونه و سانتریفیوژ کردن، فاز استخراج شده بصورت قطره‌ی ریز در ته لوله سانتریفیوژ جمع شد. فاز استخراجی جمع‌آوری شده با ۱۰۰ میکرولیتر استون رقیق‌سازی شده و برای آنالیز به دستگاه اسپکتروفتومتر منتقل گردید. آنالیز نمونه‌ها در طول موج ماکزیمم ۳۷۵ نانومتر انجام شد. منحنی کالیبراسیون روش، پس از عمل استخراج دارای دامنه خطی ۰/۳۵ - ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر بود. حد تشخیص روش برابر ۰/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر و انحراف استاندارد نسبی آن، در غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر، ۴/۹۷ درصد محاسبه شد. مقادیر بازیابی با سطوح غلظتی متفاوت، در گستره‌ی ۹۶/۳ تا ۹۸ درصد و فاکتور تعلیظ، ۲۳/۲ بدست آمد.

واژگان کلیدی: میکرواستخراج مایع-مایع پخشی، پارانیتروانیلین، پیش‌تعلیظ، اسپکتروفتومتر

۱-مقدمه

پارانیتروانیلین به عنوان یکی از آمین‌های آروماتیک به طور گسترده، در صنایع تولید مواد رنگی، صنایع کشاورزی و شیمیایی نظیر ترکیبات قارچ‌کش و علف‌کش پراکنده می‌شود. این ماده بصورت مکرر توسط صنایع شیمیایی به عنوان ماده خام در ساخت دارو، رنگ، لاستیک و پلاستیک مورد استفاده قرار می‌گیرد و محصول جانبی برخی صنایع نساجی و کاغذ می‌باشد. پارانیتروانیلین هنگام آزاد شدن در محیط‌های آبی در چرخه زندگی آبیان تداخل ایجاد نموده و برای انسان نیز بسیار سمی و سرطانزاست. در خون به سادگی واکنش داده، مانع جذب اکسیژن و بروز بیماری متهموگلوبینا می‌گردد [۱ و ۲]. عوارض بالینی نظیر سرگیجه، سردرد، ضربان نامنظم قلب، تشنج، کما و مرگ نیز ممکن است در اثر تماس‌های حاد با این ترکیب اتفاق

بیافتند، از طرفی تماس مستقیم با پارانیتروانیلین می‌تواند سبب تحریک چشم و پوست شود [۳]. لذا به سبب سمیت و پایداری و تجمع آن در محیط زیست و کاربرد وسیع مواد شیمیایی حاوی پارانیتروانیلین، این ماده یک تهدید جدی برای محیط زیست و سلامت انسان محسوب می‌شود [۴]. بنابراین اندازه‌گیری این ماده در نمونه‌های آبی و پساب صنایع جهت کنترل سلامت انسان و محیط زیست اهمیت ویژه‌ای دارد. برای اندازه‌گیری پارانیتروانیلین در نمونه‌های مختلف، از تکنیک‌های کروماتوگرافی گازی، کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا، الکتروفورز موینه‌ای و اسپکتروفتومتری استفاده شده است [۵-۱۱]. بطور معمول، قبل از آنالیز مستقیم پارانیتروانیلین در نمونه‌های حقیقی، بدلیل محدودیت مربوط به حساسیت دستگاه‌های آنالیزکننده، نیاز به مراحل آماده‌سازی نمونه می‌باشد. بر این اساس از میان تکنیک‌های آماده‌سازی نمونه، روش میکرو استخراج مایع-مایع پخشی بکارگیری شد. این روش، حالت مینیاتوری شده استخراج مایع-مایع است و در آن فقط چند میکرولیتر حلال استفاده می‌شود، برای کاهش مراحل آنالیز، افزایش ورودی نمونه و بهبود کیفی و حساسیت روش‌های تجزیه‌ای معرفی شده است [۱۲-۱۷]. این تکنیک، ساده، کم هزینه، سریع، موثر بوده و برای آماده‌سازی و پیش تغلیظ نمونه تقریباً نیازی به حلال ندارد. روش مذکور به علت حجم کم حلال آلی استخراج‌کننده مصرفی، دارای فاکتور تغلیظ بالا بوده و در نتیجه جهت آنالیز مقادیر خیلی ناچیز ترکیبات در نمونه‌های آبی دارای کارایی بالایی می‌باشد. مزیت‌های دیگر روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی شامل سازگار با محیط زیست بودن (بدلیل مصرف ناچیز حلال‌های سمی)، هزینه کم (بدلیل مصرف ناچیز حلال‌های گران قیمت)، بازیابی بالا و حساسیت زیاد در آنالیز مقادیر ناچیز ترکیبات مختلف است. در کار تحقیقی حاضر، این روش جهت استخراج مقادیر ناچیز پارانیتروانیلین مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفته است.

۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد و واکنشگرها

محلول استاندارد ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر پارانیتروانیلین (تولیدی شرکت Merck) از حل کردن مقدار مناسب از آن ماده در متانول تهیه گردید. سپس غلظت‌های مورد نیاز با رقیق کردن متوالی این محلول با آب دو بار تقطیر یون‌زدایی شده، تهیه شدند. کلیه مواد لازم شامل: حلال‌های کلروفرم، ۱ و ۲ دی کلرواتان، دی کلرومتان، کلروبنزن، تتراکلرید کربن، متانول، استون، اتانول و استونیتریل، اسید کلریدریک و سدیم هیدروکسید و بافرها دارای خلوص تجزیه‌ای بالا و تولیدی شرکت Merck بودند.

۲-۲- دستگاه‌ها

اندازه‌گیری pH در دمای 25°C به وسیله pH متر Jenway مدل ۲۰۲۰ ساخت امریکا به همراه الکتروود شیشه‌ای انجام گرفت. قبل از اندازه‌گیری از محلول‌های بافر استاندارد pH شرکت مرک جهت کالیبراسیون استفاده شد. برای اندازه‌گیری

جذب و طیف جذبی از اسپکتروفتومتر UV-Vis دو پرتوی مدل 1650PC شرکت Shimadzu ساخت ژاپن استفاده شد. از سل ۳۵۰ میکرولیتری از جنس کوارتز در اندازه‌گیری اسپکتروفتومتری بهره گرفته شد. جهت تسریع در ته نشینی حلال استخراج‌کننده از یک سانتریفوژ ساخت شرکت Ependorf مدل 5810 ساخت آلمان، با روتور زاویه ای ۶ با قابلیت چرخش ۱۱۰۰۰ دور بر دقیقه استفاده شد. نرم افزار Excel جهت پردازش داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۳- روش کار

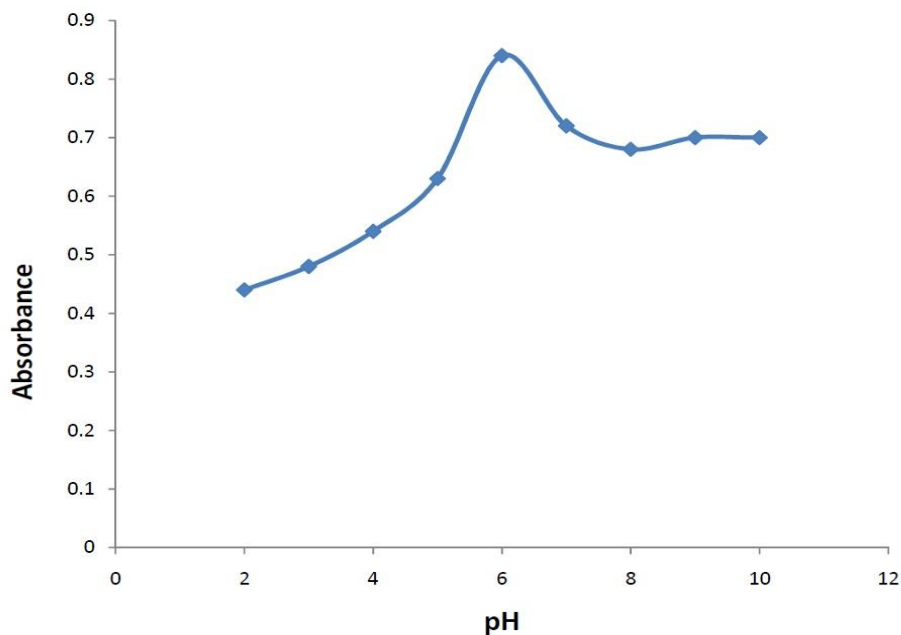
در یک لوله سانتریفوژ ۱۵ میلی لیتری درب دار که ته آن به شکل مخروطی می‌باشد، ۹ میلی لیتر از محلول استاندارد پارانیتر و آنیلین، با $\text{pH}=6$ و غلظت ۰/۳ میلی گرم بر لیتر ریخته و روی آن ۱ میلی لیتر مخلوط حلال‌ها که شامل ۸۰۰ میکرولیتر استون (به عنوان حلال پخش‌کننده) و ۲۰۰ میکرولیتر دی کلرومتان (به عنوان حلال استخراج‌کننده) توسط سرنگ یک میلی لیتری به سرعت داخل محلول نمونه تزریق گردید در نتیجه محلول ابری شکلی حاصل شد و سپس مخلوط حاصل به مدت ۵ دقیقه جهت استخراج کامل باقی ماند و بعد ۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ گردید. در نتیجه قطرات بسیار ریز پخش شده از فاز استخراج‌کننده در ته لوله آزمایش جمع گردید. حجم حلال ته نشین شده به طور متوسط ۲۰۰ میکرولیتر می‌باشد. پس از جدا کردن قطره جمع شده در ته لوله مخروطی در نهایت برای رقیق کردن قطره، ۱۰۰ میکرولیتر استون به آن اضافه شده و مقدار جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ماکزیمم ۳۷۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. از محلول بلانک شامل ۲۰۰ میکرولیتر حلال استخراج‌کننده و ۱۰۰ میکرولیتر استون، استفاده شد.

۳- بحث و نتایج

در این قسمت به بررسی عوامل موثر بر کارایی روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی در استخراج پارانیتر و آنیلین و بهینه‌سازی این عوامل، جهت داشتن بیشتر راندمان استخراج پرداخته شده است.

۳-۱- بررسی اثر pH

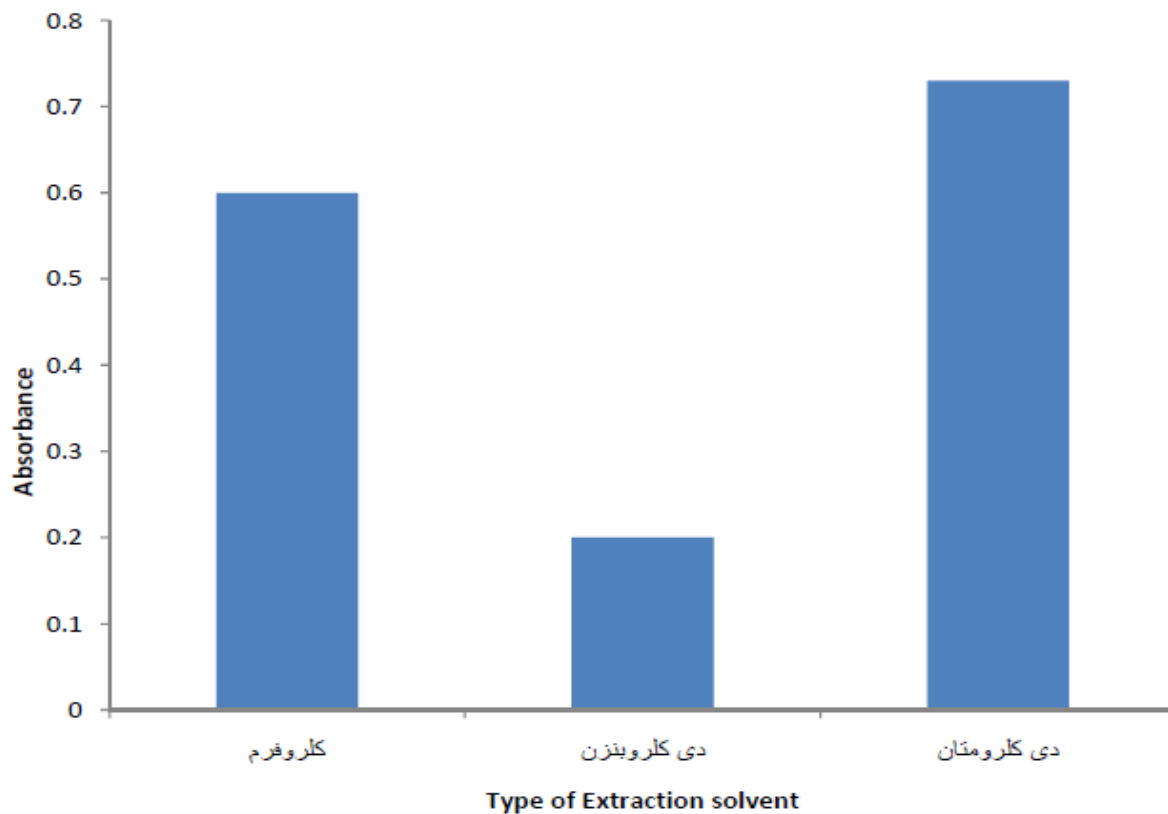
pH نمونه از فاکتورهای مهم در فرایند میکرواستخراج مایع-مایع پخشی است. pH بایستی طوری تنظیم گردد که آنالیت بطور عمده در فرم مولکولی باقی مانده تا بتواند به داخل فاز آلی نفوذ نموده یا در فاز آلی حل شده و استخراج آن صورت پذیرد. با انتخاب محدوده pH بین ۱۰-۲ استخراج پارانیتر و آنیلین مورد بررسی قرار گرفت. همان طور که شکل ۱ نشان می‌دهد، $\text{pH}=6$ بعنوان pH بهینه برای استخراج پارانیتر و آنیلین انتخاب شد.



شکل ۱. اثر pH بر میزان استخراج پارانیتروانیلین. شرایط استخراج: حجم نمونه ۹ میلی‌لیتر، حجم حلال استخراج‌کننده ۲۰۰ میکرولیتر، حجم حلال پخش‌کننده ۸۰۰ میکرولیتر، غلظت نمک ۱۵ درصد وزنی-حجمی، زمان سانتریفوژ ۵ دقیقه، سرعت سانتریفوژ ۲۰۰۰ دور در دقیقه، غلظت پارانیتروانیلین ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر

۲-۳- بررسی اثر نوع حلال استخراج‌کننده

یکی دیگر از پارامترهای مهم در فرایند استخراج مایع-مایع پخش‌ی، انتخاب حلال استخراج‌کننده است. حلال استخراج‌کننده باید چگالی بالاتری نسبت به آب داشته باشد تا ته نشین شدن آن در لوله مخروطی و جداسازی آن از فاز آبی توسط سانتریفوژ امکانپذیر گردد و همچنین با آب قابل امتزاج نبوده و یا حلالیت کمی در آب داشته باشد. در این کار، حجم ۲۰۰ میکرولیتر از حلال‌های کلروفرم، دی‌کلروبنزن و دی‌کلرومتان استفاده شد. با توجه به نتایج شکل ۲، دی‌کلرومتان بعنوان حلال استخراج‌کننده ی مناسب، انتخاب گردید.

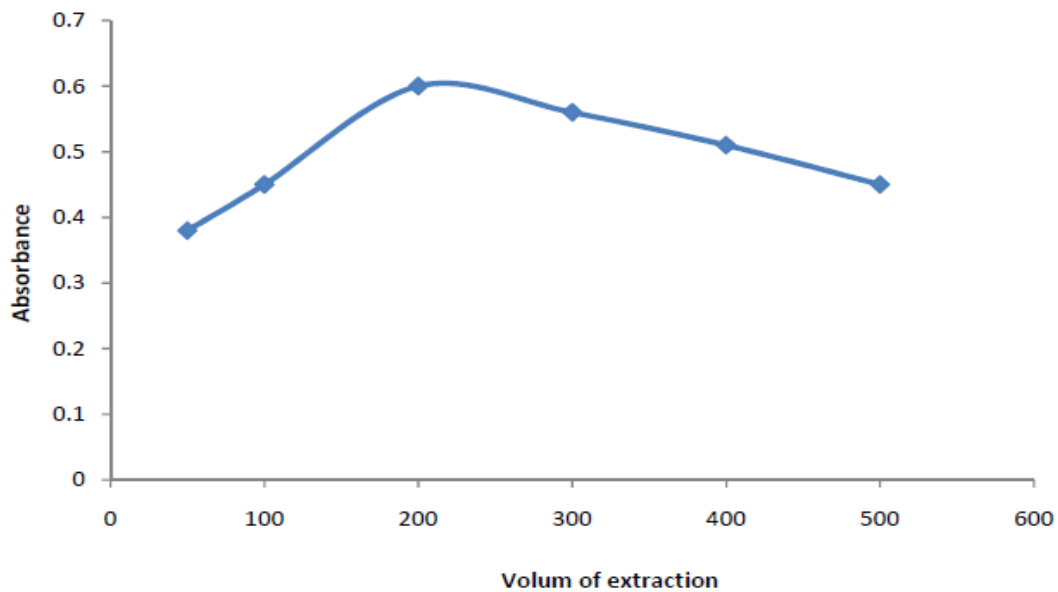


شکل ۲. بررسی نوع حلال استخراج کننده بر میزان استخراج پارانیتروانیلین. شرایط استخراج: حجم نمونه ۹ میلی لیتر، pH=۶، حجم حلال استخراج کننده ۲۰۰ میکرولیتر، حجم حلال پخش کننده ۸۰۰ میکرولیتر، غلظت نمک ۱۵ درصد وزنی-حجمی، زمان سانتریفوژ ۵ دقیقه، سرعت سانتریفوژ ۲۰۰۰ دور در دقیقه، غلظت پارانیتروانیلین ۰/۳ میلی گرم بر لیتر

۳-۳- بررسی حجم حلال استخراج کننده

مقدار حجم فاز استخراج کننده یکی از عوامل موثر بر میزان تغلیظ، در فرایند میکرواستخراج مایع-مایع پخشی می باشد. این میزان حجم، اثرات بزرگی روی فاکتور تغلیظ داشته و با افزایش حجم حلال استخراجی، فاز آلی به دست آمده افزایش می یابد. در نتیجه غلظت آنالیت هدف در فاز آلی کاهش می یابد اگر چه بازیابی استخراج تقریباً ثابت می ماند اما فاکتور غنی سازی کاهش پیدا خواهد کرد و سبب کاهش حساسیت می گردد پس حجم فاز آلی باید به گونه ای باشد که بتواند حداکثر میزان آنالیت را استخراج کند و از طرفی بیشترین غلظت را پس از انجام فرایند استخراج دارا باشد و از طرفی حجم کافی داشته باشد تا بتوان در میکروسل برای اندازه گیری مناسب باشد. به این منظور گستره ۵۰ تا ۵۰۰ میکرولیتر حلال استخراج کننده، جهت بررسی انتخاب شد. پس از فرایند استخراج با روش پیشنهادی، حجم حلال ته نشین شده به طور متوسط ۲۰۰ میکرولیتر می باشد. همانطور که در شکل ۳ مشاهده می شود با افزایش حجم دی کلرومتان در گستره ۵۰ تا ۲۰۰ سیگنال جذبی افزایش یافته که این به دلیل افزایش تعداد ذرات استخراج کننده و در نتیجه افزایش سطح تماس فاز استخراج کننده با محلول آبی می باشد و

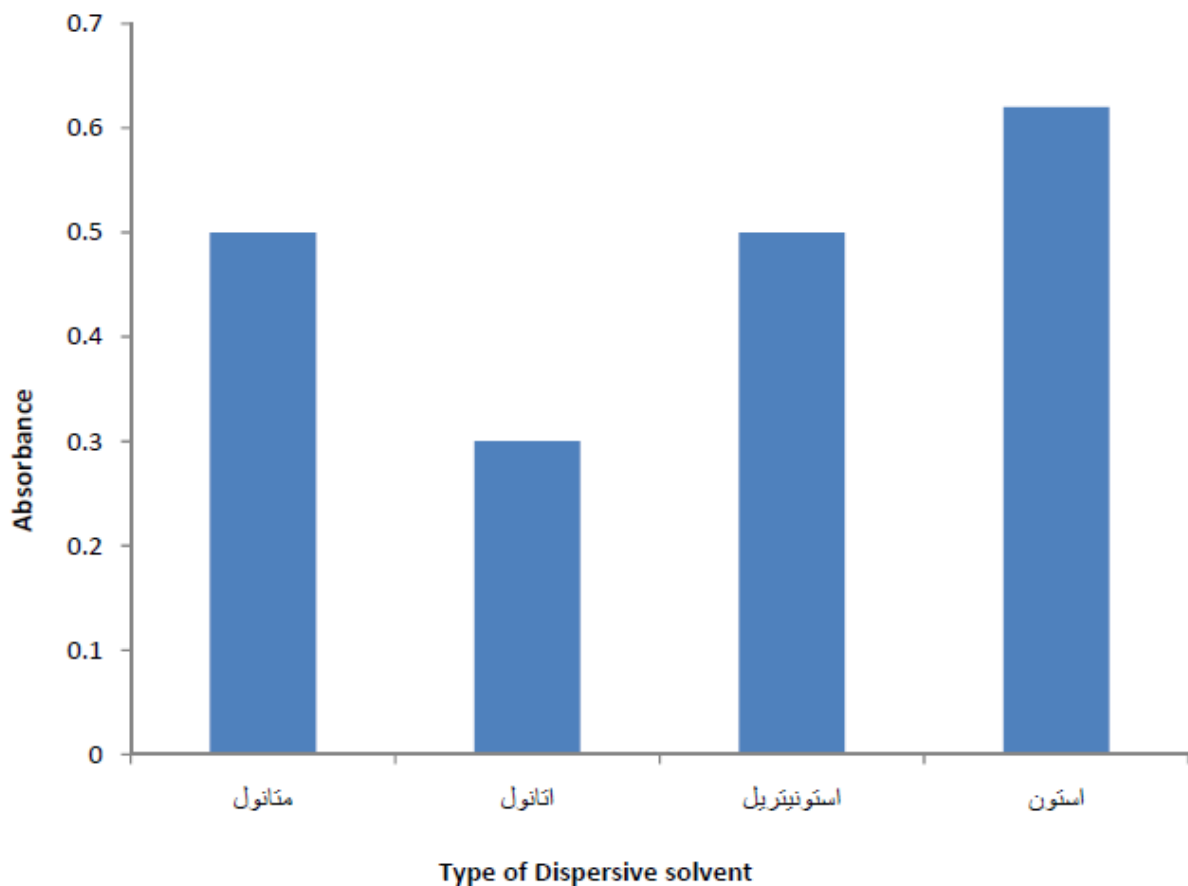
پس از آن شروع به کم شدن می‌کند. این کاهش ناشی از افزایش حجم فاز استخراجی و کاهش فاکتور تغلیظ است. لذا حجم ۲۰۰ میکرولیتر از دی‌کلرومتان بعنوان حجم بهینه در نظر گرفته شد.



شکل ۳. اثر حجم حلال استخراج کننده بر روی میزان استخراج پارانیتروآنیلین. شرایط استخراج: حجم نمونه ۹ میلی‌لیتر، pH=۶، حجم حلال پخش کننده ۸۰۰ میکرولیتر، غلظت نمک ۱۵ درصد وزنی-حجمی، زمان سانتریفوژ ۵ دقیقه، سرعت سانتریفوژ ۲۰۰۰ دور در دقیقه، غلظت پارانیتروآنیلین ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر

۳-۲- بررسی اثر نوع حلال پخش کننده

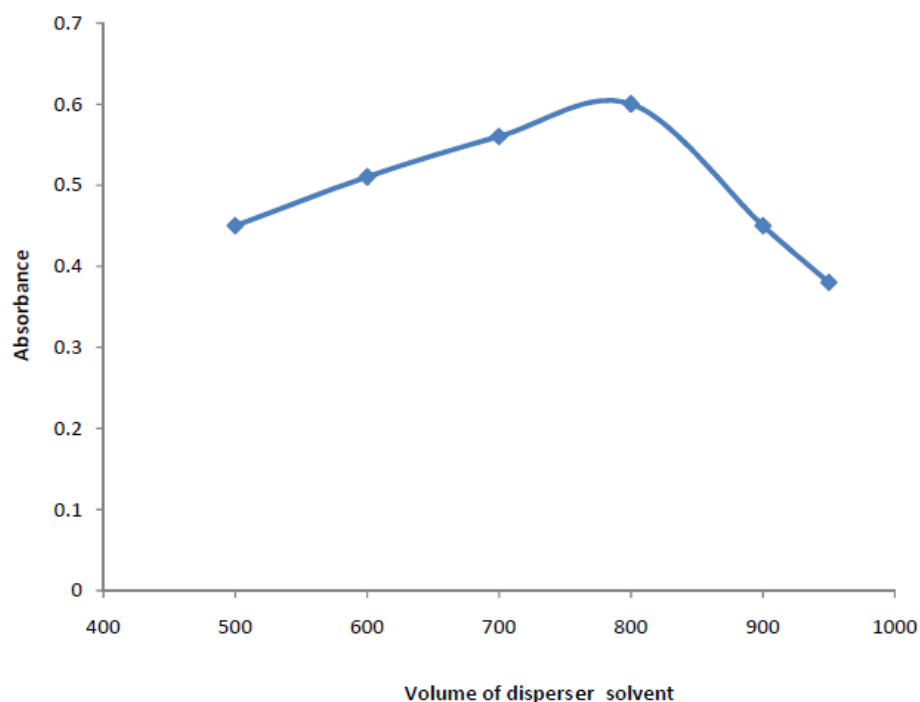
قبل از انتخاب حلال پخش کننده لازم است که امتزاج پذیری با حلال استخراج کننده و آب و میزان سمیت آن مورد بررسی قرارگیرد. حلال پخش کننده بایستی در حلال استخراج کننده قابل حل بوده و با آب امتزاج پذیر باشد در این صورت حلال پخش کننده می‌تواند بصورت ذرات ریز در فاز آلی پخش شود تا به شکل یک محلول ابری درآید در چنین مواردی سطح بین حلال استخراج کننده و فاز آبی (نمونه) می‌تواند خیلی بزرگ باشد. بنابراین کارایی حلال استخراج کننده افزایش می‌یابد. حلال‌هایی شامل متانول، اتانول، استونیتریل و استون بعنوان حلال پخش کننده مورد بررسی قرار گرفتند. شکل ۴ نشان می‌دهد که بر اساس این نتایج، استون بازدهی استخراج بهتری نسبت به دیگر حلال‌ها دارد و بعنوان حلال پخش کننده انتخاب گردید.



شکل ۴. اثر نوع حلال استخراج کننده بر میزان استخراج پارانیتروانیلین. شرایط استخراج: حجم نمونه ۹ میلی لیتر، $\text{pH}=6$ ، حجم حلال استخراج کننده ۲۰۰ میکرولیتر، حجم حلال پخش کننده ۸۰۰ میکرولیتر، غلظت نمک ۱۵ درصد وزنی-حجمی، زمان سانتریفوژ ۵ دقیقه، سرعت سانتریفوژ ۲۰۰۰ دور در دقیقه، غلظت پارانیتروانیلین ۰/۳ میلی گرم بر لیتر

۳-۵- بررسی حجم حلال پخش کننده

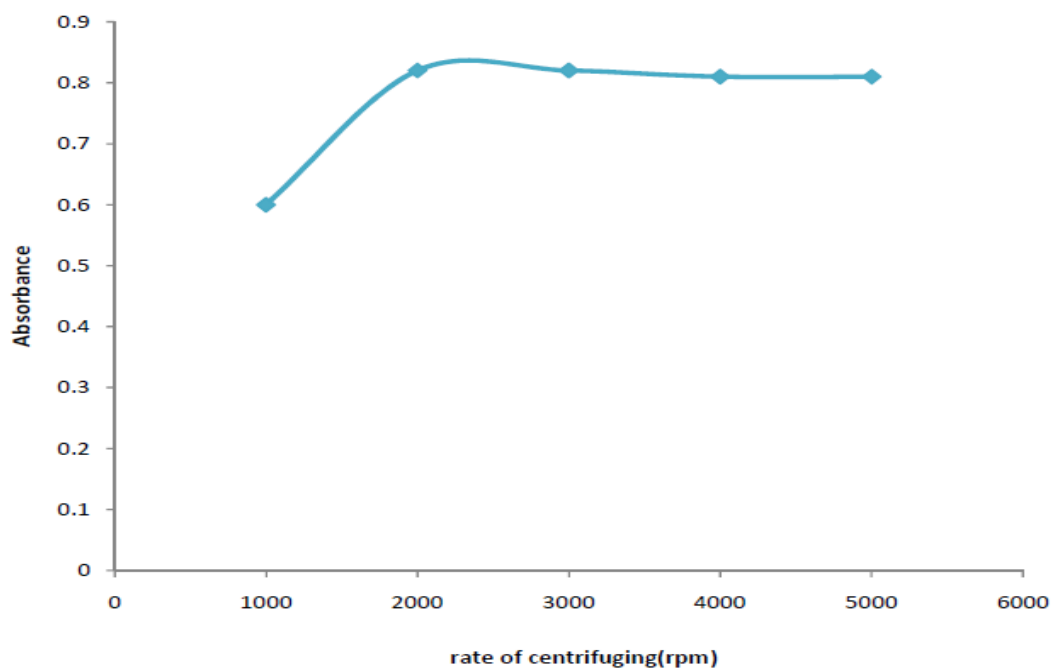
از جمله پارامترهای مهم دیگری که باید بهینه شود می توان به اثر حجم حلال پخش کننده اشاره کرد. هنگامی که حجم حلال پخش کننده کم باشد، این حلال قادر نیست که حلال استخراج کننده را پخش نماید، بنابراین حالت ابری پایدار تشکیل نمی شود و سیستم به سرعت دو فازی می شود. در مقادیر زیاد آن نیز حلالیت حلال استخراجی در آب زیاد می شود و مخلوط به سیستم تک فازی نزدیکتر می گردد. لذا یکی از فاکتورهای مهمی که باید بهینه شود حجم فاز پخش کننده است. جهت بررسی اثر حجم حلال پخش کننده، چندین آزمایش در شرایطی که حجم های متفاوتی از استون در گستره ۹۵۰-۵۰۰ میکرولیتر در محیط آزمایش بود، انجام گرفت. همان طور که شکل ۵ نشان می دهد در حجم ۲۰۰ میکرولیتر از استون، بیشترین راندمان استخراج مشاهده می شود.



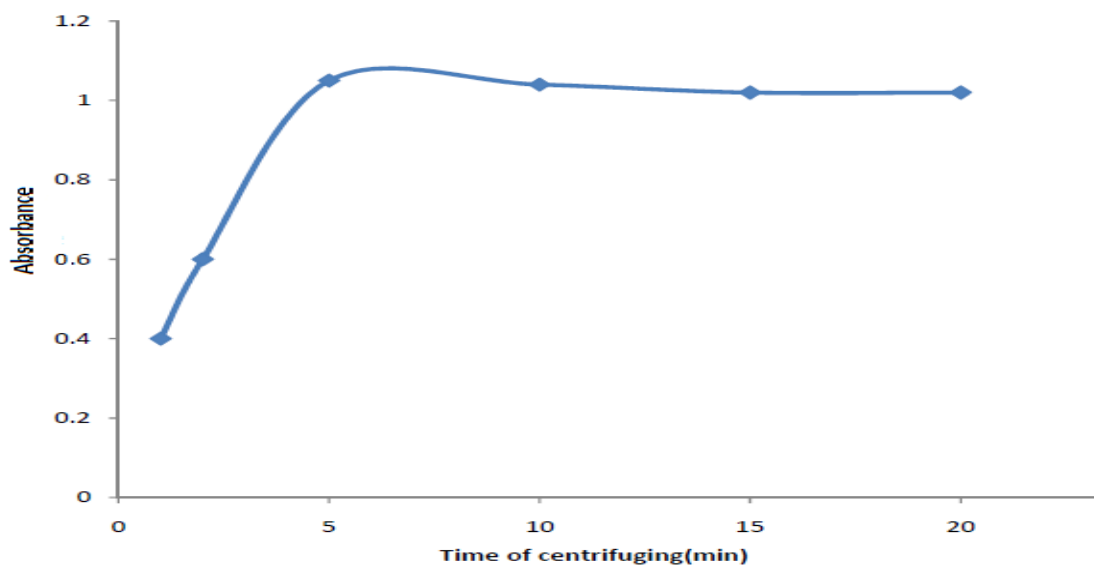
شکل ۵. اثر حجم حلال پخش‌کننده در میزان استخراج پارانیتروانیلین. شرایط استخراج: حجم نمونه ۹ میلی‌لیتر، $pH=6$ ، حجم حلال استخراج‌کننده ۲۰۰ میکرولیتر، غلظت نمک ۱۵ درصد وزنی-حجمی، زمان سانتریفوژ ۵ دقیقه، سرعت سانتریفوژ ۲۰۰۰ دور در دقیقه، غلظت پارانیتروانیلین ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر

۳-۶- اثر سرعت چرخش و زمان سانتریفوژ

در این روش اثر سرعت سانتریفوژ بر روی استخراج پارانیتروانیلین در محدوده ۱۰۰۰ تا ۶۰۰۰ دور بر دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. شکل ۶ نتایج نشان می‌دهد که در سرعت ۲۰۰۰ دور بر دقیقه فاز استخراج‌کننده کاملاً در ته لوله مخروطی جمع می‌شود. لذا سرعت ۲۰۰۰ دور بر دقیقه به عنوان سرعت چرخش بهینه انتخاب شد. در این سرعت، اثر زمان سانتریفوژ نیز مورد بررسی قرار گرفت که این بررسی در محدوده ۱ تا ۲۰ دقیقه انجام شد. نتایج بدست آمده طبق شکل ۷ نشان می‌دهد که در زمان ۵ دقیقه، حداکثر انتقال پارانیتروانیلین به انتهای لوله صورت گرفته، لذا این زمان انتخاب گردید.



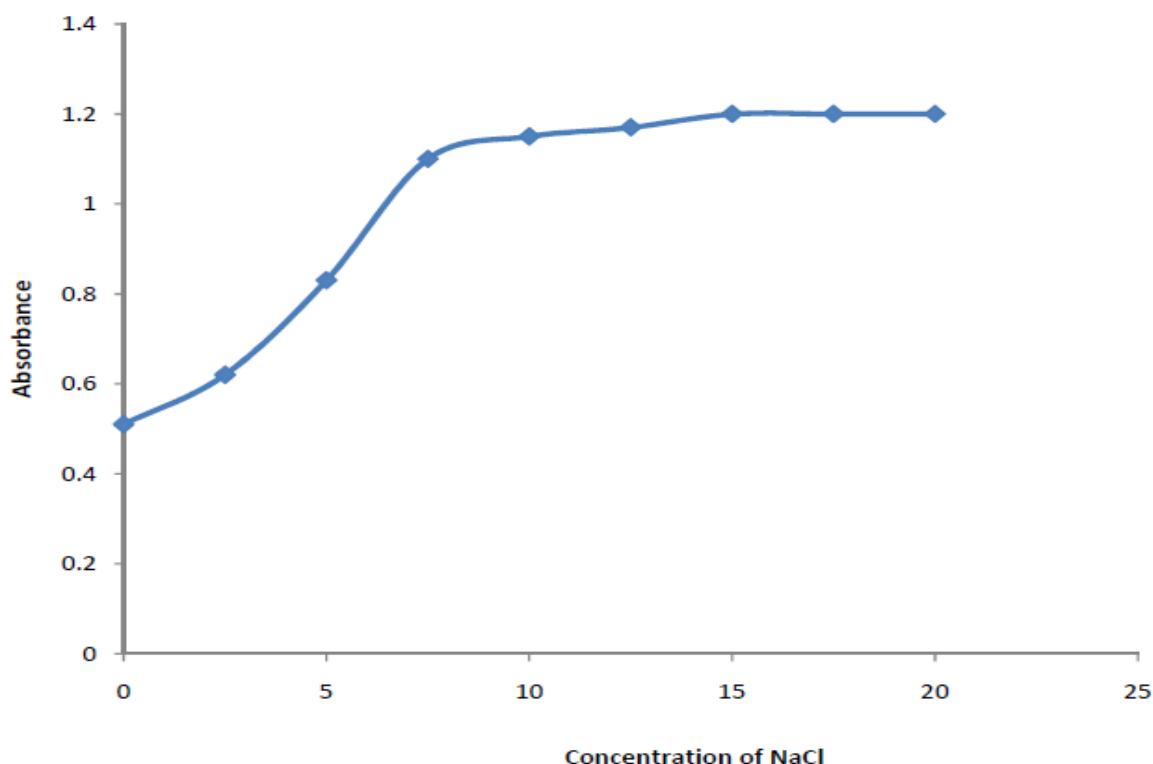
شکل ۶. اثر سرعت سانتریفوژ بر میزان استخراج پارانیتروانیلین. شرایط استخراج: حجم نمونه ۹ میلی لیتر، pH=۶، حجم حلال استخراج کننده ۲۰۰ میکرولیتر، حجم حلال پخش کننده ۸۰۰ میکرولیتر، غلظت نمک ۱۵ درصد وزنی-حجمی، زمان سانتریفوژ ۵ دقیقه، غلظت پارانیتروانیلین ۰/۳ میلی گرم بر لیتر



شکل ۷. اثر زمان سانتریفوژ بر میزان استخراج پارانیتروانیلین. شرایط استخراج: حجم نمونه ۹ میلی لیتر، pH=۶، حجم حلال استخراج کننده ۲۰۰ میکرولیتر، حجم حلال پخش کننده ۸۰۰ میکرولیتر، غلظت نمک ۱۵ درصد وزنی-حجمی، سرعت سانتریفوژ ۲۰۰۰ دور در دقیقه، غلظت پارانیتروانیلین ۰/۳ میلی گرم بر لیتر

۳-۷- اثر افزایش نمک

برای مطالعه اثر نمک بر کارایی روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی در اندازه‌گیری پارانیتروانیلین محلول‌هایی با غلظت‌های متفاوتی از نمک سدیم کلرید در گستره ۰ تا ۲۰ درصد (وزنی-حجمی) تهیه گردید و استخراج مطابق دستورالعمل ذکر شده انجام شد. نتایج در شکل ۸ نشان می‌دهد که در اثر افزایش نمک تا ۱۵ درصد میزان استخراج را افزایش می‌دهد و سپس بر فرایند استخراج تاثیری ندارد.

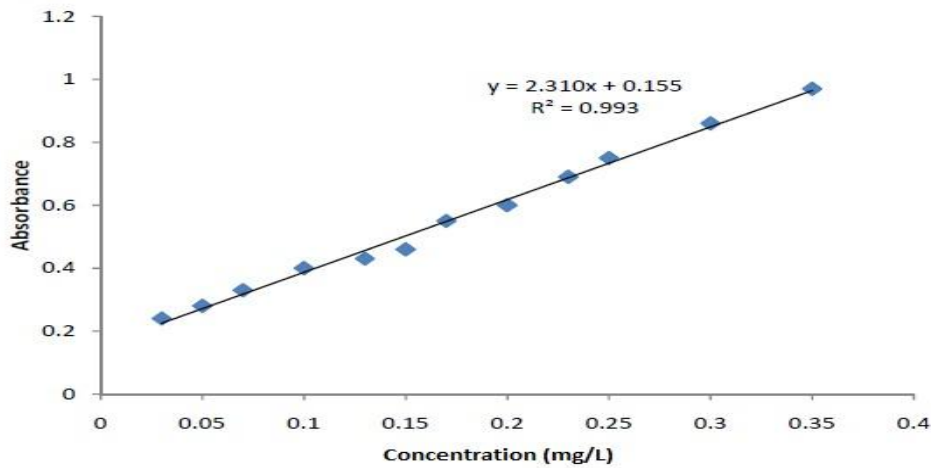


شکل ۸. اثر افزایش نمک بر میزان استخراج پارانیتروانیلین. شرایط استخراج: حجم نمونه ۹ میلی‌لیتر، pH=۶، حجم حلال استخراج‌کننده ۲۰۰ میکرولیتر، حجم حلال پخش‌کننده ۸۰۰ میکرولیتر، زمان سانتریفوژ ۵ دقیقه، سرعت سانتریفوژ ۲۰۰۰ دور در دقیقه، غلظت پارانیتروانیلین ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر

۴- ارقام شایستگی روش

ارقام شایستگی روش، برخی از پارامترهای تجزیه‌ای از قبیل فاکتور تغلیظ، حد تشخیص، انحراف استاندارد نسبی، ضریب همبستگی و محدوده خطی را آرایه می‌دهد. این پارامترها در جدول ۱ نشان داده شده‌اند. جهت ترسیم منحنی کالبراسیون، محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف از پارانیتروانیلین تهیه شد و با روش ذکر شده مورد استخراج و اندازه‌گیری قرار گرفتند. بر

اساس نتایج بدست آمده، نمودار کالیبراسیون پارانیتروانیلین در محدوده ۰/۳۵-۰/۰۲۵ میلی گرم بر لیتر با ضریب همبستگی ۰/۹۹۳ خطی است. که با تکرار کردن سه مرتبه برای هر غلظت از پارانیتروانیلین بدست آمد.



شکل ۹. منحنی کالیبراسیون پارانیتروانیلین پس از فرایند میکرواستخراج مایع-مایع پخش. شرایط بهینه‌ی استخراج: حجم نمونه ۹ میلی لیتر، pH=۶، حجم حلال استخراج کننده ۲۰۰ میکرولیتر، حجم حلال پخش کننده ۸۰۰ میکرولیتر، غلظت نمک ۱۵ درصد وزنی-حجمی، زمان سانتریفوژ ۵ دقیقه، سرعت سانتریفوژ ۲۰۰۰ دور در دقیقه

۴-۱- فاکتور تغلیظ

برای بدست آوردن فاکتور تغلیظ، شیب منحنی کالیبراسیون پس از استخراج را بر شیب منحنی کالیبراسیون قبل از استخراج تقسیم شد که عدد ۲۳/۲ برای این فاکتور بدست آمد.

۴-۳- حد تشخیص روش

حد آشکارسازی یک روش، غلظتی از نمونه است که پاسخ دستگاهی مربوط به آن به طور معنی دار با پاسخ نمونه بلانک متفاوت باشد و به صورت زیر تعریف می گردد:

$$DL = 3Sb/m$$

که DL ، S_b و m به ترتیب حد تشخیص، انحراف استاندارد بلانک و شیب خط رگرسیون پس از استخراج می‌باشد. برای تعیین حد تشخیص روش، چند محلول بلانک تهیه گردیده و مطابق روش پیشنهادی (۶ بار تکرار) مورد استخراج قرار گرفت. سپس جذب توسط دستگاه اندازه‌گیری شد. به این ترتیب حد تشخیص $0/01$ میلی‌گرم بر لیتر بدست آمد.

۴-۴- انحراف استاندارد نسبی

برای بررسی تکرارپذیری روش، سه نمونه محلول با غلظت $0/025$ میلی‌گرم بر لیتر از پارانیتر و آنیلین تهیه شد و مطابق روش پیشنهادی مورد استخراج قرار گرفتند. انحراف استاندارد نسبی برای $4/97$ درصد بدست آمد.

جدول ۱. ارقام شایستگی مربوط به روش میکرو استخراج مایع-مایع پخشی در پیش تغلیظ و اندازه‌گیری پارانیتر و آنیلین

ارقام شایستگی	گستره و مقدار
گستره‌ی رنج خطی (میلی‌گرم بر لیتر)	$0/025 - 0/35$
معادله خط رگرسیون روش	$y = 2/31x + 0/155$
ضریب همبستگی (r^2)	$0/993$
انحراف استاندارد نسبی (RSD%) ($n=3$)	$4/97$
حد تشخیص روش (DL) (میلی‌گرم بر لیتر، $n=6$)	$0/01$
فاکتور تغلیظ	$23/2$
حجم نمونه (میلی لیتر)	9
گستره‌ی درصد بازیابی	$96/2 - 98$

۴-۵- تجزیه نمونه‌های حقیقی

برای ارزیابی کارایی روش پیشنهادی در آنالیز نمونه‌های حقیقی، از روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی برای جداسازی، پیش تغلیظ و اندازه‌گیری پارانیتر و آنیلین در نمونه فاضلاب کارخانه نساجی استفاده شد. نمونه‌ی پساب پس از صاف شدن، بر اساس روش ارایه شده مورد استخراج قرار گرفت. با استفاده از روش پیشنهادی، غلظتی از پارانیتر و آنیلین در نمونه‌ی پساب، آشکارسازی نشد. به منظور بررسی صحت روش و مناسب بودن آن، دو سطح غلظتی از پارانیتر و آنیلین به نمونه‌ی پساب اسپایک شد و فرایند استخراج و بازیابی آنالیت در شرایط بهینه با روش پیشنهادی، بصورت سه بار تکرار انجام گرفت. نتایج جدول ۲ کارایی مناسب روش را برای نمونه‌ی پساب نساجی تایید می‌کند.

جدول ۲. تجزیه نمونه حقیقی (فاضلاب کارخانه نساجی) با روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی

نمونه	غلظت در نمونه (میلی گرم بر لیتر)	غلظت افزوده شده (میلی گرم بر لیتر)	غلظت یافت شده (میلی گرم بر لیتر)	درصد بازیابی
پساب	-	۰/۲	۰/۱۹۶	۹۸
پساب	-	۰/۱	۰/۰۹۶۲	۹۶/۲

۵- نتیجه گیری

روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی برای استخراج و پیش تغلیظ پارا نیترو آنیلین در نمونه کارخانه نساجی مورد استفاده قرار گرفت و نتیجه بدست آمده موفقیت آمیز بود. اندازه گیری پارانیتروانیلین به همراه استفاده از روش اسپکتروفتومتری دارای حساسیت و کارایی بالایی است. تکنیک میکرواستخراج مایع-مایع پخشی ارایه شده از بازدهی استخراجی بالایی برخوردار است. سریع، ارزان، ایمن بودن، حد تشخیص مناسب به همراه تکرارپذیری مناسب، فاکتور تغلیظ نسبتا بالا و سادگی از جمله مزیت‌های برجسته این روش می‌باشند.

۶- مراجع

- [1] H. X. Yanhe, S. Chen, H. Zhao, C. Cui, Y. Zhao, *Sep and Purific Technol*, **50** (2005) 365.
- [2] C. V. Nachiyar, G. S. Rajakumar, *Chemosphere*, **57** (2004) 165.
- [3] SR. El-Shabouri, *Talanta*, **32** (1985) 999.
- [4] A. Afkhami, M. Bahram, S. Gholami, Z. Zand, *Anal Biochem*, **336** (2005) 295.
- [5] C. Brede, I. Skjevraak, H. Herikstad, *J. Chromatogr A*, **983** (2003) 35.
- [6] J. S. Chiang, S. D. Huang, *Talanta* **75** (2008) 70.
- [7] J. F. Jen, C. T. Chang, T. C. Yang, *J. Chromatogr A*, **930** (2001) 119.
- [8] A. Sarafraz-Yazdi, Z. Es'haghi, *Talanta* **66** (2005) 664.
- [9] L. M. Zhao, L. Y. Zhu, H. K. Lee, *J. Chromatogr A*, **963** (2002) 239.
- [10] J. Li, Z. B. Yuan, *Chin. Chem. Lett.* **15** (2004) 947.
- [11] A. Niazi, J. Ghasemi, A. Yazdanpour, *Spec. Chem. Acta. Part A*, **68** (2007) 523.
- [12] S. Berijani, Y. Assadi, M. Anbia, M. R. M. Hosseini, E. Aghae, *J. Chromatogr A*, **1** (2006) 1123.
- [13] P. Hashemi, S. M. Hosseini, A. Kakanejadifard, Gh. Azimi, S. Zohrehvand, *J. Chin. Chem. Soc.*, **57** (2010) 1.
- [14] M. Hosseini, R. Heydari, M. Alimoradi, *Talanta*, **130** (2014) 171.

- [15] M. Hosseini, R. Heydari, M. Alimoradi, *J. Sep. Science*, **38** (2015) 663.
- [16] F. Tadaion, Sh. Motahar, M. Hanasaei, *Journal of Applied Chemistry*, **34** (2015) 9.
- [17] M. Falahnejad, H. Mousavi, H. Shirkhanlo, *Journal of Applied Chemistry*, **33** (2015) 11.