|  |  |
| --- | --- |
| **3,3-دی کلروبنزیدین** | **3,3-dichlorobenzidine** |
| **فرمول شیمیایی**: (C6H3ClNH2)2  **وزن مولکولی**: 13/255 | **CAS** : 91-94-1  **RTECS** : DD0525000 |
| **اسامی مترادف**: 3,3-دی کلرو[1,1-بی فنیل]-4,4-دی آمین | |
| **ویژگی ها**: جامد؛ نقطه ذوب ˚c 132 | |
| **حدمجاز**: **OSHA**: carcinogen **NIOSH**: carcinogen **ACGIH**: carcinogen (skin) | |
| **احتیاطات ویژه**:  3,3-دی کلروبنزیدین سرطانزاست. احتیاطات لازم را بکار گیرید تا از آلوده شدن محیط و افراد جلوگیری شود. | |
| **مواد و محلولهای لازم**:   1. متانول؛ خلوص HPLC 2. استونیتریل؛ خلوص HPLC 3. تری اتیل آمین 4. آب مقطر دیونیزه 5. 3,3-دی کلروبنزیدین 6. حلال: 17% حجمی تری اتیل آمین در متانول ؛ 170 میکرولیتر تری اتیل آمین را با متانول به حجم 100 میلی لیتر برسانید. 7. محلول استوک کالیبراسیون، µg/µL 5/0 ؛ 50 میلی گرم 3,3-دی کلروبنزیدین را در 100 میلی لیتر حلال حل کنید. 8. محلول استوک بازیافت، µg/µL 5/0 ؛ 50 میلی گرم 3,3-دی کلروبنزیدین را در 100 میلی لیتر متانول حل کنید. | |
| **وسایل و تجهیزات لازم**:   1. نمونه بردار: فیلتر فایبر گلاس، 13 میلی متری، نوع AE (Gelman یا انواع مشابه)، در فیلتر هولدر 13 میلی متری (swinney، Gelmanیا انواع مشابه) 2. پمپ نمونه برداری فردی با دبی L/min 2/0 ، به همراه لوله های رابط قابل انعطاف 3. دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد عالی (HPLC)، با آشکارساز UV، ثبت کننده نمودار، وستون 4. لوله آزمایش، 1 میلی لیتری، با مهار کننده پلی اتیلنی 5. سرنگ های 10 و 25 میکرولیتری ، با درجه بندی 1/0 میکرو لیتری 6. پیپت 5/0 و 5 میلی لیتری ، با درجه بندی 1/0 میلی لیتری 7. بالن ژوژه 10 و 100 میلی لیتری 8. دستگاه سانتریفیوژ 9. تکاننده (Shaker) لوله آزمایش، از نوع Vortex | |
| **نمونه برداری**:   1. پمپ های نمونه بردار فردی را کالیبره کنید. ضمن اینکه در هنگام کالیبراسیون یک نمونه بردار را نیز به پمپ متصل کنید. 2. نمونه برداری را در دبی بین L/min 2/0 برای عبور حجم هوای 20 تا 100 لیتر انجام دهید. 3. درپوش نمونه بردار را ببندید. 4. نمونه را در دمای اتاق نگهداری کرده و انتقال دهید. | |
| **آماده سازی**:   1. فیلتر فایبرگلاس را در یک لوله آزمایش قرار دهید. 2. 5/0 میلی لیتر حلال به لوله آزمایش انتقال دهید. لوله آزمایش را پوشانده و آن را توسط تکاننده لوله آزمایش تکان دهید. 3. به مدت 1 ساعت نمونه ها را رها کرده و متناوبا آن را تکان دهید. 4. هر نمونه را به مدت 10 دقیقه سانتریفیوژ کنید. | |
| **کالیبراسیون و کنترل کیفی**:   1. روزانه با حداقل 6 استاندارد کاربردی که گستره 2/0 تا 7 میکروگرم 3,3-دی کلروبنزیدین را در هر نمونه پوشش دهد کالیبره کنید.  * توسط یک سرنگ میکرولیتری مقدار مشخصی از محلول استوک کالیبراسیون را به بالن ژوژه 10 میلی لیتری اانتقال داده و با حلال به حجم برسانید. * محلول فوق را به همراه نمونه های اصلی و شاهد آنالیز کنید (مراحل 1- 3 اندازه گیری). * منحنی کالیبراسیون را رسم کنید (مساحت پیک در برابر میکروگرم 3,3-دی کلروبنزیدین).  1. میزان بازیافت (R) را حداقل سالی یکبار برای فیلتر ها تعیین کنید. 4 فیلتر در هر پنج غلظت انتخابی بعلاوه سه شاهد آماده کنید.  * فیلتر های نمونه را در لوله های آزمایش جداگانه قرار دهید * بخشی از محلول استوک بازیافت را مستقیما به فیلتر تزریق کنید. * درپوش لوله های آزمایش را گذاشته و بگذارید به مدت 1 شب بماند. * محلول را آماده کرده (مراحل 1 تا 4 آماده سازی) و به همراه استاندارهای کاربردی آنالیز کنید (مراحل 1- 3 اندازه گیری). * نموداری از میزان بازیافت در برابر µg 3,3-دی کلروبنزیدین بازیافت شده ترسیم کنید.  1. سه شاهد و سه آنالیت spike شده را برای اطمینان از اینکه منحنی کالیبراسیون و نمودار بازیافت تحت کنترل هستند، آنالیز کنید. | |
| **اندازه گیری**:   1. دستگاه HPLC را بر اساس توصیه سازنده و تحت شرایط زیر تنظیم کنید.  * آنالیت(ماده مورد تجزیه): 3,3-دی کلروبنزیدین * جداسازی: 5/0 میلی لیتر، تری اتیل آمین در متانول (17% حجمی) * حجم تزریق: 15 میکرولیتر * آشکارساز: UV (254 نانومتر) * فاز متحرک: استونیتریل (70%) / آب (30%) * ستون: μBondapak C18  1. بخشی از نمونه را به HPLC تزریق کنید. 2. مساحت پیک را بدست آورید. | |
| **مداخله گرها**: 4,4-متیلن بیس(2-کلروآنیلین) در آنالیز 3,3-دی کلروبنزیدین تداخل ایجاد می کند. | |
| **محاسبات**:   1. جرم برحسب µg 3,3-دی کلروبنزیدین موجود در فیلتر نمونه اصلی (W) و شاهد (B) را از منحنی کالیبراسیون بدست آورید. 2. با استفاده از فرمول زیر غلظت 3,3-دی کلروبنزیدین (C) را در حجم هوای نمونه برداری شده (V) بر حسب لیتر بدست آورید: | |