|  |  |
| --- | --- |
| **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:

$$C= \frac{W-B}{V} , mg/m^{3}$$ |