

تقدير الرصاص بتقنية الحقن الجرياني-البريق الكيميائي بنظام الليوسجينين - بيروكسيد الهيدروجين-ايون الهيدروكسيد

نغم شاكر تركي العوادي

قسم الكيمياء- كلية العلوم- جامعة بغداد. بغداد, العراق.

الخلاصة

يقدم البحث اسلوب حديث في التحليل الانفي شبه التلقائي لتقدير الرصاص(II) بفعل البريق الكيميائي لنظام جديد: الليوسجينين-بيروكسيد الهيدروجين-ايون الهيدروكسيد-الرصاص(II) والذي يعطي بريقاً أزرق-مخضر عند 470 نانومتر وعند الاكسدة ببيروكسيد الهيدروجين في وسط قاعدي لمادة الليوسجينين بوجود الرصاص(II) كعامل مساعد. ثم قياس الضوء المتولد في خلية حلزونية زجاجية مصممة لهذا الغرض مع منظومة تحسس الكترونية. تم الحصول على علاقة لتغير الاستجابة مع التركيز تمتد من (1-15) مكغم.مل⁻¹ ونسبة خطية: 97.59% و99.44% باستخدام معادلتين: الاولى معادلة الخط المستقيم والثانية معادلة درجة ثانية على التوالي ولوحظ ان معادلة من الدرجة الثانية اكثر واقعية في تفسير النتائج، تم التوصل الى حدود كشف 55 بيكوغرام عملياً بالاضافة الى دراسة تاثير الايونات الدخيلة.

DETERMINATION OF LEAD(II) USING LUCIGENIN-H₂O₂-OH⁻ SYSTEM VIA FLOW INJECTION-CHEMILUMINESCENCE

Abstract

A new mode in the Semi-automated on-line analysis for lead(II) via chemiluminescence system of Lucigenin-H₂O₂-OH⁻-Lead(II) which gives a blue-green chemiluminescence, when Lucigenine is oxidized by hydrogen peroxide in alkaline medium was studied. Measurement of the generated light in a flat-spiral glassy cell designed for this purpose were achieved using advanced electronic detection system (with a multiple choice of readout systems). A relation for the variation of response with concentration expand from 1-15 µg.ml⁻¹ with %linearity of 97.6% while a % of linearity 99.44% using a quadratic equation. The quadratic equation represent the data much more preferably in which a picogram level of detection limit was achieved. Also the study was carried out for interfering effect.

المقدمة

بعد الاستنشاق، كما انه يتوزع في موضعين من الجسم اولهما الدم والانسجة الرخوة والثاني في العظام. اما عملية طرح

بعد الرصاص من المعادن الثقيلة جداً ويتم امتصاصه ببطئ وبصورة غير تامة في القناة الهضمية والجهاز التنفسي

Lvov [7] طيفافية الانبعاث الذري المقترنة مع مطيافية بلازما الحث المقترن (ICP-AES) لتقدير الرصاص في مياه الانهار بعد التركيز المسبق [8] بالاضافة الى استخدامها في تقدير الكميات الضئيلة من الرصاص (النزرة) في نماذج الطعام وبالاقتزان مع تقنية الحقن الجرياني المستمر (ICP-MS- FIA) [9]، وتفاعل البريق الكيميائي بطريقة الوجبة وباستخدام الليوسجين كجزئية باعثة لضوء البريق بالاضافة الى تقدير ايونات العناصر الثقيلة مثل الزئبق (II) والنتيانيوم (II) واليزموث (III) [10].

خلال البحث الحالي أُستخدِم تفاعل البريق الكيميائي بالاقتزان مع تقنية الحقن الجرياني المستمر ويعتمد على انبعاث الضوء او الاشعة الكهرومغناطيسية نتيجة لتفاعلات كيميائية (اكسدة- اختزال) منتجة جزئية مثارة الكترونياً لها القابلية على اعطاء فوتون من الضوء [11]، واهم كواشف البريق الكيميائي في الطور السائل هي اللومينال والليوسجين والبيروكسي او كزالات او اللوفين ولها تطبيقات تحليلية عديدة في المجالات الاحيائية والطبيعية والدوائية والبيئية او الصناعية وغيرها [12,20].

تعد استرات الاكريدنيوم من اكثر مركبات البريق الكيميائي كفاءة اذ يمكنها ابعث بريقاً اخضر عند الاكسدة في وسط قاعدي [21] ومن املاح الاكريدنيوم المعروفة هو الليوسجين (10,10-ثنائي مثيل-9,9-ثنائي الاكريدنيوم على هيئة نترات) وهو من افضل المركبات ضمن هذا النوع معطياً بريقاً ازرق- مخضراً عند 470 نانومتر عند الاكسدة في وسط قاعدي بواسطة بيروكسيد الهيدروجين متحولاً الى الحالة المثارة (N- مثيل الاكريدون) التي يعتقد انها المسؤولة عن انبعاث ضوء البريق [22] واستخدام لتقدير العديد من المواد المؤكسدة والمختزلة مثل حامض الاسكوريك [23,24].

استخدم نظام الحقن الجرياني المستمر في تفاعل البريق الكيميائي لما تتمتع من بساطة وقلة كلفة وسهولة الانجاز وسرعة التحليل وتزود بمعلومات عن حركيات التفاعل الذي يحدث عبر نظام الجريان وشكل الاستجابة وحجمها يعكس تركيز الانموذج المحقن [25,62] ولها تطبيقات عديدة في التحليلات الكيميائية [27,30].

الرصاص خارج الجسم تكون بطيئة جداً ويميل الى البقاء في الجسم والمصدر الرئيسي لطرح الرصاص هي الكليتان [1].

من اهم الامراض ذات العلاقة بالرصاص مرض فقر الدم [2] والذي يكون ناشئاً في الغالب عن نقص الحديد في الغذاء وعن التسمم بالرصاص في ان واحد الا ان مرض فقر الدم الذي سببه التسمم بالرصاص يكون نادراً واعراضه التوعك وفقدان الشهية والتقيؤ والالام في البطن وسرعة التهيج والخمول بالاضافة الى ان الرصاص يصيب الجهاز العصبي مسبباً اعتلال الدماغ متمثلاً بالغيوبية فالاختلاج ثم الموت اما الامراض الثانوية فتتضمن التخلف العقلي وتصرفات سلوكية غير مالوفة والعمى الوتقي واحتباس النطق والشلل النصفي [3].

ويمكن ان تظهر اشارة السمية مع تراكيز واطئة منه وحسب ماوردته المراكز الامريكية للسيطرة على الامراض: بالنسبة للاطفال 10 مكغم/ديسي لتر من الدم وبالبالغين 25 مكغم/ديسي لتر من الدم وبسبب العدد من المصادر الكامنة التي يتعرض لها الانسان في البيئة ومايدخل الى جسمه عن طريق الاستنشاق والقم (الطعام) يصبح من الصعب تحديد السبب المضبوط للتسمم بالرصاص استناداً الى مستويات الرصاص في الدم فقط [4].

من الخواص الفيزيائية للرصاص بان له القابلية للذوبان في الماء واكثر ذوباناً في الاحماض المخففة وهو يقاوم التاكل واعلى مقاومة للكهرباء من النحاس واقل من الفولاذ غير القابل للصدأ، وغير قابل للاحتراق ويتم الحصول عليه بواسطة صهر مخلفات المعادن واختزال كبريتيد الرصاص او كاربونات الرصاص. في الوقت الحاضر لا يدخل الرصاص في تركيبه انابيب مياه الشرب مما ساعد على عدم تسرب الرصاص الى مياه الشرب من خلال انابيب شبكة توزيع المياه وربما المصدر الاكثر احتمالاً في حدوث التسمم بالرصاص هو دخوله في صناعة الاواني الفخارية، فاملاح الرصاص تعد من المكونات الاساسية الداخلة في صنع الطلاء الزجاجي للوانى الفخارية منذ زمن بعيد من اجل تزيينها، وعلى الرغم من ان هذه المادة تبدو خاملة ظاهرياً الا ان بعض انواع الرصاص يمكن ان يرشح تحت ظروف حامضية وخاصة اذا كان الطلاء الزجاجي لم يتم فخره بشكل جيد [2].

ان الدقة في تحديد التراكيز الواطئة للرصاص تتطلب اهتماماً متزايداً لذلك هنالك العديد من الطرق لتحديد مستويات الرصاص في الدم واليوربا منها: مطيافية الامتصاص الذري باستخدام الفرن الكرافيتي [5,6] او التنزيرة الكهروحرارية بواسطة منصة

الجزء العملي

الاجهزة المستخدمة

مضخة تمعجية المانية المنشأ نوع Desaga وانابيب ناقلية للمواد المتممة للتفاعل مصنعة من مطاط السليكون او متعدد البروبلين بقطر داخلي 1 ملليمتر و0.5 ملليمتر على التوالي وصمام الحقن (سداسي المنفذ)/Rheodyne وصلة الانموذج مصنعة من النفلون بقطر داخلي 0.25 ملليمتر باطوال مختلفة وقناني الكواشف (زجاجية) سعة 500 مل ومحقنة طبية لحقن الانموذج سعة 5 مل وتركيب مصنع محلياً من الزجاج العضوي (مثيل ميتا اكريليت) لالتقاء المحاليل المتممة للتفاعل ذو مدخلين ومنفذ لنواتج التفاعل وخلية التفاعل: زجاجية حلزونية سعة (50 مايكرو لتر) ذات مدخلين ومنفذ لنواتج التفاعل والمنظومة الالكترونية وتشتمل: انبوبة مضاعفة الفوتونات نوع RCA 2055 والذي يستجيب للمنطقة فوق البنفسجية والمرئية لمنطقة الطيف ومجهز الفولتية (0-1600) فولت JOBIN yvon ومضخم التيار الكهربائي (10⁻¹¹-0.1) امبير الذي يحول التيار الى فوق جهد.

المواد الكيميائية

جميع الكواشف حضرت باستخدام الماء اللابوني. المحاليل القياسية: الليوسجين (10، 10⁻¹⁰ ثنائي مثيل-9، 9-ثنائي الاكريدنيوم ثنائي النترات) (1 مللي مول.لتر⁻¹) من اذابة 0.51051 غم/لتر و(1000 مكغم.مل⁻¹) من اذابة 0.79927 غم من Pb(NO₃)₂ في 500 مل من الماء المقطر و(0.1 مول.لتر⁻¹) من اذابة 5.6 غم KOH في 1 لتر ماء و (60%، 17.64 مول.لتر⁻¹) بتخفيف 11.33 مل من H₂O₂ (Solvay) في 2 لتر ماء للحصول على (100 مللي مول.لتر⁻¹) منه وتم ضبط المولارية مع محلول قياسي من (100 مللي مول.لتر⁻¹) في وسط حامض الكبريتيك (8:1 (v/v)) اما الايونات الدخيلة الموجبة والسالبة حضرت بتركيز 1000 مكغم.مل⁻¹: Co(II) من اذابة 4.93830 غم من Co(NO₃)₂.6H₂O لكل لتر واحد و(III) Cr من اذابة 3.84788 غم من Cr(NO₃)₂.9H₂O لكل 500 مل و(II) Cu من اذابة 1.90116 غم من Cu(NO₃)₂.3H₂O لكل 500 مل و(II) Ni من اذابة 2.47708 غم من Ni(NO₃)₂.6H₂O لكل 500 مل و(III) Fe من اذابة 3.617025 غم من Fe(NO₃)₃.9H₂O في 500 مل و(II) Fe من اذابة 1.7543 غم من FeSO₄(NH₄)₂.SO₄.6H₂O لكل 250 مل ماء مقطر و VO₂⁺

من اذابة 0.5482 غم من V₂O₅ في 250 مل ماء مقطر و(II) Mg من اذابة 1.5250 غم من Mg(NO₃)₂ في 250 مل ماء و(II) Zn من اذابة 0.8388 غم من Zn(CH₃COO)₂.2H₂O في 250 مل ماء و I⁻ من اذابة 0.65404 غم من KI في 500 مل ماء و Cl⁻ من اذابة 1.05146 غم من KCl في 500 مل و Br⁻ من اذابة 0.74459 غم من KBr في 500 مل و ClO₃⁻ من اذابة 0.73426 غم من KClO₃ الى 500 مل و IO₃⁻ من اذابة 0.61177 غم من KIO₃ الى 500 مل و NO₃⁻ من اذابة 0.81534 غم من KNO₃ الى 500 مل و NO₂⁻ من اذابة 0.3749 غم من NaNO₂ الى 250 مل ماء مقطر. جميع الاملاح ذات نقاوة عالية ومجهزة من عدة شركات (Fluka, A.G. و BDH و Riedel و M&B و Merck).

طريقة العمل

تتكون منظومة التفاعل (شكل رقم (1)) من اربعة خطوط: الماء المقطر (التيار الناقل للانموذج) يحقن على هذا الخط من خلال صمام الحقن 11 مايكرو لتر من ايون الرصاص(II) والثاني: تيار من بيروكسيد الهيدروجين (25 مللي مول.لتر⁻¹) ويلتقي الخطان معاً عند نقطة الالتقاء الاولى اما الخط الثالث: تيار من محلول الليوسجين (0.1 مللي مول.لتر⁻¹) والخط الرابع: الوسط القاعدي من هيدروكسيد البوتاسيوم (25 مللي مول.لتر⁻¹) يلتقي الخطان معاً عند نقطة الالتقاء الثانية. تلتقي محاليل الخطان المتكونان بعد نقاط الالتقاء في خلية التفاعل (زجاجية حلزونية) (سعة 50 مايكرو لتر) ذات مدخلين ومنفذ لنواتج التفاعل) مؤدياً الى تحرر ضوء البريق الكيميائي بلون ازرق-مخضر بفعل عملية الاكسدة لجزئ البريق (الليوسجين) بوساطة بيروكسيد الهيدروجين في محيط قاعدي وبوجود العامل المحفز الرصاص(II)، ومن المتوقع ان القطعة الباعثة للبريق هي المركب الوسطي N-methylacridine بالاضافة الى الفلورة المحفزة من القطع الايونية المنحلة والمثارة بفعل ضوء البريق كمصدر داخلي للتشيع. تم تثبيت خلية التفاعل الحلزونية امام الانبوبة المضاعف الفوتوني لتحويل الطاقة الفوتونية الى تيار كهربائي بحدود بيكو او نانو امبير وتضخيمه ومن ثم تحويله الى فرق جهد (فولت) لرسم الاستجابة وباستخدام اسلوب القياس ارتفاع الاستجابة يتم الحصول على مقدار الجهد وبالتالي الحصول على مقدار الشدة الضوئية لتفاعل البريق.

¹- الرصاص(II) (10 مكغم.مل⁻¹) وحجوم مختلفة لوصلة الانموذج بمدى (5-20) مايكرولتر تم الحصول على شكل رقم (2) موضحاً ان حجم الانموذج 11 مايكرولتر هو الافضل استناداً الى اسلوب القياس بارتفاع الاستجابة، ولوحظ عند التعامل مع حجوم قليلة للانموذج يتم الحصول على بريق بشدة واطئة مقارنة عند زيادة حجم الانموذج حيث تزداد ارتفاع الاستجابة لذلك تبين ان 11 مايكرولتر هو الافضل معطياً استجابة منتظمة وبقيمة عالية فضلاً عن التعامل بحجوم < 11 مايكرولتر فعلى الرغم من الزيادة الضئيلة لارتفاع الاستجابة الا ان قممها عريضة ومشوهة بالاضافة إلى الهدر بالمواد الكيميائية ولا تعطي فرقاً كبيراً بالحساسية.

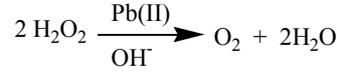
زمن الحقن

بتثبيت التراكيز التجريبية لنظام البريق وحجم لانموذج محقن 11 مايكرولتر تم استخدام ازمان حقن متغيرة تمتد (5-60) ثانية ولوحظ من الشكل (3) استمرار زيادة ارتفاع الاستجابة مع زيادة زمن الحقن (الفترة الزمنية اللازمة لخروج مقطع الانموذج بأكمله من صمام الحقن) وصولاً الى 20 ثانية ثم يعقبها نقصان في ارتفاع الاستجابة ويعزى النقصان في ارتفاع استجابة البريق عند زمن اقل من 20 ثانية الى عدم اكتمال خروج مقطع الانموذج من صمام الحقن وعند اطالة زمن الحقن (اكثر من 20 ثانية) يعزى النقصان في ارتفاع الاستجابة الى استمرار مرور التيار الناقل الحامل للانموذج خلال وصلة الانموذج في صمام الحقن و بالتالي بطأ في سرعة الجريان لمقطع الانموذج وزيادة تأثير كافة المتغيرات الفيزيائية (التخفيف والتشتت بفعل التنافذ والحمل) لمقطع الانموذج بالاضافة الى المتغيرات الكيميائية للمقطع المضيء في خلية التفاعل مؤثراً بذلك على ارتفاع الاستجابة وتكون بقم عريضة ومشوشة.

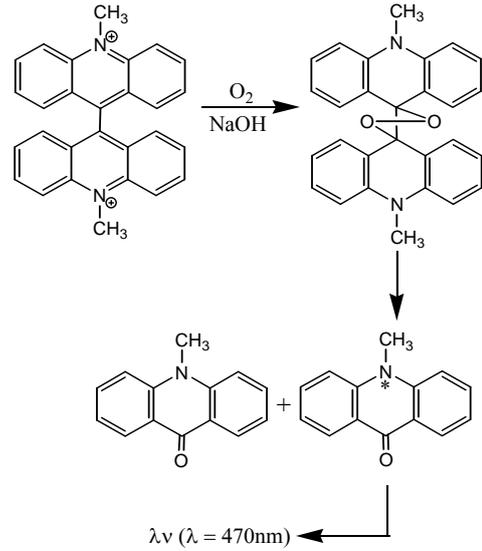
سرعة الجريان

بالاستناد الى الظروف السابقة ومعدل سرع جريان متغيرة (0.5-6) مل.دقيقة⁻¹ تم الحصول على الشكل رقم (4) A) ولوحظ مع زيادة سرعة الجريان تزداد ارتفاع الاستجابة وقد يعزى الى التقليل من ظاهرة التشتت بفعل التنافذ والحمل او التخفيف لمقطع الانموذج والمقطع المضيء في خلية التفاعل مع المواد المتممة لتفاعل البريق الكيميائي وتبين ان معدل سرعة الجريان الفضلى هي 3 مل.دقيقة⁻¹ مقارنة بالسرع العالية جداً < 3 مل.دقيقة⁻¹ والتي سببت في انخفاض بشدة الاستجابة

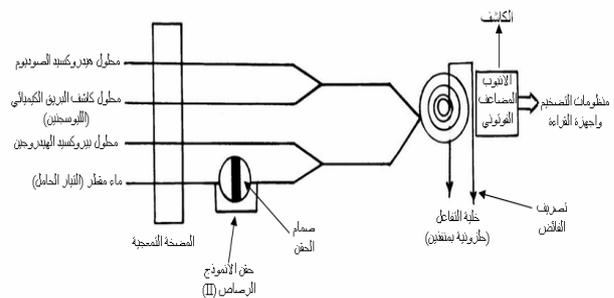
وفيما يلي توضيح للميكانيكية المقترحة والتي تم اثباتها عملياً عند مزج الرصاص(II) مع محلول بيروكسيد الهيدروجين في الوسط القاعدي لوحظ تحرر الاوكسجين بكميات كبيرة وهذا يعد اثبات قاطع على فهم الميكانيكية التأكسدية التي تحدث



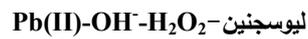
والمعادلات التالية توضح الجزء المتبقي من الميكانيكية (11 و 21)



* جزئية مثارة لـ N-مethyl اكردينيوم (ميكانيكية تفاعل البريق الكيميائي)



شكل رقم (1): مخطط جريان لنظام تفاعل:



النتائج والمناقشة

الظروف الفضلى لمنظومة التفاعل

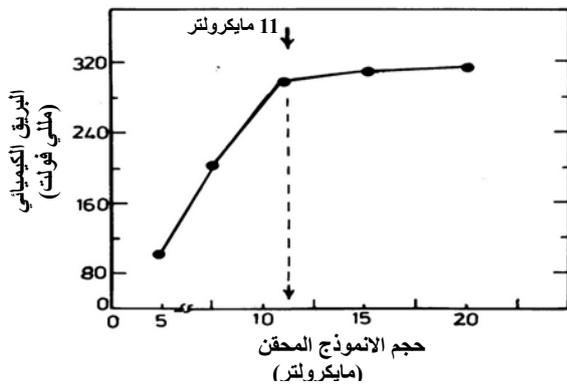
المتغيرات الفيزيائية

حجم النموذج

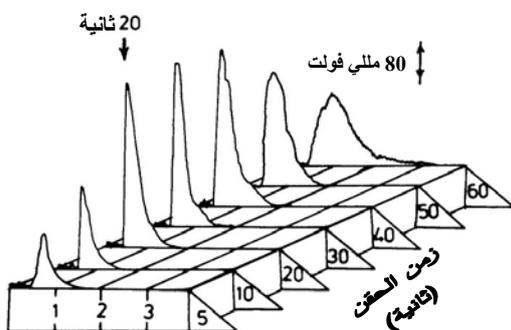
بأستخدام تراكيز تجريبية لنظام البريق الكيميائي:

ليوسجنيون (0.5 مللي مول.لتر⁻¹)-بيروكسيد الهيدروجين (35 مللي مول.لتر⁻¹)-هيدروكسيد البوتاسيوم (25 مللي مول.لتر⁻¹)

اليوسجين باعتبارها الجزيئة الباعثة للبريق بعد اكسدتها بالاضافة الى الفلورة الناتجة من القطع الايونية المثارة بفعل البريق كمصدر داخلي للتشعيع مما يقلل من تاثير كافة المتغيرات الفيزيائية واهمها التخفيف والتشتت على الجزء المركزي للمقطع المضيء وزيادة حجمه على حساب قلة كثافة مناطق التشتت المحيطة به وعند التراكيز العالية 0.1 مللي مول.لتر⁻¹ تم الحصول على استجابات بقم عريضة ومشوهة وتتضمن اكتاف خلال انخفاض الاشارة الى خط الاساس وقد يعزى ذلك الى ان البريق الكيميائي متمثلاً بالاشارة الاولى اما الاشارات الاخرى (الاكتاف) والتي تعطي فكرة عن المتبقي من البريق بالاضافة الى الفلورة المحفزة بفعل الفصائل الايونية (السالبة) المثارة بفعل التشعيع من فوتونات البريق او من طاقة التشعيع الحرة والتصادم، وفي كلا الاحتمالين يتم الحصول على جزيئة مثارة عند عودتها الى الحالة المستقرة يتم انبعاث الفلورة وهو السبب الذي تعزى اليه الاكتاف المصاحبة للاستجابات عند التراكيز العالية، بناءً على ذلك تم اعتبار ان 0.1 مللي مول.لتر⁻¹ هو الافضل لليوسجين.



شكل رقم (2): تأثير التغير في حجم الامنودج على تفاعل البريق الكيميائي عند تراكيز: ليوسجين (0.5 مللي مول.لتر⁻¹) H_2O_2 (35 مللي مول.لتر⁻¹) OH^- (25 مللي مول.لتر⁻¹) $Pb(II)$ (10 مكغم.مل⁻¹) ومعدل سرعة جريان (2 مل.دقيقة⁻¹)

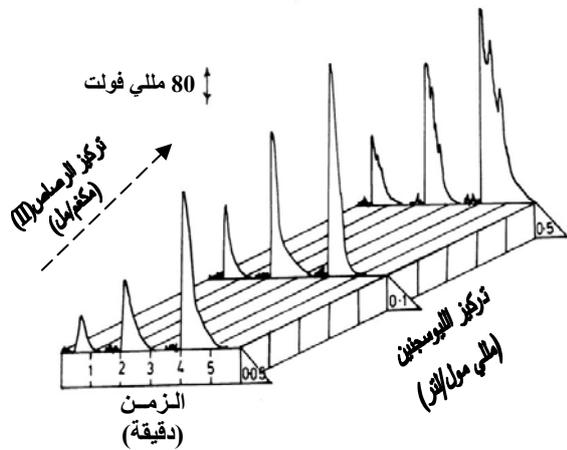


ومن المحتمل اعزاء ذلك الى عدم اكتمال تفاعل البريق في خلية التفاعل مؤثراً بذلك على شدة المقطع المضيء المتكون وبالتالي خروج بعض المواد المتممة لتفاعل البريق دون تفاعل او تفاعلها خارج خلية التفاعل. يقابله في الوقت نفسه نقصان في عرض قاعدة الاستجابة (Δt_B) (شكل B-4) عند الزيادة في سرعة الجريان وقد يعزى ذلك الى نقصان في الفترة الزمنية التي يستغرقها مقطع الامنودج للوصول الى خلية التفاعل وهذا يقلل من تاثير كافة المتغيرات الفيزيائية عليه وبالتالي زيادة حجم الجزء المركزي للمقطع المضيء مقارنة بمناطق التشتت المحيطة به لذلك تكون الاستجابات اعلى ارتفاعاً واقل عرضاً.

المتغيرات الكيميائية

بتثبيت كافة المتغيرات الفيزيائية وتراكيز متغيرة لبيروكسيد الهيدروجين (10-75) مللي مول.لتر⁻¹ وثلاث تراكيز متغيرة لهيدروكسيد البوتاسيوم (10 و 25 و 50) مللي مول.لتر⁻¹ و 10 مكغم.مل⁻¹ للرصاص (II) تم الحصول على الشكل رقم (5) ولوحظ انه عند التراكيز الواطئة يتم الحصول على البريق بشدة قليلة بفعل التراكيز القليلة لبيروكسيد الهيدروجين والتي لا تكفي لتفاعل مع المواد المتممة لتفاعل البريق وعند التراكيز العالية لوحظ اندماج الاستجابات مع بعضها من ناحية مع ظهور حالة تشبع للمنظومة الالكترونية من ناحية اخرى وعلى وفق ذلك تم اختيار 25 مللي مول.لتر⁻¹ هو الافضل لبيروكسيد الهيدروجين للحصول على مقطع مضيء بشدة مناسبة للحصول على استجابات بقم حادة واضحة ودقيقة وارتفاع مناسب اما بالنسبة لهيدروكسيد البوتاسيوم لوحظ ان زيادة تركيزه يقلل من شدة المقطع المضيء متمثلاً بانخفاض الاستجابة وقد يعزى ذلك الى ترسيب الرصاص (II) بهيئة هيدروكسيد الرصاص وهو العامل المحفز لنظام البريق: ليوسجين-بيروكسيد الهيدروجين-هيدروكسيد البوتاسيوم-الرصاص (II) وكما موضح في الشكل رقم (5) وبناءً على ذلك تم اختيار (25 مللي مول.لتر⁻¹) هو الافضل لهيدروكسيد البوتاسيوم.

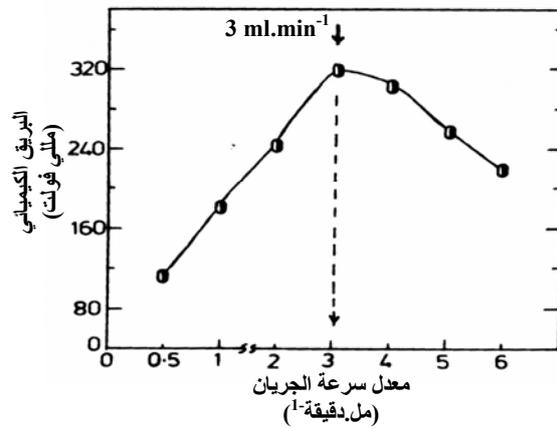
اما بالنسبة لجزيئة البريق الكيميائي لليوسجين والتي حضرناها ثلاث محاليل بتراكيز متغيرة (0.05 و 0.1 و 0.5) مللي مول.لتر⁻¹ ولثلاث تراكيز من الرصاص (II) (5 و 10 و 15) مكغم.مل⁻¹ وباستخدام الظروف الفضلى المثبتة من المتغيرات الفيزيائية والكيميائية يتم الحصول على الشكل رقم (6) موضعاً هيئة وارتفاع الاستجابات التي تزداد بزيادة تركيز



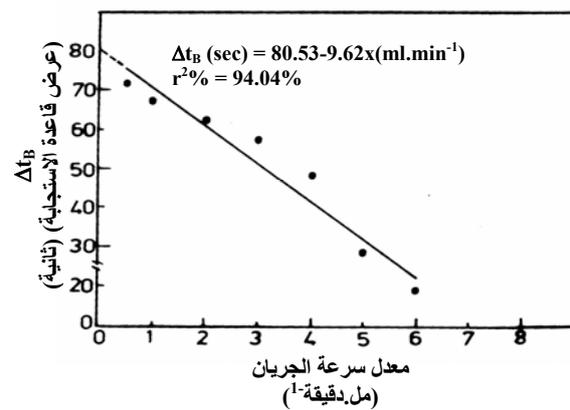
شكل رقم (6): التغيير في تراكيز اللوسجين على البريق الكيميائي لثلاث تراكيز متغيرة من الرصاص (II) (5 و 10 و 15) مكغم.مل⁻¹ بحجم 11 مايكرو لتر و H₂O₂ و OH⁻ بتركيز 25 ملي مول. لتر⁻¹ لكلاً منهما¹

تغير الاستجابة للبريق الكيميائي مع التركيز للرصاص (II)
أ - معالجة البيانات باستخدام معادلة الخط المستقيم ومعادلة من الدرجة الثانية

باستخدام نظام البريق: اللوسجين (0.1 ملي مول لتر⁻¹) - بيروكسيد الهيدروجين (25 ملي مول لتر⁻¹) - هيدروكسيد البوتاسيوم (25 ملي مول لتر⁻¹) - الرصاص (II) بتركيز متغيرة، وحجم لانموذج محقن 11 مايكرو لتر ومعدل سرعة الجريان 3 مل. دقيقة⁻¹ لمنظومة موضحة في الشكل رقم (1) تم الحصول على النتائج المدونة في الجدول رقم (1)، حيث تم معالجة البيانات احصائياً⁽³³⁻³¹⁾ بالإضافة الى حساب حدود الكشف بالاسلوب العملي، علماً انه تم تكرار القياس للبريق الكيميائي لثلاث مرات متتالية لكل تركيز فكانت قيم الانحراف القياسي النسبي المثوي R.S.D % اقل من 1%.



شكل رقم (4-A): التغيير في معدل سرعة الجريان على البريق الكيميائي لنظام: ليوسجين (0.5 ملي مول. لتر⁻¹) H₂O₂ (35 ملي مول. لتر⁻¹) OH⁻ (25 ملي مول. لتر⁻¹) Pb(II) (10 مكغم. مل⁻¹)، حجم الانموذج (11 مايكرو لتر)، زمن الحقن (20 ثانية)



شكل رقم (4-B): التغيير في معدل سرعة الجريان على عرض قاعدة الاستجابة باستخدام الظروف الفضلى.



مدى تراكيز الرصاص (II) (مكغم مل ⁻¹)	معادلة الدرجة الثانية (Quadratic) CL.I(mV) = a + bx + cx ²	معامل الارتباط r و r ² %	n عدد التراكيز المقاسة	قيمة t الجدولية لـ n-2 بحدود ثقة %95	قيمة t المحسوبة $t = \frac{ r \sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$
15-1	9.14 + 14.43x + 1.4x ²	0.9972 و 99.44%	10	2.306	37.72 >> 2.306

x : تركيز الرصاص (II) (مكغم.مل⁻¹)

ومن النتائج اعلاه لوحظ ان المعادلة $y = a + bx + cx^2$ اعطت معامل ارتباط 0.9972 وهذا معناه تطابقاً أكثر وترباطاً افضل مما هو عليه في معادلة من الدرجة الاولى كان معامل الارتباط 0.9879، كما ان استخدام معادلة من الدرجة الثانية اعطت نقاطاً مع محور الاستجابة موجباً وصغيراً ($a=9.14$ ملي فولت) وهذا اقرب الى الواقع (شكل رقم (B-7)) لان الخلب مهما كان وبهذه الحساسية المستخدمة في المنظومة المصممة (شكل (1)) وبمتحسس (الانبوب المضاعف الفوتوني) لا بد وان تظهر اشارة موجبة ولكن من المستحيل ظهور استجابة سالبة كما تبين معادلة الخط المستقيم $y = a + bx$ لذلك من الواجب اختبار ما اذا كان اضافة الرمز x^2 للمعادلة له مبرر ام لا، وعلى هذا الاساس لا بد من متابعة الحسابات التالية (تحليل التباين) للتعرف على أ-هل الفضة المتبقية (الفرق بين القيمة المحسوبة (y_i) عن القيمة المخمنة (y_i^{\wedge})) ذات اهمية مؤثرة ام لا في كلا المعادلتين (الخطية والاخرى من الدرجة الثانية) ب-هل اضافة الرمز x^2 يحسن الاداء وهل له مبرر ام لا.

ب- تحليل التباين (ANOVA) Analysis of Variance (35:36)

1- بالنسبة لمعادلة الخط المستقيم:-

- حساب مجموع المربعات الفرق لقيم y_i (استجابة البريق) عن y_i^{\wedge} (الاستجابة المخمنة) (أي الخطأ Error) ويسمى حول الانحدار (about regression) للحصول على $\sum (y_i - y_i^{\wedge})^2$ ولـ n-2 من درجات الحرية للحصول على معدل المربعات (S_0^2) .

- حساب مجموع مربعات الفرق لقيم y_i^{\wedge} عن قيمة المعدل \bar{y} بسبب الانحدار (Due to regression) للحصول على قيمة $\sum (y_i^{\wedge} - \bar{y})^2$ ولواحد من درجات الحرية للحصول على معدل

جدول رقم (1): ملخص لنتائج منحنى المعاير باستخدام معادلة الخط المستقيم (معادلة من الدرجة الاولى)

مدى تراكيز الرصاص (II) (مكغم مل ⁻¹)	معادلة الخط المستقيم عند حدود ثقة %95 $CL.I(mV) = a \pm S_1 + b \pm S_2 + Pb(II) [Pb^{2+}] \mu g \cdot ml^{-1}$	معامل الارتباط r و r ² %	n عدد التراكيز المقاسة	قيمة t الجدولية لـ n-2 بحدود ثقة %95	قيمة t المحسوبة من $t = \frac{ r \sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$	حدود ثقة لـ 11 ميكروغرام		
						نظرياً من معادلة الخط المستقيم $D.L = \frac{3S_0}{slope}$	نظرياً من معادلة $T = T_0 + 3S_0$	عملياً من التحليل لـ 11 ميكروغرام
15-1	48.19±46.17±36.91±4.73[0]	0.9979 و 99.59%	10	2.306 >> 18.0	55 ميكروغرام	4.4 ميكروغرام	28 نانو غرام	0.025

$$Pb(II) \mu g \cdot ml^{-1} = [x]$$

من النتائج اعلاه وعند اختبار فرضية العدم مقابل البديل H_0 : فرض العدم لا يوجد ارتباط بين تركيز الرصاص (II) واستجابة البريق ($r=0$).

H_1 : الفرض البديل يوجد ارتباط بين التغير في التركيز للرصاص (II) والبريق ($r \neq 0$) وبما ان قيمة t_{tab} (الجدولية) ودرجات حرية لـ n-2 وحدود ثقة %95 اصغر بكثير من t_{cal} (المحسوبة)، على هذا الاساس نرفض الفرض الاساسي ونقبل بالبديل (r تختلف جوهرياً عن الصفر) لذلك تتواجد علاقة ذات مغزى ومعنى بين تركيز الرصاص (II) واستجابة البريق كما موضح في شكل رقم (A-7)، ويلاحظ هذا من الشكل الذي يمثل منحنى المعايرة لتركيز الرصاص (II) مقابل استجابة البريق وتم الحصول على المعادلة من الصنف $y = a + bx$ حيث b يمثل الانحدار وهو مقياس لحساسية الاستجابة مقابل التراكيز المستخدمة ولوحظ ان المنحنى يقاطع محور الاستجابة عند -48.19 ملي فولت مما يبدو ان النتائج المستحصلة من هذه المعادلة غير منطقية لان البريق لا يعطي استجابات سالبة بالاضافة الى بقية التقنيات التحليلية، وعلى هذا الاساس اضطررنا لاستخدام معادلة من الدرجة الثانية (Quadratic) (34) من صنف $y = a + bx + cx^2$ ومنها تم الحصول على النتائج المدونة في الجدول رقم (2).

جدول رقم (2): ملخص لنتائج معالجة البيانات باستخدام معادلة من الدرجة الثانية

بما ان قيمة $F_{v_2}^{v_1}$ مع درجات حرية $v_1=2$ و $v_2=7$ للفضلة (المتبقي) وعند 95% من حدود الثقة.

$$\therefore F_{0.95, v_1, v_2} = F_{0.95, 2, 7} = 4.74$$

وبما ان القيمة المحسوبة لـ $F=539.01$ هي اكبر من قيمة F الجدولية (4.74) ومنه نستنتج بان هنالك فارق بالغ الاهمية بين التباين بفعل الانحدار والفضلة، بالاضافة الى ان القيمة العالية لـ $S_1^2=161194.56$ وبالتالي لقيمة $F=539.01$ مقارنة لقيمتها من معادلة الخط المستقيم $F=324$ ويدل ذلك على ان معادلة الدرجة الثانية هي افضل بكثير في معالجة البيانات وتحليل المتغيرات والحصول على علاقة خطية افضل وبدرجة عالية من المثالية (القياسية) واكثر واقعية في تفسير النتائج.

3- ولغرض اختبار فعل تأثير اضافة الرمز x^2 للمعادلة $a+bx$ لتصبح معادلة من صنف $a+bx+cx^2$ تم توضيح ذلك في نتائج جدول رقم (5)، حيث ان $m=36.91$ اما F فيمثل حاصل قيمة معدل المربعات بسبب اضافة x^2 على معدل مربعات الفضلة (المتبقي).

جدول رقم (5): ملخص لحسابات اختبار اضافة الرمز x^2 لمعادلة الخط المستقيم (36)

مصدر التباين (التغاير)	مجموع المربعات (SSq)	درجات الحرية D_f	معدل المربعات MSq	$F = \frac{S_1^2}{S_0^2}$
Due to regression بسبب الانحدار الخطي	$mS_{xy} = 316706.26$	1		19.00
Due to addition of x^2 بسبب اضافة الرمز x^2	$(bS_{xy} + aS_{x^2y}) - mS_{xy} = 5682.87$	1	$S_1^2 = 5682.87$	
Subtotal due to quadratic regression بسبب Quadratic Residuals	$bS_{xy} + aS_{x^2y} = 322389.12$	2		
الفضلة (المتبقي)	$S_{yy} - (bS_{xy} + aS_{x^2y}) = 2093.39$	$n-3 = 7$	$S_0^2 = 299.06$	
(الكلي) Total	$S_{yy} = 324482.5$	$n-1 = 9$		

ومن الجدول اعلاه وبما ان قيمة $F_{v_2}^{v_1}$ مع قيمة $v_1=1$ وقيمة $v_2=7$ عند حدود ثقة 95% فناة هي 5.59 وان قيمة $F=19$

المربعات (S_1^2)، وعند حاصل قسمة $\frac{S_1^2}{S_0^2}$ نحصل على قيمة F وحسب ما موضح في جدول رقم (3).

جدول رقم (3): ملخص لنتائج تحليل التباين لمعادلة الخط المستقيم

مصدر التباين Source of variation	مجموع المربعات Sum of square (SSq)	درجات الحرية D_f	معدل المربعات (MSq)	F-statistic $\frac{S_1^2}{S_0^2}$
Due to regression (بسبب الانحدار)	$\sum (y_i - \bar{y})^2 = 316658.82$	1	$S_1^2 = 316658.82$	
About regression (error) حول الانحدار (الفضلة)	$\sum (y_i - \hat{y}_i)^2 = 7816.66$	$n-2 = 8$	$S_0^2 = 977.08$	
(الكلي) Total	324475.48	$n-1 = 9$		

بما ان قيمة F الجدولية لدرجات الحرية $v_1=1$ و $v_2=8$ عند 95% من حدود الثقة $F_{8,1} = 5.32$ اذن قيمة (المحسوبة) $F < 5.32 < 324$ أي ان F (الجدولية) أي ان F بالغ الاهمية بين التباين بفعل الانحدار والفضلة (المتبقي) وكلما كانت قيمة التباين بفعل الانحدار عالية على حساب قيمة الفضلة قليلة معناها تم الاقتراب من الحالة المثالية او القياسية والتي تدل على ان هنالك ارتباط وثيق بين تغير الاستجابة للبريق مع تغير التركيز للرصاص (II).

2- تحليل التباين لمعادلة من الدرجة الثانية (Quadratic) (34) بالاستناد على النتائج المدونة في جدول رقم (2) وتحليل ومعالجة البيانات المستحصلة من معادلة الدرجة الثانية تم التوصل الى الجدول رقم (4).

جدول رقم (4) تحليل التباين لمعادلة الدرجة الثانية Quadratic

مصدر التباين Source of variation	مجموع المربعات Sum of square (SSq)	درجات الحرية D_f	معدل المربعات Mean square (MSq)	$F = \frac{S_1^2}{S_0^2}$
Due to regression (بسبب الانحدار)	322389.12	2	161194.56	539.01
residuals الفضلة	2093.39	$n-3 = 7$	299.06	
(الكلي) Total	324482.51	$n-1 = 9$		

وهي تزيد عن القيمة الحرجة الجدولية لذلك نستنتج بان هنالك فائدة كبيرة من اضافة الرمز x^2 وان استخدام معادلة من الدرجة الثانية يعطي صورة افضل لتغير التركيز مع استجابة البريق بالنسبة لنظام ليوسجينين-Pb(II)-OH⁻-H₂O₂ بالاضافة الى ان المعادلة $a+bx+cx^2$ توضح ان b (مقدار التغير بالاستجابة نسبة الى التغير في وحدة التركيز) ليس العامل الوحيد المؤثر على استجابة البريق وانما هنالك معامل اخر (c) يتداخل في تغيير الخطية من خلال تأثيره على احد المواد المتممة لنظام البريق الكيميائي (ليوسجينين-Pb(II)-OH⁻-H₂O₂)، وعند النظر الى الشكل (7-A و B) لوجد ان النتائج العملية المقاسة (y_i) اقرب الى القيم المخمنة y_i^{\wedge} والمستحصلة من معادلة الدرجة الثانية مما يدل على ان الفضلة (المتبقي) قليلة جداً مقارنة بالفضلة ($y_i - y_i^{\wedge}$) المستحصلة من معادلة الخط المستقيم والتي لها تأثير كبير في التقليل من قيمة F كما لوحظ من النتائج السابقة، بناءً على ذلك فان معادلة الدرجة الثانية هي اكثر واقعية وتعبيراً وتفسيراً عن النتائج لعلاقة تغير الاستجابة مع التركيز لنظام البريق الكيميائي.

- التكرارية

لغرض فحص دقة وتكرارية نتائج تقدير الرصاص لنظام ليوسجينين-بيروكسيد الهيدروجين-هيدروكسيد الصوديوم-الرصاص(II) تم احتساب الانحراف القياسي النسبي المئوي لثلاث تراكيز موضحة في جدول رقم (6) ولست قياسات متكررة لكل واحد ولوحظ ان R.S.D.% اقل من 2%.

جدول رقم(6): تكرارية نتائج تقدير الرصاص(II) بواسطة تفاعل البريق الكيميائي

تركيز الرصاص(II) مكغم.مل ⁻¹	عدد مرات الحقن (n)	المعدل الحسابي \bar{y} (ملي فولت)	الانحراف القياسي σ_{n-1}	التكرارية R.S.D.% = $\frac{\sigma_{n-1}}{\bar{y}} \times 100$	الزمن الكلي للقياس (دقيقة)	ثقة 95%
5	6	110	2.00	1.82	5.30	110 ± 2.09
10	6	320	2.12	0.66	6.50	320 ± 2.23
15	6	524	2.38	0.45	6.50	524 ± 2.49

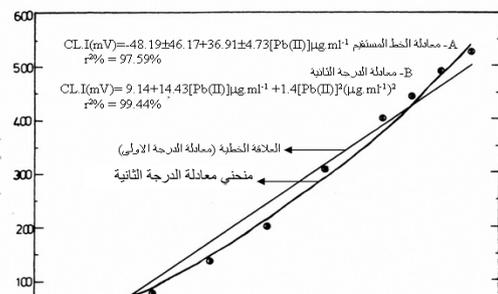
- تأثير الايونات الدخيلة

حضرت ثلاث تراكيز للرصاص(II) (1 و 4 و 10) مكغم.مل⁻¹ كمرجع وللمقارنة مع تأثير الايونات الدخيلة (الموجبة والسالبة) وكما موضح في الجدول رقم(7) وحساب النسبة المئوية لتأثير التداخل على اساس النسبة بين استجابة الايون الدخيل ($R_{M^{n\pm}}$) مقسوم على استجابة الرصاص ($R_{Pb^{2+}}$).

جدول رقم(7): نتائج تأثير الايون الدخيل على البريق خلال تقدير الرصاص(II) بتراكيز (1 و 4 و 10) مكغم.مل⁻¹

نسبة $100 \times (R_{Pb^{2+}} / R_{M^{n\pm}})$									
Zn ²⁺	Mg ²⁺	VO ₂ ⁺	Fe ³⁺	Fe ²⁺	Cu ²⁺	Co ²⁺	Ni ²⁺	Cr ³⁺	الايون الموجب
0.00	0.00	2.32	0.00	1600	0.00	98.23	0.00	0.00	1
0.00	0.00	5.45	0.98	1800	10.32	130.32	0.00	0.02	4
3.33	2.32	10.82	1.32	1890	20.33	1600.20	4.82	25.8	10

يمكن الاستنتاج ان المنظومة ذات حساسية عالية لان تتحسس بكمية الفوتونات الصادرة من نظام البريق مهما كانت قليلة بفعل وجود ايون دخيل وتعطي دلالة واضحة لاعادة النظر بنقاوة المواد الكيميائية والتي قد تعطي فوتونات ويمكن اعتماد هذا النظام لقياس التلوث الايوني للايونات الموجبة مهما كانت بتراكيز ضئيلة يقابله في نفس الوقت الانتقائية العالية لهذا النظام اتجاه بعض الايونات الموجبة، حيث انه لا يستجيب لبعض الايونات الموجبة عندما تكون بتراكيز قليلة (اقل من 10 مكغم.مل⁻¹) ولكنه يتحسس بالايونات الكوبلت(II) والحديدوز(II) ولكافة التراكيز (1-10) مكغم.مل⁻¹ او اكبر،



غير ممكن لان الاستجابة الموجودة هي ثابتة ودائماً يعزى التغيير الى التركيز .

مثل النحاس (II) والكروم (II) عندما تكون بتركيز اكبر من 10 مكغم.مل⁻¹.

اما الايونات السالبة المحضرة بتركيز تتراوح بين (1-15) مكغم.مل⁻¹ وتشمل I⁻ و Cl⁻ و Br⁻ و ClO₃⁻ و IO₃⁻ و NO₂⁻ و NO₃⁻ فلم يلاحظ لها أي تأثير على نظام البريق المستخدم لتقدير الرصاص (II) (أي لم تعطي أي استجابة) وصولاً الى تراكيز اكبر من 50 مكغم.مل⁻¹ فكانت نسبة التداخل المئوية %4 تقريباً بالنسبة لـ NO₃⁻ و IO₃⁻ و ClO₃⁻ في حين بقية الايونات لم يلاحظ لها أي تأثير .

المناقشة

بما ان منظومة الحقن الجرياني المصممة محلياً خلال البحث الحالي وتعتمد على تدفق السوائل بانابيب واقطار مختلفة وبسرع جريان يمكن التحكم بها وهذا معناه ان المتحسس سوف يستجيب لاشارة مارة (transient signal) لذلك فان التصميم الهندسي للمتحسس وخلية التفاعل (كلاهما يعكس مقدار 1- كفاءة كم التفاعل والذي يبين ان المواد الداخلة في التفاعل ليست بالضرورة جميعها تدخل في تفاعل يؤدي الى انتاج فوتونات تقاس من قبل المتحسس 2-كفاءة كم المتحسس وتبين استجابة المتحسس ليس بالضرورة متكاملة لجميع الفوتونات المنبعثة من خلية التفاعل أي كان تصميمها ويعزى ذلك الى هندسة خلية التفاعل او الى هندسة المتحسس نفسه او الى الاثنان معاً ونتيجة لذلك يتم الحصول دوماً على استجابة اقل من الحقيقية المفترضة) وربطهما الاثنان سوية لا بد ان يعطي فرصة للتحسس بكل الفوتونات المتولدة ضمن منطقة العبور اما المتحسس وهذا بالتاكيد يؤدي الى خسارة لجزء من الفوتونات المنبعثة والتي لا يمكن التحسس بها اما بسبب حالة التخفيف لمقطع الامودج او سرعة التدفق للمواد المناسبة والمتممة للتفاعل وهذا يقودنا الى ان هنالك عدد ضائع وخسارة ثابتة من الفوتونات المتحررة في كل مرة (اذا ضمنا تكرارية عالية) بناءً على ذلك لا بد من اختيار انموذج لتغير الاستجابة مع التركيز يستوعب الفوتونات المتحررة اما بشكل x او x² او x³ حيث تمثل x التركيز والذي يتناسب طردياً افتراضياً بوجود ثابت مع الانبعاث، الفوتونات المتولدة او الاستجابات الحاصلة. فان وضع موديل خطي قد لا يستوعب كل الفوتونات وتكون استجابته ضعيفة للتركيز العالية بينما تباين الاستجابة مع x² سيؤدي الى تقوية التحسس للتركيز الضئيلة جداً (اقل من صفر) حتى لو افترضنا ان المعالجتين لهما نفس الانحدار وهذا

References

1. Chairman, A.R.G., 1985, "Remington's Pharmaceutical Sciences", 17th ed., printed in the United State of America by Mack printing company, Easton, Pennsylvania, 362.
2. Essa, K.A., 1999 "Lead, The Ugly Trace Element", Eastern Mediterranean health Journal, 5(4):798-802.
3. Lead and health Report of a DHSS working party on lead in the environment. London. 1980, Her Majesty's stationery office.
4. The neuropsychological effects of lead in children. A review of recent research (1979-1983). London, Medical Research Council, 1984.
5. Shuttler, I.L. & Delves, H.T., 1986, "determination of lead in blood by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization", Analyst, 111(6), 651-660.
6. Chen, T. & Littel john, D., 1993, "Determination of lead in urine by electrothermal atomic absorption spectrometry with probe atomization", Analyst, 118(5):541-543.
7. L'vov, V., 1977, "Determination of lead in whole blood and erythrocytes by L'vov cuvette with atomic absorption spectrometry", Spectro Chimica Acta, 338:153.
8. Beauchemin, D. & Specht, A.A., 1998, "Analysis of river water by ICP-MS with on line preconcentration using flow-injection", Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy, 43(2):43-48.
9. Harrington. C.F., Elahi, S., Ponnampalav-anar, P., & Dsilva, T.M., 1999, "Ultra-trace analysis of lead in food samples by flow-injection with ICP-MS detection", Atomic Spectroscopy, 20(5):174-179.
10. Grayeski, M.L., 1987, "Chemiluminescence analysis", Analyt. Chem., 59(1):1243A-1250A.
11. Garcia-Campana, A.M. & Baeyen, W.R.G., 2000, "Luminescence Spectroscopy, Analysis, 28(8): 686.
12. Sakamolo-Arnold, C.M. & Johnson, K.S., 1987, "Reagent-injection flow analysis application to the determination of nanomolar level of H₂O₂ sea water", Anal. Chem., 59(14):1789-1794.
13. Kamidate, T., Kaide, T., Tani, H., Makino, E. & Shibata, T., 2001, "Effect of mixing modes on chemiluminescence detection of epinephrine with lucigenin by an FIA system fabricated on a microchip", Anal. Sci., 17:951-955.
14. Yakabe, T., Yoshida, H., Nohta, H. & Yamaguchi, M., 2002, "HPLC determination of catecholamines based on precolumn derivatization with amino methyl phthal

26. Ruzicka, J. & Hansen, E.H., **1985**, "Flow Injection Analysis", 3rd Ed., London, 22.
27. Kiba, N., Tachibana, M., Tani, K. & Miwa, T., **1998**, "Chemiluminescence branched-chain amino-acids determination with immobilized enzymes by FIA", Anal. Chem. Acta, 375, (1-2):65-70.
28. Barnett, N.W., Hindson, B.J. & Lewis, S.W., **1998**, "Determination of 5-hydroxytryptamine (serotonin) and related indoles by FIA with acidic potassium permanganate chemiluminescence detection", Anal. Chim. Acta, 362, (2-3): 131-139.
29. Cui, H., Li, Q., Meng, R., Zhao, H.Z. & He, C.X., **1998**, "Flow-injection analysis of tannic acid with inhibited chemiluminescence detection", Anal. Chim. Acta, 362(2-3):151-155.
30. Emteborg, M., Irgum, K., Gooijer, C. & Brinkman, U.A.T., **1997**, "Peroxyoxalate chemiluminescence in aqueous-solutions coupling of immobilized enzyme reactors and 1,1'-oxalyldiimidazole chemiluminescence reaction to FIA and liquid chromatographic systems", Anal. Chim. Acta, 357(1-2):111-118.
31. Miller, J.C. & Miller, J.N., **1988**, "Statistics for Analytical Chemistry", 2nd. Ed., John Wiley of Sons. N.Y.
32. Book, S.A., **1978**, "Essential of Statistic", McGraw-Hill Book Company.
33. Chatfield, C., **1975** "Statistics for Technology", Chapman & Hall.
34. Yamashiro, N., Uchida, S., Staoh, Y., Morishima, Y., Yokoyama, H., Staoh, T., Sugama, J. & Yamada, R., **2004**, "Determination of hydrogen peroxide in water by chemiluminescence detection (I)", Journal of Nuclear Science and Technology, 41(9):890-897.
35. Freund, J.E., **1977**, "Modern Elementary Statistics", 4th. Ed., Prentice-Hall Inc., New Jersey.
36. Guide, B., **1997**, "Practical Statistics for the Analytical Scientist", 1st. Ed., Government Chemistry, Teddington, Middlesex, UK, , 1-22.
15. Zhang, G. & Qi, H., **2002**, "Highly sensitive determination of riboflavin based on the enhanced electrogenerated chemiluminescence of lucigenin at a platinum electrode in a neutral aqueous solution", Anal. Sci., 18:918-822.
16. Zhang, G. & Chen, H., **2000**, "Determination of riboflavin based on the enhancement ECI of riboflavin at polyluminol-modified sensor", Anal. Chim. Acta, 419:25.
17. Min, A.W., Nielsen, J. & Villadsen, **1996**, "Chemiluminescence determination on aluminol reaction of β -lactam antibiotics by FIA", J. Anal. Chem. Acta, 320:199.
18. Wang, Z. Zhang, Z., Fu, Z., Fang, L. & Zhang, X., **2004**, "N-bromosuccinimide-fluorescein based sensitive flow-injection chemiluminescence determination of phenformin", Anal. Sci., 20:319-323.
19. Zhang, G.F. & Chen, H.Y., **2000**, "Chemiluminescence studies of the oxidation of ascorbic acid with copper(II) catalyzed by halide anions and its application to the determination of halide anions and ascorbic acid", Anal. Sci, 16:1317-1321.
20. Su, R., Lin, J.M., Qu, F., Gao, Y., Chen, Z. & Yamada, M., **2004**, "flow injection with inhibited chemiluminescence method for the determination of dopamine hydro-chloride", Anal. Chim. Acta, 508:11-15.
21. Simpson, J.S.A., Campbell, A.K., Wood head, J.S., Richardson, A., Hart, R., Mccapra, F. & Mcelory, W.D., **1981**, "Chemiluminescence and Bioluminescence", Basic chemistry and analytical applications, Academic, New York, 673.
22. Seitz, W.R. & Nearly, M.R., **1974**, "Chemiluminescence detector for transition metals separated by ion exchange", Anal. Chem., 46(2): 188A-202A.
23. Veazey, R.L. & Nieman, T.A., **1980**, "Study the oxidation reaction of ascorbic acid using copper(II)-luminol CL system", J. Chromatog., 200:153.
24. Kawashima, T. & Hasebe, T., **1996**, "Chemiluminescence determination of ascorbic acid using flow injection analysis", Anal. Sci., 12:773-777.
25. Ruzicka, J. & Hansen, E.H., **1979**, "Flow injection analysis", Anal. Chim. Acta, 106:207.