حسگر نوری سبز جهت ردیابی و اندازه‌گیری نیتریت در نمونه های زیست محیطی

سیاوش نوروزی*، کبری مقدسی پریا
گروه شیمی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۱/۲۳ تاریخ تصحیح:۹۸/۰۵/۰۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۷/۱۰

چکیده

حسگرهای شیمیایی نوری(اپتودها) به لحاظ کاربرد آنها در حوزه‌های گوناگون دانش بشری از جایگاه پر اهمیتی در پژوهش‌های شیمی برخوردار هستند. مطالعه و بررسی این حسگرها منجر به توسعه در تجزیه‌های درون سلولی و نیز در محل شده است. ردیابی و اندازه‌گیری آنیون نیتریت به عنوان یک گونه ی شیمیایی با قابلیت ایجاد سرطان، همیشه در کانون توجه شیمیست‌ها برای ارائه و توسعه‌ی روش‌های ساده، ارزان و سریع و نیز دوست دار محیط زیست بوده است. درکار حاضر که در حیطه شیمی سبز قرار دارد هدف، ارائه یک راهکار تجزیه‌ای ساده، حساس، قابل حمل و ارزان به روش حسگری نوری در تعیین کَمّی آنیون نیتریت است. یک حسگر نوری بر پایه شناساگر طبیعی زعفران تثبیت شده بر روی غشاء پلیمری طراحی شده که برای اندازه‌گیری آنیون نیتریت در محیط‌های شیمیایی مختلف قابل کاربرد باشد. بر این اساس، رنگدانه‌ی زعفران تثبیت شده در عشا ء نازک پلیمری در یک محیط اسیدی با آنیون نیتریت واکنش می‌دهد و میزان کاهش جذب حسگر در طول موج ۴۴۰ نانومتر به عنوان علامت تجزیه‌ای ثبت می‌گردد. متغیرهای تاثیرگذار بر روی عملکرد حسگر نوری شامل نحوه‌ی فعال سازی غشاء پلیمری، غلظت زعفران، میزان اسیدیته محیط آنالیت، زمان پاسخ مورد مطالعه قرار گرفته‌است. در شرایط بهینه شده، محدوده‌ی دینامیکی حسگر از $۱۰^{-۳}$ × ۱/۰ تا ۵۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر خطی بوده و حد تشخیص آن برابر $۱۰^{-۴}$ × ۷/۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر از نیتریت، حاصل شده‌است. انحراف معیار نسبی در اندازه‌گیری تکراری نیتریت با غلظت ۵/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برابر ۴ درصد به دست آمده‌است. اثر گونه‌های شیمیائی مختلف بر پاسخ تجزیه‌ای حسگر بررسی شده و در اندازه‌گیری محتوی نیتریت نمونه‌های حقیقی مثل آب شرب و نمونه‌ای از آب چاه از حسگر تهیه شده با موفقیت استفاده شده است.

کلمات کلیدی : حسگر نوری سبز، زعفران، اندازه گیری نیتریت، نمونه های محیط زیستی.

۱- مقدمه

آنیون نیتریت یکی از ترکیبات مهم نیتروژن می‌باشد. نیتریت در مواد افزودنی به مواد غذایی و به خصوص در نگه‌داری گوشت قرمز، ماکیان و ماهی و نیز در فرآورده های گوشتی شامل انواع سوسیس و کالباس به عنوان محافظ و بهبود دهنده و عامل تثبیت رنگ به شکل گسترده استفاده می شود[۱]. وجود نیتریت سدیم در شور آب و اشک مانع رشد باکتری‌ها از جمله باکتری کلستریدیم بوتولینیوم می‌شود. این گونه ی شیمیایی همچنین در منابع گوناگون آبی ناشی از برخی فعالیت های با منشاء انسانی و طبیعی یافت می شود. نیتریت همچنین نقش مهمی در صنایع مختلف متالوژی از جمله پالایش فلزات و عملیات پرداخت و تمام‌کاری، مثل آب‌کاری طلا دارد. در صنایع لاستیک‌سازی، نیتریت به عنوان ماده‌ی شیمیایی مهم در تولید مواد شیمیایی

* **نویسنده مسئول:** استادیار گروه شیمی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران s.nouroozi@znu.ac.ir

فرآیندهای لاستیک‌سازی، استفاده می‌شود. از موارد دیگر کاربردهای نیتریت می توان به استفاده به عنوان بازدارنده پلیمریزاسیون، در رنگرزی منسوجات، در سنتز ترکیبات آروماتیکی فلوئوردار، حشره کش‌ها و علف کش‌ها، کافئین، داروها و عطرها و نیز در تولید عوامل پف کننده اشاره نمود[۲].

نیتریت علی‌رغم استفاده در صنایع غذایی، یک ماده‌ی شیمیایی سمی است. استنشاق مقادیر زیاد ذرات و غبار آن و یا خوردن مستقیم آن باعث مسمومیت‌های شدید و در مواردی منجر به مرگ می‌شود. سمی بودن نیتریت با کاهش فشار خون بروز می‌کند و سیانوز ایجاد شده با نیتریت قادر است رگ‌های خونی را گشاد کرده و باعث تشکیل متهموگلوبین[1] در خون شود که باعث اختلال در رسیدن اکسیژن به بافت‌ها می شود. مقدار LD50[2] برای نیتریت ۸۵ میلی گرم بر کیلوگرم گزارش شده‌است [۳]. با این وجود، اهمیت اندازه‌گیری مقادیر کم نیتریت در نمونه‌های مختلف، نقش نیتریت به عنوان یک ماده اولیه در تشکیل N-نیتروز آمین‌ها است [۵-۳]. نیتریت با آمین‌های نوع دوم درمحیط pH معده پستانداران و شیره معدی، باعث ایجاد نیتروز آمین‌ها می‌شود که مواد سرطان‌زایی هستند و منجر به ایجاد انواع سرطان‌های معده و روده می‌شوند. غلظت بالایی از نیتریت در سبزی‌های خوراکی مانده، به خصوص در اسفناج، کرفس، کاهو، و دیگر سبزیجات، ناشی از احیا آنیون نیترات توسط باکتری‌ها یافت می‌شود [۶]. با توجه به مضرات ذکر شده، اندازه گیری و ردیابی این گونه ی شیمیایی در محیط های گوناگون همیشه مورد توجه بوده است و پژوهشگران در مقالات متعددی سعی کرده اند تا راهکارهای متنوع و اثربخش تری را در این موضوع ارائه نمایند[۱۱-۵ و ۱۹-۱۳]. با این وجود، نیاز به معرفی و ارائه روش هایی حساس، ساده، قابل حمل و در عین حال ارزانتر احساس می شود. این امر به ویژه در موضوع نظارت، ردیابی و کنترل بر سلامت آب شرب و آب مصرفی در صنایع متنوع مواد غذایی اهمیتی مضاعف پیدا می کند.

یک حسگر نوعی، ابزاری است که کَمّیتی فیزیکی را اندازه‌گیری کرده و آن را به یک علامت قابل سنجش تبدیل می‌کند. حسگر نوری متشکل از یک فاز واکنشگر تثبیت شده روی غشاء جامد است. برهمکنش واکنشگر تثبیت شده با آنالیت باعث تغییر در یکی از ویژگی‌های برهمکنشی نور و ماده همچون جذب یا فلوئورسانس می شود که متناسب با غلظت آنالیت است. هر حسگر نوری نیاز به سه مؤلفه دارد: ماده شیمیایی که با آنالیت برهمکنش داده و پاسخ مناسبی ایجاد کند، بستری که ماده شیمیایی روی آن تثبیت شود و ابزارهای دقیق که بتواند پاسخ تجزیه‌ای متناسب با غلظت آنالیت را ایجاد نموده و اندازه‌گیری کند[۱۲]. با توجه به این خصوصیات و نیز ملزومات روش های ساده و قابل حمل، ارائه روشی مبتنی بر اصول حسگری جهت تعیین کَمّی آنیون نیتریت از نیازهای اساسی امروزه به شمار می آید.

[1] Methemoglobinemia
[2] Lethal Dose for 50% mortality

هدف از کار حاضر، ارائه یک روش تجزیه‌ای ساده، سریع، قابل حمل و ارزان و نیز بر اساس اصول شیمی سبز برای اندازه‌گیری نیتریت در نمونه‌های گوناگون زیست محیطی است. بر این اساس نیتریت با رنگدانه طبیعی زعفران تثبیت شده بر روی غشاء استیل سلولز واکنش داده و میزان تغییر جذب نور در طول موج بیشینه ۴۴۰ نانومتر به عنوان علامت تجزیه‌ای دنبال می‌شود. حسگر تهیه شده، جهت اندازه‌گیری غلظت آنیون نیتریت در شرایط بهینه شده اثر عوامل مختلف بر پاسخ حسگر، در ردیابی و اندازه گیری نیتریت مورد استفاده قرار گرفته است. ارقام شایستگی حسگر و تأثیر مزاحمت برخی گونه‌ها بر اندازه‌گیری نیتریت مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته و همچنین محتوای نیتریت در نمونه‌های حقیقی آب شرب شهری و آب چاه موجود در زمین های زراعی روستایی در نزدیکی شهر زنجان با حسگر تهیه شده تعیین مقدار شده و نتایج با روش استاندارد گریس[۲و۳] مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفته است.

۲- بخش تجربی

۲-۱- دستگاهوری و مواد مورد استفاده

تمام مواد شیمیائی استفاده شده دارای درجه خلوص بالا بوده و محصول شرکت‌های شیمیائی معتبر می‌باشند. از پتاسیم کلرید(۹۹/۵ درصد مرک)، پتاسیم نیتریت(۹۷ درصد مرک)، هیدروکلریک اسید(۳۷ درصد مرک) و سدیم هیپوکلریت(محلول ۱۴-۶ درصد مرک) و اتیلن‌دی‌آمین(۹۹ درصد سیگما-آلدریچ) استفاده شد. در تمام مراحل آزمایش از آب یک بار تقطیر استفاده گردید. برای هر یک از مواد، محلول‌های استاندارد اولیه (محلول اصلی) تهیه شد و محلول‌های مورد نیاز از رقیق کردن محلول های اصلی تهیه می‌شدند. محلول زعفران بطور روزانه تهیه می‌شد. از طیف نور سنج شیمادزو مدل ۱۶۰ برای ثبت طیف در ناحیه مرئی و نیز اندازه‌گیری علامت تجزیه‌ای محلول نمونه‌ها در طول موج بیشینه ۴۴۰ نانومتر استفاده شده است. دستگاه pH متر AZ مدل AZ86P3 جهت اندازه‌گیری pH محلول‌ها به کار گرفته شد. زعفران به عنوان عامل حسگری بر روی بستر استات سلولز تثبیت شد.

۲-۲- مراحل تهیه ی حسگر نوری

از غشاء استات سلولزی تهیه شده از فیلم های عکاسی برای ساخت بستر جامد جهت تثبیت واکنشگر نوری حسگر استفاده گردیده است. مراحل پیش آماده سازی فیلم استات سلولزی از طریق اصلاح روش ذکر شده در مرجع ۸ انجام شد. برای تهیه‌ی فیلم استات سلولز، از تکه‌های زاید فیلم عکاسی استفاده شد.طبق این روش، قطعه‌هایی در اندازه های ۳۰×۹ میلی‌متر از فیلم عکاسی برش داده شد و به مدت چند ثانیه در محلول سدیم هیپوکلریت غلیظ نگهداری گردید تا لایه‌های ژلاتینی رنگی از آن جدا شوند و سپس با آب شسته شد به این طریق فیلمی شفاف بدست آمد. در مرحله‌ی بعدی جهت فعال سازی سطح، فیلم‌شفاف در محلول اتیلن‌دی‌آمین/ آب قرار گرفت و در انتها با آب مقطر چندین بار شستشو داده شد. پس از این مرحله، تثبیت زعفران

به عنوان واکنشگر شناسائی به روش تماسی(غوطه ور کردن فیلم شفاف که سطح آن فعال شده درون محلول زعفران با غلظت بهینه و در مدت زمان بهینه) انجام شد.

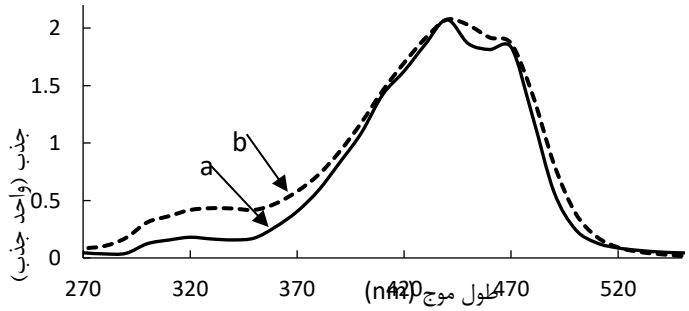
۳- تجزیه و تحلیل داده ها

۳-۱- تثبیت زعفران روی استات سلولز و تهیه حسگر

پس از فعال کردن سطح غشاء پلیمری استات سلولزی، تثبیت رنگدانه ی زعفران بر سطح فعال شده به روش غوطه ور کردن غشاء درون محلول زعفران با غلظت بهینه شده و نیز مدت زمان تماس بهینه شده انجام پذیرفت. پس از اندودن فیلم استات سلولزی به زعفران جهت تثبیت رنگدانه و عدم نشتی در طی فرآیند اندازه گیری، لازم است فیلم تهیه شده در دمای حدود ۴۰ درجه سلسیوس به مدت دو ساعت قرار داده شود. شکل ۱ تصویر غشاء پلیمری قبل و بعد از تثبیت شناساگر زعفران و همچنین نحوه قرار گرفتن حسگر نوری تهیه شده در نگهدارنده غشاء حسگری را نشان می دهد.

شکل۱. الف)غشاء پلیمری(استات سلولز) پس از فعال کردن سطح، ب) غشاء پلیمری پس از تثبیت زعفران، ج) قرار گرفتن غشاء حسگر تهیه شده در نگهدارنده حسگر.

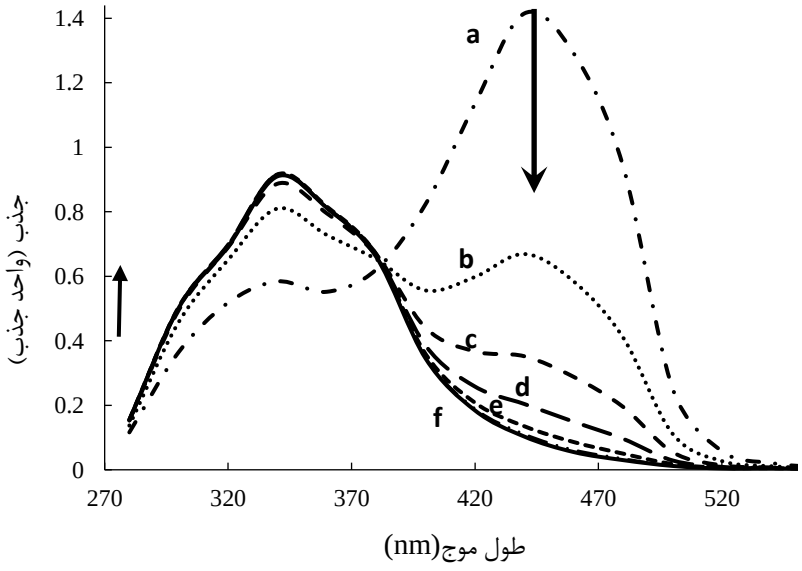
طیف جذبی حسگر نوری و نیز محلول زعفران، در ناحیه مرئی و ماوراء بنفش در شکل۲ آورده شده است. چنانچه مشاهده می شود رفتار جذبی رنگدانه زعفران تثبیت شده روی بستر جامد پلیمری مشابه محلول آن بوده و در ناحیه طیق مرئی، دارای ماکزیمم جذبی در طول موج ۴۴۰ نانومتر می‌باشد.



شکل ۱. طیف جذبی ماوراء بنفش/ مرئی زعفران. a)به صورت محلول و b) به صورت تثبیت شده روی بستر جامد شرایط: غلظت محلول زعفران،۲۶۰میلی گرم بر لیتر، هیدروکلریک اسید ۰/۶مولار، زمان تماس ۶۵ دقیقه.

واکنش رنگدانه زعفران در محیط اسیدی با آنیون نیتریت، مقدار جذب در طول موج بیشینه را کاهش داده و رنگ محلول و نیز غشاء تغییر می‌کند. تغییر در میزان جذب زعفران در طول موج ۴۴۰ نانومتر متناسب با غلظت گونه‌ی نیتریت موجود در محلول نمونه است. بنابراین با ردیابی میزان این تغییرات می‌توان غلظت آنیون نیتریت را بدست آورد.

برای ردیابی انجام واکنش و ثبت طیف زمانی و نیز علامت تجزیه‌ای، حجم‌های مقتضی از محلول‌های زعفران، هیدروکلریک اسید، آنیون نیتریت و آب مقطر بعد از افزودن به هم‌دیگر به حجم نهایی ۱۰ میلی‌لیتر می‌رسد و پس از اینکه کاملا هم‌زده شد مقداری از آن درون سل دستگاه طیف نورسنج منتقل شده و طیف زمانی ثبت گردید. به منظور دستیابی به تکرارپذیری بیشتر، افزودن محلول‌های نیتریت که منجر به شروع واکنش می‌شود، در فواصل زمانی ثابت و معین انجام می‌گرفت. نتایج حاصل از این بررسی در شکل ۳ آمده است. این مطالعه بیانگر سینتیک واکنش آنیون نیتریت در واکنش با محلول اسیدی زعفران هست که با گذشت زمان واکنش کاملتر می شود. این مطالعه همچنین نشان می دهد با ثبت میزان کاهش جذب در طول موج بیشینه ۴۴۰ نانومتر که متناسب با غلظت آنالیت هست می توان غلظت نیتریت را اندازه گیری نمود.



شکل ۳. طیف جذبی زمانی زعفران تثبیت شده پس از افزایش نیتریت. a) ۳۰ ثانیه، b) ۱۲۰ ثانیه، c)۲۱۰ ثانیه، d) ۳۰۰ ثانیه، e) ۳۹۰ ثانیه و f) ۴۸۰ ثانیه پس از افزودن نیتریت. شرایط: ۱۰۰میکروگرم برمیلی لیتر زعفران ، هیدروکلریک اسید ۰/۶مولار، نیتریت ۰/۶ میکروگرم بر میلی لیتر.

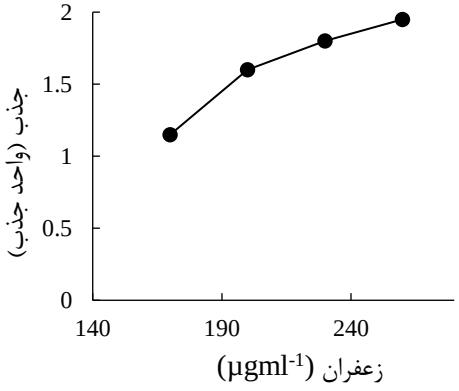
۲-۳- مطالعه عوامل اثر گذار بر عملکرد حسگر

عوامل فیزیکوشیمیائی متعددی بر میزان پاسخ تجزیه‌ای حسگر اثر دارد، لذا برای رسیدن به علامت تجزیه‌ای بهینه، لازم است نوع و نحوه تاثیر این عوامل مورد مطالعه و بررسی قرار گیرد. مطالعه‌های اولیه نشان داد غلظت محلول زعفران در مرحله تثبیت شناساگر روی بستر جامد پلیمری و مدت زمان تماس غشاء و محلول، اسیدیته و قدرت یونی محلول نمونه و مدت زمان تماس حسگر با محلول نمونه، از عوامل اصلی در مرحله تهیه حسگر نیتریت بر پایه زعفران می‌باشند. در این مطالعه بهینه سازی، از

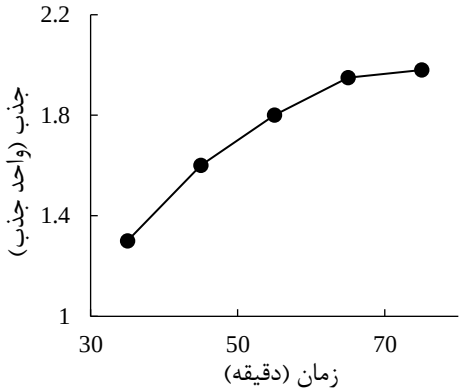
روش یک متغیر در یک زمان استفاده شده است. شکل‌های ۴ تا ۸ نتایج بررسی و بهینه سازی عوامل فیزیکو شیمیائی و سطوح بهینه آن‌ها را نشان می‌دهند.

۱-۲-۳- تاثیر غلظت محلول زعفران و مدت زمان تماس غشاء با محلول در فرآیند تثبیت

غلظت محلول رنگدانه زعفران و نیز مدت زمان تماس محلول اسیدی زعفران با غشاء پلیمری، از متغیرهای موثر بر میزان علامت تجزیه ای حسگر نوری است. اثر غلظت زعفران در محدوده‌ی غلظتی ۱۷۰ تا ۲۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و همچنین تاثیر زمان غوطه وری غشاء در محلول زعفران اسیدی در مرحله ی تثبیت شناساگر، مورد مطالعه قرار گرفت. بر طبق نتایجی که در شکل ۳ و ۴ آمده است افزایش غلظت زعفران تا ۲۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و زمان تماس محلول شناساگر با عشاء تا ۶۵ دقیقه منجر به افزایش در علامت جذب نور غشاء پلیمری در طول موج بیشینه می‌شود. برای داشتن مقدار علامت تجزیه ای قابل توجه در مرحله اندازه گیری آنالیت، لازم است حداکثر رنگدانه (زعفران) بر غشاء تثبیت شود. این میزان در غلظت محلول ۲۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر زعفران در زمان تماس ۶۵ دقیقه قابل حصول می باشد.



شکل ۴. بررسی اثر غلظت محلول زعفران در مرحله تثبیت شناساگر، شرایط: مدت زمان تماس ۶۵ دقیقه، غلظت هیدروکلریک اسید ۰/۶ مولار، غلظت اتیلن‌دی‌آمین در مرحله فعال کردن سطح ۹۲ درصد حجمی، طول موج ۴۴۰ نانومتر.

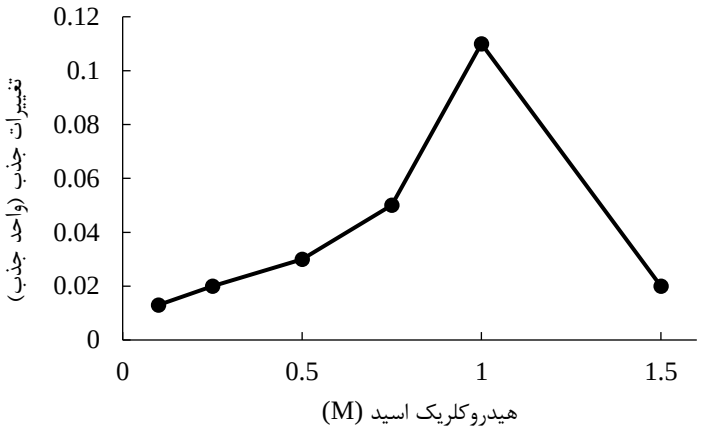


شکل ۵. بررسی اثرمدت زمان تماس غشاء استات سلولز با محلول شناساگر در مرحله تثبیت، شرایط: غلظت شناساگر ۲۶۰میکروگرم بر میلی‌لیتر، طول موج ۴۴۰ نانومتر

۲-۲-۳- تاثیراسیدیته محلول نمونه بر حساسیت

با توجه به اینکه واکنش کَمّی رنگدانه زعفران با آنیون نیتریت در محیط اسیدی انجام می‌شود لازم هست تا شرایط بهینه شده غلظت اسید محلول نمونه حاصل شود. بررسی‌های اولیه نشان داد که بیشینه پاسخ حسگری در محیط هیدروکلریک اسیدی حاصل می‌شود، لذا اثر غلظت هیدروکلریک اسید جهت رسیدن به بهترین علامت تجزیه‌ای بررسی گردید. برای همین منظور، مقدار پاسخ تجزیه ای حسگر تهیه شده تحت شرایط بهینه در محدوه ی غلظتی ۰/۱ تا ۱/۵ مولار هیدروکلریک اسید مورد مطالعه قرار گرفت. داده‌های شکل ۵ نشان می دهد بیشترین علامت تجزیه‌ای در مولاریته‌ی ۱ حاصل شده است. در غلضت‌های

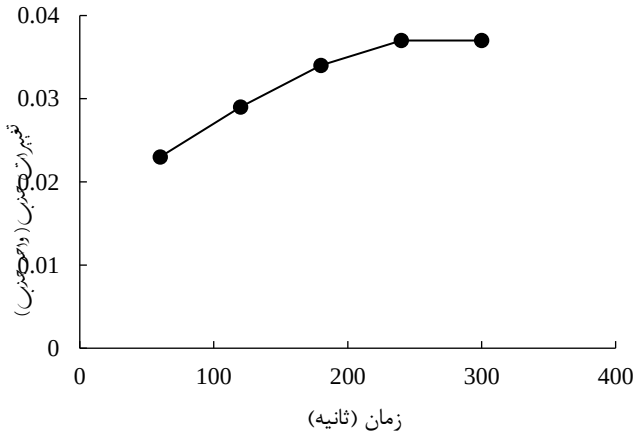
بیشتر از ۱ به دلیل پروتونه شدن کامل آنیون نیتریت [۲۰]، واکنش کاملی رخ نمی دهد و افت زیاد در پاسخ تجزیه‌ای حاصل می‌شود.



شکل ۵. بررسی اثر غلظت هیدروکلریک اسید بر پاسخ تجزیه‌ای: شرایط: نیتریت ۰/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر، مدت زمان تماس حسگر و محلول نمونه۲۴۰ ثانیه

۳-۲-۳- مطالعه‌ی زمان پاسخ حسگر

مدت زمانی که حسگر نوعی در تماس با محلول آنالیت بوده تا پاسخ تجزیه‌ای کاملی(۹۵ درصد پاسخ تجزیه‌ای پایا) را تولید کند، زمان پاسخ آن حسگر اطلاق می‌شود. بر اساس داده‌های حاصل که در شکل ۶ نشان داده شده است زمان پاسخ بهینه حسگر تهیه شده، برابر ۲۴۰ ثانیه می‌باشد. در واقع پاسخ تجزیه‌ای حسگر نوری تا ۲۴۰ ثانیه افزایش می‌یابد و پس از آن ثابت می‌ماند. لذا زمان بهینه پاسخ حسگر در شرایط بهینه برابر ۲۴۰ ثانیه برای بررسی‌های دیگر در نظر گرفته می‌شود.



شکل ۶. مطالعه‌ی زمان پاسخ حسگر، شرایط: غلظت هیدروکلریک‌اسید۱ مولار، ۰/۶ میکروگرم برمیلی‌لیتر نیتریت

همچنین مطالعه‌ی تاثیر قدرت یونی محلول آنالیت بر سطح پاسخ تجزیه‌ای حسگر در حضور غلظت‌های گوناگون از محلول حاوی نمک پتاسیم کلرید بررسی شد و مشخص شد تغییرات سطح پاسخ تجزیه‌ای حسگر با افزایش غلظت نمک تا ۱/۵ مولار، کمتر از ۵ درصد است.

۳-۳- ارقام شایستگی

ارقام شایستگی جهت ارزیابی عملکرد حسگر تجزیه‌ای تهیه شده مورد بررسی و مطالعه قرار گیرند. ویژگیهایی که برای ارزیابی حسگر بررسی شدند شامل: دقت، صحت، زمان پاسخ، حساسیت، پایداری و محدوده‌ی خطی پویا هستند. حسگری دارای عملکرد مطلوب است که زمان پاسخ سریع، صحت، حساسیت و تکرارپذیری بالا و دامنه خطی گسترده همراه با پایداری پاسخ مناسب باشد.

۳-۳-۱ بررسی محدودی خطی پویا و حساسیت

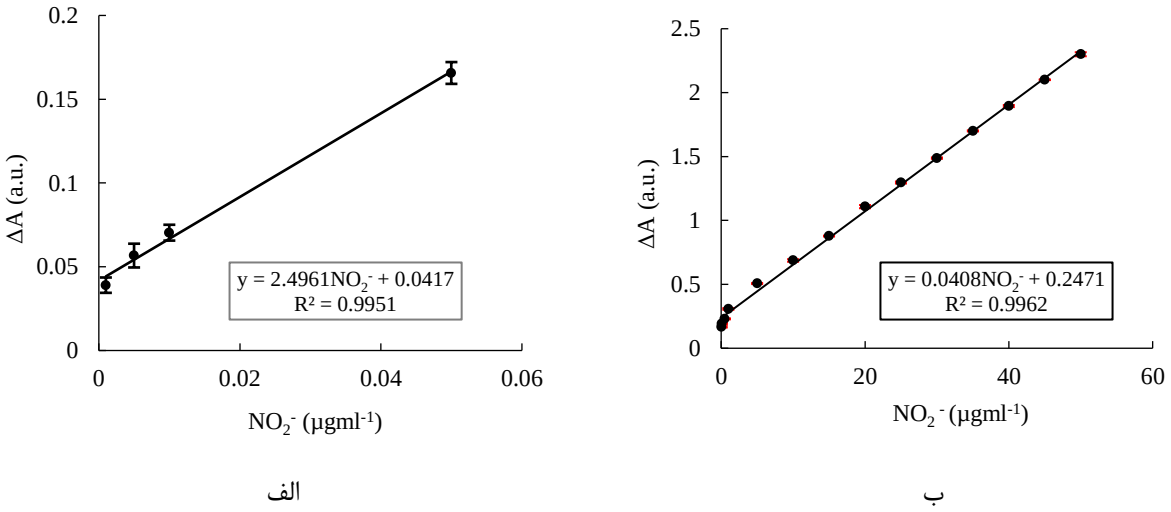
برای حصول گستره‌ی خطی پویا و حساسیت حسگر لازم است منحنی درجه بندی حسگر برای اندازه‌گیری آنیون نیتریت در شرایط بهینه رسم گردد. برای این منظور، حسگر تهیه شده در شرایط بهینه، درون محلول‌های حاوی نتیریت در غلظت‌های گوناگون همراه با هیدروکلریک‌اسید ۱ مولار، مدت زمان تماس حسگر و محلول ۲۴۰ ثانیه و با سه بار تکرار هر مرحله قرار گرفت و علامت‌های تجزیه‌ای حاصل ثبت شدند. نتایج حاصل از این مطالعه در شکل ۸ گزارش آمده است. بر اساس این بررسی گستره ی خطی با دو ناحیه ی غلظتی ۰/۰۰۱تا ۰/۰۵ و ۰/۰۵ تا ۵۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر نیتریت و با حساسیت‌های به ترتیب ۲/۵ و ۰/۰۴ قابل دستیابی است که بیانگر محدوده‌ی خطی وسیع(۴/۵ مرتبه از ده*) و با حساسیت مناسب می‌باشد.

۳-۳-۲ حد تشخیص، زمان پاسخ و پایداری پاسخ حسگر

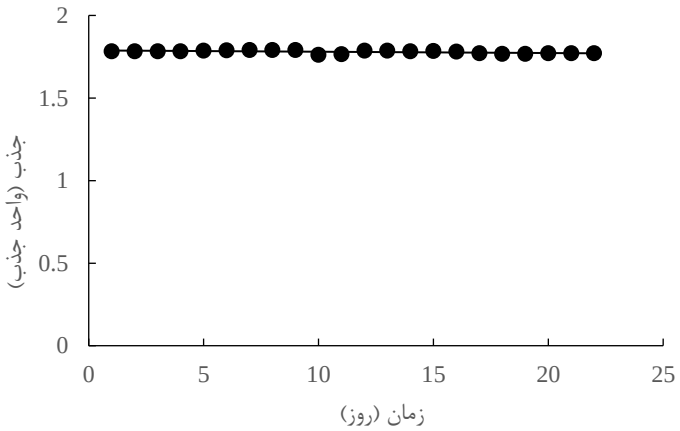
حد تشخیص حسگر(کمترین مقدار قابل اندازه گیری از آنالیت) در شرایط بهینه و بر اساس رابطه‌ی سه برابر انحراف معیار اندازه گیری شاهد بر شیب منحنی درجه بندی، برابر با ۰/۰۰۰۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر از آنیون نیتریت حاصل شد. این مقدار حد تشخیص حسگر تهیه شده، بسیار پایین تر از مقدار مجاز نیتریت در آب آشامیدنی اعلام شده توسط سازمان جهانی بهداشت و آخرین استاندارد ملی کشور می‌باشد و از جمله برتری های حسگر تهیه شده در اندازه‌گیری نیتریت است. زمان پاسخ یک حسگر، مدت زمان لازم برای آن‌که علامت خروجی به ۹۵ درصد علامت پایا برسد، تعریف می‌شود. برای حسگر تهیه شده در چهار غلظت مختلف از آنیون نیتریت و در شرایط بهینه شده، پاسخ تجزیه‌ای تا زمان ۱۰ دقیقه ثبت گردید. نتایج این بررسی نشان داد سطح پاسخ حسگر تا ۴ دقیقه افزایش و از آن به بعد ثابت می‌ماند. لذا زمان پاسخ حسگر ۴ دقیقه(۲۴۰ ثانیه) در نظر گرفته شد.

* Order of magnitude

به منظور بررسی پایداری حسگر در ایجاد علامت‌های تجزیه‌ای تکرارپذیر ، میزان جذب حسگر در طول موج ۴۴۰ نانومتر به مدت ۲۲ روز در شرایط بهینه ثبت شد. داده‌های حاصل با مقدار انحراف معیار نسبی حدود نیم درصد تغییر در جذب، بیانگر پایداری مناسب حسگر تهیه شده می باشد. بنابراین حسگر تهیه شده با اطمینان کامل پس از سه هفته از زمان تهیه آن، قابلیت استفاده را دارد. (شکل ۹).



شکل ۸. منحنی درجه‌بندی حسگر نیتریت. الف) در بازه‌ی ۰/۰۰۱ تا ۰/۰۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر نیتریت. ب) در بازه‌ی ۰/۰۵ تا ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نیتریت، شرایط: هیدروکلریک اسید ۱ مولار، پتاسیم کلرید ۱ مولار، زمان تماس ۲۴۰ ثانیه، طول موج بیشینه ۴۴۰ نانومتر



شکل ۹. مطالعه زمان پایداری حسگر. شرایط: غلظت شناساگر ۲۶۰میکروگرم بر میلی‌لیتر، هیدروکلریک اسید ۱ مولار، طول موج ۴۴۰ نانومتر.

۸-۳- مطالعه‌ی اثر مزاحمتی یون‌ها مختلف بر پاسخ تجزیه‌ای حسگر

در نمونه‌های حقیقی علاوه بر آنیون نیتریت آنیون‌ها و کاتیون‌های دیگری نیز اغلب وجود دارند که می‌توانند در اندازه‌گیری نیتریت با روش پیشنهادی تداخل ایجاد کنند که باعث افت صحت داده‌ها می‌شوند. قبل از به‌کارگیری روش پیشنهاد شده در تجزیه نمونه‌های حقیقی، لازم است تاثیر حضور گونه‌های شیمیایی بر روی سطح علامت تجزیه‌ای حسگر بررسی گردد. لذا برای یک غلظت معین از نیتریت اثر حضور تعدادی از آنیون‌ها و کاتیون‌ها در غلظت‌های مختلف بر سطح پاسخ حسگر مطالعه شد.

چنانچه حضور گونه‌ی مزاحم سبب خطایی کمتر از ۵ درصد نسبی علامت تجزیه‌ای شود، آن گونه‌ی شیمیایی، مزاحم تلقی نمی‌گردد. نتایج بررسی مزاحمت گونه‌های مختلف در جدول شماره ۱ ارائه شده است. داده‌های جدول نشان می‌دهد یون‌های یدات، برمات و یدید به عنوان یون‌های مزاحم در اندازه‌گیری نیتریت عمل می‌کنند و لازم است به طریقی اثر تداخل این گونه‌ها رفع شوند.

جدول ۱. اثر گونه‌های شیمیایی مختلف بر علامت تجزیه‌ای حسگر نوری در اندازه‌گیری نیتریت

نسبت غلظتی (آنالیت/مزاحم)	گونه‌های مورد بررسی
۱۰۰۰	Zn^{2+},CO_3^{2-},Cu^{2+},Mg^{2+},Br^-
	Ca^{2+}, Ni^{2+}, NH_4^+, HPO_4^{2-}
	ClO_3^-, SO_4^{2-}, NO_3^{2-}
1	BrO_3^- , IO_3^-, I^-

۳-۹- اندازه‌گیری نیتریت در نمونه‌های حقیقی

برای بررسی کارایی حسگر نوری تهیه شده در تعیین کَمّی نیتریت، لازم است تا عملکرد آن در تجزیه‌ی نمونه‌های حقیقی مطالعه شود. جهت نیل به این هدف نمونه‌هایی از آب چاه و نیز آب شرب شهری انتخاب و محتوای نیتریت آن‌ها با حسگر نوری تهیه شده اندازه‌گیری شد. این اندازه‌گیری به طور همزمان به روش استاندارد نیز انجام پذیرفت تا میزان اعتبار نتایج حاصل از روش پیشنهاد شده با داده‌های حاصل از روش استاندارد سنجیده شود. برای این منظور تمام مراحل اندازه‌گیری نیتریت در آب شهر و آب چاه به روش استاندارد گریس- ایلوسوی انجام گرفت.

نمونه‌های حقیقی آب(آب چاه روستای کوشکن زنجان و آب شرب شهری) پس از جمع آوری، وفق شرایط ذکر شده در روش استاندارد گریس و نیز به روش پیشنهادی مورد عمل قرار گرفتند و محتوای نیتریت آنها اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از این آزمایش‌ها در جدول ۲ آورده شده است. درصد بازیابی و نتایج مربوط به ارزیابی آماری با مقایسه متوسط نتایج حاصل از روش استاندارد و روش حسگر نوری با محاسبه عبارت آماری $\mathbf{ts(N_1+N_2/N_1N_2)^{1/2}}$ جهت ۲ درجه ی آزادی و سطح اطمینان ۹۵٪ در دو ستون سمت راست آورده شده اند[۲۱]. داده‌های این جدول تطابق خوب نتایج حاصل از روش حسگر با نتایج روش استاندارد را نشان می‌دهد. سادگی، سرعت بالا، ارزانی و سهولت کار و نیز انطباق با مسائل زیست محیطی(روش تجزیه‌ای سبز)، از جمله مزیت‌های روش حسگر پیشنهادی نسبت به روش استاندارد گریش می‌باشد.

جدول ۲. نتایج تعیین کَمّی آنیون نیتریت در نمونه‌های حقیقی به روش حسگر پیشنهادی و روش استاندارد گریس

نمونه	نیتریت اضافه شده (μgml^{-1})	نیتریت حاصل شده (μgml^{-1})		درصد بازیابی		عبارت آماری $ts(N_1+N_2/N_1N_2)^{1/2}$
		حسگر	گریس	حسگر	گریس	
آب شهر	۰	۰/۰۰۷	۰/۰۰۴	–	–	۰/۰۰۳
	۰/۲	۰/۱۹۳	۰/۱۹۲	۹۶/۵	۹۶/۱	۰/۰۷۷
	۰/۴	۰/۳۹۲	۰/۳۹۳	۹۳/۱	۹۸/۲	۰/۱۱۷
	۰/۶	۰/۶۰۷	۰/۵۹۹	۱۰۱/۱	۹۹/۹	۰/۱۶۱
آب چاه	۰	۰/۰۰۳	۰/۰۰۵	–	–	۰/۰۰۳
	۰/۲	۰/۱۹۶	۰/۱۹۳	۹۸/۲	۹۶/۲	۰/۰۷۲
	۰/۴	۰/۳۹۰	۰/۳۸۴	۹۷/۵	۹۶/۱	۰/۱۱۴
	۰/۶	۰/۶۰۲	۰/۶۰۳	۱۰۰/۳	۱۰۰/۵	۰/۱۴۵

۱۰-۳- مقایسه‌ی روش ارائه شده با سایر روش‌ها

با توجه به این امر که ارزش و اعتبار هر روش تجزیه‌ای جدید، در مقایسه با سایر روش‌های موجود مشخص می‌شود، لذا مشخص کردن مزایا و معایب روش پیشنهادی نسبت به روش‌های موجود در اندازه‌گیری نیتریت منجر به ارزیابی درست روش می‌شود. در جدول ۳ مشخصات و ارقام شایستگی حسگرهای نیتریت موجود با حسگر پیشنهادی آورده شده است. مزیت اصلی حسگر پیشنهادی، استفاده از شناساگر طبیعی می‌باشد که آن‌را در زمره‌ی روش‌های تجزیه‌ای سبز دسته‌بندی نموده است.

جدول ۳. مقایسه عملکرد تجزیه‌ای حسگرهای طراحی شده برای سنجش آنیون نیتریت

مرجع	انحراف معیار نسبی (٪)	پایداری	زمان پاسخ	حد تشخیص (μgml^{-1})	محدوده خطی پویا (μgml^{-1})	شناساگر
[۱۳]	–	۱۲ ماه	۸ ثانیه	۰/۰۰۱	۲ -۰/۰۰۲	سافرانین
[۱۴]	–	۶ ماه	۷ ثانیه	۰/۰۰۱	۱/۵ -۰/۰۰۸	گالوسیانین
[۱۵]	۲/۴	–	–	۰/۰۸	-	بریلیانت کریستال بلو
[۱۶]	۳/۴	–	–	۹	۱۰۰۰-۰/۱	فنوسافرانین
[۱۷]	–	–	۱۰ دقیقه	۰/۰۰۷	۰/۱۲۰ -۰/۰۴۰	رودامین ۶ جی
[۱۸]	–	–	–	۰/۰۰۸۳	۱/۰۱ – ۰/۰۱۰	لاوث بنفش
[۱۹]	–	۲ ماه	–	۰/۰۸	۸ -۰/۲	متیل ویولت
کار حاضر	۴/۶	۱ ماه	۴ دقیقه	۰/۰۰۷۲	۰/۰۵ -۰/۰۰۱ (ناحیه اول) ۵۰ -۰/۰۵ (ناحیه دوم)	زعفران

۴- نتیجه‌گیری

حسگر نوری پیشنهادی برای تعیین کَمّی و ردیابی آنیون نیتریت، ابزاری ساده، حساس، ارزان و منطبق بر اصول روش تجزیه‌ی سبز را ارائه نموده است. دامنه‌ی خطی گسترده، حد تشخیص پائین، حساسیت و گزینش‌پذیری مناسب، پایداری بالا و زمان پاسخ کوتاه از ویژگی‌های مهم دیگر این حسگر نوری است. از دیگر مزایا، می‌توان به سادگی روش تهیه و ساخت و کم هزینه

بودن و کار در دمای محیط اشاره کرد. حسگر تهیه شده با موفقیت جهت ردیابی و تعیین کَمّی محتوی نیتریت در نمونه های زیست محیطی به کار گرفته شد و دارای مزیت نسبی قابل ملاحظه ای در مقایسه با تعدادی از روش های دیگر موجود در اندازه گیری آنیون نیتریت می باشد.

۵- تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله از گروه شیمی دانشگاه زنجان برای حمایت‌های مالی و معنوی برای کار پژوهشی حاضر صمیمانه تقدیر و تشکر می‌نمایند.

۶- مراجع

[1] Shahrasbi, Hamzeh; Naseri, Ali; Nutritional value and practical methods of health and chemical control of some Iranian meat products, *Jihad Daneshgahi Publications*, first edition (1985).

[2] Nowruz S, *PhD thesis*, Isfahan University of Technology, July 2005.

[3] Nowruz S, *M.Sc. Thesis*, Tarbiat Modares University, Summer 1995.

[4] M. R. Burkart, D. W. Kolpin, R. J. Jaquis, and K. J. Cole, *Environ. Qual.*, **28** (1999) 1908.

[5] Nouroozi, S., Aghamohammadi, M., "Reverse flow injection analysis of trace amounts of nitrite using saffron as natural reagent", *J. Appl. Chem.*, **1396,** (2019), 17.

[6] Pirsaheb; M., Sharafi; K., Morad M., "A survey on nitrite and nitrate levels in vegetables and cucurbits cultivated in northern and western plains of Kermanshah city in 2012" *J. Food Hygiene* **3**, 1(9) (2013) 77.

[7] W. Fresenius, K. E. Quentin, W. Schneider, "Water Analysis", Wiley, New York, (1988), 226.

[8] Ensafi, Ali A., Rezaei, B. and Nouroozi, S., "Simultaneous spectrophotometric determination of nitrite and nitrate by flow injection analysis", *Anal. Sci.*, **20 (1)** (2004) 1749.

[9] Nouroozi, S. and R. Mirshafian, "Flow injection kinetic spectrophotometric method for the determination of trace amounts of nitrite", *Talanta,* **79** (2009) 1149.

[10] Amini, M., M. Pourhossein, and M. Talebi, "A chemiluminescence flow injection system for nitrite ion determination", *J. Irani. Chem. Soc*, **2** (2005) 305.

[11]. M. F. Mousavi, A. Jabbari, S. Nouroozi, "A Sensitive Flow Injection Method for Determination of Trace amounts of Nitrite " *Talanta,* **45** (1998) 1247.

[12] Scog, eh. Douglas; Haller, James. F; Nimen, eh. Timothy; Principles of Instrumental Analysis, translated by Abdolreza Selajgeh, Tehran, *University Publishing Center*, Fourth Edition (2008).

[13] Ensafi Ali A., Kazemzadeh A., "Monitoring nitrite with optical sensing films" *Microchem. J.*, **72** (2002) 193.

[14] Kazemzadeh A., Daghighi S., "Optical nitrite sensor based on chemical modification of a polymer film", *Spectrochim. Acta, A Mol. Biomol. Spectrosc.*, **61** (2005) 1871.

[15] Ensafi Ali A., Amini M., "A highly selective optical sensor for catalytic determination of ultra-trace amounts of nitrite in water and foods based on brilliant cresyl blue as a sensing reagent" *Sensor Actuat B-Chem.,* **147 (**2010) 61.

[16] Abdukayum A., "Optical Sensor Based on Phenosafranine Doped Organically Modified Sol-Gel Film for Nitrite", *Chin. J. Anal. Chem,* **39** (2011) 564.

[17] Dhanya S., Joy J., Rao T.P., "Fabrication and characterization of Rhodamine 6G entrapped sol–gel film test strip for virtually specific and sensitive sensing of nitrite" *Sensor Actuat B-Chem.,* **173 (**2012) 510.

[18] Ensafi Ali A., Amini M., "Highly selective optical nitrite sensor for food analysis based on Lauth's violet-triacetyl cellulose membrane film" *Food Chem.*, **132** (2012) 1600.

[19] Afkhami A., Madrakian T., Aleseyyed S.B., "Kinetic Determination of Trace Amounts of Nitrite Using an Optical Chemical Sensor", *Clean-Soil Air Water,* **40** (2012) 619.

[20] Greenwood N. N.; Earnshaw A. (1997). *Chemistry of the Elements* (2nd ed.). Butterworth-Heinemann. 461.

[21] Skoog D. A., West D. M.,(1982). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (4th ed.).CBS Publishing, HRW International editions. 65.