# اندازه گیری مقادیر اندک نیتریت به روش تجزیه تزریق جریانی معکوس با استفاده از واکنشگر طبیعی زعفران

**سیاوش نوروزی*، معصومه آقامحمدی**

*زنجان، دانشگاه زنجان، دانشکده علوم، گروه شیمی*

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۴/۱۷ تاریخ تصحیح:۹۶/۱۰/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۱۴

## چکیده

*اندازه‌گیری و ردیابی مقادیر اندک آنیون نیتریت به عنوان یک گونه‌ی شیمیایی پراهمیت از نظر محیط زیست، ایمنی و سلامت و نیز از لحاظ صنایع گوناگون به ویژه صنایع غذایی به خاطر تنوع کاربردنمک های نیتریت در این صنایع و هم به عنوان پیش‌ماده در تولید و تشکیل ترکیبات نیتروزآمین سرطان‌زا از اهمیت فراوانی برخوردار است. در کار حاضر که در حیطه شیمی سبز قرار دارد، روش تجزیه‌ای مبتنی بر سامانه ی تجزیه ای تزریق جریانی جهت اندازه‌گیری‌های ارزان، سریع، ایمن و با تکرارپذیری بالا جهت تعیین کمی آنیون نیتریت ارائه شده است. بعلاوه استفاده از تکنیک تزریق جریانی معکوس(rFIA) همچنین، باعث کاهش مصرف واکنش‌گرها شده و لذا کاهش هزینه تجزیه‌های شیمیایی و نیز آلودگی حداقلی محیط زیست را همراه داشته است. اساس شیمیایی روش تجزیه‌ای پیشنهادی بر واکنش رنگدانه طبیعی زعفران با آنیون نیتریت استوار است. محلول رنگدانه زعفران در محیط اسیدی با آنیون نیتریت واکنش می‌دهد و میزان کاهش جذب آن در طول‌موج ۴۴۰ نانومتر به عنوان علامت تجزیه‌ای ثبت می‌گردد. متغیرهای دستگاهی و شیمیایی تاثیرگذار بر روی علامت تجزیه‌ای مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته و بهینه‌سازی شده‌اند. در شرایط بهینه شده، محدوده‌ی خطی پویا در فاصله‌های غلظتی 3 الی ۱۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر با حساسیت ۱/۴۰ و ۳۰ الی ۱۸۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر با حساسیت ۰/۳۶ حاصل شده است. بر اساس نسبت علامت به نوفه برابر ۳، حد تشخیص روش برابر ۲/۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر و انحراف معیار نسبی در اندازه‌گیری تکراری نیتریت با غلظت ۱۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر برابر ۱/۸ درصد به دست آمده است. سرعت تجزیه در شرایط بهینه برابر ۱۳۰ تجزیه در هر ساعت قابل دست‌یابی است.*

**کلمات کلیدی:** سامانه تزریق جریانی معکوس، نیتریت، زعفران.

## ۱-مقدمه

آنیون نیتریت عموماً در شکل نمک سدیم نیتریت به عنوان نگه‌دارنده و جلوگیری کننده از رشد میکروب‌ها و تثبیت رنگ در فرآورده های گوشتی، ماهی و مرغ استفاده می‌شود. همچنین به مقادیر اندک در سبزیجات، آب آشامیدنی یافت می‌شود. نیتریت از طریق آب، هوا و موادغذایی وارد بدن انسان می‌شود.

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

اندازه‌گیری آنیون نیتریت به چند دلیل ضروری است اول آنکه می‌تواند هموگلوبین خون را اکسید کرده و به متهموگلوبین[1] تبدیل کند که این ماده عمل اکسیژن‌رسانی به بدن را مختل می‌کند و دوم اینکه نیتریت با بعضی از آمین‌ها و آمیدها در بدن آمیخته و باعث پیدایش نیتروزآمین که ماده‌ای سرطان‌زاست، می‌شود. لذا استفاده بیش از حد غلظت مجاز نیتریت به عنوان نگه‌دارنده در صنایع مواد غذایی ممنوع بوده و همچنین حضور آنیون نیتریت در آب آشامیدنی با توجه به سمیت آن مجاز نیست[۳-۱]. به همین جهت در بسیاری از نقاط جهان، موضوع آلودگی منابع آب‌های مصرفی به نیتریت مشکلی جدی به شمار می‌آید. روز به روز با توسعه فعالیت‌های کشاورزی، استفاده از کودهای شیمیایی حاوی نیترات رونق بیش‌تری پیدا می‌کند. نیترات موجود بر اثر احیاء تبدیل به نیتریت می‌شود. این موضوع نهایتا موجب افزایش آنیون نیتریت در آب‌های مصرفی می‌شود. این معضل در ایران و به ویژه در شهرهای شمالی کشور بیشتر است و متاسفانه سبب شیوع سرطان در این منطقه گردیده است. مطالعات کیفیت آب در برخی از شهرهای کشورمان نشان داده است که غلظت نیتریت در آب بعضی از چاه‌ها بیش از حد استاندارد بوده است، به طوری که این چاه‌ها از مدار بهره‌برداری برای مصارف شرب خارج گشته است. از سویی در شهرهای صنعتی، فاضلاب برخی کارخانه‌ها، مقادیر قابل توجهی نیتریت وارد آب‌های سطحی می‌کنند. با در نظر گرفتن موارد اشاره شده، حذف نیتریت از آب‌های سطحی و زیرسطحی از نیازهای اساسی در پالایش آب می‌باشد. در همین راستا ارائه ی روش های جدید برای اندازه‌گیری و ردیابی محتوای نیتریت منابع آب همیشه مورد توجه بوده است و به ویژه روش‌هایی که علاوه بر داشتن حساسیت بالا، ساده، ارزان و سریع بودن، بر اساس اصول شیمی سبز، آلودگی کمتری نیز داشته باشند، از اهمیت زیادی برخوردار است[۴]. گروه‌های تحقیقاتی بسیاری در پی یافتن راه‌های جدید، ساده، سریع و حساس برای اندازه‌گیری آنیون نیتریت هستند. بسیاری از روش‌های توسعه یافته در چند سال اخیر برای تعیین نیتریت عموما شامل روش‌های طیف‌سنجی نوری، فلوئورسانس‌سنجی، کروماتوگرافی و انواع روش‌های تزریق جریانی بوده است[۱۱-۵]. روش‌های تجزیه ی تزریق جریانی، روش‌هایی کامل و با سرعت بالا می‌باشند که تمام خصوصیت های اشاره شده را می تواند ارائه نماید. برخی از این روش‌ها انتخاب‌پذیر و دارای حساسیت خوبی هستند اما نیاز به مصرف واکنشگرهای گرانقیمت و اغلب دارای اثرهای مخرب زیست محیطی می‌باشند. در روش پیشنهادی حاضر، اندازه‌گیری کمّی آنیون نیتریت در مقادیر اندک با روش تزریق جریانی معکوس انجام شده است که مزایایی ازجمله سرعت تجزیه بسیار بالا، کاهش قابل توجه در حجم واکنشگرهای مصرفی، استفاده از واکنشگر طبیعی و نیز استفاده از نورسنجی ساده را در بر دارد که منجر به ارائه روشی کاملاً سبز و منطبق بر مسائل زیست محیطی شده است.

[1] methemoglobin

## ۲-بخش تجربی

### ۲-۱-مواد شیمیایی و معرف‌های مورد استفاده

تمام مواد شیمیایی مورد استفاده در این پروژه از مواد شیمیایی با خلوص تجزیه‌ای و محصول شرکت مرک بودند. در تمام مراحل تهیه محلول‌ها از آب یک بار تقطیر استفاده شده است. برای هریک از مواد، محلول مادر (اصلی) تهیه شد و محلول‌های مورد نیاز از رقیق کردن محلول اصلی به دست آمد. محلول اصلی زعفران به غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از انحلال ۰/۰۱ گرم پودر زعفران (قائنات) که قبلاً به مدت ۴ ساعت در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد خشک شده بود، در بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری و سپس به حجم رساندن با آب مقطر، تهیه شد. محلول تهیه شده پایدار بوده و محلول‌های مصرفی با رقیق کردن این محلول، به طور روزانه تهیه می‌شدند. محلول اصلی نیتریت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از انحلال ۰/۰۱۵ گرم نمک سدیم نیتریت (مرک) خشک شده به مدت نیم ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری و به حجم رساندن با آب مقطر تهیه شد. محلول های هیدروکلریک اسید با غلظت مورد نظر از رقیق کردن محلول غلیظ هیدروکلریک اسید (مرک با خلوص ۳۷ درصد) در بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری تهیه می شدند.

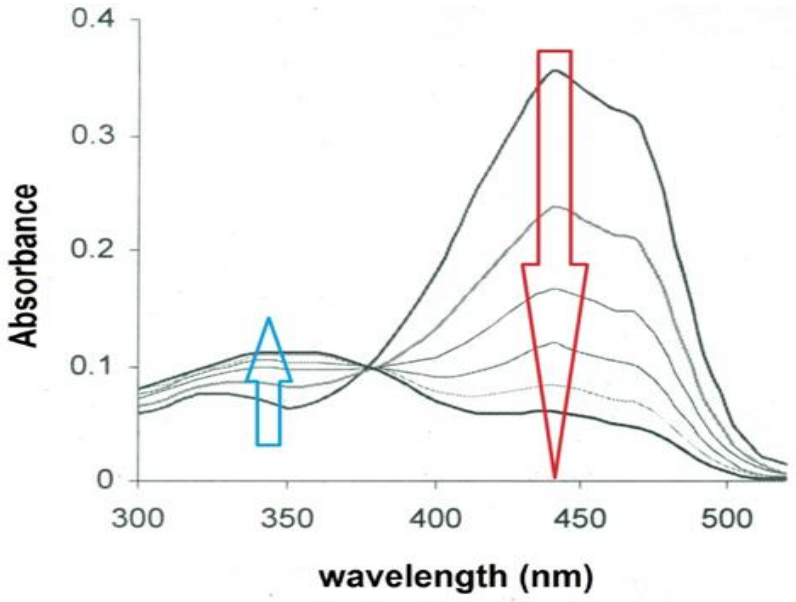
### ۲-۲- دستگاه‌های مورد استفاده

جهت انتقال محلول ها در درون لوله‌ها، از پمپ پریستالتیک هشت کاناله BECKMAN با قابلیت کنترل سرعت استفاده شده است. از طیف نورسنج Shimadzu مدلUV-160 به عنوان آشکارساز علامت تجزیه ای استفاده شده است. لوله‌های مورد استفاده برای پمپ کردن محلول‌ها از جنس سیلیکونی با قطر داخلی ۰/۸ میلی‌متر و برای مارپیچ واکنش، لوله از جنس تفلونی به قطر داخلی ۰/۵ میلی‌متر استفاده شد. جهت اتصال لوله ها از اتصال دهنده T شکل شیشه‌ای با قطر متناسب لوله‌ها استفاده شد. حلقه[1] نگه‌دارنده نمونه برای تزریق و لوله‌های رابط از جنس تفلونی با قطر داخلی ۰/۵ میلی‌متر استفاده شد و تزریق نمونه‌ها توسط شیر تزریق شش راهه[2] Vici مدل C22z-3186 انجام گرفت. سل جریانی ۲۰/۰ میکرولیتری ساخت شرکت Starna برای اندازه‌گیری‌های جذب محلول‌ها در سامانه تزریق جریانی متصل شده به طیف نور سنج استفاده شد.

### ۲-۳- طیف جذبی زعفران

طیف جذبی محلول اسیدی زعفران در ناحیهٔ مرئی و فرابنفش و تغییرات ناشی از افزودن محلول محتوی آنیون نیتریت در شکل ۱ آمده است. کاهش جذب در طول موج بیشینه ی ۴۴۰ نانومتر با حضور نیتریت و واکنش آن با رنگدانه ی زعفران که متناسب با غلظت نیتریت می باشد، به عنوان علامت تجزیه ای در اندازه گیری نورسنجی محلول های حاوی نیتریت در سامانه ی جریانی استفاده شده است.

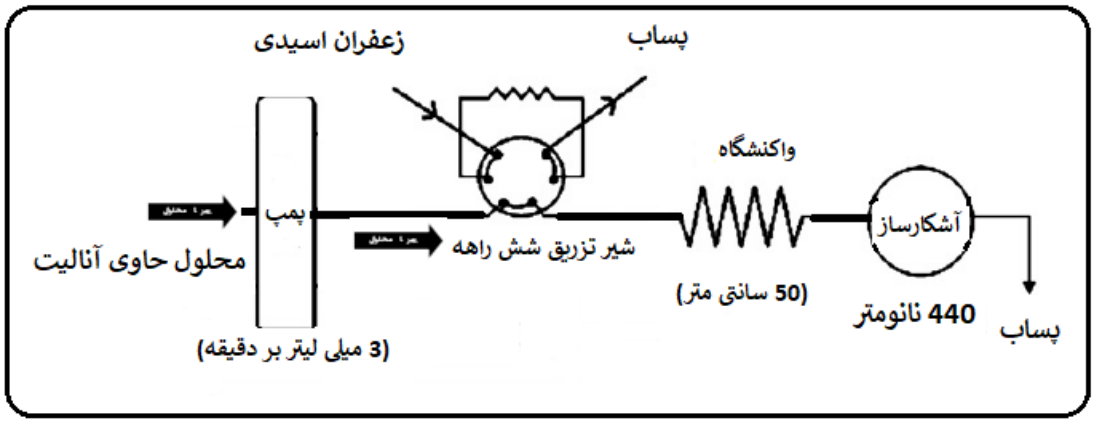
[1] Loop
[2] Six port injection valve




شکل ۱: کاهش در طول موج بیشینه جذب (۴۴۰ نانومتر) طیف جذبی محلول زعفران با افزودن محلول حاوی آنیون نیتریت. شرایط: زعفران ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، هیدروکلریک اسید ۱/۲ مولار، نیتریت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر.

### ۲-۴- طراحی سامانه تزریق جریانی معکوس

یکی از روش‌های اجرایی سامانه‌های تجزیه‌ای تزریق جریانی، روش تزریق جریانی معکوس(rFIA) است که طی آن به جای تزریق نمونه، واکنشگر(ها) از طریق شیر تزریق به جریان سیال حاوی نمونه تزریق می شود. از مزایای این شکل اجرا می توان به کاهش در مصرف واکنشگر(ها) و لذا تولید حداقل پساب واکنشی، کاهش هزینه های تجزیه، افزایش سرعت تجزیه و حساسیت، اشاره نمود. کاهش در تولید پساب به ویژه از نظر محیط زیست دارای اهمیت است و بر این اساس این دسته از روش ها را می توان در زمره ی روش های تجزیه ای سبز طبقه بندی نمود. این روش اجرا همچنین در مواقعی که محدودیت در مقدار نمونه های تجزیه ای وجود ندارد، مثل تجزیه ی محتوای گونه های موجود در آب دریا، بسیار مورد توجه می باشد. برای اندازه‌گیری یون نیتریت به روش تجزیه تزریق جریانی معکوس سامانه تجزیه ای نشان داده شده در شکل ۲ طراحی و اجرا شد. سامانه از یک دستگاه پمپ پریستالتیک، شیرتزریق شش راهه حاوی لوله‌ی تفلونی به حجم ۱۰۰ میکرولیتر برای واکنشگر تزریقی، واکنشگاه به طول ۵۰ سانتی‌متر (لوله تفلونی برای اختلاط نمونه و واکنشگر) و آشکارساز نورسنج جذبی ناحیه مرئی برای ثبت داده‌ها و علامت تجزیه‌ای ، تشکیل شده است. عوامل موثر بر علامت تجزیه‌ای به روش یکی در یک زمان بهینه‌سازی شدند و در شرایط بهینه حاصل، غلظت آنالیت در محیط‌های شیمیایی مختلف و نمونه های حقیقی اندازه‌گیری شده است.




شکل۲: سامانه تجزیه‌ای تزریق جریانی معکوس که برای اندازه‌گیری نیتریت طراحی شده است.

## ۳-بحث و نتیجه‌گیری

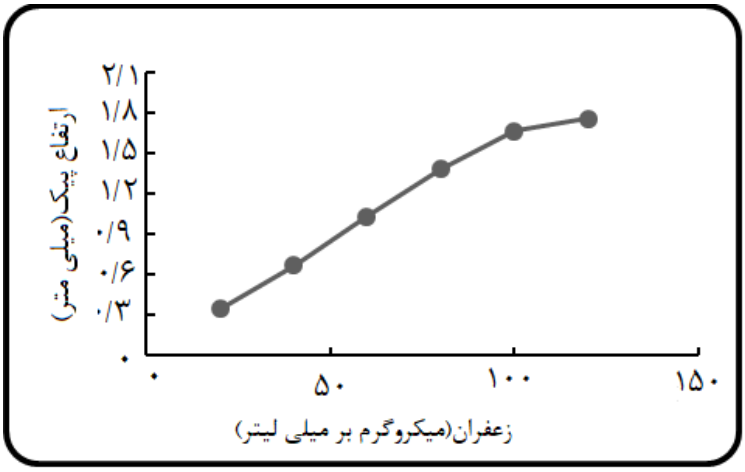
### ۳-۱- مطالعه ی متغیرهای اثرگذار بر حساسیت تجزیه ای

به منظور حصول بهترین شرایط برای ثبت علامت تجزیه ای، تاثیر عوامل مختلف شیمیایی و دستگاهی بر عملکرد سامانه ی تجزیه ای پیشنهاد شده مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. تمام متغییر های شیمیایی شامل غلظت واکنشگر طبیعی زعفران، میزان اسیدیته، و متغیرهای دستگاهی شامل سرعت جریان محلول ها، طول واکنشگاه و حجم نمونه ی تزریقی در این مطالعه بررسی شدند.

### ۳-۲- اثر غلظت رنگ زعفران

غلظت محلول رنگدانه زعفران از متغیرهای اصلی بر میزان علامت تجزیه ای است. در شرایط غلظت هیدروکلریک اسید ۱/۲ مولار، آنیون نیتریت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، سرعت جریان محلول ۳ میلی‌لیتر بر دقیقه، طول واکنشگاه ۵۰ سانتی‌متر و حجم تزریق ۱۰۰ میکرولیتر، اثر غلظت زعفران در محدوده‌ی غلظتی ۲۰ تا ۱۲۰میکروگرم بر میلی‌لیتر بر علامت تجزیه ای (ارتفاع پیک نمودار تزریق جریانی[1]) مورد بررسی قرار گرفت. بر طبق نتایجی که در شکل ۳ آمده است افزایش غلظت زعفران تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر منجر به افزایش تندی در علامت تجزیه‌ای می‌گردد و پس از آن شیب افزایش کم بوده و نیز میزان نوفه بالائی در خط پایه ناشی از جذب رنگدانه به دیواره سل جریانی ایجاد می شود. برای داشتن نسبت علامت به نوفه مناسب مقدار بهینه ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای غلظت محلول زعفران انتخاب شد.

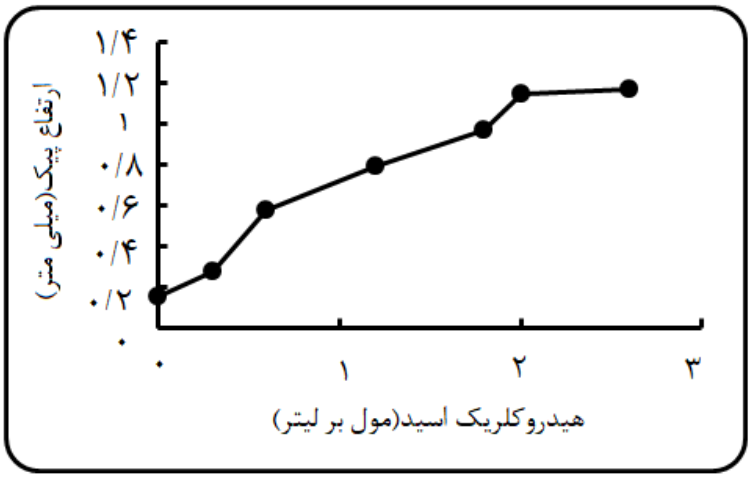
[1] FIA gram




شکل ۳: مطالعه ی تاثیر غلظت زعفران بر علامت تجزیه ای. شرایط: هیدروکلریک اسید ۱/۲ مولار، نیتریت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ، سرعت جریان محلول ۳ میلی‌لیتر بر دقیقه، طول واکنشگاه ۵۰ سانتی‌متر، حجم تزریق ۱۰۰میکرولیتر.

### ۳-۳- اثر غلظت هیدروکلریک اسید

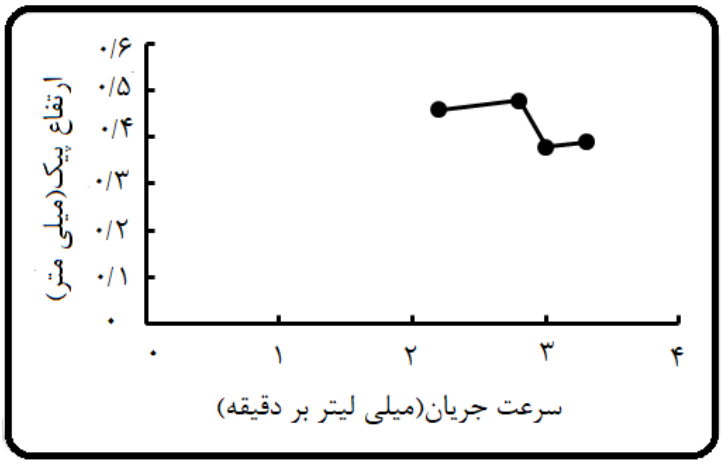
واکنش کمّی آنیون نیتریت با رنگدانه زعفران در محیط اسیدی انجام می شود. میزان اسیدیته به عنوان متغیر مهم به منظور دست‌یابی به علامت تجزیه‌ای بهینه با مطالعه ی اثر غلظت هیدروکلریک اسید در گستره‌ی غلظتی ۰ تا ۲/۵ مولار انجام شد. در شرایط بهینه شده غلظت محلول زعفران ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و علظت آنیون نیتریت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، سرعت جریان محلول ۳ میلی‌لیتر بر دقیقه، طول واکنشگاه ۵۰ سانتی‌متر، حجم تزریق ۱۰۰میکرولیتر، افزایش غلظت هیدروکلریک اسید میزان علامت تجزیه ای را افزایش می‌دهد( شکل ۴) ولی در غلظت‌های بالاتر نوفه خط پایه زیاد شده و نیز پایداری علامت تجزیه ای کم می‌شود. بنابراین غلظت ۲ مولار به عنوان غلظت بهینه اسید انتخاب شد.




شکل ۴: اثر اسیدیته محلول بر علامت تجزیه ای. شرایط: زعفران ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، نیتریت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، سرعت جریان محلول ۳ میلی‌لیتر بر دقیقه، طول واکنشگاه ۵۰ سانتی‌متر، حجم تزریق ۱۰۰ میکرولیتر.

### ۳-۴- اثر سرعت جریان

سرعت جریان محلول(ها) در سامانه های تزریق جریانی به جهت تاثیر بر میزان پراکندگی نمونه تزریق شده درون سیال و نیز مقدار درهم آمیختگی اهمیت دارد که این موضوع در نهایت بر میزان کامل شدن واکنش اثر دارد، لذا به دست آوردن شرایط بهینه برای سرعت جریان محلول(ها) در این سامانه ها اهمیت دارد. در شرایط غلظتی بهینه شده از هیدروکلریک اسید (۲ مولار)، زعفران(۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و غلظت آنیون نیتریت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، طول واکنشگاه ۵۰ سانتی‌متر، حجم تزریق ۱۰۰ میکرولیتر، سرعت جریان‌های مختلف در گستره ۲/۲ تا ۳/۳ میلی‌لیتر بر دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایجی که در شکل ۵ آمده است. سرعت جریان بهینه برابر ۳ میلی‌لیتر بر دقیقه حاصل شده است. در سرعت‌های بالا توزیع تودهٔ نمونه کم است و تودهٔ تزریقی فرصت زمان کمی برای واکنش در اختیار دارد و واکنش کامل نمی‌شود لذا حساسیت کم می‌شود در سرعت‌های خیلی پایین میزان توزیع نمونه زیاد شده و واکنش به طور کامل انجام می‌گیرد ولی پهنای پیک‌ها زیاد شده و باعث طولانی شدن زمان تجزیه می‌شود. بنابراین برای داشتن حساسیت بالا و سرعت تجزیهٔ مناسب، سرعت جریان محلول برابر ۳ میلی‌لیتر بر دقیقه به عنوان سرعت بهینه انتخاب گردید.

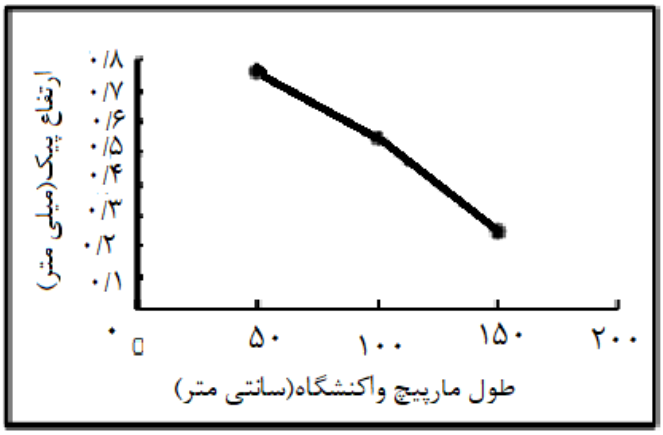



شکل ۵: بررسی اثر سرعت جریان محلول. شرایط: زعفران ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، هیدروکلریک اسید ۲ مولار، نیتریت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر طول واکنشگاه ۵۰ سانتی‌متر، حجم نمونه تزریق ۱۰۰ میکرولیتر.

### ۳-۵- اثر طول لولهٔ واکنشگاه

تاثیر طول لوله واکنشگاه بر روی علامت تجزیه ای سامانه تزریق جریانی در شرایط بهینه شده غلظت واکنشگرها، هیدروکلریک اسید ۲ مولار، زعفران ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بهینه سرعت جریان محلول۳ میلی‌لیتر بر دقیقه، نیتریت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، حجم تزریق ۱۰۰ میکرولیتر، در محدوده‌ی ۵۰/۰ تا ۱۵۰/۰ سانتی‌متر مورد بررسی قرار گرفت( شکل ۶). در طول بیش‌تر از ۵۰ سانتی‌متر پیک‌ها پهن‌تر و زمان تجزیه طولانی‌تر می‌شود و تعداد تجزیه ها در واحد زمان کاهش می‌یابند. برای

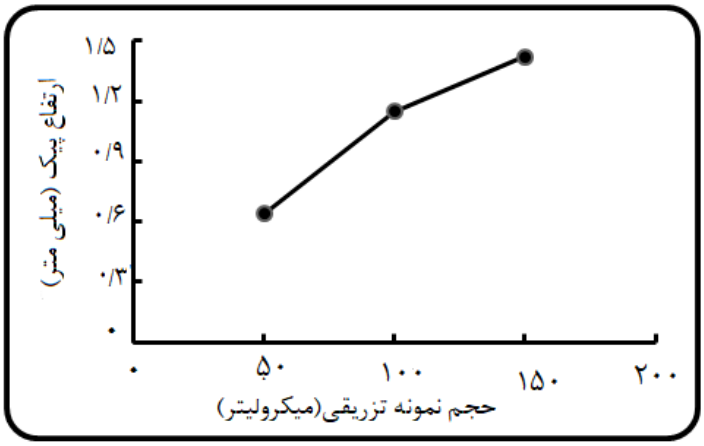
داشتن علامت تجزیه ای مناسب و مدت زمان تجزیه ای کوتاه، طول واکنشگاه ۵۰ سانتی‌متر به عنوان طول بهینه انجام واکنش انتخاب گردید.




شکل ۶: بررسی اثر طوللوله ی واکنشگاه. شرایط: زعفران ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، هیدروکلریک اسید ۲ مولار، نیتریت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، سرعت جریان ۳ میلی‌لیتر بر دقیقه، حجم تزریق نمونه ۱۰۰ میکرولیتر.

### ۳-۶- اثر حجم نمونه تزریقی

در شرایط بهینه شده از غلظت هیدروکلریک اسید(۲ مولار)، زعفران(۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، سرعت جریان محلول ۳ میلی‌لیتر بر دقیقه و طول واکنشگاه ۵۰ سانتی‌متر و نیز غلظت آنیون نیتریت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، اثر حجم نمونه تزریقی بر ارتفاع پیک در گستره ۵۰/۰ تا ۱۵۰/۰ میکرولیتر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه در شکل ۷ آمده است. با افزایش حجم نمونه تزریقی حساسیت افزایش می‌یابد ولی در حجم‌های خیلی بالا پیک‌ها به خاطر گستردگی بیشتر تودهٔ نمونهٔ تزریق شده پهن‌تر می‌شوند که باعث طولانی شدن زمان تجزیه می‌شود. در نتیجه برای رسیدن به بهترین شرایط به ویژه از نظر زمان تجزیه، حجم ۱۰۰ میکرولیتر به عنوان بهینه حجم واکنشگر تزریقی در سامانه تزریق جریانی معکوس انتخاب شد.




شکل ۷: بررسی اثر حجم واکنشگر تزریقی شرایط: زعفران ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، هیدروکلریک اسید ۲ مولار، نیتریت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر سرعت جریان ۳ میلی‌لیتر بر دقیقه، طول واکنشگاه ۵۰ سانتی‌متر.

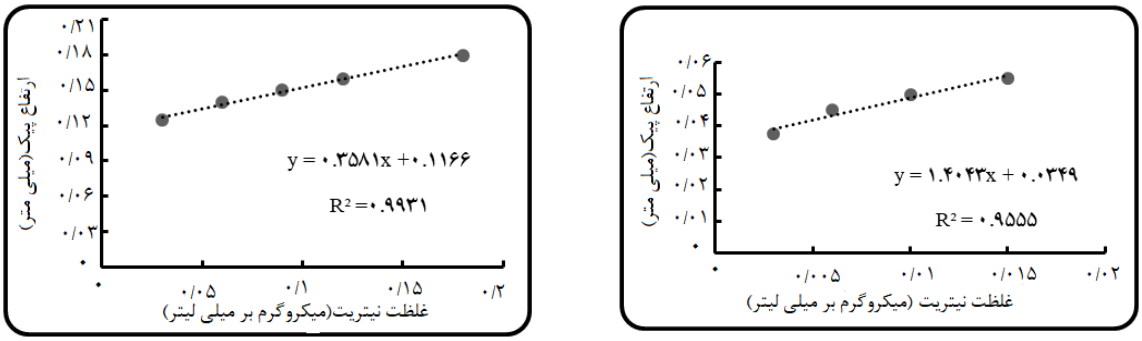
جدول ۱ نتایج بهینه حاصل از مطالعه ی اثر عوامل شیمیایی و دستگاهی بر روی علامت تجزیه ای را نشان می دهد.

جدول ۱- سطوح بهینه شده عوامل فیزیکی و شیمیایی موثر بر روی علامت تجزیه‌ای

| شماره | عامل | سطح بهینه |
|---|---|---|
| ۱ | غلظت محلول زعفران | ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر |
| ۲ | غلظت هیدروکلریک اسید | ۲ مول بر لیتر |
| ۳ | سرعت پمپ | ۳ میلی لیتر بر دقیقه |
| ۴ | طول واکنشگاه | ۵۰ سانتی متر |
| ۵ | حجم نمونه تزریقی | ۱۰۰ میکرولیتر |

### ۳-۷-ارقام شایستگی

برای تسهیل در اعتبار بخشی و ارزیابی روش های تجزیه ای لازم است ارقام شایستگی برای روش تجزیه ای پیشنهاد شده گزارش گردد. به این منظور لازم است در شرایط بهینه شده ی شیمیایی و دستگاهی، منحنی درجه‌بندی برای حصول ناحیه‌ی غلظتی خطی پویا و حساسیت، انحراف معیار نسبی برای بیان میزان دقت روش و مقدار حداقل غلظت قابل اندازه‌گیری برای بیان حد تشخیص سامانه تجزیه‌ای پیشنهادی، مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس داده‌های حاصل از رسم منحنی درجه بندی، محدوده‌ی خطی پویا در فاصله‌های غلظتی ۳/۰ الی ۱۵/۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر از آنیون نیتریت با حساسیت ۱/۴۰ و ۳۰/۰ الی ۱۸۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر از آنیون نیتریت با حساسیت ۰/۳۶ حاصل شده است. معادله خط برگشت برای این دو ناحیه غلظتی همراه با ضریب همبستگی مربوطه در شکل ۸ (الف و ب) نشان داده شده است.

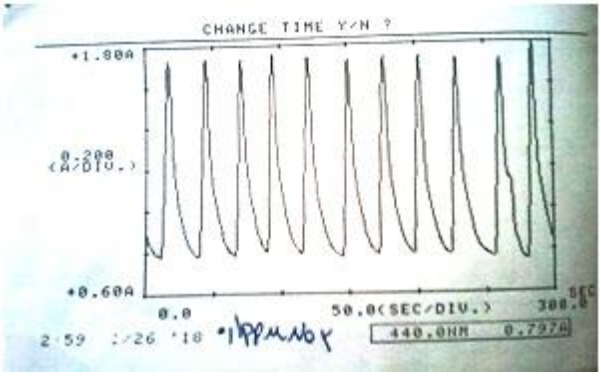



الف ب

شکل ۸: منحنی درجه‌بندی برای اندازه گیری آنیون نیتریت در شرایط بهینه. الف) در ناحیه ی غلظتی ۳/. الی ۱۵/۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر ب) در ناحیه‌ی غلظتی ۳۰/۰ الی ۱۸۰/۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر.

بر اساس نسبت علامت به نوفه برابر ۳، حد تشخیص روش برابر۲/۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. انحراف معیار نسبی در اندازه‌گیری تکراری نیتریت با غلظت ۱۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر برابر ۱/۸ درصد به دست آمده است. سرعت تجزیه در شرایط بهینه برابر ۱۳۰ تجزیه در هر ساعت قابل دست‌یابی است. شکل ۹ علامت تجزیه ای ثبت شده برای تزریق متوالی ۱۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر محلول حاوی آنیون نیتریت را نشان می دهد.

اثر حضور گونه‌های شیمیایی مختلف در محلول حاوی آنیون نیتریت بر میزان علامت تجزیه‌ای برای مطالعه سطح مزاحمتی آنها در اندازه گیری آنالیت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان داد اکثر آنیونها و کاتیون ها در سطح غلظتی ۱۰۰۰ برابر آنالیت تداخلی در اندازه گیری آنیون نیتریت ایجاد نمی کنند و فقط آنیون های پریدات، برمات و یدید گونه های شیمیایی مزاحم در این روش اندازه گیری شناسایی شدند که در صورت حضور در محلول حاوی آنالیت باید به طریقی از محلول نمونه مورد نظر حذف شوند.




شکل ۹: پیک‌های مربوط تزریق متوالی ۱۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر محلول حاوی آنیون نیتریت در شرایط بهینه.

### ۳-۸- کاربرد روش در تجزیه نمونه های حقیقی

برای ارزیابی سطح اعتبار روش تجزیه ای پیشنهادی در تجزیه ی نمونه های حقیقی، دو نوع نمونه زیست محیطی انتخاب و محتوای آنیون نیتریت آنها به روش افزایش استاندارد به صورت همزمان با سامانه تجزیه ای تزریق جریانی معکوس و نیز روش استاندارد گریس[1][۴] اندازه گیری شد. نتایج حاصل از به کارگیری سامانه تجزیه ای برای نمونه ی آب آشامیدنی و نمونه ی آب رودخانه به ترتیب در جدول ۲ و ۳ آورده شده است. مقایسه داده‌های حاصل از روش پیشنهادی با داده های روش استاندارد نشان می دهد روش پیشنهادی می‌تواند آنیون نیتریت را در آب آشامیدنی و نیز در نمونه های آب رودخانه با صحت و دقت بالایی اندازه‌گیری کند.

جدول ۲: نتایج اندازه‌گیری محتوی آنیون نیتریت در نمونه آب آشامیدنی.

| ردیف | نیتریت | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | اضافه شده (میکروگرم بر میلی‌لیتر) | حاصل شده (میکروگرم بر میلی‌لیتر) | | درصد بازیابی | |
| | | روش استاندارد | روش تزریق جریانی پیشنهادی | روش استاندارد | روش تزریق جریانی پیشنهادی |
| ۱ | ۰ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۲ | - | - |
| ۲ | ۰/۰۵۰ | ۰/۰۵۲ | ۰/۰۵۱ | ۱۰۲ | ۹۸ |
| ۳ | ۰/۱۰ | ۰/۱۰۳ | ۰/۱۰ | ۱۰۲ | ۹۸ |
| ۴ | ۰/۱۵ | ۰/۱۴۹ | ۰/۱۴۸ | ۹۸/۵ | ۹۷ |

جدول ۳: نتایج اندازه‌گیری محتوی آنیون نیتریت در نمونه آب زنجان‌رود.

[1] Griess method

| ردیف | نیتریت | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | اضافه شده (میکروگرم بر میلی‌لیتر) | حاصل شده (میکروگرم بر میلی‌لیتر) | | درصد بازیابی | |
| | | روش استاندارد | روش تزریق جریانی پیشنهادی | روش استاندارد | روش تزریق جریانی پیشنهادی |
| ۱ | ۰ | ۰/۰۰۵ | ۰/۰۰۷ | - | - |
| ۲ | ۰/۰۵۰ | ۰/۰۵۴ | ۰/۰۵۵ | ۹۸ | ۹۶ |
| ۳ | ۰/۱۰ | ۰/۱۰۴ | ۰/۱۰۵ | ۹۹ | ۹۸ |
| ۴ | ۰/۱۵ | ۰/۱۵۸ | ۰/۱۵۶ | ۱۰۲ | ۹۹/۳ |

## ٤- نتیجه‌گیری

دراین پژوهش از سامانه ی تجزیه ای تزریق جریانی معکوس برای اندازه‌گیری محتوی آنیون نیتریت نمونه‌ها با استفاده از واکنشگر طبیعی زعفران در محیط اسیدی و طیف سنجی جدبی در ناحیه مرئی استفاده شده است. تاثیر عوامل موثر بر سطح علامت تجزیه ای مورد مطالعه، بررسی و بهینه سازی قرار گرفتند. نتایج این مطالعه به خوبی نشان می دهد روش پیشنهاد شده به لحاظ داشتن ویژگی هایی مثل سرعت بالا، سادگی، نیاز به تجهیزات ارزان و در دسترس، دقت و صحت بالا و حساسیت مناسب و نیز به عنوان روش تجزیه ای مبتنی بر اصول شیمی سبز در اندازه گیری محتوای آنیون نیتریت نمونه های زیست محیطی می تواند مورد توجه قرار گیرد. نتایج مربوط به تجزیه ی نمونه های حقیقی نیز به روشنی اعتبار روش پیشنهاد شده را در مقایسه با روش استاندارد در تجزیه ی نیتریت نمونه ها بیان می کند.

## ٥-مراجع

[1]. parker,s.p., "*Encyclopedia of chemistry*" Mcgraw-Hill , p 657(**1983**)

[2]. Burkart, M.R., Kolpin DW, Jaquis RJ, Cole KJ, "Agrichemicals in ground water of the midwestern USA: Relations to soil characteristics" *J.Environ.Qua*, **28** (1999) 1908.

[۳] شهراسبی، حمزه; ناصری، علی، ارزش غذایی و روش های علمی کنترل بهداشتی و شیمیایی بعضی از فرآورده های گوشتی ایران. **۱۳۶۴** چاپ اول انتشارات جهاد دانشگاهی.

[۴] نوروزی س، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس تابستان **۱۳۷۴**.

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

[6]. Viñas, P., M.H. Cordoba, and C.S. Pedreño, "Determination of nitrite by reverse flow injection analysis", *Int. J. Environ. Anal. Chem*, **32** (1988) 279.

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

[8] Shabani, A.M.H., P.S. Ellis, and I.D. McKelvie,"Simple Flow Injection Analysis System for the Spectrophotometric Determination of Trace Amounts of Nitrite in Water Samples", *J.Flow Injection Anal*, **27** (2010**)** 146.

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

[10] Cherian, T. and B. Narayana, "A new system for the spectrophotometric determination of trace amounts of nitrite in environmental samples", *J. Braz. Chem. Soc.*, **17** (2006) 577.

[11] Ensafi, A.A., B. Rezaei, and S. Nouroozi, "Simultaneous spectrophotometric determination of nitrite and nitrate by flow injection analysis", *Anal. Sci. 1*, **20** (2004) 749.