

اندازه‌گیری نیتريت در نمونه‌های آبی متفاوت با استخراج فاز جامد مغناطیسی و پردازش تصاویر به کمک یک گوشی تلفن همراه

لیلا خوشمرام^{۱*}، علی کریمی^۲ و فاطمه صادقی^۳

۱. استادیار گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران
۲. دانشجوی کارشناسی گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران
۳. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

دریافت: شهریور ۱۳۹۸، بازنگری: اسفند ۱۳۹۸، پذیرش: فروردین ۱۳۹۹

چکیده: در مطالعه حاضر، یک روش پردازش تصویر با یک رنگ‌سنج دست‌ساز برای اندازه‌گیری مقادیر اندک نیتريت در نمونه‌های آبی متفاوت ارائه شده است. روش پیشنهادی مبتنی بر یک تلفن همراه هوشمند برای به‌دست آوردن مقادیر فضای رنگی RGB مربوط به تصاویر دیجیتالی است. برای تبدیل نیتريت به یک فراورده رنگی از ۴-نیتروآنیلین و α -نفتول استفاده شد. سپس، استخراج فاز جامد مغناطیسی برای استخراج رنگ آزو به‌دست آمده، مورد استفاده قرار گرفت. در استخراج فاز جامد مغناطیسی، گرافن مغناطیسی به‌عنوان جاذب و استون به‌عنوان حلال شوینده به‌کار برده شد. پس از تهیه تصاویر دیجیتالی فاز استخراجی با یک گوشی تلفن همراه و آزمون آن‌ها با استفاده از نرم‌افزار Color Grab، مقادیر R در به‌دست آوردن نشانک تجزیه‌ای مرتبط با غلظت نیتريت مورد استفاده قرار گرفت. عامل‌های تجربی موثر بر واکنش و بازده استخراج نیز بررسی شد. تحت شرایط بهینه، حد تشخیص و حد کمی روش به ترتیب ۱/۲ و ۴ میکروگرم بر لیتر به‌دست آمدند. نمودار معیارگیری در گستره ۱۰ تا ۳۰۰ میکروگرم بر لیتر با ضریب همبستگی ۰.۹۹۳ خطی شد. انحراف استاندارد نسبی برای غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰ میکروگرم بر لیتر به ترتیب ۲/۲ و ۳/۹ به‌دست آمد. روش پیشنهادی با موفقیت برای اندازه‌گیری نیتريت موجود در نمونه‌های آبی متفاوت به‌کار برده شد.

واژه‌های کلیدی: پردازش تصویر، گوشی تلفن همراه، استخراج فاز جامد مغناطیسی، نیتريت، نمونه‌های آبی

مقدمه

نیتروژن هستند [۱ و ۲]. همچنین، در اثر نورکافت یون‌های نیتريت موجود در قطره‌های آب‌های جوی، رادیکال‌های هیدروکسیل که به‌عنوان قدرتمندترین اکسیدان موجود در محلول آبی هستند، تشکیل می‌شوند که می‌توانند اکسایش نوری آلاینده‌های طبیعی

نیتريت یکی از گونه‌های شیمیایی مهم در مایعات جوی و آب‌های سطحی است که زندگی جانداران را تحت تاثیر قرار می‌دهد. یون‌های نیتريت به‌عنوان بخشی از چرخه طبیعی

(RGB)^۷ است. در این فضای رنگی، تمام رنگ‌ها از ترکیب سه رنگ تشکیل می‌شود. این سه رنگ عبارت هستند از قرمز (R)، سبز (G) و آبی (B) که به آن RGB گفته می‌شود. با ترکیب رنگ‌های یادشده که به آن‌ها، رنگ‌های ابتدایی^۸ می‌گویند، رنگ‌های دیگر یا ثانوی^۹ ایجاد می‌شود. در این فضای رنگی، برای مشخص کردن رنگ‌های متفاوت و شدت آن‌ها، از داده‌های ۲۴ بیتی (۸ بیت R + ۸ بیت G + ۸ بیت B) استفاده می‌شود. در نتیجه طیف وسیعی از رنگ‌ها را با ترکیب رنگ‌های R، G و B می‌توان به نمایش گذاشت. شدت هر رنگ ۲۵۶ سطح (از ۰ تا ۲۵۵) دارد. بنابراین، این فضا، ۱۶۷۷۷۲۱۶ (۲۵۶^۳) رنگ دارد. مقدار R=۰، G=۰ و B=۰ به رنگ سیاه خالص اشاره دارد. در حالی که R=۲۵۵، G=۲۵۵ و B=۲۵۵ سفید خالص است [۱۸]. استخراج فاز جامد مغناطیسی (MSPE)^{۱۰} به‌عنوان یک روش آماده‌سازی نمونه برپایه نانوذره‌های مغناطیسی مورد توجه پژوهشگران زیادی قرار گرفته است [۱۹ و ۲۰]. در MSPE، جاذب در یک محلول یا تعلیق حاوی آنالیت قرار می‌گیرد. تماس مستقیم نانوذره‌ها با آنالیت سبب جذب آنالیت بر سطح آن‌ها می‌شود. سپس، نانوذره‌ها تحت تاثیر یک میدان مغناطیسی خارجی از محلول جدا و با یک حلال یا محلول مناسب شسته می‌شوند تا آنالیت از سطح آن واجذب شود. در مرحله نهایی، محلول به‌دست آمده از شستشو بررسی می‌شود. پس از فرایند استخراج، جاذب می‌تواند بازیابی شده و دوباره در فرایند استخراج مورد استفاده قرار گیرد [۲۱]. با توجه به اینکه در MSPE، جداسازی جاذب از محلول بدون نیاز به گریزانه یا صافی انجام می‌شود، این روش استخراج می‌تواند برای آزمون در محل به‌راحتی به‌کار گرفته شود.

در این پژوهش، توانایی یک روش جدید، ساده و کم‌هزینه برپایه MSPE و پردازش تصویر دیجیتالی فاز استخراجی به‌دست آمده در تغلیظ و اندازه‌گیری مقادیر اندک نیتريت در انواع نمونه‌های آبی بررسی شده است. برای بهبود دقت و صحت اندازه‌گیری‌ها، یک جعبه رنگ‌سنجی طراحی شد تا نور محیط در طول گرفتن عکس از فاز استخراجی ثابت باشد. مقادیر R، G و B تصاویر دیجیتالی،

و انسانی را به‌طور قابل توجه‌ای افزایش دهند [۳]. با این حال، وجود مقادیر زیاد نیتريت در منابع آبی متفاوت می‌تواند موجب ایجاد بیماری‌های متفاوتی در انسان شود [۴] زیرا یون‌های نیتريت قادرند هموگلوبین خون را اکسید کرده و به مت‌هموگلوبین تبدیل کنند که این ماده عمل اکسیژن‌رسانی به بدن را مختل می‌کند. همچنین، یون‌های نیتريت می‌توانند با بعضی از آمین‌ها و آمیدها در بدن آمیخته و موجب پیدایش نیتروز آمین شوند که عامل ایجاد انواع سرطان‌ها (معهده، روده، مثانه، دهان) است [۵ و ۶]. با توجه به تاثیر قابل توجه نیتريت بر محیط و سلامتی انسان، اندازه‌گیری و ردیابی مقادیر اندک آن بسیار حائز اهمیت است. برای اندازه‌گیری نیتريت، از روش‌های متفاوتی مانند طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش [۷]، سوانگاری مایع با کارایی بالا (HPLC) [۳ و ۸]، الکتروفورز مووین^۲ [۹]، سوانگاری گازی-طیف‌سنجی جرمی (GC-MS)^۳ [۱۰] و روش‌های الکتروشیمیایی استفاده می‌شود [۱۱ و ۱۲]. با این حال، بسیاری از آن‌ها به دلیل پیچیدگی و پرهزمت بودن، مورد استقبال گسترده‌ای قرار نگرفته‌اند. از بین این روش‌ها، طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش بیشترین کاربرد را در اندازه‌گیری نیتريت دارد که لازمه آن، تبدیل نیتريت به یک گونه رنگی است تا در ناحیه مرئی جذب داشته باشد که به‌طور معمول برپایه دی‌آزودارشدن^۴ یک آمین آروماتیک و تشکیل رنگ آزو انجام می‌شود [۱۳ و ۱۴]. در سال‌های اخیر، رنگ‌سنجی مبتنی بر پردازش تصاویر دیجیتال به‌عنوان یک روش تجزیه‌ای ساده، توجه پژوهشگران زیادی را به خود جلب کرده است [۱۵ و ۱۶]. داده‌های تصویر دیجیتالی با دستگاه‌های کم‌هزینه و در دسترس، همانند پویسگر و یا تلفن‌های هوشمند به‌دست می‌آیند. پیشرفت‌های اخیر در فناوری و تولید گسترده تلفن‌های هوشمند مجهز به دوربین‌های با کارایی بالای مبتنی بر حسگرهای CMOS^۵ یا CCD^۶ از یک طرف و توسعه نرم‌افزارهای پردازش رنگ، از طرف دیگر، محبوبیت تلفن‌های هوشمند را در کاربردهای تجزیه‌ای به همراه داشته است [۱۷]. در پردازش تصاویر، فضاهای رنگی متفاوتی می‌تواند به‌کار گرفته شود که پرکاربردترین آن‌ها، فضای رنگی قرمز-سبز-آبی

1. High-performance liquid chromatography 2. Capillary electrophoresis 3. Ultraviolet-visible spectrophotometer 4. diazotization
5. Complementary Metal Oxide Semiconductor 6. Charged Coupled Device 7. Red-Green- Blue 8. Primary 9. Secondary
10. Magnetic solid phase extraction

رنگی متفاوت، مانند RGB، HSV، CMYK، Lab را می‌دهد، انجام شد. پردازش تصاویر برپایه فضای رنگی RGB انجام شد و مقادیر R و G و B تصاویر به دست آمد. با توجه به اینکه چشم انسان رنگ اشیا را مکمل رنگ نوری که جذب می‌کند، مشاهده می‌کند و رنگ آزو به دست آمده از نیتريت که در بررسی حاضر، آبی تیره ($\lambda_{max} = 610 \text{ nm}$) است، مقادیر R برپایه معادله ۱، برای به دست آوردن مول بر لیتر تجزیه‌ای مناسب به کار گرفته شد. در این معادله R_0 و R_s به ترتیب مقادیر رنگ قرمز برای شاهد و نمونه است.

$$I = -\log(R_s/R_0) = \log(R_0/R_s) \quad (1)$$

که در آن، R_0 و R_s به ترتیب مقادیر رنگ قرمز برای شاهد و نمونه است.

تهیه نانوجندسازه مغناطیسی مبتنی بر گرافن ($G-Fe_3O_4$)
 $G-Fe_3O_4$ برپایه روش بیان شده در مرجع [۲۲]، طی دو مرحله تهیه شد و به عنوان یک جاذب موثر به کار گرفته شد. در مرحله نخست، شامل تهیه گرافن اکسید از پودر گرافیت با روش توسعه یافته هامرز بود، ۱۰ گرم پودر گرافیت و ۵ گرم سدیم نیتريت به ظرف آزمایش منتقل و در حمام یخ قرار داده شد. سپس، ۲۳۰ میلی لیتر سولفوریک اسید غلیظ به تدریج افزوده شد. پس از آن، ۳۰ گرم پتاسیم پرمنگنات به تدریج افزوده شد. محلول به دست آمده به مدت یک شب در دمای اتاق ماند. روز بعد، محلول یاد شده در ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر 100°C ریخته شد. سپس، اجازه داده شد تا واکنش پیشرفت کند. گرافن اکسید به دست آمده، پس از چندین بار شستشو با اتانول، ۲۴ ساعت در آن 65°C قرار گرفت تا خشک شود. در مرحله دوم، ۴۰۰ میلی گرم از گرافن اکسید به دست آمده از مرحله پیش، به ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر افزوده شد. سپس، به این محلول تعلیق‌های، ۲٫۷۸ گرم نمک آهن سولفات هفت آبه ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) افزوده شد. محلول ۵ دقیقه در حمام فراصوت قرار گرفت. پس از آن pH مخلوط با آمونیم هیدروکسید

با نرم افزار Color Grab که یک نرم افزار رایگان است، به دست آمد. سپس، مقادیر R در به دست آوردن نشانک تجزیه‌ای مرتبط با غلظت نیتريت به کار گرفته شد.

بخش تجربی

مواد شیمیایی

کلریدریک اسید، آمونیاک و نمک سدیم کلرید از شرکت صنایع شیمیایی دکتر مجلی (ایران) تهیه شد. سدیم هیدروکسید از شرکت شیمی دارویی نوترون (ایران) و اتانول از شرکت صنایع شیمیایی و دارویی هامن طب مرکزی (ایران) و سایر مواد از شرکت مرک خریداری شدند. همه مواد خلوص آزمایشگاهی داشتند.

محلول نیتريت مادر با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر از انحلال نمک مربوط در آب مقطر تهیه شد. محلول‌های ۴-نیتروآنیلین و α -نفتول، هر کدام با غلظت ۰٫۱ مول بر لیتر، از انحلال نمک‌های مربوط در اتانول به دست آمدند. محلول‌های رقیق تر هر یک از معرف‌ها، به صورت روزانه از رقیق سازی محلول‌های مادر مربوط با آب مقطر به دست آمد. محلول‌های سدیم هیدروکسید ۲ مول بر لیتر و کلریدریک اسید ۲ مول بر لیتر برای تنظیم pH محلول از حل شدن مقدار مشخصی از محلول‌های تجاری آن‌ها تهیه شدند.

دستگاه‌ها

برای جلوگیری از مزاحمت نور محیط در طول گرفتن عکس از فاز استخراجی، یک جعبه رنگ‌سنجی از جنس MDF با ابعاد $15 \times 15 \times 10$ سانتی متر ساخته شد. برای تامین روشنایی داخل جعبه، یک ریسه LED نور سفید در داخل آن قرار گرفت. ۲ حفره، یکی در وجه بالایی جعبه برای قراردادن یک لوله (پلاستیکی) گریزانه ۱۵ میلی لیتری با انتهای مخروطی و دیگری، در وجه مقابل انتهای مخروطی لوله گریزانه، برای گرفتن عکس با گوشی هوشمند (SONY, C5303, Xperia SP) تعبیه شد. پردازش رنگ تصاویر با نرم افزار اندرویدی Color Grab (version 3.6.1) (c) 2017 Loomatix Ltd که اجازه دسترسی به فضاهای

دقیقه زمان داده شد تا رنگ آزو جذب جاذب شود. سپس، با یک آهنربای قوی نانوذرات گرافن از فاز مایع جدا و فاز مایع سرریز شد. در مرحله‌ی بعدی، به منظور واژدی آنالیت، جاذب با ۰٫۶ میلی لیتر استون شسته شد. محلول واژدی پس از انتقال به داخل فالکون ۱۰ میلی لیتری با ته مخروطی در داخل جعبه‌ی طراحی شده برای رنگ‌سنجی قرار گرفت تا با گرفتن عکس و پردازش تصاویر، مقدار نیتريت موجود در آن‌ها مشخص شود.

نتیجه‌ها و بحث

برای دستیابی به بهترین شرایط تجربی، اثر عامل‌های متفاوت بر مراحل واکنش تولید رنگ آزو و استخراج آن بررسی شد. لازم به یادآوری است که در همه مراحل بهینه‌سازی، غلظت نیتريت در محلول آبی، ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر بوده است.

بهینه‌سازی عامل‌های موثر بر واکنش‌های مربوط به تبدیل نیتريت به رنگ آزو

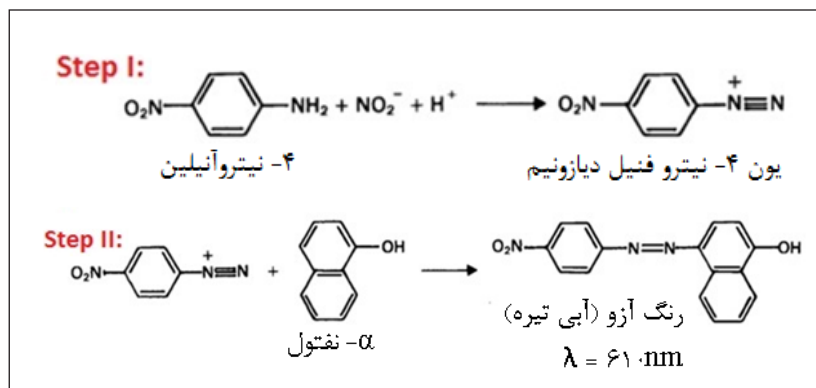
بهینه‌سازی نوع اسید و غلظت آن

با توجه به اینکه برای انجام واکنش دی‌آزودارشدن و تشکیل یون دیازونیم باید محیط اسیدی باشد، تاثیر انواع اسیدها (کلریدریک، اسید و سولفوریک اسید و استیک اسید) در پیشرفت واکنش، بررسی شد. نتایج نشان دادند که هنگام استفاده از کلریدریک اسید بیشترین نشانک به دست می‌آید. با انتخاب کلریدریک اسید

۲۵٪ در ۱۱ تنظیم شد. ماده آبی به دست آمده به مدت ۶ ساعت در یک حمام روغن با دمای 90°C و بدون هم‌زدن، گرمادهی و سپس، نانوجندسازه مغناطیسی سنتز شده با آهنربای قوی از محلول جدا و با آب مقطر شسته شد. در نهایت، نانوجندسازه مغناطیسی به دست آمده، در دمای 60°C در آون خشک شد تا آب‌های موجود در آن حذف شوند.

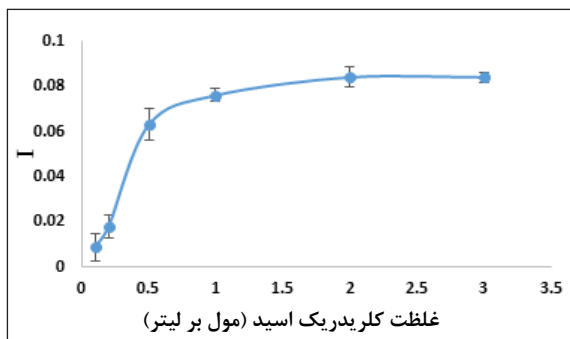
روش تبدیل نیتريت به رنگ آزو و استخراج آن

۲۵ میلی لیتر محلول استاندارد یا نمونه حاوی یون نیتريت در گستره ۱۰ تا ۳۰۰ میکروگرم بر لیتر به داخل فالکون ۵۰ میلی لیتری انتقال داده شد. سپس، ۱ میلی لیتر محلول ۴-نیتروآنیلین با غلظت ۳-۱۰ مول در لیتر و ۱ میلی لیتر کلریدریک اسید ۲ مول در لیتر به محلول اولیه برای تشکیل یون دیازونیم افزوده شد. برای کامل شدن واکنش، محتویات فالکون به مدت ۳ دقیقه به صورت دستی هم‌زده شد. در مرحله بعدی، به این محلول، ۱ میلی لیتر از α -نفتول با غلظت 10^{-3} مول در لیتر و ۱٫۵ میلی لیتر سدیم هیدروکسید ۲ مول در لیتر برای تشکیل رنگ آزو افزوده و سپس، محتویات فالکون به مدت ۳ دقیقه هم‌زده شد. مراحل تولید رنگ در شکل ۱ نشان داده شده است. برای استخراج رنگ آزو به دست آمده که غلظت آن متناسب با غلظت نیتريت موجود در نمونه اولیه است، از نانوذرات گرافن مغناطیسی استفاده شد. بدین منظور، در این مرحله، ۱۰۰ میلی گرم از نانوذرات به داخل فالکون افزوده و ۳



شکل ۱ مراحل واکنش تبدیل نیتريت به رنگ آزو

مول در لیتر به عنوان غلظت بهینه سود انتخاب شد.



شکل ۲ اثر غلظت کلریدریک اسید بر پیشرفت واکنش دی‌آزودارشدن

بهینه‌سازی مدت واکنش دی‌آزودارشدن

انجام کامل واکنش و ایجاد یون دیازونیم نیازمند زمان است. اگر زمان کافی برای انجام واکنش در نظر گرفته نشود، همه یون‌های نیتريت وارد واکنش نشده، در نتیجه واکنش به‌طور کامل انجام نمی‌شود. بنابراین، ایجاد زمان کافی برای پیشرفت و کامل شدن واکنش لازم است. بر این پایه، پیشرفت واکنش دی‌آزودارشدن در گستره زمانی صفر تا ۴۰ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده نشان دادند که واکنش دی‌آزودارشدن یک واکنش سریع است و در مدت کمتر از ۳ دقیقه کامل می‌شود. بنابراین، برای اطمینان از انجام کامل واکنش دی‌آزودارشدن و جلوگیری از اتلاف وقت، مدت ۳ دقیقه به‌عنوان مدت بهینه انتخاب شد.

بررسی مدت لازم برای کامل شدن واکنش α -نفتول با دیازونیم

همان‌طور که در بخش پیش نیز اشاره شد، برای رسیدن به بالاترین حساسیت و پایین‌ترین حد تشخیص در اندازه‌گیری نیتريت، ایجاد زمان کافی برای پیشرفت و کامل شدن واکنش تشکیل رنگ آزو لازم است. به همین دلیل پیشرفت واکنش α -نفتول با یون دیازونیم در گستره زمانی صفر تا ۲۰ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. بر پایه نتایج به‌دست آمده، زمان ۳ دقیقه به‌عنوان مدت زمان بهینه برای این مرحله انتخاب شد.

به‌عنوان اسید بهینه، غلظت آن در گستره ۰٫۱ تا ۳ مول بر لیتر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ابتدا با افزایش غلظت اسید، مقدار نشانک افزایش یافت و پس از غلظت ۲ مول بر لیتر ثابت ماند (شکل ۲). بنابراین، غلظت ۲ مول بر لیتر به‌عنوان غلظت بهینه انتخاب شد.

بهینه‌سازی غلظت ۴-نیتروآنیلین

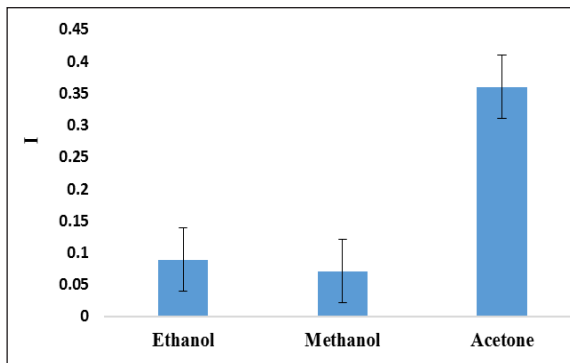
یون دیازونیم در حضور ۴-نیتروآنیلین تشکیل می‌شود. بنابراین، بهینه‌سازی غلظت آن برای تشکیل یون دیازونیم لازم است. برای اطمینان از شرکت همه یون‌های نیتريت در تشکیل این یون و همچنین، برای جلوگیری از مصرف غیرضروری ۴-نیتروآنیلین، غلظت آن در گستره ۵-۱۰ تا ۲-۱۰ مول در لیتر بررسی شد. بر پایه نتایج به‌دست آمده، مقدار نشانک تا ۳-۱۰ مول در لیتر افزایش یافته و پس از آن ثابت است. بنابراین، این غلظت به‌عنوان غلظت بهینه ۴-نیتروآنیلین انتخاب شد.

بهینه‌سازی غلظت α -نفتول

برای تشکیل کمپلکس رنگی نیتريت یون دیازونیم، α -نفتول به‌کارگرفته شد. بنابراین، بهینه‌سازی غلظت α -نفتول نیز همانند ۴-نیتروآنیلین برای اطمینان از انجام کامل واکنش تشکیل رنگ آزو در گستره 10^{-4} تا 5×10^{-3} مول در لیتر انجام شد. نتایج نشان دادند که مقدار نشانک تا غلظت ۳-۱۰ مول در لیتر افزایش یافته و پس از آن ثابت است. بنابراین، غلظت 10^{-3} مول در لیتر به‌عنوان غلظت بهینه α -نفتول انتخاب شد.

بهینه‌سازی غلظت سود

با توجه به این که واکنش بین یون دیازونیم و α -نفتول در شرایط بازی انجام می‌شود. بنابراین، در این مرحله، غلظت سدیم هیدروکسید در گستره ۱٫۵ تا ۳٫۵ مول در لیتر مورد بررسی قرار گرفت تا غلظت بهینه آن به‌دست آید. نتایج نشان دادند که مقدار نشانک با افزایش غلظت سدیم هیدروکسید تا ۲ مول در لیتر افزایش یافته و سپس، به مقدار ثابتی می‌رسد. بنابراین، غلظت ۲



شکل ۴ اثر نوع حلال شوینده بر مقدار استخراج

بهینه‌سازی حجم حلال شوینده

در استخراج با فاز جامد با افزایش حجم حلال شوینده، از یک سو واجذب آنالیت‌ها از جاذب افزایش می‌یابد و از سوی دیگر، می‌تواند منجر به رقیق‌سازی و کاهش فاکتور تغلیظ شود. برای دستیابی به مناسب‌ترین حجم حلال شوینده، حجم‌های متفاوتی (۰٫۳ تا ۲ میلی‌لیتر) از استون بررسی شد. برپایه نتایج به‌دست آمده بیشترین مقدار نشانک در گستره ۰٫۵ میلی‌لیتر از استون به‌دست آمد.

اثر مدت استخراج

مدت تماس محلول با جاذب از مشخصه‌های تاثیرگذار بر فرایند استخراج است. مدت تماس کمتر منجر به عدم جذب موثر و کامل آنالیت بر جاذب می‌شود و مدت تماس بیشتر از حد لازم منجر به افزایش مدت آزمون و وقت‌گیر بودن فرایند می‌شود. بنابراین، زمان استخراج در گستره ۱ تا ۱۰ دقیقه بررسی شد. نتایج نشان دادند که مدت ۳ دقیقه برای تکمیل فرایند جذب و دستیابی به بیشترین مقدار استخراج کافی است.

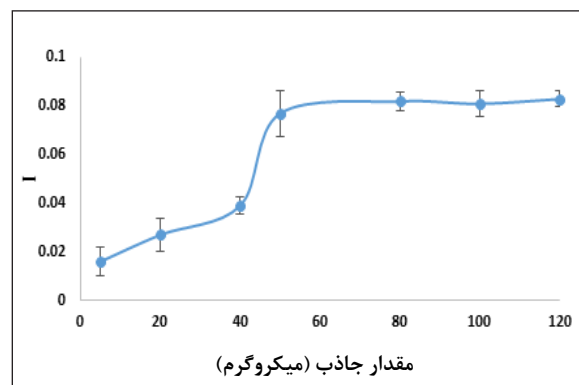
بهینه‌سازی حجم نمونه

با ثابت نگاه‌داشتن مقدار آنالیت مورد مطالعه در حجم‌های متفاوت، مناسب‌ترین حجم قابل کاربرد به‌دست می‌آید. بنابراین، برای بررسی این عامل، حجم‌های متفاوتی (۱۵، ۲۵ و ۳۵

بهینه‌سازی شرایط استخراج

بررسی مقدار جاذب

مقدار جاذب یکی از مهمترین عامل‌ها در بازده استخراج فاز جامد مغناطیسی است. بنابراین، اثر مقدار جاذب بر مقدار استخراج یون نیتريت در گستره ۵ تا ۱۲۰ میلی‌گرم بررسی شد. شکل ۳، نشان می‌دهد که با افزایش مقدار جاذب تا ۷۰ میلی‌گرم، نشانک افزایش می‌یابد و پس از آن ثابت می‌ماند. بنابراین، مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از جاذب برای مقابله با سایر گونه‌های استخراج‌شونده احتمالی به‌عنوان مقدار بهینه انتخاب شد.

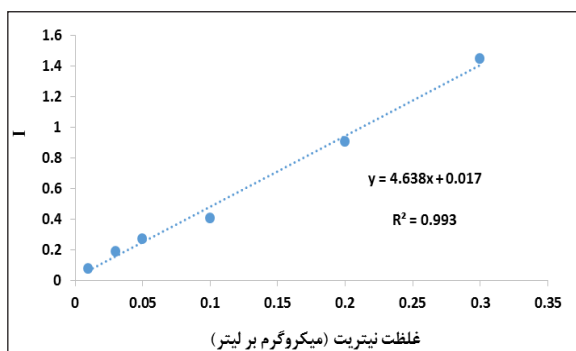


شکل ۳ اثر مقدار جاذب بر مقدار استخراج

انتخاب نوع حلال شوینده

به‌کارگیری حلال مناسب برای شستشو و واجذبی کامل آنالیت از جاذب برای دستیابی به بالاترین بازده استخراج لازم است. حلال شوینده باید به‌گونه‌ای انتخاب شود که موجب تخریب ساختار جاذب نشود و آنالیت را به‌طور کامل از سطح جاذب جدا کند. بدین منظور، حلال‌های اتانول، متانول و استون به‌عنوان حلال شوینده بررسی شدند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که استون بیشترین توانایی را در شستشو و واجذبی آنالیت از جاذب دارد (شکل ۴). قدرت شستشو بالای استون به احتمال از نزدیک بودن قطبیت آن به قطبیت رنگ آزو به‌دست می‌آید. بنابراین، حلال استون به‌عنوان بهترین حلال شوینده انتخاب شد.

۳۰۰ میکروگرم بر لیتر با ضریب همبستگی ۰٫۹۹۳ خطی است (شکل ۵). تکرارپذیری روش بر محلول حاوی غلظت‌های متفاوت نیتريت (۱۰۰ و ۳۰ میکروگرم بر لیتر) بررسی و برپایه نتایج به‌دست آمده، انحراف استاندارد نسبی (%RSD) به ترتیب ۲٫۲٪ و ۳٫۹٪ به‌دست آمد. برای محاسبه حد تشخیص روش، ۸ محلول شاهد تهیه و با روش پیشنهادی بررسی شدند. سپس، از معادله‌های $LOD=3S_p/m$ و $LOQ=10S_p/m$ ، که در آن Sb انحراف استاندارد محلول‌های شاهد و m شیب نمودار معیارگیری است، حد تشخیص و حد کمی روش به‌ترتیب ۱٫۲ و ۴ میکروگرم بر لیتر به‌دست آمد.



شکل ۵ نمودار معیارگیری

اثر یون‌های مزاحم

برای بررسی مزاحمت یون‌های متفاوت در اندازه‌گیری نیتريت با روش پیشنهادی، نسبت‌های متفاوتی از آن‌ها به محلول آزمایشی حاوی ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر نیتريت افزوده و تحت شرایط بهینه اثر آن‌ها بررسی شد. نتایج در جدول ۲ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، تنها مزاحمت‌های جدی مربوط به کاتیون‌های Mg^{2+} ، Ca^{2+} و Fe^{3+} است که این مزاحمت‌ها نیز با به‌کارگیری ۰٫۵ میلی‌لیتر محلول اتیلن‌دی‌آمین‌تترااستیک اسید (۰٫۱ مول در لیتر برای یون‌های Mg^{2+} و Ca^{2+} و ۰٫۵ میلی‌لیتر محلول سدیم تارتارات ۰٫۱ مول در لیتر برای یون Fe^{3+}) حذف شدند.

میلی‌لیتر) از محلول آبی حاوی ۲٫۵ میکروگرم نیتريت برپایه شرایط بهینه بررسی شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده، حجم ۲۵ میلی‌لیتر به‌عنوان حجم بهینه انتخاب شد. مقادیر بهینه به‌دست آمده برای هر یک از عوامل موثر بر واکنش‌های تبدیل یون‌های نیتريت به رنگ آزو و شرایط استخراج در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱ عوامل موثر بر واکنش‌های تبدیل نیتريت به رنگ آزو و شرایط MSPE و مقادیر بهینه آن‌ها

مقدار بهینه	عامل موثر	
	بر شرایط استخراج	بر واکنش‌های تبدیل نیتريت به رنگ آزو
۱ میلی‌لیتر (با غلظت ۲ مول در لیتر)	کلریدریک اسید	-
۱ میلی‌لیتر (با غلظت 10^{-3} مول در لیتر)	۴-نیتروآنیلین	-
۱ میلی‌لیتر (با غلظت 10^{-3} مول در لیتر)	α -نفتول	-
۱/۵ میلی‌لیتر (با غلظت ۲ مول در لیتر)	سدیم هیدروکسید	-
۳ دقیقه	مدت واکنش دی‌آزودارشدن	-
۳ دقیقه	مدت کامل شدن واکنش α -نفتول با دیازونیم	-
۱۰۰ میلی‌گرم	-	مقدار جاذب
استون، ۰٫۵ میلی‌لیتر	-	نوع حلال شوینده و حجم آن
۳ دقیقه	-	مدت استخراج
۲۵ میلی‌لیتر	-	حجم نمونه

بررسی ویژگی‌های تجزیه‌ای روش

پس از بهینه‌سازی تمام عامل‌های موثر، ویژگی‌های تجزیه‌ای روش بررسی شد. نمودار معیارگیری نیتريت در گستره ۱۰ تا

جدول ۲ حد مزاحمت گونه‌های متفاوت در اندازه‌گیری ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر نیتريت

حد مزاحمت (غلظت آنالیت/غلظت مزاحم)	یون‌های مزاحم
۱۰۰۰	CO_3^{2-} , HPO_4^{2-} , HCO_3^- , NO_3^- , F^- , Cu^{2+} و Ni^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Na^+ (Mg^{2+} و Ca^{2+} , Fe^{3+}) پس از حذف مزاحمت)
۵۰۰	Br^- و I^-
۵۰	Ca^{2+} و Mg^{2+}
۵	Fe^{3+}

اندازه‌گیری نیتريت در نمونه‌های حقیقی

با توجه به اهمیت اندازه‌گیری نیتريت در نمونه‌های آبی متفاوت، توانایی روش پیشنهادی برای جداسازی، پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری نیتريت در نمونه‌های آب باران، برف و آب شهری بررسی شد. هنگام بررسی آب شهری، ۲۵ میلی‌لیتر از آب شیر آزمایشگاه پس از ۵ دقیقه از بازکردن آن، جمع‌آوری شد. سپس، با روش پیشنهادی مورد تجزیه قرار گرفت. هنگام تجزیه آب باران به دلیل غلظت بالای نیتريت موجود در آن، ابتدا با نسبت ۱ به ۴ با آب مقطر رقیق‌سازی شد و سپس با روش پیشنهادی مورد تجزیه قرار گرفت. نمونه برف نیز هنگام بارش برف در ظرف تمیزی جمع‌آوری شد و پس از آب‌شدن آن، با روش پیشنهادی مورد بررسی قرار گرفت. لازم به یادآوری است که برای همه نمونه‌های یادشده، ۰/۵ میلی‌لیتر محلول اتیلن‌دی‌آمین تتراستیک-اسید ۰/۱ مول در لیتر برای حذف مزاحمت‌های احتمالی Mg^{2+} و Ca^{2+} و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول سدیم تارتارات ۰/۱ مول در لیتر برای حذف مزاحمت‌های احتمالی Fe^{3+} ، به کار برده شد. به منظور بررسی درستی روش، به هر یک از این نمونه‌ها مقادیر مشخصی نیتريت افزوده و عمل استخراج و بازیابی نیتريت از این محلول‌ها انجام شد. نتایج این آزمایش‌ها در جدول ۳ آورده شده است. بازیابی‌های مناسب به‌دست آمده حاکی از آن است که روش پیشنهادی می‌تواند با درستی بالا برای اندازه‌گیری نیتريت در

نمونه‌های حقیقی به کار گرفته شود.

جدول ۳ اندازه‌گیری نیتريت در نمونه‌های آبی متفاوت با روش پیشنهادی

نمونه	نیتريت افزوده شده (میکروگرم بر لیتر)	نیتريت اندازه‌گیری شده (میکروگرم بر لیتر)	بازیابی (%)
آب شهری	۰	۶۵ ± ۳	-
	۵۰	۱۱۱ ± ۲	۹۷ ± ۲
	۱۰۰	۱۵۸ ± ۳	۹۶ ± ۲
آب باران	۰	۱۷۳۰ ± ۳۵	-
	۵۰	۱۹۰۵ ± ۵۲	۹۶ ± ۳
	۱۰۰	۲۱۸۷ ± ۴۳	۹۸ ± ۲
برف	۰	۵۱ ± ۲	-
	۵۰	۱۰۷ ± ۳	۱۰۶ ± ۳
	۱۰۰	۱۵۶ ± ۲	۱۰۳ ± ۱

نتیجه‌گیری

در بررسی حاضر، یک روش جدید، ساده و ارزان قیمت برای اندازه‌گیری مقادیر کم نیتريت در نمونه‌های آبی متفاوت پیشنهاد شده است. روش پیشنهادی برپایه استخراج فاز جامد مغناطیسی، گرفتن عکس از فاز استخراجی با یک گوشی هوشمند و پردازش تصاویر به مقادیر R، G و B قرار دارد. در روش پیشنهادی، یک جعبه‌ی رنگ‌سنجی برای گرفتن عکس از فاز استخراجی طراحی و ساخته شد. گستره خطی خوب (۱۰ تا ۳۰۰ میکروگرم بر لیتر)، حدتشخیص پایین (۱/۲ میکروگرم بر لیتر) و تکرارپذیری‌های بالای (۲/۲ تا ۳/۹٪) به‌دست آمده، بیانگر توانایی بالای روش پیشنهادی در اندازه‌گیری مقادیر اندک نیتريت است. همچنین، روش پیشنهادی قابلیت اجرا برای اندازه‌گیری‌های در محل را دارد. انتظار می‌رود که در آینده، این روش در اندازه‌گیری انواع ترکیب‌ها به کار گرفته شود.

- [1] Alloway, B.J.; Heavy Metals in Soils. Blackie and Son Ltd., Glasgow and London, and John Wiley and Sons. Inc., New York, 1990.
- [2] Baveja, A.K.; Nair, J.; Gupta, V.K; Analyst 106(1266), 955-959, 1981.
- [3] Zuo, Y.; Wang, C.; Van, T.; Talanta 70(2), 281-285, 2006.
- [4] Mehmeti, E.; Stanković, D.M.; Hajrizi, A.; Kalcher, K.; Talanta 159, 34-39, 2016.
- [5] Singh, P.; Beg, Y. R.; Nishad, G.R.; Talanta, DOI: 10.1016/j.talanta.2018.08.028, 2018.
- [6] Sadeghi, E.; Sharafi, K.; Almasi, A.; Dayhim, M.; Azizi, E.; Ghayebzadeh, M.; Iran. J. Health & Environ. 7(4), 491-498, 2015.
- [7] Narayana, B.; Sunil, K.; Eurasian J. Anal. Chem. 4(2), 204-214, 2009.
- [8] Kodamatani, H.; Yamazaki, S.; Saito, K.; Tomiyasu, T.; Komatsu, Y.; J. Chromatogr. A 1216(15), 3163-3167, 2009.
- [9] Kubáň, P.; Nguyen, H.T.A.; Macka, M.; Hadad, P.R.; Hauser, P.C.; Electroanalysis 19, 2059-2065, 2007.
- [10] Akyüz, M.; Ata, Ş.; Talanta 79(3), 900-904, 2009.
- [11] Liu, Y.; Gu, H.Y.; Microchim. Acta 162(1-2), 101-106, 2008.
- [12] Kozub, B.R.; Rees, N.V.; Compton, R.G.; Sensor. Actuat. B-Chem. 143(2), 539-546, 2010.
- [13] Ozmen, H.; Polat, F.; Cukurovali, A.; Anal. Let. 39, 823-833, 2006.
- [14] Tarigh, G.D.; Shemirani, F.; Talanta 128, 354-359, 2014.
- [15] Kompany-Zareh, M.; Mansourian, M.; Ravvae, F.; Anal. Chim. Acta 471(1), 97-104, 2002.
- [16] Oliveira, L.F.; Canevari, N.T.; Guerra M.B.B., Pereira F.M.V.; Schaefer, C.E.G.R.; Pereira-Filho, E.R.; Microchem. J. 109, 165-169, 2013.
- [17] Lima, M.J.; Nascimento, C.F.; Rocha, F.R.; Anal. Methods 9(14), 2220-2225, 2017.
- [18] Firdaus, M.L.; Alwi, W.; Trinoveldi, F.; Rahayu, I.; Rahmidar, L.; Warsito, K.; Procedia Environ. Sci. 20, 298-304, 2014.
- [19] Hemmati, M.; Rajabi, M.; Asghari, A.; Microchim. Acta 185(3), 160, 2018.
- [20] Herrero-Latorre, C.; Barciela-García, J.; García-Martín, S.; Peña-Creciente, R.M.; Otárola-Jiménez, J.; Anal. Chim. Acta 892, 10-26, 2015.
- [21] Wierucka, M.; Biziuk, M.; TrAC Trends in Anal. Chem. 59, 50-58, 2014.
- [22] Hao, L.; Wang, C.; Ma, X.; Wu, Q.; Wang, C.; Wang, Z.; Anal. Methods 6, 5659-5665, 2014.

Determination of nitrite in various aqueous samples using magnetic solid phase extraction and image analysis via a mobile phone

Leila Khoshmaram^{1,*}, Ali Karimi², Fatemeh Sadeghi³

1. Assistant Prof. in Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran
2. B.Sc. student in Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran
3. M.Sc. student in Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

Received: September 2017, Revised: March 2017, Accepted: April 2016

Abstract: In this study, an image analysis method using a homemade colorimeter for determination of trace amount of nitrite in various water samples is provided. The proposed method is based on using a smartphone to obtain RGB values of digital images. 4-nitroaniline and α -naphthol were used to convert nitrite to a colored product. Magnetic solid phase extraction was then used to extract azo dye. In magnetic solid phase extraction, magnetic graphene was used as adsorbent and acetone as a desorption solvent. After taking the extraction phase digital images using a cell phone and their analyzing using Color Grab software, R values were used to obtain analysis signal related to nitrite concentration. The experimental parameters affecting the reaction and extraction efficiency were investigated. Under optimum conditions, the detection limit and the quantitative limit of the method were obtained 1.2 and 4 $\mu\text{g l}^{-1}$, respectively. The calibration graph was linear in the range of 10-300 $\mu\text{g l}^{-1}$ with a correlation coefficient of 0.993. The relative standard deviations for 100 and 30 $\mu\text{g l}^{-1}$ were 2.2 and 3.9, respectively. The proposed method was successfully applied for the determination of nitrite in various water samples.

Keywords: Image analysis; Mobile phone; Magnetic solid phase extraction; Nitrite; Water samples