

اندازه‌گیری آفت‌کش دیازینون با حسگر الکتروشیمیایی مبتنی بر نانوذرات بسپار قالب مولکولی

علی مطهریان^۱، کبری ناصری^{۲*} و امید مهرپور^{۳*}

- ۱- دکترای شیمی تجزیه مرکز تحقیقات سوء مصرف مواد و مسمومیت‌ها، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران
- ۲- استادیار مرکز تحقیقات سوء مصرف مواد و مسمومیت‌ها، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران
- ۳- دانشیار مرکز تحقیقات سوء مصرف مواد و مسمومیت‌ها، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

دریافت: آذر ۱۳۹۷، بازنگری: اردیبهشت ۱۳۹۸، پذیرش: خرداد ۱۳۹۸

چکیده: در این پژوهش، یک حسگر الکتروشیمیایی مبتنی بر الکتروود خمیر کربن (CP) اصلاح‌شده با نانوذرات بسپار قالب مولکولی (MIP)، برای اندازه‌گیری آفت‌کش دیازینون (DZN) با روش ولتامتری موج مربعی (SWV) توسعه‌یافته است. ذرات بسپار قالب‌گیری شده و همچنین، بسپارهای قالب‌گیری نشده (NIP) با روش بسپارش رسوبی با نسبت مولی ۳۰:۱۶ (پیونددهنده عرضی: تکپار: مولکول هدف) سنتز شده و سپس، برای اصلاح الکتروود خمیر کربن مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج به‌دست آمده نشان دادند که الکتروود اصلاح‌شده با MIP (MIP-CP) نسبت به حسگر مبتنی بر NIP (NIP-CP) توانایی بسیار بیشتری را برای جذب DZN، از محلول نمونه دارد. پس از بهینه‌سازی عوامل مؤثر بر پاسخ حسگر، منحنی واسنجی تحت شرایط بهینه رسم شد. منحنی به‌دست آمده در گستره 1.5×10^{-8} تا 1.25×10^{-6} مولار با غلظت دیازینون رابطه خطی ($R^2 = 0.9905$) نشان داد. همچنین، حد تشخیص (LOD) حسگر برابر با 5.43×10^{-9} مولار به‌دست آمد. مقدار انحراف استاندارد نسبی برای پنج بار اندازه‌گیری محلول 1.25×10^{-7} مولار دیازینون برابر با ۳/۷۹٪ بود. حسگر تهیه‌شده به‌طور موفقیت‌آمیزی برای تعیین DZN در نمونه‌ی آب چاه با درصد بازیابی در گستره ۹۸.۶۰ تا ۹۹.۱۶٪ مورد استفاده قرار گرفت.

واژه‌های کلیدی: بسپار قالب مولکولی، نانوذرات، حسگر الکتروشیمیایی، الکتروود خمیر کربن، دیازینون و آفت‌کش

مقدمه

آن‌ها در محیط‌زیست نگرانی جدی وجود دارد [۱]. بقایای آفت‌کش‌ها به‌طور گسترده‌ای در محیط‌زیست از جمله آب، خاک، هوا، فراورده‌های کشاورزی و مواد غذایی توزیع شده است. از نقطه‌نظر حفاظت محیط‌زیست، به‌طور معمول سموم ارگانوفسفره^۱ (OPPs) به دلیل زیست‌تخریب‌پذیری و مدت کم ماندگاری،

آفت‌کش‌ها به‌طور گسترده‌ای در فعالیت‌های کشاورزی برای حذف آفات و در نتیجه کاهش خسارت به فراورده‌های کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرند. گرچه آفت‌کش‌ها در افزایش بهره‌وری فراورده‌های کشاورزی بسیار مفیدند اما در مورد سرنوشت نهایی

1. Organophosphorus pesticides

حسگرهای الکتروشیمیایی به‌کاررفته‌اند که این به دلیل مزایای ذاتی آن‌ها، مانند آسانی آماده‌سازی و قابلیت تجدید سطح الکتروود، ثبات، رسانایی الکتریکی خوب، پنجره پتانسیل گسترده، هزینه کم و پایداری شیمیایی است [۲۹].

در سال‌های اخیر، بسپارهای قالب‌گیری شده مولکولی^۷ (MIPs) به دلیل ویژگی‌هایی از قبیل: آسانی آماده‌سازی، پایداری فیزیکی و شیمیایی زیاد، یکپارچه‌سازی آسان در میدل‌ها، هزینه کم، قابلیت استفاده دوباره، مقاومت در برابر آسیب‌های میکروبی، و درنهایت، گزینش‌پذیری بالا، به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان عناصر تشخیص و یا اصلاح‌کننده در ساخت الکتروودهای خمیر کربن اصلاح‌شده برای اندازه‌گیری گونه‌های متفاوت به‌کار گرفته شده‌اند [۳۰]. بسپارهای قالب مولکولی از طریق بسپارش مخلوطی از تک‌پارهای عاملی و مقدار اضافی از یک پیونددهنده عرضی در حضور مولکول‌های هدف به‌عنوان قالب، تشکیل می‌شوند. پس از مرحله بسپارش و سپس، خروج مولکول‌های هدف از شبکه بسپار، مکان‌های شناسایی در MIP بر جای می‌مانند که از نظر شکل و اندازه، مکمل مولکول‌های هدف هستند [۳۰ و ۳۱].

با توجه به ضرورت‌های ذکر شده برای اندازه‌گیری سم دیازینون، در این پژوهش، یک حسگر الکتروشیمیایی مبتنی بر نانوذرات MIP، برای سنجش مقدار DZN توسعه یافته است.

بخش تجربی

دستگاه‌ها

دستگاه پتانسیواستات-گالوانواستات اتولب مدل PGSTAT20 برای اندازه‌گیری‌های الکتروشیمیایی مورد استفاده قرار گرفت. الکترودهای Ag/AgCl، میله پلاتین و خمیر کربن (با قطر داخلی ۲/۵ میلی‌متر) به ترتیب به‌عنوان الکتروود مرجع، کمکی و کار استفاده شدند. دستگاه pH متر CORNING 140 برای تنظیم pH محلول‌ها به‌کار گرفته شد. ریخت‌شناسی نانوذرات MIP با میکروسکوپ الکترونی روبشی TESCAN، مدل VEGA 2S-4160 مورد بررسی قرار گرفت.

بیش از دیگر آفت‌کش‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. با این حال این ترکیبات و بقایای آن‌ها می‌توانند اثراتی منفی بر محیط‌زیست طبیعی، تنوع زیستی و کل بومسازگان^۱ داشته باشند. بنابراین، نظارت بر آفت‌کش‌ها در محیط‌زیست، از طریق تجزیه نمونه‌های محیطی، به‌ویژه آب، حائز اهمیت است [۲].

در طول دو دهه‌ی گذشته، اثرات جهش‌زایی، سرطان‌زایی، سمیت سلولی و همچنین اثرات ناهنجاری‌زایی^۲ ناشی از سموم ارگانوفسفره ثابت شده است. این سموم از طریق چرخه آب و زنجیره مواد غذایی وارد بدن انسان می‌شوند. دیازینون (DZN)^۳ یکی از حشره‌کش‌های ارگانوفسفره مهم به حساب می‌آید. که بیشتر برای کنترل حشرات در کشاورزی استفاده می‌شود. هنگامی که دیازینون با اندامگان^۴ های انسان جذب می‌شود، به‌عنوان مهارکننده آنزیم استیل‌کولین‌استراز عمل می‌کند. قرار گرفتن در معرض سطوح بالایی از این ترکیب منجر به کاهش فعالیت انتقال دهنده‌های عصبی و عوارض غیرقابل تغییر بر سامانه عصبی می‌شود [۳]. بنابراین، نظارت پیوسته و تعیین دیازینون در مواد غذایی، محیط‌زیست، و نمونه‌های زیستی با یک روش تجزیه‌ای حساس، سریع و انتخابی بسیار مورد توجه است.

روش‌های تجزیه‌ای گوناگونی برای تعیین DZN در نمونه‌های حقیقی متفاوت مورد بررسی قرار گرفته‌اند. که از آن میان می‌توان به سوانگاری^۵ مایع [۴ تا ۶]، سوانگاری مایع با عملکرد بالا [۳ و ۸]، سوانگاری گازی [۹ تا ۱۲]، طیف‌سنجی [۱۳ تا ۱۵]، ایمنی‌سنجی [۱۶ تا ۱۸] و روش‌های الکتروشیمیایی [۱۹ تا ۲۶] اشاره کرد. مشکلی که در بیشتر روش‌های یاد شده با آن مواجه می‌شویم، نیاز آن‌ها به تجهیزات گران‌قیمت، پرسنل آموزش دیده، زمان‌بر بودن و مراحل پیچیده‌ی آماده‌سازی نمونه است. بنابراین، نیاز به یک روش سریع، ساده، ارزان و در عین حال حساس است. روش‌های متفاوت الکتروشیمیایی با الکترودهای مناسب پیشنهاد خوبی برای این منظور است [۲۷ و ۲۸].

در میان انواع الکترودهای کار در الکتروشیمی، الکترودهای خمیر کربن^۶ (CP) به‌طور گسترده‌ای، به‌ویژه برای تهیه

1. Ecosystem 2. Teratogenic 3. Diazinon 4. Organism 5. Chromatography 6. Carbon paste electrodes 7. Molecularly imprinted polymers

معرف‌ها و مواد

ذرات بسیار تشکیل شده و همچنین، شستشوی تکپارها و پیوند دهنده‌های عرضی واکنش نکرده، بسیار تهیه شده با متانول و با روش سوکسله شسته شد. خروج مولکول هدف از شبکه بسیار با گرفتن طیف UV-Vis محلول‌های شستشو بررسی و عمل شستشوی بسیار، تا حذف کامل پیک مربوط به دیازینون (در ۲۸۰ نانومتر) [۳۲ و ۳۳] موجود در محلول‌های شستشو ادامه یافت. در نهایت، نانوذرات MIP، در آن خلأ و در دمای 60°C خشک شدند. قابل ذکر است که به منظور مقایسه، بسیار قالب‌گیری نشده (NIP)^۵ نیز با روش مشابه، ولی در غیاب مولکول هدف (DZN)، تهیه شد.

ساخت الکتروکود خمیر کربن اصلاح‌نشده (CP)

برای تهیه الکتروکود خمیر کربن، 0.025 گرم روغن پارافین را در یک شیشه ساعت قرارداداده و 0.075 گرم پودر گرافیت به آن افزوده شد. این مخلوط به خوبی هم‌زده شد تا خمیر یکنواختی تشکیل شود. در ادامه، خمیر تهیه شده در یک سرنگ انسولین متراکم و هم‌زمان با متراکم شدن خمیر، یک سیم مسی (برای پیوند الکتریکی) وارد آن شد. در پایان، انتهای الکتروکود بر یک سطح صاف صیقل داده شد.

ساخت الکتروکود خمیر کربن اصلاح‌شده

به منظور ساخت الکتروکود خمیر کربن اصلاح‌شده با نانوذرات MIP (MIP-CP)، در یک هاون شیشه‌ای 0.015 گرم پودر MIP و 0.060 گرم پودر گرافیت ریخته و با یکدیگر مخلوط شدند. این مخلوط، به 0.025 گرم روغن پارافین افزوده شد. سپس، خمیر تهیه شده به الکتروکود منتقل و متراکم شد. پس از تهیه الکتروکود، سطح آن را بر یک بستر مناسب صیقل داده تا سطحی صاف و تکرارپذیر ایجاد شود. به منظور اطمینان از تشکیل قالب‌های مولکولی در ساختار MIP و بررسی حساسیت حسگر نسبت به مولکول‌های دیازینون، حسگر دیگری نیز به روش مشابه و با بسیار قالب‌گیری نشده (NIP-CP) ساخته شد.

متاکریلیک اسید^۱ (MAA) و اتیلن گلیکول دی‌متاکریلات^۲ (EGDMA) از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. مایع پارافین با گراندروی بالا (با چگالی 0.88 gcm^{-3}) خریداری شده از شرکت مرک آلمان به‌عنوان چسباننده در ساخت الکتروکود خمیر کربن استفاده شد. پودر گرافیت برای تهیه الکتروکودها (با ضخامت صفحات زیر 50 میکرومتر) نیز با گرید طیف‌سنجی بود و از شرکت مرک تهیه شد. ترکیب ۲-۲-آزوبیس‌ایزوبوتیرونیتریل^۳ (AIBN) از شرکت سیگما-آلد ریچ و دیگر حلال‌ها، نمک‌ها و ترکیبات از شرکت مرک خریداری شدند که همه خلوص تجزیه‌ای داشتند. محلول استوک DZN با غلظت 2.5×10^{-2} مولار با انحلال مقدار مناسب دیازینون در آب یون‌زدوده، تهیه شد. برای تهیه بافر بریتون-رابینسون^۴ (BR)، محلولی شامل فسفریک اسید، استیک اسید و بوریک اسید که نسبت به هریک از آن‌ها 0.04 مولار بود، تهیه و پیش از به حجم رساندن، pH آن با محلول NaOH تنظیم شد. گستره pH از ۲ تا ۱۲ را می‌توان با این بافر تهیه کرد.

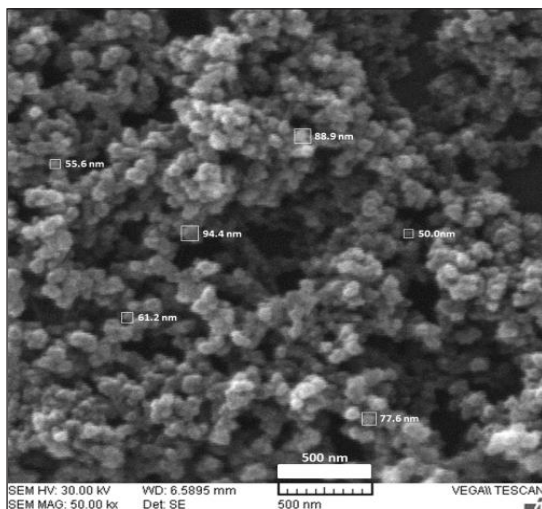
روش‌ها

تهیه بسیار قالب مولکولی

نانوذرات MIP در حضور DZN، به‌عنوان مولکول هدف با روش بسیارش رسوبی تهیه شد. برای این منظور، در یک ظرف شیشه‌ای، 0.25 میلی‌مول از مولکول هدف (DZN) در 20 میلی‌لیتر کلروفرم حل و سپس، 1.5 میلی‌مول تکپار متاکریلیک اسید به آن افزوده شد. پس از 1 ساعت هم‌زدن با همزن برقی (برای تشکیل کمپلکس تکپار-مولکول هدف)، 7.5 میلی‌مول پیونددهنده عرضی (EGDMA) و 0.04 گرم آغازگر (AIBN) نیز به مخلوط افزوده شد. در ادامه، به مدت 10 دقیقه گاز N_2 از محلول عبور داده شد (برای حذف اکسیژن محلول). سپس، در ظرف به خوبی بسته و در حمام روغن به مدت 24 ساعت تحت واکنش بسیارش قرار گرفت. پس‌از آن، در ظرف را باز شد تا حلال اضافی تبخیر شود. برای خروج مولکول هدف از ساختار

1. Methacrylic acid 2. Ethylene glycol dimethacrylate 3. 2,2'-Azobis (isobutyronitrile) 4. Briton-Robinson Buffer
5. Non-inkprinted polymer

در شکل ۱، آمده است. همان‌طور مشاهده می‌شود، ذرات MIP به‌دست آمده با روش اسپارش رسوبی به‌تقریب کروی و ابعاد آن‌ها زیر ۱۰۰ نانومتر است.



شکل ۱ تصویر SEM نانو ذرات MIP تهیه‌شده

بررسی پاسخ حسگر نسبت به دیازینون

پیش از بررسی پاسخ حسگر به دیازینون، ابتدا رفتار الکتروشیمیایی محلول $DZN \times 10^{-5}$ مولار (تهیه‌شده با بافر بریتون - رابینسون با غلظت 0.04 مولار و pH برابر با 4.5 به عنوان الکترولیت حامل) در سطح الکتروود خمیر کربن اصلاح‌نشده، با روش ولتامتری چرخه‌ای در گستره‌ی پتانسیل 0 تا -1500 میلی‌ولت و با سرعت روبش 100 mV/s مورد بررسی قرار گرفت. همان‌طور که در شکل ۲-الف مشاهده می‌شود، DZN دارای یک سیگنال کاهش برگشت‌ناپذیر در پتانسیل -1.27 ولت نسبت به الکتروود مرجع نقره-نقره کلرید است که با بررسی‌های انجام‌شده بر الکتروشیمی دیازینون [۲۶ و ۲۰] تطابق دارد. بنابراین، این سیگنال به‌عنوان پاسخ تجزیه‌ای برای سایر اندازه‌گیری‌ها به‌کارگرفته‌شد. همچنین، در ادامه این پژوهش، ولتامتری موج مربعی (SWV) به‌عنوان یک روش الکتروشیمیایی سریع و حساس برای تعیین کمی DZN به‌کارگرفته‌شد. بنابراین، پاسخ

اندازه‌گیری مقدار دیازینون با الکتروود اصلاح‌شده با نانوذرات MIP برای این منظور الکتروود MIP-CP به مدت 10 دقیقه در محلول دیازینون (pH برابر با 7) قرار گرفت و پس از مرحله استخراج، به مدت 5 ثانیه با بافر BR (pH برابر با 7) شسته شد. پس از آن الکتروود در سل الکتروشیمیایی حاوی بافر BR (pH برابر با 4) به‌عنوان الکترولیت حامل قرارگرفته و با روش SWV، سیگنال کاهش دیازینون نسبت به الکتروود مرجع $Ag/AgCl$ ثبت شد. نتایج به‌دست آمده مبتنی بر 3 بار اندازه‌گیری بود و میانگین ارتفاع سیگنال کاهش دیازینون، برای رسم منحنی واسنجی^۲ به‌کارگرفته شد.

اندازه‌گیری دیازینون در نمونه‌ی حقیقی آب چاه

برای بررسی توانمندی حسگر پیشنهادی در این پژوهش و اندازه‌گیری دیازینون در نمونه‌های حقیقی، از این حسگر برای سنجش DZN در نمونه آب چاه (تهیه‌شده از چاه‌های آب روستای برکوک از توابع بخش آریان‌شهر، شهرستان قائنات در استان خراسان جنوبی) با روش افزایش استاندارد (مبتنی بر 3 بار اندازه‌گیری برای هر غلظت) استفاده شد.

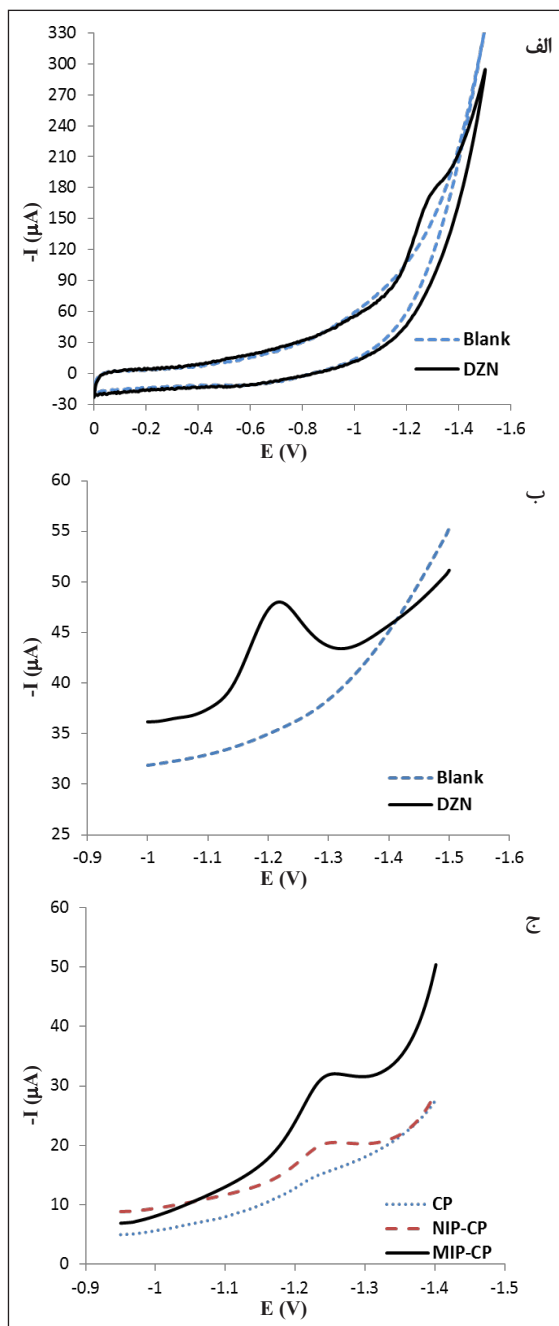
برای این منظور، چهار بالن با حجم 25 میلی‌لیتر انتخاب و به هریک از آن‌ها، 2 میلی‌لیتر از نمونه آب چاه و سپس، غلظت‌های متفاوتی از محلول استاندارد دیازینون (به نحوی که غلظت نهایی محلول، در گستره خطی منحنی واسنجی باشد) افزوده شد. سپس، محلول‌ها با استفاده از بافر BR (pH برابر با 7)، به حجم رسانده شد. مراحل استخراج و آزمون تحت شرایط بهینه‌شده با حسگر پیشنهادی برای هریک از محلول‌ها انجام شد. این مراحل 3 بار تکرار و میانگین درصد بازیابی برای هریک از غلظت‌ها محاسبه شد.

نتیجه‌ها و بحث

مشخصه‌یابی

تصویر میکروسکوپی الکترون روبشی نانوذرات MIP تهیه‌شده،

1. Square wave voltammetry 2. Calibriation

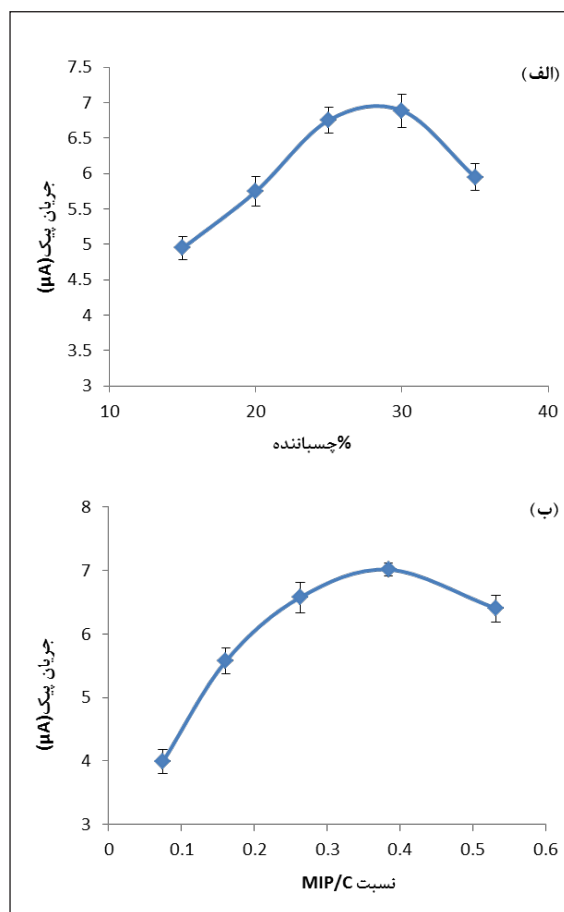


شکل ۲ رفتار الکتروشیمیایی محلول 5.0×10^{-6} مولار دیازینون (pH = ۴٫۵) در سطح الکتروود خمیر کربن اصلاح نشده (الف)، ولتاموگرام موج مربعی محلول 5.0×10^{-6} مولار دیازینون (pH = ۴٫۵) $\Delta E = V_{step} = 6 \text{ mV}$ ، ولتاموگرام موج مربعی محلول 5.0×10^{-6} مولار دیازینون (ب) و مقایسه پاسخ SWV الکترودهای CP، MIP-CP و NIP-CP پس از استخراج از محلول 5.0×10^{-6} مولار دیازینون (ج) (pH = ۷)

الکتروود CP بررسی و مطابق انتظار در اینجا نیز سیگنال کاهش DZN در پتانسیل -1.22 V - مشاهده شد (شکل ۲ ب).

پس از بررسی رفتار الکتروشیمیایی DZN و اطمینان از الکتروفعال بودن آن در سطح الکتروود خمیر کربن، الکتروود خمیر کربن (CP) و همچنین، الکترودهای اصلاح شده با نانوذرات MIP (MIP-CP) و نانوذرات NIP (NIP-CP)، مطابق روش یاد شده در بخش ۲-۳-۳ ساخته و از آن‌ها برای تعیین استفاده DZN شد. بدین منظور، محلولی از DZN با غلظت 1.0×10^{-6} مولار و pH برابر با ۷ تهیه و با سرعت ثابت ۳۰۰ rpm هم‌زده می‌شود. در ادامه، هریک از حسگرهای تهیه شده را، به مدت ۱۰ دقیقه در این محلول قرار داده (مرحله‌ی استخراج) و سپس، به مدت ۵ ثانیه در بشر حاوی محلول شستشو (بافر BR با pH برابر با ۷) نگه‌داشته تا الکتروود تحت شستشو قرار گرفته و اتصالات غیرویژه نیز برطرف شوند. پس از مراحل استخراج و شستشو، الکتروود به درون یک سل الکتروشیمیایی حاوی بافر BR با غلظت 0.4 مولار و pH برابر با ۴٫۵ منتقل و سیگنال SWV دیازینون در گستره‌ی پتانسیل -950 تا -1400 میلی‌ولت ثبت شد (شکل ۲-ج).

با توجه به ولتاموگرام‌های به‌دست آمده، مشخص شد که پس از مرحله استخراج و شستشو، الکترودهای اصلاح شده نیز سیگنال کاهش دیازینون را نشان می‌دهند که این رفتار نشان دهنده قرار گرفتن DZN در سطح الکترودهای اصلاح شده است. همچنین، مقدار جریان کاهش دیازینون در ولتاموگرام موج مربعی الکتروود MIP-CP نسبت به جریان مربوط در الکتروود NIP-CP بیشتر است. برای استخراج DZN با الکتروود CP، سیگنال قابل توجهی مشاهده نشد. این نتایج، بیانگر وجود قالب‌های مولکولی در ساختار MIP بوده که می‌توانند دیازینون را به خوبی از محلول آبی جذب کنند، درحالی‌که الکترودهای CP و NIP-CP این قابلیت را نداشته و یا کمتر دارند. پس از اطمینان از پاسخ حسگر تهیه شده به دیازینون، عامل‌هایی از قبیل ترکیب الکتروود خمیر کربن، pH نمونه، pH الکتروولیت حامل، زمان استخراج و سرعت هم‌زدن محلول نمونه که در اندازه‌گیری کمی DZN دارای اهمیت هستند، بهینه شدند.



شکل ۳ اثر مقادیر چسباننده (الف) و نسبت گرافیت/ MIP (ب) بر پاسخ الکتروود خمیر کربن اصلاح‌شده

بهینه‌سازی pH استخراج و pH آزمون الکتروشیمیایی

برای بررسی اثر pH محلول نمونه بر مقدار استخراج دیازینون، محلول‌هایی از DZN با غلظت 1.0×10^{-6} مولار و pH های متفاوت تهیه شد و سپس، با الکتروود با ترکیب بهینه‌شده، عمل استخراج به مدت ۱۰ دقیقه از هریک از محلول‌ها انجام و پس از شستشو، الکتروود به درون سل الکتروشیمیایی محتوی بافر BR با $pH = 4.5$ منتقل و جریان برای هریک با روش SWV ثبت شد. نمودار جریان پیک بر حسب pH محلول نمونه در شکل ۴- الف ارائه شده است.

بهینه‌سازی عامل‌های مؤثر بر پاسخ حسگر

در تمام بهینه‌سازی‌ها، محلول استخراج شامل محلول 1.0×10^{-6} مولار دیازینون، بافر به کارگرفته شده در تهیه‌ی محلول‌ها، بافر BR، زمان شستشو ۵ ثانیه و روش الکتروشیمیایی مورد استفاده، روش ولتامتری موج مربعی (SWV) بود. همچنین، اندازه‌گیری‌ها برای هر عامل، سه بار تکرار شد.

ترکیب الکتروود MIP-CP

به منظور دستیابی به حسگری با ترکیب اجزای مناسب، نسبت بین اجزای سازنده خمیر کربن شامل نانوذرات MIP، پودر گرافیت و روغن پارافین در شرایط ثابت استخراج و اندازه‌گیری ولتامتری، تغییر داده شد. اثر تغییر در مقدار روغن پارافین (شکل ۳-الف) نشان می‌دهد که وقتی مقدار چسباننده، ۲۸٪ مقدار کل ترکیب MIP-CP باشد، حسگر بهترین پاسخ الکتروشیمیایی را دارد و مقادیر بیشتر از این سبب کاهش جریان الکتریکی حسگر به علت نارسا بودن چسباننده می‌شود. بنابراین، این مقدار به عنوان مقدار بهینه انتخاب شد.

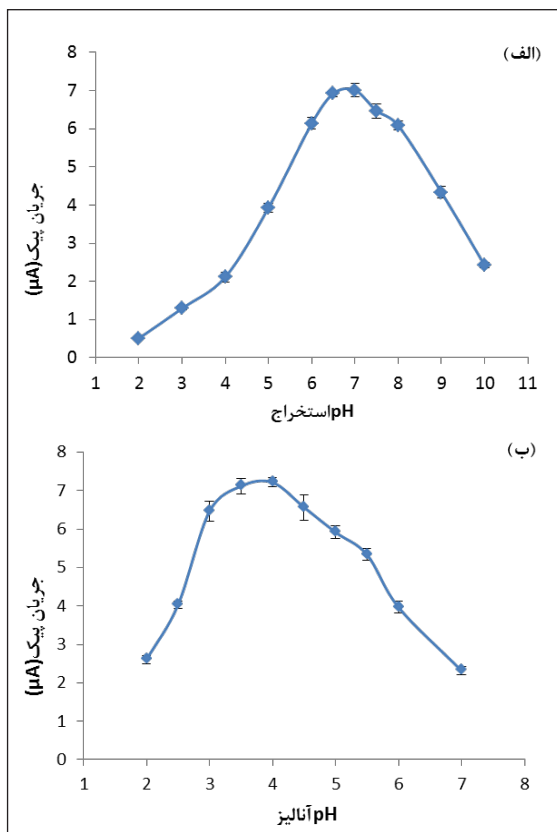
پس از بهینه‌سازی مقدار روغن پارافین، الکترودهایی تهیه شدند که در آن‌ها مقدار کل ترکیب خمیر و همچنین، مقدار چسباننده ثابت بود و مقادیر نانوذرات MIP و پودر گرافیت نسبت به هم تغییر کردند. سپس، مراحل استخراج و بررسی برای هر یک از الکتروودها انجام شد. نمودار جریان الکتروود در مقابل نسبت گرافیت/ MIP در شکل ۳-ب نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، بیش‌ترین جریان در نسبت گرافیت/ MIP برابر ۰/۳۶ (یعنی الکتروود شامل ۱۹ درصد MIP و ۵۳ درصد گرافیت) است. افزایش مقدار MIP در ترکیب خمیر کربنی سبب استخراج بیشتر دیازینون از محلول مورد آزمایش می‌شود، ولی افزایش بیش از حد مقدار بسیار، سبب کاهش در پاسخ حسگر به احتمال به دلیل کاهش رسانایی الکتروود می‌شود. به همین پایه، الکتروود شامل ۲۸ درصد چسباننده، ۱۹ درصد MIP و ۵۳ درصد گرافیت برای ساخت حسگر به کارگرفته شد.

BR با غلظت 0.4×10^{-6} مولار و در pH های متفاوت با روش SWV ثبت شد.

نمودار جریان پیک بر حسب pH محلول آزمون (شکل ۴-ب) نشان می‌دهد که شدت سیگنال مربوط به فرایند کاهش دیازینون، به pH وابسته بوده و با افزایش pH از ۲ تا ۴، افزایش یافته و پس از آن، افزایش pH منجر به کاهش جریان پیک می‌شود. با توجه به پژوهش‌های پیشین [۳۴]، در فرایند کاهش مولکول دیازینون پروتون مشارکت دارد. به طوری که محیط اسیدی برای این واکنش بهتر است، اما در pH های با قدرت اسیدی زیاد (زیر ۴)، دیازینون ناپایدار بوده و پیش از واکنش الکتروشیمیایی آبکافت می‌شود. بنابراین، pH برابر با ۴ به عنوان pH آزمون الکتروشیمیایی انتخاب شد.

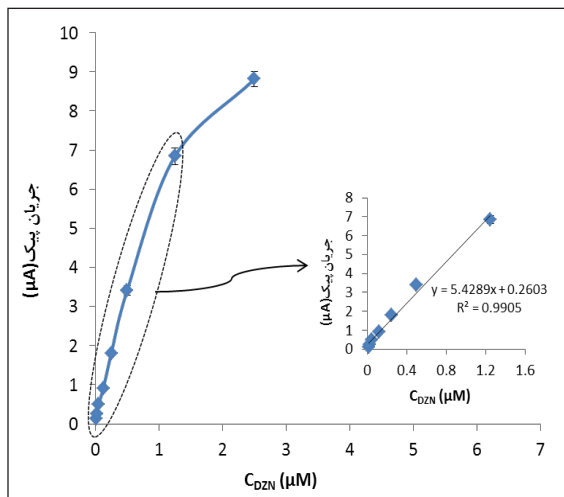
اثر مدت زمان استخراج و سرعت هم‌زدن محلول نمونه

در مرحله استخراج، برای به بیشتر رساندن مقدار بازجذب مولکول هدف به سطح الکترودهای اصلاح شده با MIP، باید مدت کافی در اختیار گونه مورد نظر قرار گیرد تا به سطح الکتروده منتقل شود. همچنین، شدت هم‌زدن محلول نمونه نیز در تسهیل این انتقال نقش بسزایی دارد. بنابراین، اثر مدت زمان بازجذب و همچنین، سرعت هم‌زدن محلول نمونه به عنوان دو عامل مهم بر مقدار استخراج DZN مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج به دست آمده (شکل ۵) نشان داد که با افزایش زمان استخراج تا ۱۲٫۵ دقیقه (۵-الف) و سرعت هم‌زدن محلول نمونه تا 350 rpm (۵-ب) مقدار بازجذب DZN از محلول نمونه افزایش می‌یابد. به دلیل اشغال شدن بیشتر مراکز فعال موجود در سطح MIP-CP با DZN پس از ۱۲٫۵ دقیقه استخراج، مدت‌های بازجذب طولانی‌تر، اثر چندانی بر مقدار استخراج DZN ندارد. همچنین، سرعت‌های هم‌زدن بالاتر از 350 rpm منجر به کاهش مقدار بازجذب DZN می‌شود که این می‌تواند به دلیل ایجاد مزاحمت در تعادل جذب سطحی شدن DZN در سطح حسگر، در هنگام هم‌خوردن شدیدتر محلول نمونه باشد. بنابراین، مدت استخراج ۱۲٫۵ دقیقه و سرعت هم‌زدن 350 rpm به عنوان بهینه انتخاب شدند.



شکل ۴ اثر pH محلول نمونه (الف) و pH آزمون الکتروشیمیایی (ب) بر شدت سیگنال DZN

همان‌طور که مشاهده می‌شود، برای استخراج DZN از محلول نمونه، محیط‌های اسیدی یا بازی مناسب نیستند که این می‌تواند به دلیل ناپایداری و آبکافت دیازینون در این محیط‌ها باشد. همچنین، محیط بازی سبب می‌شود که تکپار بیشتر به فرم آنیونی وجود داشته و همین امر امکان برهم‌کنش‌های هیدروژنی بین تکپار و مولکول هدف را کاهش می‌دهد. برپایه این نتایج، pH محلول نمونه برابر ۷ انتخاب شد. افزون بر pH محلول نمونه، pH محلول آزمون نیز عامل مهمی در مقدار پاسخ‌دهی حسگرهای الکتروشیمیایی مبتنی بر MIP است. برای بررسی این عامل، استخراج از محلول 1.0×10^{-6} مولار دیازینون با pH برابر با ۷ انجام و پس از مرحله شستشو، جریان الکتروده در محلول بافر



شکل ۶ منحنی جریان پیک مربوط به فرایند کاهش دیازینون در سطح حسگر پیشنهادی بر حسب غلظت DZN تحت شرایط بهینه‌شده به همراه ناحیه خطی مربوط

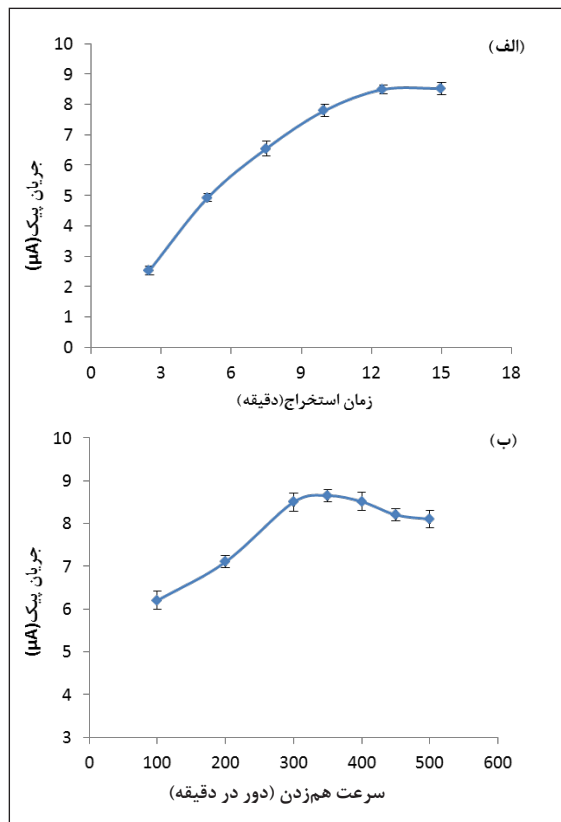
مقادیر حد تشخیص (LOD) و حد تعیین کمی (LOQ)،
برای حسگر مبتنی بر MIP با به‌کارگیری معادله‌های ۱ و ۲ به
ترتیب برابر با 6.57×10^{-9} و 2.19×10^{-8} مولار به‌دست آمد.

$$LOD = 3S_p/m \quad (1)$$

$$LOQ = 10S_p/m \quad (2)$$

که در آن‌ها، S_p انحراف استاندارد جریان‌های مربوط به محلول شاهد در محل پیک DZN و m شیب منحنی واسنجی است. همچنین، مقدار انحراف استاندارد نسبی (%RSD = ۳.۷۹) مربوط به پنج بار اندازه‌گیری محلول DZN 1.25×10^{-7} مولار نشان‌دهنده تکرارپذیری مناسب حسگر پیشنهادی بود. افزون بر این، بررسی مقدار ثبات عملکرد حسگر تهیه‌شده در تعیین محلول DZN 1.25×10^{-7} مولار در یک گستره زمانی ۳ ماهه و با فواصل اندازه‌گیری ۱۰ روزه (%RSD = ۴.۴۱، $n = 9$)، بیانگر پایداری بالای این حسگر است.

بررسی دیگری که انجام شد، مقایسه‌ی پاسخ الکترودهای



شکل ۵ بررسی اثر مدت بازجذب (الف) و سرعت هم‌زدن (ب) بر مقدار استخراج DZN از محلول نمونه

مشخصات تجزیه‌ای

ارقام شایستگی

پس از بررسی عامل‌های مؤثر بر پاسخ حسگر به دیازینون، از آن برای تعیین غلظت‌های متفاوت DZN تحت شرایط بهینه‌شده استفاده شد. نمودار جریان پیک بر حسب غلظت DZN، در شکل ۶ آمده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، منحنی واسنجی به‌دست آمده یک ناحیه خطی در گستره‌ی غلظتی DZN از 1.5×10^{-8} تا 1.25×10^{-6} مولار دارد که از معادله خط $I_p (\mu A) = 5.43 C_{DZN} (\mu M) + 0.26$ پیروی می‌کند.

1. Limit of detection 2. Limit of quantitation

جدول ۱ بررسی اثر گونه‌های مزاحم در اندازه‌گیری دیازینون

گونه تداخل کننده	حد مزاحمت (نسبت مولی)
Li ⁺ , Na ⁺ , K ⁺	۱۰۰۰
Mg ²⁺ , Ca ²⁺	۹۰۰
Cl ⁻	۱۰۰۰
CO ₃ ²⁻	۹۰۰
SO ₄ ²⁻	۴۵۰
NO ₃ ⁻	۱۰۰۰

کاربرد حسگر تهیه شده برای تعیین DZN در نمونه حقیقی از حسگر پیشنهادی در این پژوهش برای تعیین دیازینون در نمونه‌های حقیقی استفاده شد. برای این منظور مراحل استخراج و آزمون با شرایط بهینه بر طبق دستور کار یاد شده، انجام شد. اندازه‌گیری‌ها برای هر غلظت تزریق شده به نمونه‌های آب چاه سه مرتبه تکرار شده و میانگین نتایج به دست آمده گزارش شد (جدول ۲). گستره درصدهای بازیابی (۹۸٫۰۶ تا ۹۹٫۱۶) بیانگر کارایی بسیار خوب حسگر پیشنهادی برای تعیین دیازینون در نمونه حقیقی آب چاه است.

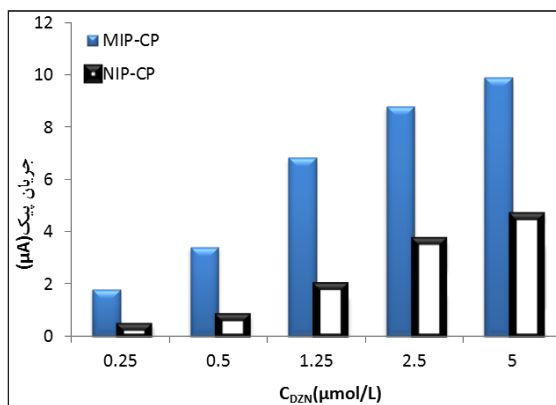
جدول ۲ سنجش DZN در نمونه آب چاه (n = ۳)

ردیف	افزوده شده (μM)	بازیابی شده (μM)	درصد بازیابی	RSD%
۱	-	-	-	-
۲	۰٫۰۵	۰٫۰۴۹ ± ۰٫۰۰۲	۹۸٫۰۶	۴٫۱۴
۳	۰٫۲۰	۰٫۱۹۷ ± ۰٫۰۰۷	۹۸٫۵۰	۳٫۶۶
۴	۱٫۰۰	۰٫۹۹۱ ± ۰٫۰۳۷	۹۹٫۱۶	۳٫۷۸

مقایسه حسگر توسعه یافته در این پژوهش با سایر الکترودهای مورد استفاده در اندازه‌گیری دیازینون

در جدول ۳، حسگر توسعه یافته در این پژوهش از نظر گستره‌ی پاسخ خطی، حد تشخیص و نوع روش الکتروشیمیایی مورد استفاده،

MIP-CP و NIP-CP با یکدیگر، تحت شرایط بهینه شده بود. برای این منظور، استخراج از محلول‌های DZN با غلظت‌های متفاوت و با این حسگرها انجام و جریان با روش SWV ثبت شد. شکل ۷، شدت جریان‌های به دست آمده برای هر الکتروود را در غلظت‌های متفاوت DZN نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، بر طبق انتظار و به دلیل وجود مکان‌های ویژه شناسایی مولکولی، الکتروود MIP-CP، علامت ولتامتری به مراتب قوی‌تری نسبت به NIP-CP نشان می‌دهد.



شکل ۷ مقایسه جریان‌های به دست آمده با روش SWV برای الکترودهای MIP-CP و NIP-CP در غلظت‌های متفاوت DZN در شرایط استخراج و آزمون بهینه شده

بررسی اثر گونه‌های تداخل کننده در تعیین DZN

پس از تثبیت روش اندازه‌گیری، اثر تداخل برخی از گونه‌ها در تعیین DZN مورد بررسی قرار گرفت. غلظتی از گونه‌ی مزاحم که سبب تغییری بیش از ۵٪ مقدار اولیه، در سیگنال محلول DZN 1.25×10^{-7} مولار شود، به عنوان حد مزاحمت در نظر گرفته شد. نتایج در جدول ۱ آمده و نشان می‌دهد که حضور گونه‌های مزاحم مورد مطالعه، تأثیر چندانی بر عملکرد حسگر پیشنهادی ندارد که این نتیجه به دلیل مکان‌های فعال شناسایی مولکولی در حسگر مبتنی بر نانوذرات MIP است که گزینش پذیری نسبت به DZN را افزایش می‌دهد.

بهبود کارایی نانو ذرات بسیار قالب مولکولی به‌عنوان عناصر شناسایی در ترکیب الکتروکد خمیر کربن، برای تعیین سم ارگانوفسفره دیازینون در غلظت‌های بسیار کم، توسعه داده شد. فرایند ساخت حسگر پیشنهادی ساده و ارزان بود و تکرارپذیری، پایداری و گستره پاسخ خطی مناسبی داشت. این حسگر به صورت موفقیت‌آمیزی برای تعیین سم دیازینون در نمونه آب چاه مورد استفاده قرار گرفت.

با سایر الکترودهایی که در اندازه‌گیری DZN به کار رفته‌اند، مورد مقایسه قرار گرفته است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، عملکرد حسگر پیشنهادی در این پژوهش، بهتر و یا قابل مقایسه با سایر الکترودهای یاد شده است.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، یک حسگر حساس و گزینش‌پذیر، با

جدول ۳ مقایسه برخی از ویژگی‌های حسگر توسعه‌یافته و حسگرهای گزارش‌شده پیشین برای اندازه‌گیری DZN

مرجع	حد تشخیص ($\mu\text{mol l}^{-1}$)	گستره پاسخ خطی ($\mu\text{mol l}^{-1}$)	روش الکتروشیمیایی	الکتروکد
۲۰	۰٫۰۲۴۶	۰٫۱۶۴-۸۸٫۷۱۳	DPV	Tris(ethylenediamine) cobalt (II) iodide modified CPE
۲۱	۰٫۱۱	۰٫۰۴-۰٫۳۹	SWAdSV ^g	HMDE
۲۲	$۱٫۶۴ \times 10^{-6}$	۱۹٫۷-۲۰۳٫۷	SWV	DNA immobilized onto a CNTPE ^a
۲۳	-	۰٫۰۶۲-۰٫۱۶۴	SWV	Tyrosinase modified SPE ^b
۲۶	۰٫۰۷۵	۵ تا	SWV	Nafion®-coated GCE ^c
۳۴	۰٫۰۰۰۷۹	۰٫۰۰۲۵-۰٫۱۰ & ۰٫۱۰-۰٫۰۰۲	SWV	Nano-MIP-CP electrode
۳۵	۲٫۶۵	۱۰٫۲۴-۹۳۳٫۰۰	DPP ^h	HMDE ^d
۳۵	۰٫۰۰۴	-	DPAdSP ⁱ	HMDE
۳۶	۰٫۰۰۰۱۳	۰٫۰۰۰۵-۱٫۰	SWV	MIP modified CPE
۳۷	۰٫۰۰۳	۰٫۰۱۱-۸٫۳۶	SWV	MWCNTs/TiO ₂ NPs modified GCE
۳۸	۰٫۱۹	۱٫۹۰-۵۶٫۰	Amperometry	GNRs/ds-DNA/GO modified GCE ^e
۳۹	۰٫۰۰۲	۰٫۰۱-۱۰٫۰ & ۱۰٫۰-۱۷۰	SWASV ^j	Au-Pt-BSA/GNRs modified GCE ^f
پژوهش حاضر	۰٫۰۰۵۴	۰٫۰۱۵-۱٫۲۵	SWV	Nano-MIP modified CPE

a Carbon nanotube paste electrode

b Screen-printed electrode

c Glassy carbon electrode

d Hanging mercury drop electrode

e Gold nanorods /functionalized double-strand DNA /Graphene oxide modified glassy carbon electrode

f Au-Pt bimetallic nanoclusters / graphene nanoribbons modified glassy carbon electrode

g Square wave adsorptive stripping voltammetry

h Differential pulse polarography

i Differential pulse adsorptive stripping polarography

j Square wave anodic stripping voltammetry

- [1] Karyab, H.; Mahvi, A.H.; Nazmara, S.; Bahojb, A.; Bull. Environ. Contam. Toxicol. 90, 126-131, 2013.
- [2] Ahmadkhaniha, R.; Rastkari, N.; Asian J. Chem. Eng. 11, 893-900, 2016.
- [3] Bazmandegan-Shamili, A.; Dadfarnia, S.; Shabani, A.M.H.; Saeidi, M.; Moghadam, M.R.; Food Anal. Methods. 9, 2621-2630, 2016.
- [4] Albishri, H.M.; Aldawsari, N.A.; El-Hady, D.A.; Electrophoresis. 37, 2462-2469, 2016.
- [5] Maddah, B.; Javadi, S.S.; Mirzaei, A.; Rahimi-Nasrabadi, M.; J. Liq. Chromatogr. Related Technol. 38, 208-214, 2015.
- [6] Bayat, M.; Hassanzadeh-Khayyat, M.; Mohajeri, S.A.; Food Anal. Methods. 8, 1034-1041, 2015.
- [7] Bazmandegan-Shamili, A.; Dadfarnia, S.; Shabani, A.M.H.; Saeidi, M.; Moghadam, M.R.; Food Anal. Methods. 9, 2621-2630, 2016.
- [8] Sanchez, M.; Mendez, R.; Gomez, X.; Martin-Villacorta, J.; J. Liq. Chromatogr. Related Technol. 26, 483-497, 2003.
- [9] Vijaya Bhaskar Reddy, A.; Yusop, Z.; Jaafar, J.; Bin Aris, A.; Abdul Majid, Z.; Umar, K.; Talib, J.; J. Sep. Sci. 39, 2276-2283, 2016.
- [10] Farajzadeh, M.A.; Mogaddam, M.R.A.; Aghdam, S.R.; Nouri, N.; Bamorrowat, M.; Food Chem. 212, 198-204, 2016.
- [11] Jafari, M.T.; Saraji, M.; Sherafatmand, H.; Anal. Chim. Acta. 814, 69-78, 2014.
- [12] Menezes Filho, A.; dos Santos, F.N.; Pereira, P.A.D.P.; Microchem. J 96, 139-145, 2010.
- [13] Jamshidi, B.; Mohajerani, E.; Jamshidi, J.; Meas. 89, 1-6, 2016.
- [14] Azab, H.A.; Kamel, R.M.; J. Photochem. Photobiol., A: Chemistry 321, 33-40, 2016.
- [15] Cao, H.; Nam, J.; Harmon, H.J.; Branson, D.H.; Dyes Pigm. 74, 176-180, 2007.
- [16] Garces-Garcia, M.; Brun, E.M.; Puchades, R.; Maquieira, A.; Anal. Chim. Acta. 556, 347-354, 2006.
- [17] Brun, E. M.; Garces-Garcia, M.; Escuin, E.; Morais, S.; Puchades, R.; Maquieira, A.; Environ. Sci. Technol. 38, 1115-1123, 2004.
- [18] Zaruk, D.; Comba, M.; Struger, J.; Young, S.; Anal. Chim. Acta. 444, 163-168, 2001.
- [19] Arvand, M.; Vaziri, M.; Zanjanchi, M.; J Anal Chem. 68, 429-435, 2013.
- [20] Guziejewski, D.; Skrzypek, S.; Ciesielski, W.; Environ. Monit. Assess. 184, 6575-6582, 2012.
- [21] Ly, S.Y.; Microchim. Acta. 163, 283-288, 2008.
- [22] de Albuquerque, Y.D.T.; Ferreira, L.F.; Anal. Chim. Acta. 596, 210-221, 2007.
- [23] Erdogdu, G.; J Anal Chem 58, 569-572, 2003.
- [24] Mulchandani, P.; Chen, W.; Mulchandani, A.; Environ. Sci. Technol. 35, 2562-2565, 2001.
- [25] Gaberlein, S.; Knoll, M.; Spener, F.; Zaborosch, C.; Analyst. 125, 2274-2279, 2000.
- [26] Martinez, R.C.; Dominguez, F.B.; Mendez, J.H.; Martin, P.G.; Electroanalysis 2, 567-571, 1990.
- [27] Uslu, B.; Ozkan, S. A.; Electrochim. Acta. 49, 4321-4329, 2004.
- [28] Nigovic, B.; Simunic, B.; J. Pharm.

- Biomed. Anal. 31, 169-174, 2003.
- [29] Motaharian, A.; Milani Hosseini, M.R.; Anal. Methods. 8, 6305-6312, 2016.
- [30] Panahi, Y.; Motaharian, A.; Hosseini, M.R.M.; Mehrpour, O.; Sens. Actuators, B. 273, 1579-1586, 2018.
- [31] Milani Hosseini, M.R.; Motaharian, A.; RSC Adv. 5, 81650-81659, 2015.
- [32] Armaghan, M.; Amini, M.; Colloid J. 74 (4), 427-433, 2012.
- [33] Katsumata, H.; Matsumoto, T.; Kaneco, S.; Suzuki, T.; Ohta, K.; Microchem. J. 88 (1), 82-86, 2008.
- [34] Motaharian, A.; Motaharian, F.; Abnous, K.; Hosseini, M.R.M.; Hassanzadeh-Khayyat, M.; Anal. Bioanal. Chem.; 408 (24), 1-11, 2016.
- [35] Everett, W.R.; Rechnitz, G.A.; Anal. Chem. 70 (4), 807-810, 1998.
- [36] Khadem, M.; Faridbod, F.; Norouzi, P.; Rahimi Foroushani, A.; Ganjali, M.R.; Shah-taheri, S. J.; Yarahmadi, R.; Electroanalysis 29 (3), 708-715, 2017.
- [37] Ghodsi, J.; Rafati, A.A.; J. Electroanal. Chem. 807, 1-9, 2017.
- [38] Arvand, M.; Dehsaraei, M.; Ionics. 24 (8), 2445-2454, 2018.
- [39] Pajooheshpour, N.; Rezaei, M.; Hajian, A.; Afkhami, A.; Sillanpaa, M.; Arduini, F.; Bagheri, H.; Sens. Actuators, B. 275, 180-189, 2018.

Determination of diazinon pesticides using molecularly imprinted polymer nanoparticles based on electrochemical sensors

Ali Motaharian^{1,2}, Kobra Naseri^{1,2,*}, Omid Mehrpour^{2,*}

1. Food and Drugs Control Laboratory, Food and Drugs Administration, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
2. Medical Toxicology and Drug Abuse Research Center (MTDRC), Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

Received: November 2018, Revised: April 2019, Accepted: May 2019

Abstract: In this research, an electrochemical sensor based on carbon paste (CP) electrode modified by molecularly imprinted polymer (MIP) nanoparticles was developed for square wave voltammetric (SWV) determination of the diazinon (DZN) pesticide. The molecularly imprinted polymer particles and non-imprinted polymers (NIP) were synthesized by precipitation polymerization method with a molar ratio of 1: 6: 30 (target molecule: monomer: cross linker) and then used for modification of carbon paste electrode. The obtained results indicated that the electrode modified by MIPs (MIP-CP) had much higher ability to DZN adsorption from sample solution than the NIP based sensor (NIP-CP). After optimization of the factors affecting the sensor response, the calibration curve was drawn under optimal conditions. The obtained curve was shown a linear relationship with DZN concentration in the range of 1.50×10^{-8} to 1.25×10^{-6} M ($R^2 = 0.9905$). The detection limit (LOD) of sensor was also obtained 5.43×10^{-9} M. The relative standard deviation (RSD %) for five repeated measurements of 1.25×10^{-7} M DZN was 3.79 %. The developed sensor was successfully used for determinations of DZN in well water sample with the recovery percentage in the range of 99.06 – 99.16 %.

Keywords: Molecularly imprinted polymer, Nanoparticles; Electrochemical sensor, Carbon paste electrode, Diazinon, Pesticides