

اندازه‌گیری ولتامتری ترشیو-بوتیل هیدروکینون در نمونه های غذایی با استفاده از خمیر کربن اصلاح شده با نانوذرات طلا و مایع یونی به عنوان سنسور

عاطفه محمدیان، محمود ابراهیمی*

گروه شیمی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۴/۲۵ تاریخ تصحیح: ۹۸/۰۶/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۷/۰۷

چکیده

اندازه گیری الکتروشیمیایی ترشیو-بوتیل هیدروکینون در سطح الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانوذرات طلا و مایع یونی ۱-متیل-۳-کتیل ایمیدازولنیم تترافلوروبورات مورد بررسی قرار گرفت. نانوذرات طلا با استفاده از عصاره گیاه گزنه و روش بیوستنر تهیه شده و با استفاده از روش میکروسکوپ الکترونی عبوری مورد آنالیز قرار گرفت. الکتروود اصلاح شده فرایند اکسایش ترشیو-بوتیل هیدروکینون به عنوان یک آنتی اکسیدانت غذایی را تسریع کرده است. در شرایط بهینه و در سطح سنسور طراحی شده، گستره خطی ۵/۰ نانومولار تا ۴۵۰ میکرومولار با حد تشخیص ۱/۰ نانومولار برای اندازه گیری ترشیو بوتیل هیدروکینون گزارش شد. سنسور طراحی شده برای آنالیز ترشیو-بوتیل هیدروکینون در نمونه های غذایی با موفقیت به کار گرفته شد.

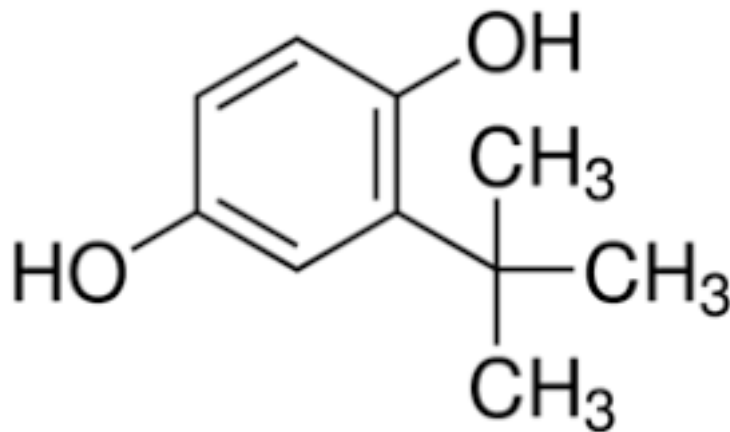
کلمات کلیدی: ترشیو-بوتیل هیدروکینون، نانوذره طلا، بیوستنر، حسگر الکتروشیمیایی، ۱-متیل-۳-کتیل ایمیدازولنیم تترافلوروبورات.

۱- مقدمه

تکنیک‌های الکتروشیمیایی و بخصوص روشهای آنالیزی برمبانی ولتامتری و آمپرومتری بعلت عدم استفاده از حلال‌های سمی و همچنین سرعت آنالیز بالا به عنوان یک گزینه مناسب بجای روشهای پیشین کروماتوگرافی پیشنهاد شده‌اند [۱-۳]. در سالهای اخیر و با توجه به تمرکز دانشمندان در این حوزه و ازطرفی ورود نانو تکنولوژی به دنیای سنسورهای الکتروشیمیایی تاحدبسیار زیادی قابلیت این نوع تکنیک‌ها افزایش یافته است [۴-۷]. بهبود گزینش پذیری و افزایش حساسیت سنسورهای الکتروشیمیایی باعث شده است که کیت‌های قابل حملی از آن مانند کیت قندخون در اشل‌های کاربردی بصورت فراوانی بکار گرفته شود.

از طرفی آنالیز مواد غذایی به علت ارتباط مستقیم با سلامتی انسان از اهمیت بالایی برخوردار بوده و تعیین مقدار مواد موجود و بخصوص افزودنی های مواد غذایی از مهمترین بخش های کنترل کیفیت مواد غذایی است [۸-۱۰]. براین اساس، تحقیقات گسترده ای بروی طراحی سنسورهای آنالیزی برای اندازه گیری انواع ترکیبات موجود در مواد غذایی صورت گرفته است [۱۱-۱۴]. در بین روشهای ارائه شده، تکنیک های الکتروشیمیایی به علت سرعت آنالیز بالا و توانایی برای اندازه گیری آنالین با کمترین هزینه بیش از روشهای دیگر مورد توجه قرار گرفته است [۱۵-۱۷].

ترشیو-بوتیل هیدروکینون (شکل ۱) یک آنتی اکسیدانت مصنوعی بسیار پر مصرف بخصوص در حوزه تولید مواد غذایی به شمار می آید. این آنتی اکسیدانت دارای ساختمان فنولی با زنجیره آلکیلی بوده که باعث شده است که این آنتی اکسیدانت تا حدی حلالیت آن را در چربی و روغن بهبود بخشیده است.



شکل (۱): ساختار شیمیایی ترشیو-بوتیل هیدروکینون

ترشیو-بوتیل هیدروکینون اغلب در روغن، مایونز، مارگارین، کره، شیرینی کراکر، چیپس، شکلات، شیر سویا، غذاهای آماده و بسیاری از محصولات مواد غذایی دیگر استفاده می شود و در پایداری بخش چرب و مدت نگهداری سوسیس و کالباس حرارت دیده و خام و فرآورده های گوشتی نقش دارد. ترشیو-بوتیل هیدروکینون به وفور در روغن های سرخ کردنی استفاده می شود. مصرف بیش از اندازه این ترکیب خطرات زیادی برای بدن ایجاد می نماید.

براین اساس و بخاطر پرکاربرد بودن این آنتی اکسیدانت غذایی، در این مقاله ما به ساخت حسگر الکتروشیمیایی تقویت شده براساس الکتروکد خیمیرکربن اصلاح شده با نانوذرات طلا و مایع یونی یونی ۱-متیل-۳-کتیل ایمیدازولنیم تترافلوروبورات پرداخته و توانایی حسگر طراحی شده برای آنالیز ترشیو-بوتیل هیدروکینون مورد بررسی قرار گرفت. حسگر پیشنهادی توانایی مناسبی برای بهبود سیگنال ترشیو-بوتیل هیدروکینون نشان داده و باعث کاهش اضافه ولتاژ اکسایش ترشیو-بوتیل هیدروکینون و افزایش حساسیت آنالیزی این ترکیب نسبت به الکتروکد خیمیرکربن ساده شده است.

۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد شیمیایی و دستگاهها

لیست مواد خریداری شده و بکار رفته در این پروژه در جدول ۱ گزارش شده است.

جدول ۱. لیست مواد استفاده شده در این تحقیق

شرکت تجاری	درصد خلوص	ترکیب شیمیایی
فلوکا	>٪۹۹	ترشیو-بوتیل هیدروکینون
آلدریچ	>٪۹۹	H ₂ O.3AuCl ₄
مرک	>۵۰ μm	پودر گرافیت
مرک	٪۹۹	روغن پارافین
مرک	۹۹٪	دی اتیل اتر
مرک	٪۹۷	سدیم هیدروکساید
مرک	٪۹۹,۹	بوریک اسید، فسفریک اسید و استیک اسید
مرک	٪۹۹,۹	گلوکز، ساکارز، لاکتوز، فروکتوز و نشاسته
سیگما-آلدریچ	---	۱-متیل-۳-کتیل ایمیدازولنیم تترافلوروبورات

بررسی های الکتروشیمیایی و ثبت سیگنال های ولتامتری با استفاده از دستگاه میکروآتولب انجام شد. از یک سل الکتروشیمیایی سه الکترودی شامل الکتروود نقره/کلرید نقره، پلاتین و خمیر کربن اصلاح شده به ترتیب بعنوان الکتروود رفرنس، کمکی و الکتروود کار استفاده شد. بافر استفاده شده در این کار محلول بافر ۰,۱ مولار اسید فسفریک بوده است.

۲-۲- روش سنتز نانوذره طلا

برای سنتز نانوذرات طلا ۲۰ میلی لیتر محلول ۰,۱ میلی مولار نمک طلا (کلروآریک اسید) با ۳۰ میلی لیتر عصاره گیاه گزنه تهیه شده با استفاده از روش جوشاندن مخلوط شده و شرایط آزمایش با استفاده از محلول سدیم هیدروکسید ۰,۵ مولار ۹/۰ pH= تنظیم شد. برای سنتز دمای محلول ۳۰ درجه سانتی گراد و شرایط زمانی ۱۰ دقیقه در نظر گرفته شد. پس از سنتز نانوذره با استفاده از سانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه نانوذرات جدا شده و سپس نمونه سنتزی خشک شد.

۲-۳- تهیه الکتروود اصلاح شده

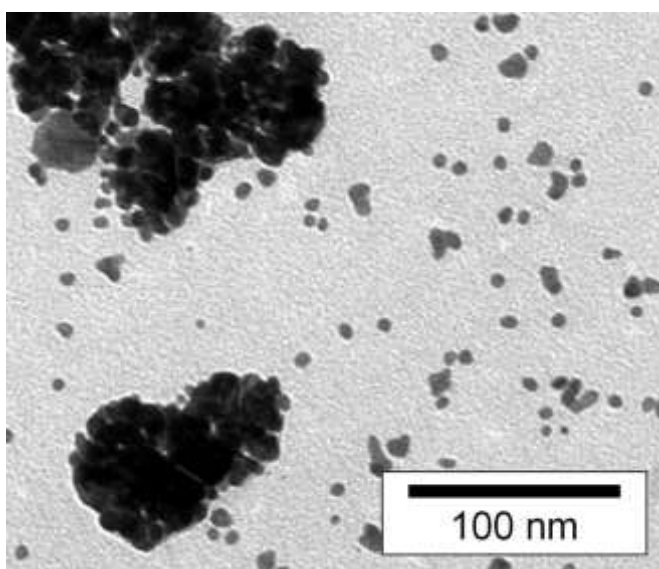
برای ساخت سنسور اصلاح شده برای اندازه گیری ترشیو-بوتیل هیدروکینون، مقدار ۹۶۰ میلی گرم از گرافیت به همراه ۴۰ میلی گرم نانوذره طلا توزین شد و در داخل هاون شیشه ای مخلوط شدند. در ادامه افزودن روغن پارافین و ۱۵ درصد

حجمی مایع یونی ۱-متیل-۳-کتیل ایمیدازولنیم تترافلوروپورات و ساییدن نمونه به مدت ۵۰ دقیقه خمیر کربن اصلاح شده تهیه شد. پس از هر سیگنال الکتروود با ساییدن بروی یک صفحه تمیز تجدید شده و برای آنالیز بعد استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذرات طلا

برای بررسی سایز و شکل نانوذرات طلا بیوسنتز شده از طیف بینی میکروسکوپ الکترونی عبوری استفاده شد. شکل ۲ تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات بیوسنتز شده را نشان داده است که بیوسنتز صحیح به شکل کروی و اندازه ذرات حدود ۱۰ نانومتر را نشان شد.

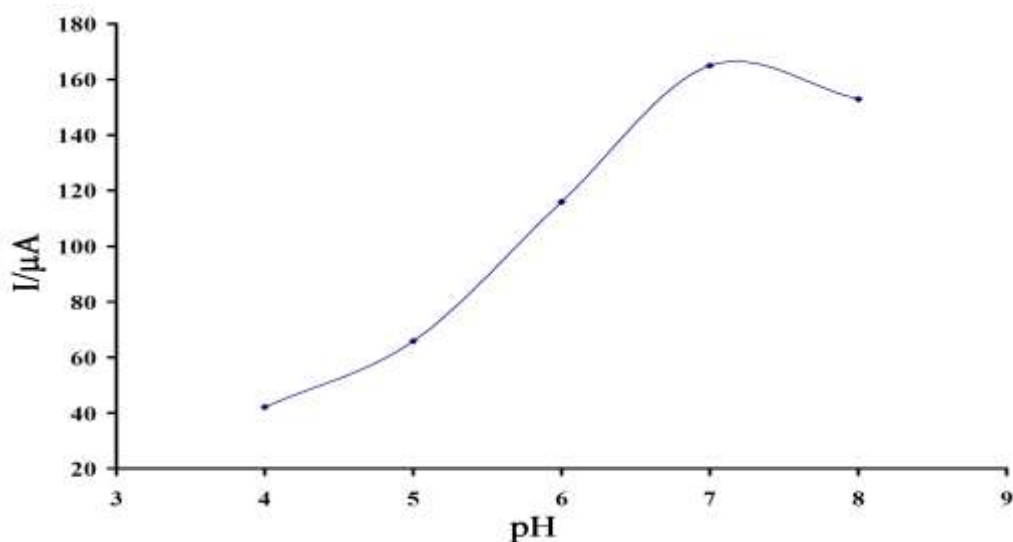


شکل ۲- تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات طلا

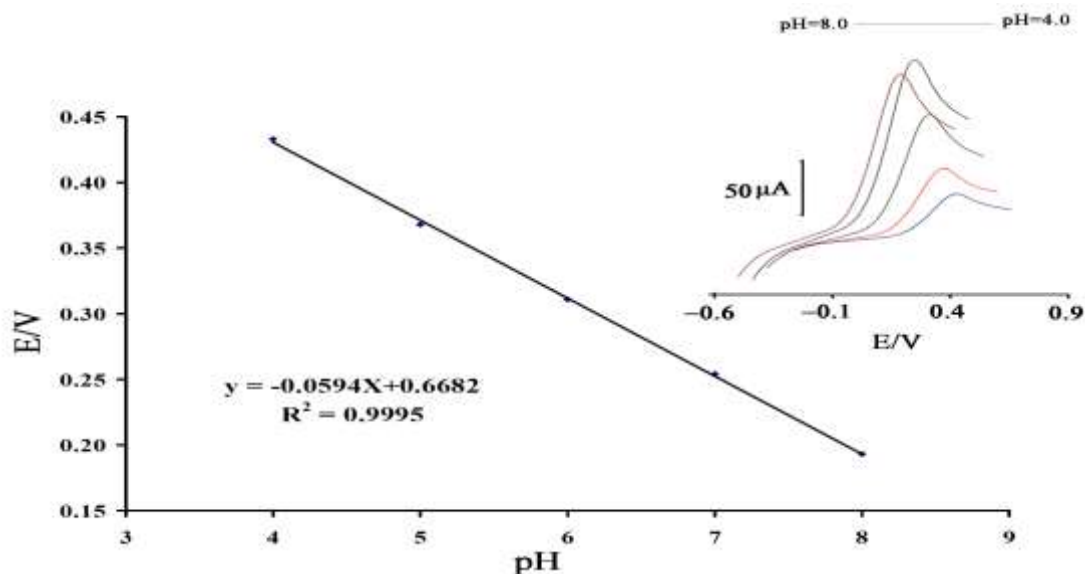
۳-۲- بررسی های ولتامتری ترشيو-بوتیل هیدروکینون

بر اساس گزارشات قبلی انتظار می‌رود که پاسخ ردوکس ترشيو-بوتیل هیدروکینون به pH بستگی داشته باشد. بدین علت در ابتدا شرایط pH برای آنالیز این ترکیبات بهینه شد. برای تعیین pH بهینه در آنالیز این ترکیبات، ولتاموگرام روبش خطی الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانوذره طلا و مایع یونی در حضور ۵۰۰ میکرومولار ترشيو-بوتیل هیدروکینون در pH های مختلف ثبت و جریان آندی بر حسب تغییرات pH رسم شد. شکل ۳ منحنی تغییرات شدت جریان آندی را برای اکسایش ترشيو-بوتیل هیدروکینون در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار در pH های مختلف نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده شده است ماکزیمم جریان اکسایشی در pH=۷/۰ رخ داده است که این شرایط بعنوان شرایط بهینه انتخاب شده است. همچنین منحنی تغییرات پتانسیل اکسایشی بر حسب pH در شکل ۴ نمایش داده شده است. شیب تغییرات با شیب نرنستی برای تعداد برابری الکتروود و پروتون برابر می باشد.

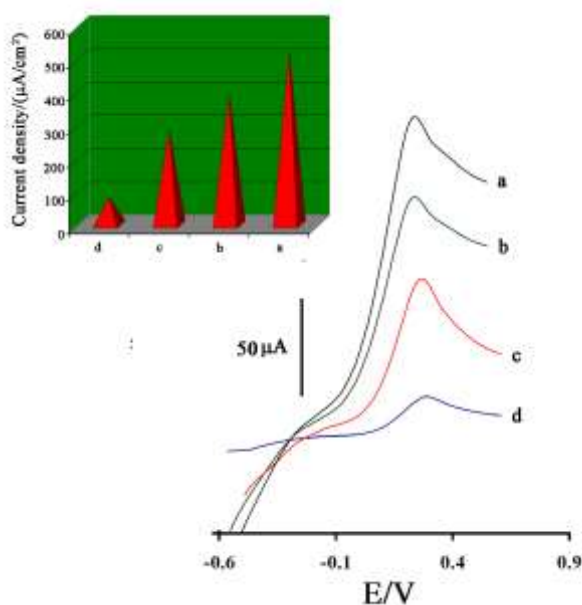
شکل ۵ ولتاموگرام‌های روبش خطی الکترودهای مختلف در حضور ۵۰۰ میکرومولار ترشیو-بوتیل هیدروکینون را نشان می‌دهد. ولتاموگرام‌های ۵۰۰ میکرومولار ترشیو-بوتیل هیدروکینون در سطح الکتروده اصلاح شده با نانوذره طلا و مایع یونی (سیگنال a)، خمیر کربن اصلاح شده با مایع یونی (سیگنال b)، خمیر کربن اصلاح شده با نانوذره طلا (سیگنال c) و خمیر کربن ساده نشان داده شده است. همانطور که مشاهده شده است با حرکت از خمیر کربن ساده به سمت خمیر کربن اصلاح شده با مایع یونی و نانوذره طلا سیگنال اکسایشی ترشیو-بوتیل هیدروکینون افزایش یافته است. این موضوع بعلت رسانندگی مناسب مایع یونی و نانوذره طلا است. همچنین منحنی دانسیته جریان در شکل ۳- داخلی تایید میکند که حضور اصلاح کننده‌ها علاوه بر سطح رسانندگی الکتروده را هم افزایش میدهد.



شکل ۳- منحنی تغییرات جریان برحسب pH برای الکترواکسیداسیون ۵۰۰ میکرومولار ترشیو-بوتیل هیدروکینون

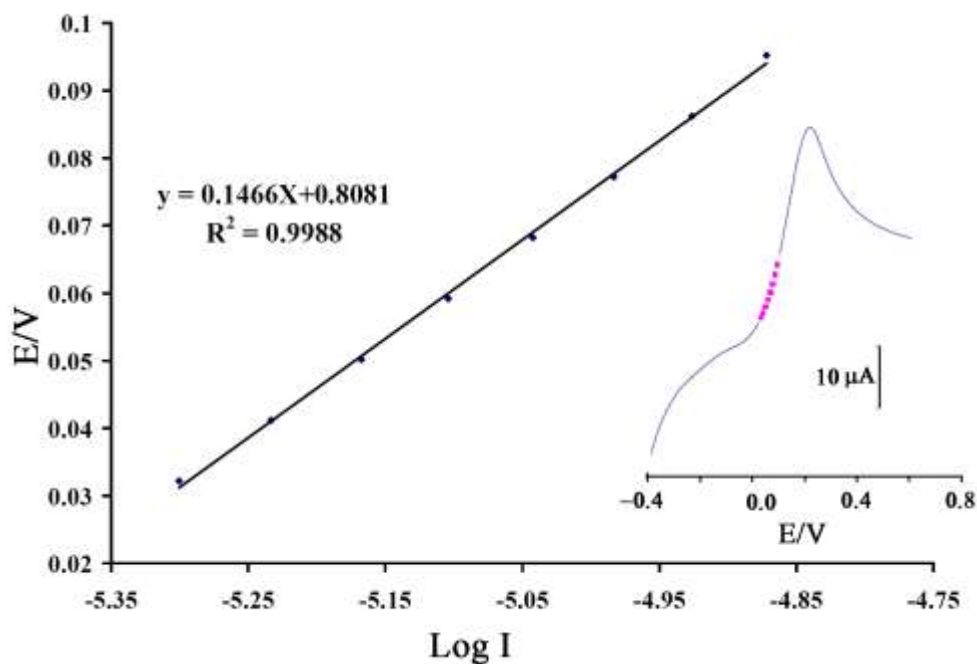


شکل ۴- منحنی تغییرات پتانسیل برحسب pH برای الکترواکسیداسیون ۵۰۰ میکرومولار ترشیو-بوتیل هیدروکینون. شکل داخلی) ولتاموگرام روبش خطی ۵۰۰ میکرومولار ترشیو-بوتیل هیدروکینون در pH مختلف



شکل ۵) ولتاموگرام‌های رویش خطی (a) الکتروود اصلاح شده با نانوذره طلا و مایع یونی در غلظت ۵۰۰ میکرومولار ترشپو-بوتیل هیدروکینون (b) الکتروود اصلاح شده با مایع یونی در غلظت ۵۰۰ میکرومولار ترشپو-بوتیل هیدروکینون (c) الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانوذره طلا در غلظت ۵۰۰ میکرومولار ترشپو-بوتیل هیدروکینون و (d) الکتروود خمیر کربن ساده الکتروود در غلظت ۵۰۰ میکرومولار ترشپو-بوتیل هیدروکینون، شکل داخلی منحنی تغییرات دانسیته جریان بر حسب نوع الکتروود

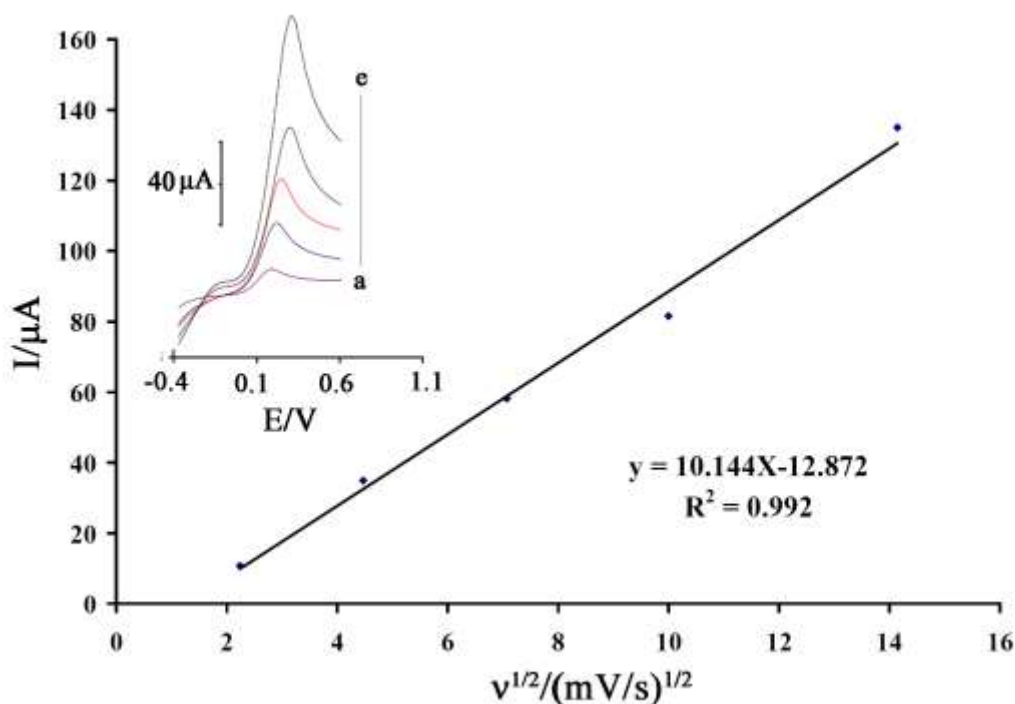
ضریب انتقال الکترون (α) ترشپو بوتیل هیدروکینون در سطح الکتروود اصلاح شده با استفاده از منحنی تافل تعیین شد (شکل ۶).



شکل ۶) نمودار تافل برای الکتروود اصلاح شده با نانوذره طلا و مایع یونی در بافر فسفات سرعت روبش ۲۰ میلی ولت بر ثانیه

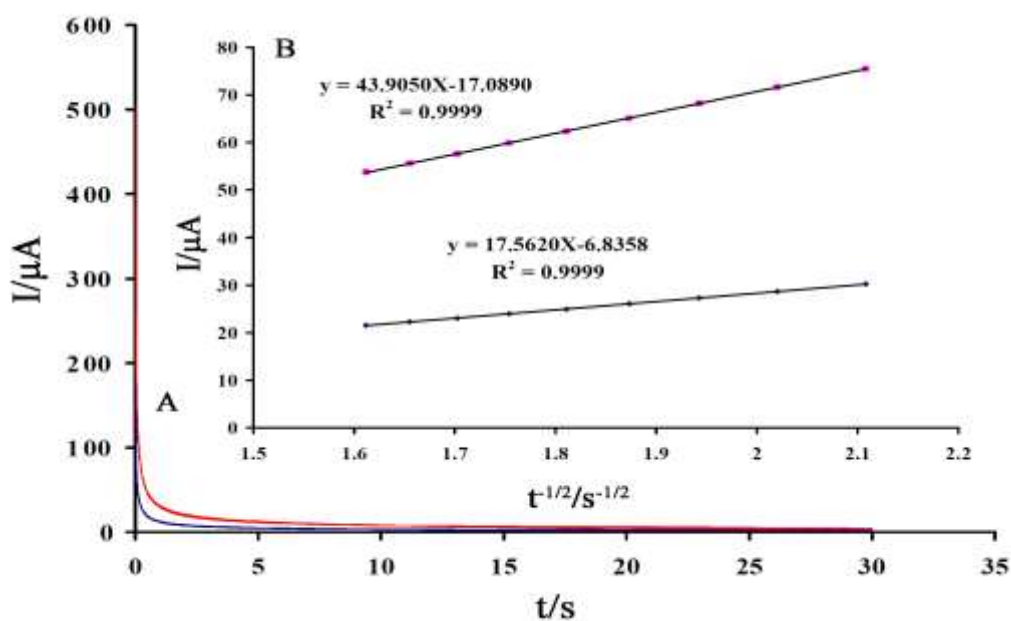
بدین منظور از داده‌های مربوط به ولتاموگرام‌های روبش خطی در محدوده‌ای که سینتیک کنترل کننده فرایند است (قسمت بالا رونده نمودار) استفاده شد. شیب منحنی تغییرات لگاریتم جریان بر حسب پتانسیل برابر با $\frac{n(1-\alpha)F}{2/303RT}$ می‌باشد. با توجه به مقادیر معلوم و معادله تافل مقدار ضریب انتقال الکترون $\alpha=0/8$ بدست آمده است.

اثر سرعت روبش پتانسیل بروی سیگنال ترشیو-بوتیل هیدروکینون در سطح الکتروود اصلاح شده بوسیله روش ولتامتری روبش خطی مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۷-داخلی). نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها و ارتباط بین جریان و جذر سرعت روبش پتانسیل نشان می‌دهد که فرایند اکسایش ترشیو-بوتیل هیدروکینون تحت کنترل نفوذ است (شکل ۷).



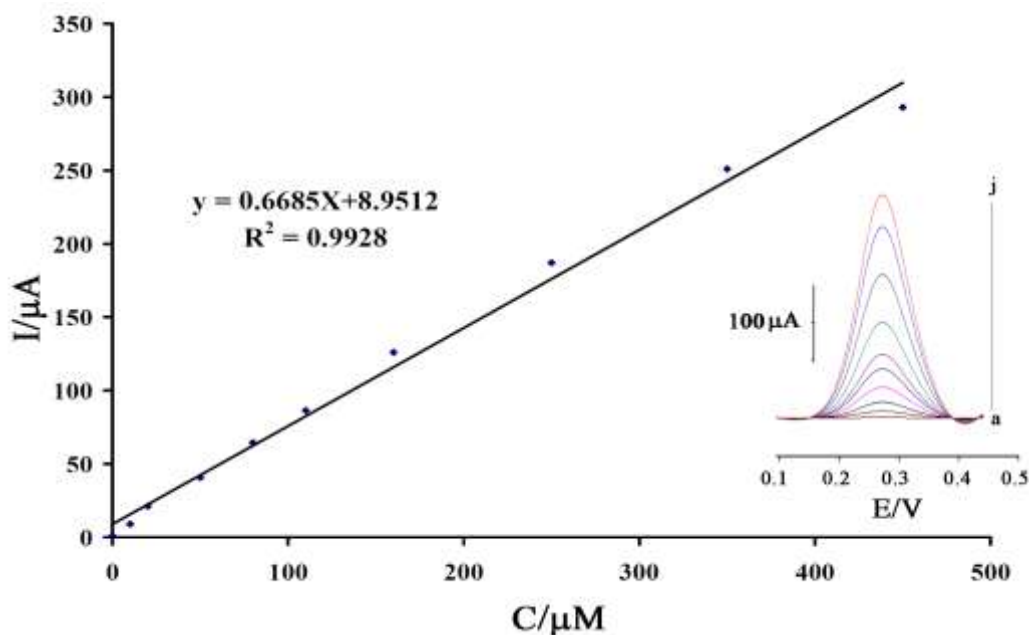
شکل ۷- منحنی‌ها تغییرات جریان بر حسب جذر سرعت روبش پتانسیل برای الکترواکسیداسیون ترشیو-بوتیل هیدروکینون در سطح الکتروود اصلاح شده. شکل داخلی) ولتاموگرام روبش خطی مربوط به الکترواکسیداسیون ترشیو-بوتیل هیدروکینون در سطح الکتروود اصلاح شده در سرعت‌های روبش پتانسیل ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۸۰ میلی‌ولت بر ثانیه

میزان ضریب نفوذ ترکیب ترشیو-بوتیل هیدروکینون در تحقیق انجام شده با استفاده از روش کرومواپرومتری با اعمال پله پتانسیل ۵۰۰ میلی‌ولت تعیین شد. در این راستا کرومواپروگرام‌های ۳۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار ترشیو-بوتیل هیدروکینون در سطح الکتروود اصلاح شده ثبت (شکل ۸- A) و در ادامه منحنی‌های کاترل مربوطه رسم شد (شکل ۸- B). با استفاده از شیب معادله کاترل ارائه مقدار میانگین ضریب نفوذ برای اکسایش ترشیو-بوتیل هیدروکینون در محلول $D=4/1 \times 10^{-6}$ سانتی‌متر مربع بر ثانیه محاسبه شد.



شکل ۸- منحنی‌ها کروئامپروگرام ثبت شده برای ۳۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار ترشیو-بوتیل هیدروکینون در سطح الکتروود اصلاح شده. (B) منحنی‌های کاترل به دست آمده از کروئامپروگرام

فاکتورهای تجزیه ای برای اندازه گیری ترشیو-بوتیل هیدروکینون با استفاده الکتروود اصلاح شده مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور از روش ولتامتری موج مربعی بهره گرفته شده و گستره خطی بین ۰٫۰۵-۴۵۰ میکرومولار با حد تشخیص ۱ نانومولار برای این ترکیب گزارش شد. شکل ۹ منحنی های موج مربعی و گستره خطی سنسور طراحی شده برای آنالیز ترشیو-بوتیل هیدروکینون را نشان می دهد.



شکل ۹- منحنی تغییرات جریان اکسیداسیون ترشیو-بوتیل هیدروکینون در محدوده غلظتی ۰٫۰۵-۴۵۰ میکرومولار. (شکل داخلی) ولتاموگرام موج مربعی مربوط به اکسیداسیون ترشیو-بوتیل هیدروکینون در سطح الکتروود اصلاح شده

در ادامه تکرارپذیری ساخت سنسور با استفاده از سخت ۵ الکتروود اصلاح شده با شیوه یکسان و ثبت سیگنال ترشیو-بوتیل هیدروکینون در سطح آن مورد ارزیابی قرار گرفت. گزارش انحراف استاندارد ۳/۲ برای اندازه گیری ۵۰ میکرومولار ترشیو-بوتیل هیدروکینون در سطح این الکتروودها میزان تکرارپذیری ساخت سنسور را نشان می دهد.

در ادامه به بررسی اثر مزاحمت‌های احتمالی بر روی اکسایش ترشیو-بوتیل هیدروکینون در سطح این الکتروود اصلاح شده پرداختیم. بررسی‌ها نشان می‌دهد که برای غلظت ۴۰/۰ میکرومولار از ترشیو-بوتیل هیدروکینون ۱۰۰۰ برابر از یون‌های لیتیم، کلسیم، پتاسیم، سدیم، برمید، کلرید و منیزیم، ۵۰۰ برابر از متیونین، گلیسین، آلانین، ویتامین بی ۲، والین، هیچ مزاحمتی برای آنالیز ترشیو-بوتیل هیدروکینون ایجاد نموده است.

در نهایت برای بررسی توانایی حسگر پیشنهادی برای آنالیز بنزرآزید در نمونه‌های حقیقی از نمونه های سرم دارویی و ادرار استفاده شد. نتایج بدست آمده با استفاده از روش افزایش استاندارد در جدول ۲ گزارش شده و نشان از توانمندی بالای سنسور پیشنهادی برای آنالیز بنزرآزید دارد. نمونه سرم دارویی پس از خرید از داروخانه بصورت مستقیم و بدون هیچ پیش آماده سازی مورد استفاده قرار گرفت. نمونه ادرار پس از جمع آوری، سانتریفیوژ شده و پس از فیلتر شدن در یخچال قرار گرفت. مقدار مشخصی از آن به بافر اضافه شده و برای آنالیز استفاده شد.

در نهایت برای بررسی توانایی حسگر پیشنهادی برای آنالیز در نمونه‌های حقیقی از روش ولتامتری موج مربعی استفاده شد. برای آنالیز ترشیو-بوتیل هیدروکینون از نمونه‌های روغن گلزا، روغن سوبا و روغن کنجد استفاده شد. داده‌های نتایج در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲: آنالیز ترشیو-بوتیل هیدروکینون در نمونه های حقیقی (هر آزمایش ۳ بار تکرار شده است).

نمونه	مقدار اضافه شده (میکرومولار)	مقدار تعیین شده (میکرومولار)	بازیابی
روغن کنجد	---	$7/45 \pm 0/56$	-----
---	۱۰/۰۰	$17/12 \pm 0/76$	۹۸/۱۰
روغن سوبا	---	$6/45 \pm 0/49$	---
---	۲۰/۰۰	$26/78 \pm 0/97$	۱۰۱/۲۴
روغن گلزا	---	$15/34 \pm 0/67$	---
---	۱۰/۰۰	$25/67 \pm 0/78$	۱۰۱/۳
آب	---	کمتر از حدتشخیص	---
---	۱۰/۰۰	$9/77 \pm 0/76$	۹۷/۷

۴- نتیجه‌گیری

در این کار تحقیقاتی، نانوذرات طلا با استفاده از عصاره گیاه گزنه سنتز شد. در ادامه و با استفاده از این نانوذرات و همچنین مایع یونی ۱-متیل-۳-اکتیل ایمیدازولنیم تترافلوروبورات، اصلاح الکتروکد خمير کربن صورت پذیرفته و سنسور طراحی شده برای آنالیز ترشيو بوتيل هيدروكينون به عنوان یک آنتی اکسیدانت غذایی بکار گرفته شد. سنسور اصلاح شده سیگنال اکسایشی ترشيو-بوتيل هيدروكينون را افزایش داده و با موفقیت برای اندازه‌گیری این ترکیب در گستره خطی بین ۰.۰۵-۴۵۰ میکرومولار با حد تشخیص ۱ نانومولار بکار گرفته شد.

۵- مراجع

- [1] F. Karimi, A.F. Shojaei, K. Tabatabaeian, S. Shakeri, *Journal of Molecular Liquids* **242** (2017) 685
- [2] H. Karimi-Maleh, M.R. Ganjali, P. Norouzi, A. Bananezhad, *Materials Science and Engineering: C* **73** (2017) 472.
- [3] D.R. Thevenot, K. Toth, R.A. Durst, G.S. Wilson, *Pure Appl. Chem.* **71** (12) (1999) 2333.
- [4] R. Pour, H. Ali, M. Behpour, M. Keshavarz, *J. Nanostructures* **6** (3) (2016) 235.
- [5] H. Karimi-Maleh, A.L. Sanati, V.K. Gupta, M. Yoosefian, M. Asif, A. Bahari, *Sensors and Actuators B: Chemical* **204** (2014) 647.
- [6] M.L. Yola, V.K. Gupta, Tanju Eren, A.E. Şen, N. Atar, *Electrochimica Acta* **120** (2014) 204.
- [7] A.K. Jain, V.K. Gupta, B.B. Sahoo, L.P. Singh, *Analytical Proceedings including Analytical Communications* **2** (1995) 99
- [8] S. Cheraghi, M.A. Taher, H. Karimi-Maleh, *J. Food Compos. Anal.* **62** (2017) 254.
- [9] P. Prieto, M. Pineda, M. Aguilar, *Analytical Biochemistry*, **269** (1999) 337.
- [10] H. Yin, Y. Zhou, X. Meng, T. Tang, S. Ai, L. Zhu, *Food Chemistry*, **127** (2011) 1348.
- [11] R. Schuster, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* **431** (1988) 271.
- [12] B.F. Kenney, *Journal of Chromatography A* **546** (1991) 423.
- [13] D. Citak, M. Tuzen, *Food and Chemical Toxicology*, **48** (2010) 1399.
- [14] O. Akyıldırım, F. Kardaş, M. Beytur, H. Yüksek, N. Atar, M.L. Yola, *J. Mol. Liq.* **243** (2017) 677.
- [15] F. Tahernejad-Javazmi, M. Shabani-Nooshabadi, H. Karimi-Maleh, *Composites Part B* **172** (2019) 666.
- [16] R. Emamian, M. Ebrahimi, H. Karimi-Maleh, *Journal of The Electrochemical Society*, **165** (2018) B762.
- [17] M. Bijad, H. Karimi-Maleh, M.A. Khalilzadeh, *Food Anal. Methods* **6** (2013) 1639.