

استخراج و اندازه گیری سم دیازینون به وسیله نانوذرات NiZnS-C با تکنیک ریز استخراج به کمک امواج فراصوت و طراحی آزمایش از آبهای محیطی به کمک HPLC-UV

سعید خدادوست^{*۱}

saeid.kh64@gmail.com

محمد شریف طالبیان پور^۲

تاریخ پذیرش: ۹۹/۴/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۱/۶

چکیده

زمینه و هدف: ترکیبات اورگانوفسفره اساس بسیاری از سموم و گازهای شیمیایی جنگی می‌باشند. سموم فسفره آلی دسته ای از مواد شیمیایی هستند که عموماً بعنوان بازدارنده های کولین استراز عمل می‌کنند و بواسطه عملکرد بسیار موثرشان در مقابل حشرات کاربرد گسترده‌ای در کشاورزی دارند. هدف اصلی این تحقیق ارائه یک روش استخراج جدید سم دیازینون از آبهای محیطی است. **روش بررسی:** در این تحقیق نانو ذرات NiZnS نشانده شده بر روی کربن فعال سنتز شدند و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن با تکنیک‌های XRD، FT-IR، TEM تعیین شدند. نانو مواد با میانگین اندازه ۴۵ نانومتر توسط روش ریزاستخراج براساس پخش نانو مواد نانو-کمک شده با امواج فراصوت برای استخراج سم دیازینون در نمونه‌های آبهای محیطی (بهار سال ۱۳۹۹) قبل از اندازه گیری با دستگاه HPLC-UV به کار گرفته شد. مقادیر بهینه متغیرهای اثر گذار بر روش استخراج توسط روش طرح مرکب مرکزی مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: روش بهینه سازی شده ریزاستخراج براساس پخش نانو مواد نانو-کمک شده با امواج فراصوت جفت شده با HPLC-UV برای اندازه گیری مقادیر ناچیز دیازینون در نمونه‌های آبی به کار گرفته شده است. مزایای روش پیشنهادی بر اساس نانو مواد جدید شامل آسانی نسبی، ساده بودن و ارزان بودن روش سنتز، سریع و راحت بودن عمل استخراج، امکان پذیری برای نمونه‌های با حجم بالا، حساسیت، دقت و صحت بالا در پیش تغلیظ و اندازه گیری دیازینون است.

بحث و نتیجه گیری: در شرایط بهینه مقدار ۱۵/۵ میلی گرم از نانو ذرات NiZnS-C، ۵/۵ دقیقه زمان اختلاط و ۵/۵ دقیقه زمان اعمال فراصوت حاصل شد. ارقام شایستگی روش شامل دامنه خطی در محدوده $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ - 0.001 با حد تشخیص $0.0005 \mu\text{g mL}^{-1}$ و انحراف استاندارد کمتر از ۶ درصد بوده است.

واژه های کلیدی: طرح مرکب مرکزی، دیازینون، روش ریزاستخراج براساس پخش نانو مواد نانو-کمک شده با امواج فراصوت، HPLC-UV.

۱ - دانشیار گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، بهبهان، ایران. * (مسئول مکاتبات)

۲ - دانشیار گروه فارماکولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران.

Extraction and Determination of Diazinon Poison by NiZnS-C Nanoparticles by Ultrasound Microextraction and Experimental Design from Environmental Waters

Saeid Khodadoust^{1*}

saeid.kh64@gmail.com

Mohammad Sharif Talebiyanpour²

Admission Date: July 11, 2020

Date Received: January 26, 2020

Abstract

Background and Objective: Organophosphates are the basis of many pesticides and chemical warfare agents. Organophosphorus pesticides (OPPs) are a class of chemicals that generally act as cholinesterase inhibitors and have been widely used in agriculture due to their high efficiency as insecticides. The main purpose of this study is to present a new method for extracting diazinon toxin from ambient water.

Material and Methodology: In this research NiZnS nonmaterial supported on the activated carbon synthesized and characterized with various method including XRD, FT-IR and TEM. Then these nanomaterials with 45 nm average particle size was applied for extraction of diazinon pesticide based on dispersive nano solid material-ultrasound assisted microextraction (DNSUAME) from environmental water samples prior to HPLC-UV. The optimum effective variables on the extraction yields were investigated by central composite design.

Findings: The optimized DNSUAME combined with HPLC-UV allowed quantification of trace levels of diazinon in the water samples. The advantages of the proposed method based on the new nanomaterial include simple, and inexpensive synthesis method; rapid and convenient extraction operation, feasibility for large-volume samples, high sensitivity, and precision and accuracy in preconcentration and determination of diazinon.

Discussion and Conclusion: At optimum conditions values of variables set as 15.5 mg of NiZnS-AC, 5.5 min vortex and 5.5 min sonication time. At optimum conditions method has linear response over 0.001-10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ with detection limit 0.0005 $\mu\text{g mL}^{-1}$ with relative standard deviations (RSDs) less than 6 % (n=6).

Keywords: Central Composite Design, Diazinon, Dispersive Nano Solid Material-Ultrasound Assisted Microextraction, HPLC-UV.

1- Associate Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran. * (Corresponding Author)

2- Associate Professor, Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran.

مقدمه

از طرفی دیگر در سالهای اخیر، به واسطه خواص منحصر به فرد مواد نانو (مانند خواص مکانیکی، الکتریکی، حرارتی، ظرفیت جذب بالا و مساحت سطح ویژه بسیار بالا) استفاده از آن در روش‌های استخراج توسعه یافته است. گواه این مدعا نیز توسعه روش استخراج فاز جامد مغناطیسی می‌باشد (۱۰). در این مطالعه از نانو ذرات نیکل روی سولفید نشانده شده بر روی کربن فعال (NiS:Zn-C) به عنوان یک جاذب جدید برای استخراج سموم فسفره از محیط آبی استفاده شده است. در این روش نانو ذرات NiS:Zn-C به وسیله اختلاط گر ورتکس و امواج فراصوت به منظور جذب سم دیازینون توسط نانو ذرات در محیط آبی پخش شدند، سپس آنالیت‌های جذب شده روی نانو ذرات شسته شده و برای اندازه‌گیری به دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) تزریق شدند. در واقع این روش که میکرو استخراج پخش نانو ذرات کمک شده با امواج فراصوت نامیده شده، به عنوان یک روش جدید از مزایایی مانند عملکرد آسان، سریع بودن، حساسیت بالا و دامنه خطی بالا برای اندازه‌گیری سموم کاربامات‌ها برخوردار است. ضمن این که این روش امکان به کارگیری نانو ذرات غیر مغناطیسی در روش‌های استخراج را به وجود آورده است. در این مطالعه اثر متغیرهای مانند مقدار نانو ذرات، مدت زمان اعمال ورتکس، زمان و دمای امواج فراصوت، قدرت یونی و pH محیط آبی، نوع و حجم حلال شوینده مورد بررسی و بهینه سازی قرار گرفت. در این پژوهش روش سطح پاسخ برای مطالعه شناسایی متغیرهای موثر و بهینه سازی مقادیر آنها مورد استفاده قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

دستگاه‌ها

محلول استوک سم دیازینون با غلظت ۲۰۰/۰ میکروگرم بر میلی لیتر با انحلال ۲۰/۰ میلی گرم از ماده استاندارد آن‌ها در ۱۰۰/۰ میلی لیتر متانول تهیه شد و در دمای ۴°C نگهداری در یخچال نگهداری شد. محلول‌های مورد نظر با رقیق کردن

ترکیبات اورگانوفسفره اساس بسیاری از سموم و گازهای شیمیایی جنگی می‌باشند. سموم فسفره آلی^۱ دسته‌ای از مواد شیمیایی هستند که عموماً به عنوان بازدارنده‌های کولین استراز عمل می‌کنند و به واسطه عملکرد بالایشان در مقابل حشرات کاربرد گسترده‌ای در کشاورزی دارند (۱). تخریب آهسته سموم در محیط زیست و استفاده زیاد و نامناسب کشاورزان از این سموم می‌تواند سبب آلودگی‌های زیست محیطی شود (۲). سموم فسفره آلی به عنوان یک ماده مخدر اعصاب شناخته شده و می‌توانند عملکرد استیل کولین که یک انتقال دهنده عصبی است را مختل نمایند (۳). بنابراین بقایای چنین ترکیباتی در آب‌های سطحی و زیر زمینی یک خطر بالقوه برای سلامتی انسان و دیگر موجودات زنده می‌باشد (۴). به هر حال با توجه به غلظت بسیار اندک سموم فسفره آلی در آب‌های محیطی ضروری است که قبل از اندازه‌گیری این ترکیبات در نمونه‌های آبی یک مرحله آماده‌سازی و پیش تغلیظ صورت گیرد. استخراج مایع-مایع^۲ (LLE) روشی است که به طور سنتی برای استخراج این ترکیبات به کار برده می‌شود. این روش وقت گیر بوده و حجم زیادی از حلال‌های آلی سمی را مصرف می‌کند (۵). استخراج فاز جامد^۳ (SPE) برای پیش تغلیظ N-متیل کاربامات‌ها از محیط‌های آبی نیز به کار می‌رود. اگر چه این روش نسبت به LLE مقدار حلال کمتری مصرف می‌کند ولی از آنجایی که اغلب جاذب‌های SPE گران قیمت هستند این تکنیک هزینه بر می‌باشد (۶). در سال‌های اخیر توسعه روش‌های استخراج جدید سبب کاهش چشم گیر مصرف حلال‌های آلی در روش‌های استخراج شده است که یکی از این روش‌ها استفاده از امواج فراصوت می‌باشد. امواج فراصوت از طریق ایجاد حفرات سبب انتقالات شیمیایی و فیزیکی می‌شوند. در واقع هنگام اعمال فشار منفی زیاد به مایعات سبب ایجاد حفره در آن می‌شود (۷-۹).

1- Organophosphorus pesticides (OPPs)

2- Liquid- liquid extraction

3- Solid phase extraction

بر روی کربن فعال برای مدت ۱۰ ساعت در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد در آون خشک شد.

روش ریز استخراج پخشی نانو ذرات کمک شده با امواج

فراصوت

در ابتدا ۱۵/۵ میلی گرم از نانو ذرات NiS:Zn نشانده شده بر روی کربن فعال به یک ظرف شیشه ای در بسته حاوی ۳ میلی لیتر محلول آبی با غلظت ۰/۱ میکرو گرم بر میلی لیتر از دیازینون اضافه گردید. سپس به منظور پخش نانو ذرات در محیط آبی، مخلوط مورد نظر به مدت ۵/۵ دقیقه تحت شرایط ورتکس قرار گرفت. در گام بعدی برای تکمیل فرایند استخراج دیازینون، ظرف شیشه‌ای بالا در حمام امواج فراصوت قرار داده شد. بعد از اتمام فرایند استخراج درب ظرف شیشه‌ای برداشته شده و محتویات درون آن از سمت قسمت باریک آن به یک پیپت شیشه ای دیگر (با انتهای بسته شده با صافی چند لایه) منتقل گردید. پیپت شیشه‌ای دوم نیز از همان قسمت دارای صافی از طریق یک رابط پلاستیکی به یک لوله آزمایشی دارای بازوی جانبی متصل شده است. لوله آزمایش نیز از طریق یک شیلنگ به پمپ خلا متصل شد. در واقع به کمک نیروی مکش پمپ خلا نانو ذرات حاوی سم دیازینون استخراج شده از فاز محلول آبی جدا گردید. نانو ذرات در قسمت بالای صافی باقی مانده و محلول آبی با کمک نیروی مکش پمپ خلا به لوله آزمایش منتقل گردید. با دور ریختن محلول آبی و شستن و خشک کردن لوله آزمایش و جای گذاری دوباره آن، نانو ذرات حاوی آنالیت‌های هدف با ۱/۰ میلی لیتر استون شستشو شد. حلال شوینده استون حاوی آنالیت‌های هدف از طریق بازوی جانبی لوله آزمایش حاوی آن‌ها هدف به یک ظرف کوچک منتقل شده و بعد از تبخیر استون موجود در آن باقی مانده‌ها در ۲۵ میکرو لیتر متانول حل شده و ۱۰ میکرو لیتر از آن به دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا تزریق گردید.

محاسبه درصد بازیابی استخراج

به منظور رسیدن به شرایط بهینه استخراج، درصد بازیابی استخراج به عنوان پاسخ آزمایشی بر طبق فرمول زیر به دست می آید. در واقع درصد بازیابی استخراج بصورت درصد کل

مناسب محلول های استوک به وسیله آب دوبار تقطیر یون زدایی شده تهیه شدند.

مواد شیمیایی

برای تعیین اندازه نانو ذرات از دستگاه میکروسکوب تونلی روبشی (TEM) مدل JEM-100CX ساخت شرکت هیتاچی^۱ ژاپن استفاده شد. برای بررسی ریخت شناسی نانو ذرات از دستگاه میکروسکوب الکترونی عبوری (SEM) ساخت شرکت هیتاچی ژاپن مدل S4160 با ولتاژ شتاب دهنده ۱۵ کیلو ولت استفاده شد. برای بررسی ساختار نانو ذرات و تعیین اندازه آن‌ها از دستگاه تفرق پرتو ایکس (XRD) ساخت شرکت فیلیپس^۲ ژاپن استفاده شد. برای تکمیل فرایند استخراج از دستگاه فراصوت مدل GAZ SPA ساخت شرکت تکنو ایتالیا استفاده شد. برای پخش نانو ذرات در محیط آبی از دستگاه ورتکس ساخت آلمان استفاده شد. برای کنترل و تنظیم pH محلول‌ها از دستگاه pH متر مدل ۷۳۰ ساخت شرکت اینولب آلمان استفاده گردید و از دستگاه HPLC مدل smartline شرکت KNAUER ساخت آلمان برای آنالیز مقادیر دیازینون استفاده شد. برای محاسبه مساحت سطح نانوذرات از دستگاه بت (BET) مدل TriStar II 3020 ساخت آمریکا همراه با گاز نیتروژن به عنوان جذب شونده استفاده گردید.

سنتر نانو ذرات NiS:Zn-C

نانو ذرات NiS:Zn بر اساس واکنش ۶ میلی‌لیتر روی استات یک مولار و ۶ میلی‌لیتر نیکل استات (یک آبه) یک مولار با ۱۵ میلی‌لیتر محلول دی سدیم اتیلن تترا استیک اسید (Na₂EDTA) ۰/۲ مولار در pH برابر ۶/۰ (کنترل و تنظیم با سدیم هیدروکسید) انجام شد. در مرحله بعدی ۳۰ میلی لیتر محلول تیو استامید ۰/۴ مولار اضافه شده و محلول تا حجم ۱۰۰ میلی لیتر رقیق گردید. مخلوط به دست آمده با ۳۰ گرم کربن فعال آمیخته و مدت ۸ ساعت در ۸۰ درجه سانتی گراد نگهداشته شد. نانو ذرات به دست آمده NiS:Zn نشانده شده

1- Hitachi Co

2- Philips

اساس عرض پهنا در نصف ماکزیمم پیک (۱۱۱) و بکارگیری معادله دبای- شرر مقدار میانگین نانو ذرات ۴۵ نانو متر تخمین زده شد. در شکل ۲ طیف مادون قرمز نانو ذرات NiS:Zn تثبت شده بر کربن فعال برای مشخص شدن گروه های عاملی نشان داده شده است. همان گونه که در شکل نشان داده شده است یک باند جذبی در 3436 cm^{-1} حضور گروه هیدروکسیل را تایید می‌کند. پیک‌های مشاهده شده در 2923 cm^{-1} و 2852 cm^{-1} را می‌توان به گروه C-H نسبت داد. پیک‌های مشاهده شده در 1631 cm^{-1} و 1118 cm^{-1} را به ترتیب می‌توان به حضور گروه C=O و C-O نسبت داد. همچنین دو پیک مشاهده شده در $700-600 \text{ cm}^{-1}$ مشخص کننده اتصال اتم‌های S و O به فلزات نیکل و روی می‌باشد.

یکی از مواردی که در مطالعه نانوذرات نقش اساسی ایفا می‌کند، تعیین اندازه آن‌ها می‌باشد. استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) یکی از روش‌های موثر در تعیین اندازه ذرات می‌باشد که می‌تواند اطلاعات کمی و کیفی مفیدی را در اختیار ما قرار دهد. در شکل ۳ تصویر TEM نانو ذرات NiS:Zn تهیه شده در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد آورده شده است که اندازه نانو کریستالی تخمین زده شده از داده‌های XRD را تایید می‌کند.

آنالیت استخراج شده در فاز نهایی استخراج (n_{sed}) به کل آنالیت در فاز آبی (n_0) می‌باشد.

$$ER\% = n_{\text{sed}}/n_0 \times 100 = (C_{\text{sed}} \times V_{\text{sed}}/C_0 \times V_0) \times 100$$

که در آن C_0 و C_{sed} به ترتیب غلظت سم در فاز ته نشین شده و آبی بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر می‌باشد. C_{sed} (میکروگرم بر میلی لیتر) از طریق منحنی درجه بندی به دست آمده از تزریق محلول‌های استاندارد محاسبه می‌شود. V_{sed} و V_0 به ترتیب حجم فاز ته نشین و حجم فاز آبی بر حسب میلی لیتر می‌باشد.

طراحی آزمایش

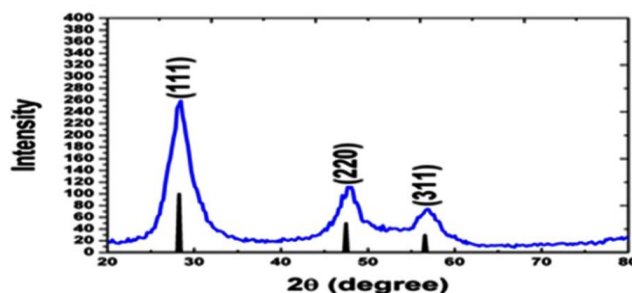
روش‌های طراحی آزمایش برای کاهش تعداد آزمایش‌ها و تعیین همزمان اثرات متغیرها و برهمکنش بین آن‌ها توسعه داده شده‌اند. در این پژوهش متغیرهای موثر بر کارایی روش ریز استخراج مایع-مایع پخشی توسط طرح مرکب مرکزی بهینه سازی خواهند شد و یک مدل درجه دوم ریاضی بین متغیرهای مستقل و وابسته ساخته خواهد شد. طرح مرکب مرکزی یکی از مهمترین طرح‌های رایج مورد استفاده برای برازش مدل‌های درجه دوم است که توسط باکس و ویلسون ارائه گردیده است (۱۱ و ۱۲).

یافته‌ها

بررسی خصوصیات نانو ذرات نشان داده شده بر روی

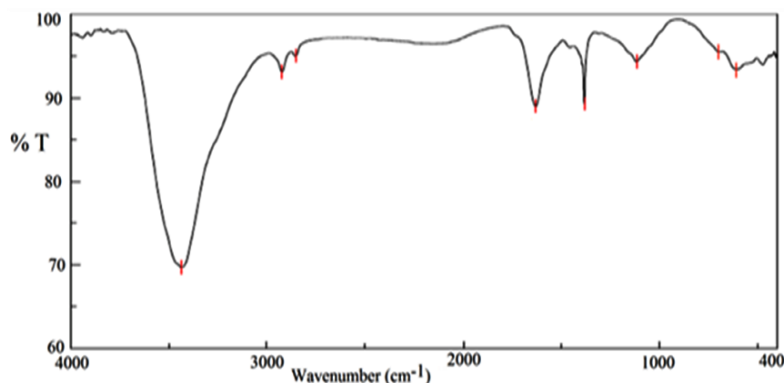
کربن فعال

در شکل ۱ الگوی طیف تفرق پرتو ایکس نانو ذرات NiS:Zn نشان داده شده است. وجود سه پیک پهن در ۱۱۱، ۲۲۰ و ۳۱۱ تایید کننده ساختار مکعبی شبکه نانو ذرات می‌باشد. بر



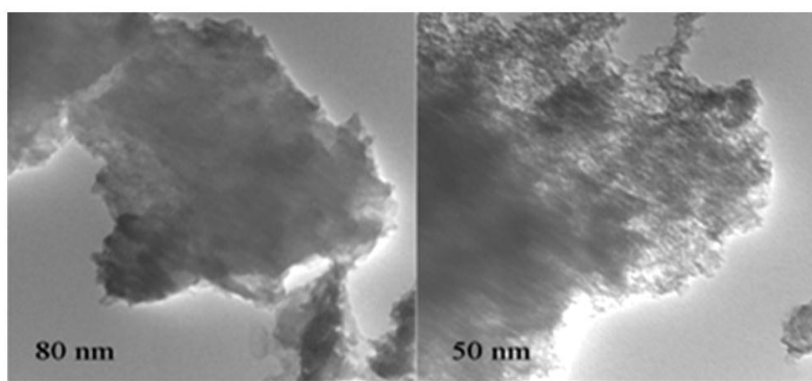
شکل ۱- الگوی XRD نانو ذرات NiS:Zn

Figure 1. XRD pattern of NiS:Zn nanoparticles



شکل ۲- طیف مادون قرمز نانو ذرات NiS:Zn روی کربن فعال

Figure 2. FT-IR spectrum of NiS:Zn on activated carbon



شکل ۳- TEM نانو ذرات NiS:Zn روی کربن فعال

Figure 3. TEM image of NiS:Zn on activated carbon.

انتخاب حلال شوینده

میکرو لیتر متانول با خلوص بالا حل شدند و ۱۰/۰ میکرو لیتر از این نمونه به دستگاه HPLC تزریق گردید. نتایج نشان دادند که از بین سه حلال آزمایش شده، استون بیشترین کارایی و حساسیت را برای شویس آنالیت از سطح نانو ذرات داشته است و بنابراین به عنوان حلال شوینده مناسب برای سم دیازینون در آزمایش‌های بهینه سازی بعدی انتخاب گردید. بعد از انتخاب نوع حلال شوینده، حجم آن نیز می بایست مورد تحقیق قرار گیرد که برای این منظور در مراحل بعدی آزمایش-ها حجم حلال شوینده مورد ارزیابی قرار گرفت.

در جدول ۱ نام متغیرها، کدها و سطوح مربوط به طرح مرکب مرکزی ارائه شده است. روش سطوح پاسخ برای بررسی اثر گذاری سه متغیر انتخاب شده در مرحله قبل بر استخراج

قبل از شروع آزمایش‌های مربوط به طراحی آزمایش، یک سری آزمایش‌های ابتدایی برای انتخاب نوع حلال شوینده مناسب با توانایی شویس کارا و تکرارپذیر سم جذب شده بر سطح نانو ذرات انجام گرفت. برای این منظور روش میکرو استخراج نانو ذرات پخش شده کمک شده با امواج فراصوت برای استخراج ۰/۰۲۵ میکرو گرم بر میلی لیتر دیازینون از ۳/۰ میلی لیتر محلول آبی به کار گرفته شد. بعد از انجام مراحل استخراج، برای واجذب آنالیت هدف از سطح نانو ذرات NiS:Zn-C، این نانو ذرات با ۱/۰ میلی لیتر از حلال های مختلف شامل استونیتریل، استون و متانول مورد عمل شویس و در یک ظرف کوچک جمع آوری شدند. در گام بعدی با دمیدن گاز نیتروژون حلال‌های گفته شده تبخیر و آنالیت ته نشین شده در ۲۵

مناسب می‌باشد. در این طراحی اثرات اصلی، اثرات بر همکنش-ها و اثرات درجه دوم ارزیابی و بهینه سازی شدند. مهمترین اثرات و برهمکنش‌های متغیرها توسط آنالیز واریانس انجام گرفت (جدول ۲). مقدار p کمتر از ۰/۰۵ در جدول آنالیز واریانس نشان دهنده معنادار بودن متغیرها در سطح اطمینان ۹۵ درصد است. بنابراین در جدول آنالیز واریانس پارامترهای که مقدار P آنها کمتر از ۰/۰۵ است اثر معناداری بر پاسخ آزمایش داشته و ضرایب اثرگذاری آن‌ها وارد معادله چند جمله-ای می‌گردد.

دیازینون از نمونه‌های آبی به کار گرفته شد. فاکتورهای اصلی مورد پژوهش در این مرحله برای بهبود کارایی استخراج شامل مقدار نانو ذرات (X_1 : g)، زمان ورتکس (X_2 : min) و زمان امواج فراصوت (X_3 : min) بوده است. در ستون آخر جدول ۱ نتایج آزمایش‌ها بر حسب درصد استخراج گزارش شده است. سطوح متغیرها و ماتریس طرح مرکب مرکزی همراه با نتایج آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. در طرح مرکب مرکزی برای جلوگیری از اثر متغیرهای کنترل نشده آزمایش‌ها به صورت تصادفی انجام شدند و نتایج حاصله در جدول ۱ نشان داده شده است. یک طرح ۴ متغیره ۵ سطحی برای تعیین سطوح پاسخ و ساختن یک مدل چند جمله‌ای درجه دوم

جدول ۱- ماتریکس طرح مرکب مرکزی برای استخراج سم دیازینون

Table 1. Central composite design matrix for extraction of diazinon

متغیرها	سطوح			نقاط ستاره‌ای α	
	(-۱) پایین	(۰) مرکز	(+۱) بالا	- α	+ α
(X_1) مقدار جاذب NiZnS-C (mg)	۷/۰	۱۲/۰	۱۷/۰	۳/۶	۲۰/۴
(X_2) زمان ورتکس (min)	۳/۰	۵/۰	۷/۰	۱/۶	۸/۴
(X_3) زمان امواج فراصوت (min)	۳/۰	۵/۰	۷/۰	۱/۶	۸/۴
آزمایش	X_1	X_2	X_3	درصد بازیابی	
۱	-۱	-۱	-۱	۵۶/۸۷	
۲	-۱	-۱	۱	۷۶/۶۹	
۳	-۱	۱	-۱	۶۷/۲۴	
۴	-۱	۱	۱	۸۰/۸۷	
۵	۱	-۱	-۱	۸۷/۴۶	
۶	۱	-۱	۱	۸۲/۸۱	
۷	۱	۱	-۱	۹۱/۷۳	
۸	۱	۱	۱	۸۹/۶۸	
۹	-۱/۶۸۲	۰	۰	۵۸/۸۵	
۱۰	۱/۶۸۲	۰	۰	۹۵/۴۵	
۱۱	۰	-۱/۶۸۲	۰	۷۰/۵۴	
۱۲	۰	۱/۶۸۲	۰	۸۷/۲۵	
۱۳	۰	۰	-۱/۶۸۲	۷۵/۱۵	
۱۴	۰	۰	۱/۶۸۲	۹۳/۶۲	
۱۵(c)	۰	۰	۰	۹۰/۹۴	
۱۶(c)	۰	۰	۰	۸۹/۸۱	

جدول ۲- آنالیز واریانس طرح مرکب مرکزی برای استخراج دیازینون

Table 2. ANOVA for central composite design for extraction of diazinon

منبع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار F	مقدار p
X_1	۱۲۶۷/۲۷۶	۱	۱۲۶۷/۲۷۶	۱۹۸۴/۹۲۶	۰/۰۱۴
X_2	۲۱۱/۸۸۹	۱	۲۱۱/۸۸۹	۳۳۱/۸۸۰	۰/۰۳۴
X_3	۲۴۴/۷۴۲	۱	۲۴۴/۷۴۲	۳۸۳/۳۳۸	۰/۰۳۲
X_1^2	۲۰۹/۷۷۶	۱	۲۰۹/۷۷۶	۳۲۸/۵۷۰	۰/۰۳۵
X_2^2	۱۵۸/۷۷۱	۱	۱۵۸/۷۷۱	۲۴۸/۶۸۱	۰/۰۴۰
X_3^2	۴۴/۷۸۰	۱	۴۴/۷۸۰	۷۰/۱۳۹	۰/۰۷۶
$X_1 X_2$	۱/۴۵۴	۱	۱/۴۵۴	۲/۲۷۷	۰/۳۷۳
$X_1 X_3$	۲۰۱/۵۰۳	۱	۲۰۱/۵۰۳	۳۱۵/۶۱۳	۰/۰۳۶
$X_2 X_3$	۱/۶۱۱	۱	۱/۶۱۱	۲/۵۲۳	۰/۳۵۸
نقص در برازش	۵۰/۷۱۰	۵	۱۰/۱۴۲	۱۵/۸۸۵	۰/۱۸۸
خطای خالص	۰/۶۳۸	۱	۰/۶۳۸		
کل مجموع مربعات	۲۲۴۳/۴۰۹	۱۵			

کند. منحنی‌های سطوح پاسخ برای طرح مرکب مرکزی استخراج دیازینون در شکل ۴ نشان داده شده است. وجود انحنای در این منحنی‌ها نشان دهنده برهمکنش بین متغیرها می‌باشد. در شکل ۴-الف دیده می‌شود که در مقادیر کم جاذب و زمان ورتکس، حدود ۳۰ درصد استخراج به دست آمده، در حالی که با افزایش مقادیر آن‌ها درصد استخراج نیز تا ۹۵ درصد افزایش پیدا کرده است. همین روند نیز در شکل ۴-ب برای مقدار جاذب نسبت به مدت زمان امواج فراصوت قابل مشاهده است. در شکل ۴-ج مشاهده می‌گردد که حتی در مدت زمان بالای امواج فراصوت، اگر مدت زمان ورتکس کافی نباشد، به دلیل این که نانو ذرات در محیط پخش نشده‌اند درصد استخراج (حدود ۶۵ درصد) چندان مناسب نخواهد بود. به طور کلی این منحنی‌ها بیانگر این واقعیت هستند که در مقادیر کم نانو ذرات و زمان‌های ورتکس و امواج فراصوت کم، مقدار بازیابی استخراج نیز اندک است. دلیل این امر به این واقعیت بر می‌گردد که در مقادیر کم جاذب، مساحت سطح کافی برای جذب دیازینون وجود نخواهد داشت و در نتیجه مقدار بازیابی استخراج کاهش خواهد یافت. همچنین در مقادیر کم زمان‌های ورتکس و امواج فراصوت زمان کافی برای پخش نانو ذرات در

ملاک برای معنا دار بودن نتایج هر پارامتر در جدول مقدار p کمتر از ۰/۰۵ می‌باشد و از نتایج به دست آمده یک مدل درجه دوم ساخته شده است. در جدول ۲ مقدار p مربوط به پارامتر نقص در برازش مدل (LOF^1) (نشان دهنده پراکندگی داده‌ها می‌باشد) بیشتر از ۰/۱۸۸ بوده و بیانگر سازگاری خوب مدل با داده‌های تجربی است. اگر مدل با داده‌ها متناسب نباشد، این پارامتر معنا دار می‌شود. همچنین کیفیت مدل برازش شده با ضرایب همبستگی $R^2 = ۰/۹۹۷$ و $Adj R^2 = ۰/۹۴۳$ تعیین می‌شود. R^2 اندازه‌ای از مقدار انحراف‌های حول میانگین توضیح داده شده توسط مدل می‌باشد. مقادیر بزرگتر و نزدیک $Adj R^2$ به R^2 نشان دهنده ارتباط خوب بین مقادیر تجربی و مدل برازش شده است.

$$ER\% = ۹۰/۴۱ + ۹/۶۴ X_1 + ۳/۹۴ X_2 + ۴/۲۳ X_3 - ۴/۷۷ X_1^2 - ۴/۱۴ X_2^2 - ۵/۰۲ X_1 X_2$$

حل خوب و با موفقیت این معادله بر طبق تابع مطلوبیت این امکان را برای ما میسر می‌کند که کارایی روش پیشنهاد شده برای استخراج کامل دیازینون و اندازه‌گیری دقیق آن را پیدا

1- Lack of fit

مرکب مرکزی با تابع مطلوبیت می‌تواند روش سودمندی در بهینه‌سازی متغیرهای موثر بر استخراج سم دیازینون از محیط های آبی باشد. همان طور که از شکل ۵ پیداست با افزایش مقدار جاذب تا ۱۵/۵ میلی‌گرم درصد استخراج افزایش یافته، اما در مقادیر بالاتر از آن به دلیل عدم پخش خوب نانو ذرات توسط ورتکس و امواج فراصوت کارایی استخراج اندکی کاهش می‌یابد. همچنین در مقادیر بالاتر از ۵/۵ دقیقه برای ورتکس و امواج فراصوت به دلیل برگشت احتمالی سموم جذب شده در اثر برخورد ذرات در مرحله ورتکس و تبخیر یا تجزیه شدن در مرحله امواج فراصوت، کارایی استخراج اندکی کاهش خواهد یافت.

کارایی روش میکرو استخراج نانوذرات پخش شده کمک شده با امواج فراصوت

مجموعه‌ای از محلول‌های دیازینون در شش سطح غلظتی برای تعیین منحنی درجه بندی فراهم شد و در شرایط بهینه (سه آزمایش تکراری) انجام و میانگین آن‌ها مورد استفاده قرار گرفت و نتایج حاصل کارایی تجزیه ای آن در جدول ۳ گزارش شده است. همان طور که از داده‌های جدول پیداست، روش ریزاستخراج نانو ذرات پخش شده به کمک امواج فراصوت پاسخ خطی در گستره ۱۰-۰/۰۰۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر با حد تشخیص ۰/۰۰۱۵ میکرو گرم بر میلی لیتر با ضریب همبستگی ۰/۹۹۸ در نمونه‌های آبی دارد. آزمایش‌های مربوط به تکرارپذیری برای هر ترکیب تحت شرایط بهینه استخراج در غلظت ۰/۰۱ میکروگرم بر میلی لیتر با سه آزمایش موازی مورد تحقیق قرار گرفت. نتایج تکرارپذیری دیازینون که با انحراف استاندارد نسبی بیان می‌شود و در جدول ۳ هم مشاهده می‌شود ۴/۸ درصد به دست آمد. این نتایج نشان می‌دهند که روش پیشنهاد شده حساسیت و تکرارپذیری قابل قبولی دارد.

به منظور بررسی بازآوری نانو ذرات NiZnS-C در استخراج های مجدد ترکیبات سم دیازینون، این نانو ذرات بعد از استفاده مورد عمل بازآوری قرار گرفتند و نتایج به دست آمده نشان داد که این نانو ذرات می‌توانند حداقل ۵ بار بدون کاهش معنی‌دار در توانایی جذب مورد استفاده مجدد قرار گیرند.

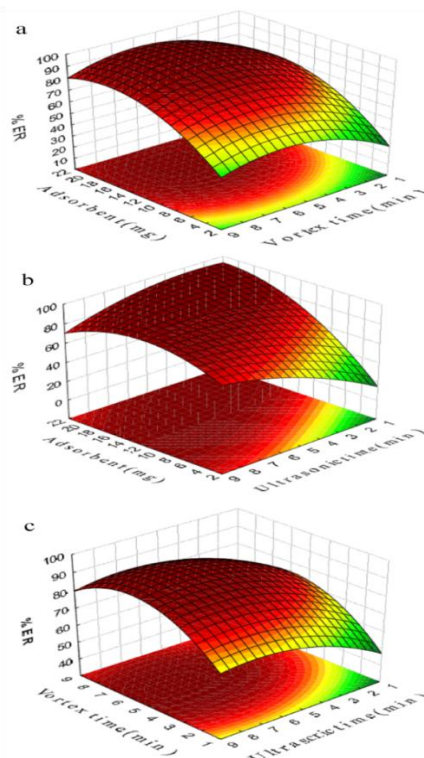
محیط آبی و انتقال جرم گونه‌ها از محیط آبی به سطح فاز جامد (نانو ذرات) وجود ندارد. با یک نگاه کلی به منحنی‌های سطوح پاسخ در شکل ۴ می‌توان نتیجه گرفت که در مناطق با مقادیر نانو ذرات، زمان ورتکس و زمان امواج فراصوت به ترتیب بین ۱۸-۱۲ میلی گرم، ۷-۵ دقیقه و ۷-۵ دقیقه، مقدار بازیابی استخراج افزایش می‌یابد.

بحث

بهینه سازی طرح مرکب مرکزی با تابع مطلوبیت

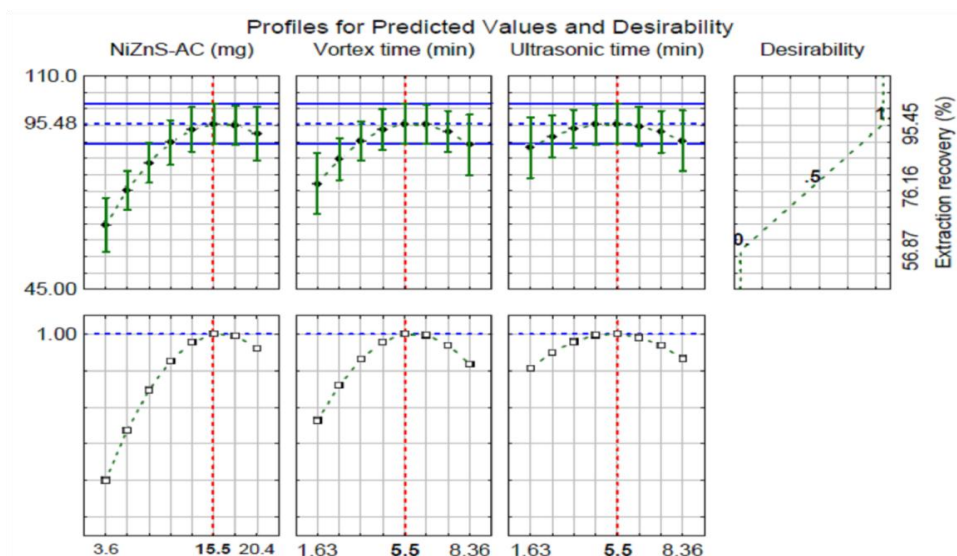
پروفایل مطلوبیت پاسخ‌ها شامل ویژه کردن تابع مطلوبیت برای هر متغیر با تعیین مقادیر پیش بینی در دامنه صفر (نامطلوب) تا یک (خیلی مطلوب) می‌باشد. نتایج طرح مرکب مرکزی در جدول ۱ نشان می‌دهد که ماکزیمم درصد استخراج دیازینون ۹۵/۴۵ درصد و مینیمم آن ۵۶/۸۷ درصد می‌باشد. بر طبق این نتایج تابع مطلوبیت برای هر متغیر تنظیم می‌شود که در سمت راست شکل ۵ نشان داده شده است که در آن مطلوبیت یک برای بیشترین مقدار ۹۵/۵۴، مقدار صفر برای کمترین مقدار ۵۶/۸۷ و مقدار ۰/۵ برای میانگین نتایج یعنی ۷۶/۱۶ درصد تنظیم شده است.

در قسمت پایین سمت راست شکل ۵ مطلوبیت برای هر کدام از متغیرها نشان داده شده است، در حالی که مقدار مطلوبیت یک به عنوان مقدار هدف در نظر گرفته می‌شود. با توجه به این مطلب خط چین عمودی مقادیر بهینه هر متغیر را مشخص می‌کند. چنین منحنی‌های به ما اجازه می‌دهند که تغییرات هر متغیر که همزمان بر پاسخ استخراج اثر گذار باشد قابل ارزیابی باشد. بر اساس چنین محاسباتی و معیار مطلوبیت یک، مقدار درصد استخراج سم دیازینون با متغیرهای بهینه سازی شده در مقادیر ۱۵/۵ میلی‌گرم نانو ذرات، ۵/۵ دقیقه زمان ورتکس، ۵/۵ دقیقه زمان امواج فراصوت، ۹۵/۴۸ درصد پیش بینی شده است. برای بررسی صحت و دقت این پیش بینی‌ها ۳ آزمایش تکراری در این نقاط بهینه شده انجام شد و نتایج قابل قبولی نسبت (انحراف استاندارد نسبی کمتر از ۵ درصد) به مقدار پیش بینی شده به دست آمد. نتایج نشان دادند که ترکیب طرح



شکل ۴- رویه‌های پاسخ به دست آمده در طرح مرکب مرکزی در روش ریزاستخراج پخش نانو ذرات کمک شده با امواج فراصوت، الف-مقدار جاذب - زمان ورتکس، ب-مقدار جاذب - زمان امواج فراصوت، ج- زمان ورتکس - زمان امواج فراصوت.

Figure 4. Obtained response surface in central composite design in ultrasound assisted microextraction, a- adsorption amount - vortex time, b- adsorption amount - ultrasonic time, c- vortex time - ultrasonic time.



شکل ۵- مقادیر بهینه بر اساس تابع مطلوبیت در روش ریزاستخراج پخش نانو ذرات کمک شده با امواج فراصوت

Figure 5. Optimum values according to DF in ultrasound assisted microextraction

جدول ۳- نتایج کارایی روش ریزاستخراج پخش نانو ذرات کمک شده با امواج فراصوت برای استخراج دیازینون

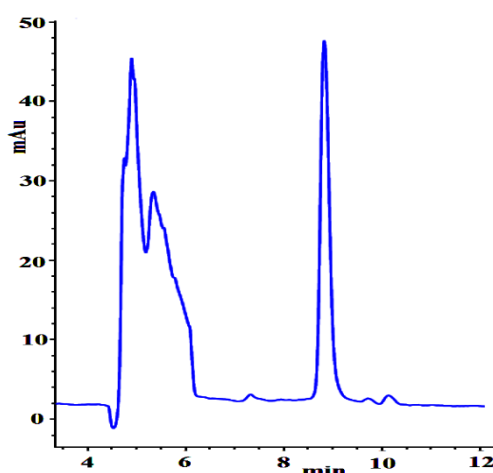
Table 3. Significant figures of ultrasound assisted microextraction for extraction of diazinon

آنالیت	r^2	حد تشخیص ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	دامنه خطی ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	RSD (n=3)
دیازینون	۰/۹۹۸	۰/۰۰۱۵	۰/۰۰۵۰-۱۰	۴/۸

آنالیز نمونه های حقیقی آب

نمونه‌های آبی مورد آزمایش با انحراف استاندارد نسبی کمتر از ۵ درصد بین ۹۸/۷۵ - ۸۹/۲۲ درصد بوده است که کارایی بالای روش را نشان می‌دهد. در شکل ۶ نیز یک نمونه کروماتوگرام دیازینون استخراج شده از آب رودخانه بعد از اضافه کردن محلول استاندارد از سم دیازینون در غلظت ۰/۰۰۵ میکروگرم بر میلی لیتر نشان داده شده است. لازم به یادآوری است که در این جدول تمام آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند و نتایج میانگین آنها در جدول ۴ گزارش شده است.

به منظور ارزیابی روش میکرواستخراج نانو ذرات پخش شده به کمک امواج فراصوت، این روش برای آنالیز دیازینون در نمونه‌های آب شهر، آب رودخانه و آب چاه شهرستان بهبهان در بهار سال ۱۳۹۹ مورد ارزیابی قرار گرفت. مقدار بازیابی استخراج دیازینون با اضافه کردن محلول‌های استاندارد دیازینون به محلول‌های آبی در دو سطح غلظتی ۰/۰۰۱ و ۰/۰۱ میکروگرم بر میلی لیتر مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این بررسی (جدول ۴) نشان می‌دهند که مقدار بازیابی استخراج در



شکل ۶- کروماتوگرام سم دیازینون اضافه شده در غلظت ۰/۰۰۵ میکروگرم بر میلی لیتر به آب رودخانه بعد از استخراج

Figure 6. Chromatogram of extraction diazinon ($0.005 \mu\text{g mL}^{-1}$) from river water

جدول ۴- نتایج اندازه‌گیری دیازینون در نمونه های آب

Table 4. Obtained results in water samples

نام روش	حد تشخیص ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	دامنه خطی ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	RSD (n=۶)	Ref
MIP/HPLC-UV	۰/۰۰۳	۰/۰۰۶-۰/۱	۳/۹۳	۱۳
MWCNTs/HPLC	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۱-۰/۰۱	۴/۹	۱۴
SA-DSPE/GC-FID	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۸-۰/۱	۵/۳	۱۵
DNSUAME-HPLC_UV	۰/۰۰۱۵	۰/۰۰۵۰-۱۰	۴/۸	کار حاضر

برای مقایسه، نتایج این پژوهش با چندتا از گزارش علمی منتشر شده در مجلات معتبر در جدول ۵ مورد مقایسه قرار گرفته است و داده های به دست آمده نمایانگر حد تشخیص، دامنه خطی و تکرارپذیری خوب روش پیشنهادی است (۱۳-۱۵).

جدول ۵- مقایسه بین روش پیشنهادی با دیگر روش های گزارش شده

Table 5. Comparison of proposed method with other reported methods

دیازینون			آنالیت	
۰/۱۰	۰/۰۱	۰/۰۰	غلظت اضافه شده ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	
۰/۹۵	۰/۰۹	-	غلظت یافت شده ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	آب شهر
۹۵/۵۴	۹۱/۴۲		درصد بازیابی	
۴/۳۱	۵/۲۲		RSD%	
۰/۹۷	۰/۰۹	-	غلظت یافت شده ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	آب رودخانه
۹۷/۴۱	۸۹/۲۲		درصد بازیابی	
۴/۶۶	۴/۸۵		RSD%	
۰/۹۸	۰/۰۹	-	غلظت یافت شده ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	آب چاه
۹۸/۷۵	۹۳/۴۶		درصد بازیابی	
۴/۴۳	۴/۷۴		RSD%	

نتیجه گیری

در این مطالعه یک روش میکرو استخراج جدید مبتنی بر پخش نانو ذرات فلزی به کمک امواج فراصوت برای استخراج و اندازه گیری سم دیازینون معرفی شد. برای این کار ابتدا نانو ذرات مناسبی سنتز و مورد شناسایی قرار گرفتند و سپس یک طراحی برای شیوه استخراج انجام شد. سپس یک طرح مرکب مرکزی پنج سطحی برای ساختن یک مدل ریاضی چند جمله ای بر اساس داده های تجربی برای بهینه کردن متغیرها مورد استفاده قرار گرفت. مقادیر بهینه متغیرها با به کار گرفتن یک تابع مطلوبیت محاسبه و سپس تمام آزمایش ها مربوط به تعیین رنج خطی، تعیین حد تشخیص و آنالیز نمونه های حقیقی سم دیازینون در مقادیر بهینه پیش بینی شده انجام شد. از مزایای روش پیشنهادی جدید می توان به عملکرد آسان، استفاده نکردن از حلال های کله، ایجاد دامنه کاربرد بیشتر برای نانو ذرات فلزی، حساسیت بالا و دقت و صحت مناسب اشاره کرد.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان کلیه نکات اخلاقی شامل عدم انتشار دوگانه، سرقت ادبی، تحریف داده ها و داده سازی را در این مقاله رعایت کرده اند.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از محل پژوهانه سعید خدادوست عضو هیات علمی دانشگاه در سال ۱۳۹۸ است که با حمایت دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان اجرا شده است.

References

- Gogol, E.V., Evtugyn, G.A., Marty, J.L., Budnikov, H.C., Winter, V.G., 2000. [Amperometric biosensors based on nafion coated screen-printed electrodes for the determination of cholinesterase inhibitors](#), Talanta, Vol, 53, pp. 379–389.
- Choudhary, A., Sharma, D.C. 2008. [Pesticide Residues in Honey Samples](#)

- Talebianpoor, M.S. 2016. Application of an optimized modified stir bar with ZnS nanoparticles loaded on activated carbon for preconcentration of carbofuran and propoxur insecticides in water samples and their HPLC determination, *Rsc Advances*, Vol. 6, pp. 36238-36247.
8. Khodadoust, S., Nasiriani, T., Zeraatpisheh, F. 2018. Preparation of a magnetic molecularly imprinted polymer for the selective adsorption of chlordiazepoxide and its determination by central composite design optimized HPLC, *New Journal of Chemistry*, Vol. 42, pp. 14444-14452.
 9. Liang, P., Wang, F., Wan, Q. 2013. Ionic liquid-based ultrasound-assisted emulsification microextraction coupled with high performance liquid chromatography for the determination of four fungicides in environmental water samples, *Talanta*, Vol. 105, pp. 57-62.
 10. Tahmasebi, E., Yamini, Y., Seidi, S., Rezazadeh, M. 2013, Extraction of three nitrophenols using polypyrrole-coated magnetic nanoparticles based on anion exchange process, *Journal of Chromatography A*, Vol. 1314, pp. 15-23.
 11. Box, G.E.P, Wilson, K.B. 1951. On the experimental attainment of optimum conditions, *Journal of the Royal Statistical Society. Series B*, Vol. 13, pp. 1-45.
 12. Morgan, E. 1991. *Chemometrics: Experimental Design*, Wiley, London.
 13. Davoodi, D., Hassanzadeh-Khayyat, M., Asgharian Rezaei, M., Ahmad Mohajeri, S. 2014. Preparation, evaluation and application of diazinon imprinted polymers as the sorbent in [from Himachal Pradesh \(India\), Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, Vol. 80, pp. 417-422.](#)
 3. [Liu, G., Lin, Y. 2005. Electrochemical Sensor for Organophosphate Pesticides and Nerve Agents Using Zirconia Nanoparticles as Selective Sorbents, Analytical Chemistry, Vol. 77, pp. 5894-5901.](#)
 4. [Adlnasab, L., Ezoddin, M., Shabaniyan, M., Mahjoob, B. 2019. Development of ferrofluid mediated CLDH@Fe₃O₄@Tanic acid- based supramolecular solvent: Application in air-assisted dispersive micro solid phase extraction for preconcentration of diazinon and metalaxyl from various fruit juice samples, Microchemical Journal, Vol. 146, pp. 1-11.](#)
 5. Mayer-Helm, B., Hofbauer, L., Müller, J. 2006. Development of a multi-residue method for the determination of 18 carbamates in tobacco by high-performance liquid chromatography/positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry, *Rapid Communication in Mass Spectrometry*, Vol. 20, pp. 529-536.
 6. Amiri Pebdani, A., Khodadoust, S., Talebianpoor, M.S., Zargar, H.R., Zarezade, V. 2016, Preconcentration and determination of chlordiazepoxide and diazepam drugs using dispersive nanomaterial-ultrasound assisted microextraction method followed by high performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography B*, Vol. 1008, pp. 146-155.
 7. Amiri Pebdani, A., Khodadoust, S., Akbartabar Toori, M., Zarezade, V.,

15. Aladaghlo, Z., Fakhari, A., Behbahani, M. 2016. [Solvent-assisted dispersive solid-phase extraction: A sample preparation method for trace detection of diazinon in urine and environmental water samples](#), [Journal of Chromatography A](#), Vol 14622, pp. 27-34
14. Katsumata, H., Matsumoto, T., Kaneco, S., Suzuki, T., Ohta, K. 2008. Preconcentration of diazinon using multiwalled carbon nanotubes as solid-phase extraction adsorbents, [Microchemical Journal](#), Vol. 88, pp. 82-86.
- molecularly imprinted solid-phase extraction and liquid chromatography analysis in cucumber and aqueous samples, [Food chemistry](#), Vol 158, pp. 421-428.