

اندازه گیری رنگ سنجی یون جیوه توسط خصوصیت شبه آنزیمی نانوکامپوزیت اکسید آهن-نقاط کربنی

محمد رضا حافظی، فاطمه هنر آسا*

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

چکیده: کاتیون جیوه (II) مخاطرات زیادی برای محیط زیست و انسان دارد. بنابراین اندازه گیری کاتیون جیوه (II) از اهمیت خاصی برخوردار است. در این کار از خصوصیت شبه آنزیم پراکسیدازی نانوکامپوزیت اکسید آهن/نقاط کربنی برای اندازه گیری رنگ سنجی کاتیون جیوه (II) استفاده شد. برای انجام این کار، ابتدا نانوکامپوزیت اکسید آهن/نقاط کربنی تهیه شد و سپس مشخصه یابی نانوکامپوزیت توسط روش های طیف سنجی مادون قرمز-تبدیل فوریه و میکروسکوپ الکترونی عبوری انجام شد. سپس با توجه به خصوصیت شبه آنزیم پراکسیدازی نانوکامپوزیت که می تواند اکسیداسیون ۳،۳،۵،۵-تترا متیل بنزیدین (TMB) به کاتیون رادیکال *TMB را در حضور H_2O_2 تسریع کند، یک سنج برای اندازه گیری جیوه (II) با استفاده از سیستمین طراحی شد. با استفاده از روش فوق محدوده دینامیکی و حد تشخیص برای اندازه گیری کاتیون جیوه (II) به ترتیب $3/4 \times 10^{-8}$ تا $3/4 \times 10^{-4}$ و $3/4 \times 10^{-8}$ مولار بدست آمد. روش فوق از تکرارپذیری خوبی برای اندازه گیری کاتیون جیوه (II) برخوردار است.

واژگان کلیدی: کاتیون جیوه (II)، نانوزیم، نانوکامپوزیت اکسید آهن/نقاط کربنی، سیستمین

fa.honarasa@iau.ac.ir

است [۱]. در نتیجه اندازه گیری جیوه از اهمیت خاصی برخوردار است. روش های متداول در اندازه گیری جیوه شامل طیف سنجی نشر نوری-پلاسمای جفت شده القایی، طیف سنج جرمی-پلاسمای جفت شده القایی، طیف سنجی جذب اتمی شعله و همچنین طیف سنجی جذب اتمی شعله الکتروترمال است [۲]. با توجه به ظهور نانومواد، مقالاتی در رابطه با استفاده از این دسته از مواد برای اندازه گیری یون های فلزی مختلف به چاپ رسیده است. علت اصلی علاقمندی به این قبیل تحقیقات، وجود تمایل گروه های سطحی موجود بر روی سطح نانومواد به آنالیت های مختلف است. بنابراین می توان حسگرهایی مبتنی بر انواع نانوذرات را برای تشخیص حساس و انتخابی اهداف مختلف مانند یون های فلزی، آنیون ها، مواد آلی، نانوذرات فلزی، RNA و ...

۱- مقدمه

تشدید فعالیت های بشر در دهه های اخیر منجر به افزایش کلی آلودگی محیط زیست شده است که غالباً به دلیل وجود فلزات و ترکیبات آلی فلزی است. در این رابطه، جیوه به دلیل تحرک بالا و زمان ماندگاری آن در محیط از اهمیت ویژه ای برخوردار است. جیوه یک عنصر سمی است که پس از استنشاق، بلع یا قرار گرفتن در معرض پوست می تواند اختلالات عصبی و رفتاری ایجاد کند. همچنین می تواند منجر به شروع علائمی مانند بی حسی در دست ها و پاها، آسیب شنوایی، مشکل در بیان کلمات و حتی مرگ شود. بنابراین، جیوه توسط سازمان بهداشت جهانی در فهرست ۱۰ ماده شیمیایی یا گروه مواد شیمیایی سمی قرار گرفته

طراحی کرد [۳]. در این راستا حسگرهای رنگ سنجی برای اندازه گیری جیوه نیز معرفی شده اند [۴-۶]. نانوزیمها، نانومواد با خواص آنزیمی هستند که به دلیل پایداری بالا، آماده سازی آسان و ویژگی های کاتالیزوری قابل تنظیم مورد توجه قرار گرفته اند. این دسته از نانومواد، محدودیت های آنزیم های طبیعی مانند شکنندگی، هزینه بالا و تولید انبوه غیرممکن را رفع می کنند [۷]. نانومواد مبتنی بر کربن به دلیل ساختارهای الکترونیکی و هندسی کاملاً تعریف شده آنها، به طور گسترده برای تقلید فعالیت آنزیم مانند توسعه یافته اند [۸-۱۱]. اخیراً هنرآسا و همکاران، نانو کامپوزیت مغناطیسی اکسید آهن/نقاط کربنی را معرفی کردند که خصوصیت شبه آنزیم پراکسیداز دارد [۱۱-۱۳]. این نانو کامپوزیت در واکنش اکسیداسیون تترامتیل بنزیدین (TMB) در حضور هیدروژن پراکسید (H_2O_2) به عنوان کاتالیزور عمل می کند. در طی این واکنش، هیدروژن پراکسید به O_2 کاهش یافته و TMB که یک بستر رنگ سنجی است به TMB^* آبی رنگ که یک کاتیون رادیکال است، تبدیل می شود.

از طرف دیگر، سیستمین به عنوان یک مولکول زیستی آنتی رادیکال می تواند با موفقیت تولید رادیکال کاتیون را به تاخیر بیندازد و از تولید آن به عنوان محصول واکنش آبی رنگ جلوگیری کند. با توجه به این که یون های جیوه میل ترکیبی شدیدی به گروه تیول دارند، مولکول های سیستمین را به دام می اندازند و واکنش اکسایش معمول در حضور نانوزیم و H_2O_2 را تسریع می کنند. علت اصلی این فرایند، تمایل قوی سیستمین به تشکیل پیوند با یون جیوه است. بنابراین می توان با توجه به شدت رنگ تولید شده و اندازه گیری مقدار جذب به روش اسپکتروفوتومتری، غلظت یون جیوه در محیط را تعیین کرد [۶]. در کار حاضر، از نانو کامپوزیت اکسید آهن/نقاط کربنی برای اندازه گیری کاتیون جیوه (II) توسط روش فوق استفاده خواهد شد.

۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد و وسایل

تمامی مواد با خلوص تجزیه ای خریداری شدند. ال-سیستمین از شرکت سیگما و بقیه مواد از شرکت مرک تهیه شدند. سنتز

نانوکامپوزیت اکسید آهن/نقاط کربنی مطابق با آنچه از قبل گزارش شده بود، انجام شد [۱۴]. به طور کلی، پس از تهیه نقاط کربنی از اکسیداسیون دوده شمع و تهیه اکسید آهن توسط روش کاهش جزئی، دو محلول فوق در pH برابر ۲ با نسبت ۱:۴ با یکدیگر مخلوط شدند و پس از گذشت زمان ۳۰ دقیقه، نانو کامپوزیت مغناطیسی اکسید آهن/نقاط کربنی توسط آهن ربا از محلول جدا شد.

اندازه گیری pH محلول ها توسط دستگاه pH متر Gp 353 و ثبت طیف های جذبی توسط دستگاه Hach-DR 5000 انجام شد.

تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری توسط دستگاه Zeiss, EM10C با ولتاژ شتاب دهنده ۸۰ کیلو ولت به دست آمد. همچنین طیف FT-IR توسط FT-IR Spectrum RX I شرکت PerkinElmer ثبت شد.

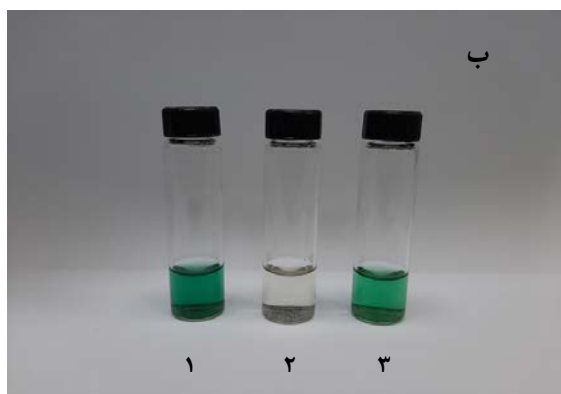
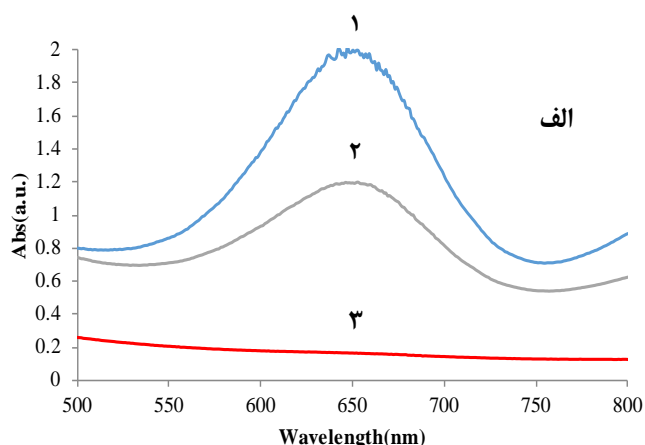
۲-۲- روش انجام آزمایش

یک سری محلول توسط اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر TMB (۱/۲ میلی گرم بر میلی لیتر)، ۲۰ میکرولیتر سیستمین ۰/۵ مولار، ۳ میلی گرم نانو کامپوزیت آهن/کربن تهیه شد. سپس به هریک از محلول ها، مقادیر مختلفی از جیوه (II) اضافه گردید. در نهایت حجم نهایی همگی با محلول pH=4 به ۳ میلی لیتر رسانیده شد. پس از ۵ دقیقه به هر کدام از محلول ها، مقدار ۴۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسید تجاری افزوده شد. در آخر، پس از گذشت ۲۵ دقیقه از همگی محلول ها طیف گرفته شد.

۳- نتایج و بحث

در ابتدا مشخصه یابی نانو کامپوزیت انجام شد. برای این کار از FTIR و TEM استفاده شد (شکل ۱). همانگونه که در شکل ۱ الف مشخص است، دماغه هایی در عدهای موجی 1400 cm^{-1} و 1600 دیده می شود که مربوط به ارتعاش پیوند C=O است. همچنین ارتعاش پیوند Fe-O در 568 cm^{-1} دیده می شود که همگی بیانگر تشکیل نانو کامپوزیت فوق است [۱۴]. وجود نقاط کربنی به همراه اکسید آهن نیز توسط تصویر TEM تایید می شود (شکل ۱ ب). با توجه به همخوانی نتایج به گزارش های قبلی

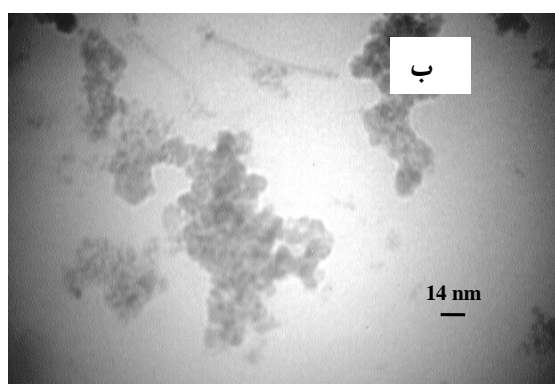
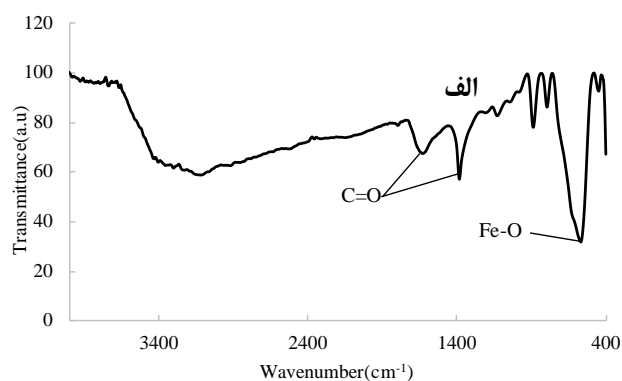
شود. در محلول سوم، یون های جیوه مولکول های سیستمین را به دام می اندازند و واکنش اکسایش TMB در حضور نانوکامپوزیت آهن/کربن و H_2O_2 را برانگیخته می کنند. بنابراین رنگ آبی دوباره ایجاد می شود.



شکل ۲. الف) طیف مرئی و ب) عکس مربوط به محلول (۱) حاوی TMB، نانوکامپوزیت و H_2O_2 ، (۲) پس از افزایش سیستمین به محلول شماره ۱ و (۳) پس از افزایش کاتیون جیوه (II) به محلول شماره ۲.

با توجه به حساسیت خوب نانوکامپوزیت نسبت به حضور کاتیون جیوه (II)، منحنی کالیبراسیون برای اندازه گیری کاتیون جیوه (II)، بدست آمد (شکل ۳). تغییرات جذب با غلظت کاتیون جیوه (II) به صورت لگاریتمی تغییر می کند. به این ترتیب، محدوده دینامیکی $3/4 \times 10^{-8}$ تا $3/4 \times 10^{-4}$ مولار بدست آمد. همچنین حد تشخیص تجربی برابر با $3/4 \times 10^{-8}$ مولار بدست آمد. زمانی که از نقاط کربنی به عنوان نانوزیم در چنین سنجه ای استفاده شده است، محدوده خطی و حد تشخیص کاتیون جیوه (II) به ترتیب برابر ۰ تا $0/46 \times 10^{-6}$ و 23×10^{-9} مولار بدست آمده است [۶]. مقادیر ارقام شایستگی بدست آمده در این کار قابل مقایسه و حتی بهتر از مقادیر بدست آمده با نانوزیم نقاط کربنی است که توانایی روش

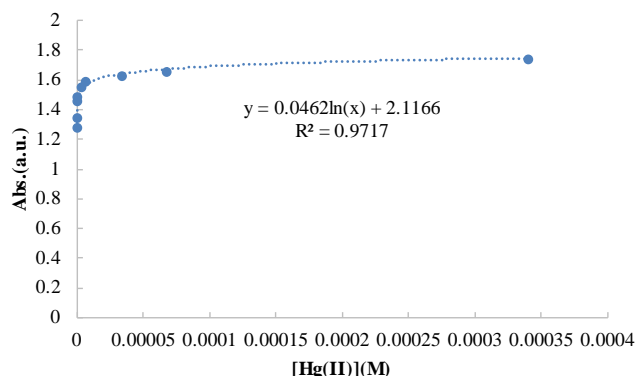
می توان گفت که نانوکامپوزیت فوق به درستی سنتز شده است [۱۴].



شکل ۱. الف) طیف FTIR و ب) تصویر TEM از نانوکامپوزیت مغناطیسی اکسید آهن/نقاط کربنی

در مرحله بعد خصوصیت شبه آنزیمی پراکسیدازی نانو کامپوزیت سنتز شده برای اندازه گیری کاتیون جیوه در محیط مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام این کار محلولی حاوی TMB، نانوکامپوزیت و هیدروژن پراکسید تهیه شد. سپس به محلول فوق مقداری سیستمین اضافه شد و در مرحله آخر به محلول قبلی مقداری کاتیون جیوه (II) اضافه شد. طیف مرئی مربوط به هر مرحله در شکل ۲الف آورده شده است. برای مقایسه بهتر عکس های مربوطه نیز در شکل ۲ب قرار داده شده اند. همان گونه که مشخص است، رنگ محلول حاوی TMB، نانوکامپوزیت و هیدروژن پراکسید، آبی پر رنگ است و جذب خوبی در طول موج ۶۵۰ nm برای این محلول دیده می شود که نشان از انجام واکنش اکسیداسیون تترا متیل بنزیدین و کاهش هیدروژن پراکسید در حضور شبه آنزیم نانوکامپوزیت آهن/کربن دارد. در محلول دوم، سیستمین به صورت یک آنتی رادیکال بیومولکول عمل کرده و مانع از اکسایش TMB شده و تولید رادیکال کاتیون را به تعویق می اندازد، بنابراین محلول آبی رنگ تشکیل نمی

فوق را نشان می دهد.



شکل ۳. منحنی کالیبراسیون برای کاتیون جیوه (II)

در مرحله بعد، تکرارپذیری نانوزیم فوق در اندازه گیری کاتیون جیوه (II) بررسی شد. برای بررسی تکرارپذیری سه بار نانوکامپوزیت به طور جداگانه سنتز شد. سپس مقدار جذب محلول کاتیون جیوه (II) در غلظت های متفاوت، در محدوده ی منحنی کالیبراسیون و در شرایط بهینه شده اندازه گیری شد. سپس، درصد انحراف استاندارد نسبی (%RSD) جهت بیان دقت و تکرارپذیری روش بدست آمد. همانگونه که مشخص است مقادیر بدست آمده برای %RSD کاملاً قابل قبول است که نشان از دقت بالا و تکرارپذیری خوب تهیه نانوکامپوزیت و اندازه گیری کاتیون جیوه (II) است.

جدول ۱. نتایج بدست آمده جهت ارزیابی دقت روش در اندازه گیری کاتیون

جیوه (II)	
[Hg(II)](μM)	۰/۳۳ ۰/۶۷ ۳/۳۳ ۶/۶۷ ۳۳ ۶۷ ۳۳۳ ۶۶۷
%RSD (n=3)	۱/۷۱ ۱/۱۲ ۰/۷۲ ۰/۷۸ ۱/۲۸ ۱/۳۷ ۰/۵۶ ۰/۶۳

۴- نتیجه گیری

به طور خلاصه، یک حسگر رنگ سنجی بسیار حساس بر اساس نانوکامپوزیت اکسید آهن/نقاط کربنی برای تعیین کاتیون خطرناک جیوه (II) طراحی شد. حسگر فوق بر اساس تغییر رنگ TMB بی رنگ به محصول رنگی آن ساخته شد. سیستم، تغییر رنگ TMB در حضور هیدورژن پراکسید و نانوزیم اکسید آهن/نقاط کربنی را از بین می برد، در حالی که با افزایش کاتیون جیوه (II) واکنش به حالت اولیه برمی گردد و انجام می شود. در واقع به دلیل برهمکنش قوی بین گروه گوگردی سیستم و کاتیون

جیوه (II) رنگ آبی در محلول مجدداً پدیدار می شود. به این طریق، محدوده دینامیکی $۳/۴ \times 10^{-8}$ تا $۳/۴ \times 10^{-4}$ مولار برای اندازه گیری جیوه (II) به دست آمد. همچنین حد تشخیص تجربی برای اندازه گیری جیوه (II)، $۳/۴ \times 10^{-8}$ مولار محاسبه شد. همچنین، حسگر فوق از تکرارپذیری و حساسیت خوبی نسبت به جیوه برخوردار است.

مراجع

1. D. Amico, A. Tassone, N. Pirrone, F. Sprovieri, and A. Naccarato, *J. Hazard. Mater.* 433, (2022).
2. J. Sardans, F. Montes, and J. Peñuelas, *Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc.* 65, 97 (2010).
3. X. Gao, C. Du, Z. Zhuang, and W. Chen, *J. Mater. Chem. C* 4, 6927 (2016).
4. Z. Yan, M. F. Yuen, L. Hu, P. Sun, and C. S. Lee, *RSC Adv.* 4, 48373 (2014).
5. L. Feng, L. Zhang, Y. Gong, Z. Du, X. Chen, X. Qi, X. Zhang, G. Mao, and H. Wang, *Sensors Actuators B Chem.* 361, (2022).
6. Z. Mohammadpour, A. Safavi, and M. Shamsipur, *Chem. Eng. J.* 255, 1 (2014).
7. H. Ding, B. Hu, B. Zhang, H. Zhang, X. Yan, G. Nie, and M. Liang, *Nano Res.* 14, 570 (2021).
8. F. Honarasa, R. Mokhtare, A. Mokhtare, and S. Yousefinejad, *Process Biochem.* 111, 256 (2021).
9. F. Honarasa, F. Peyravi, and H. Amirian, *J. Iran. Chem. Soc.* 17, 507 (2020).
10. F. Honarasa, S. Keshtkar, N. Eskandari, and M. Eghbal, *Chem. Pap.* 75, 2371 (2021).
11. F. Honarasa, F. H. Kamshoori, S. Fathi, and Z. Motamedifar, *Microchim. Acta* 186, 234 (2019).

12. S. Sadravi and F. Honarasa, J. Chem. Sci. 131, 58 (2019).
13. J. Salmiani and F. Honarasa, Nanoscale 5, 85 (2018).
14. S. Yousefinejad, H. Rasti, M. Hajebi, M. Kowsari, S. Sadravi, and F. Honarasa, Sensors Actuators B Chem. 247, 691 (2017).

Colorimetric determination of mercury ion by enzyme-like property of iron oxide-carbon dots nanocomposite

M.R. Hafezi, F. Honarasa*

Department of Chemistry, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

Abstract: Mercury(II) cation has many risks for the environment and humans. Therefore, detection of mercury(II) cation is of particular importance. In this work, peroxidase-like activity of iron oxide/carbon dots nanocomposite was used for colorimetric determination of mercury(II) cation. To do this, first, iron oxide/carbon dots nanocomposite was prepared, and then the nanocomposite was characterized by Fourier transform infrared spectroscopy and transmission electron microscopy. Next, a sensor for determination of mercury(II) was designed by considering the peroxidase-like activity of the nanocomposite that can accelerate the oxidation of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) to the cation radical of TMB* in the presence of H₂O₂. By using the above method, the dynamic range and detection limit for mercury(II) cation were obtained as 3.4×10⁻⁸ to 4.3×10⁻⁴ and 3.4×10⁻⁸ M, respectively. Also, this method shows good reproducibility for determination of mercury(II).

Keywords: Mercury (II) cation, Nanozyme, Iron oxide/carbon dots nanocomposite, Cysteine