



طراحی و توسعه یک حسگر الکتروشیمیایی اصلاح شده با پلیمر قالب مولکولی و نانولوله‌های کربنی به منظور ارزیابی مواجهات محیطی و شغلی با آفت کش دی کلران

منیره خادم^۱، فرنوش فریدبد^۲، پرویز نوروزی^۳، عباس رحیمی فروشانی^۴، محمد رضا گنجعلی^۵، سید جمال الدین شاه طاهری^{۶*}، رسول یاراحمدی^۷

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۰۹

تاریخ ویرایش: ۹۵/۰۸/۱۲

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۲/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: آفت کش دی کلران برای مهار رشد اسپور قارچ‌ها بر روی محصولات کشاورزی استفاده می‌شود. به دلیل کاربرد روزافزون آفت کش‌ها، امکان ارزیابی مواجهه‌های شغلی و محیطی توسط روش‌های تجزیه دقیق و معتبر، ضروری به نظر می‌رسد. این مطالعه با هدف طراحی حسگری با گزینش پذیری بالا برای تعیین مقدار دی کلران در نمونه‌های محیطی و بیولوژیکی انجام شد.

روش بررسی: این نانولوله‌های کربنی و پلیمر قالب مولکولی (MIP) به عنوان اصلاح کننده در ساختار حسگر مورد استفاده قرار گرفتند. ابتدا MIP سنتز شده و در ساختار الکتروتود خمیر کربنی (CP) به کار گرفته شد. ترکیب این الکتروتود (حسگر)، بهینه‌سازی شده و برای تعیین غلظت آنالیت استفاده گردید. در این مطالعه جهت تعیین مقدار دی کلران از روش تجزیه الکتروشیمیایی با عنوان ولتامتری موج مربعی استفاده گردید. پارامترهای تأثیر گذار بر پاسخ حسگر مانند pH استخراج، pH آنالیز، غلظت الکترولیت و شرایط دستگاهی مانند فرکانس و دامنه موج مربعی با انجام آزمایشاتی انتخاب شدند و پاسخ حسگر برای تعیین مقدار دی کلران ثبت گردید.

یافته‌ها: طبق نتایج، حسگر مورد نظر توانایی تشخیص و گزینش پذیری بسیار بالایی داشت. بازه‌ی خطی به دست آمده برای منحنی کالیبراسیون 6×10^{-6} تا 9×10^{-5} مولار و حد تشخیص روش 10^{-10} تا $4/8 \times 10^{-10}$ مولار محاسبه گردید. نتایج هم‌چنین حاکی از عدم تداخل سایر ترکیبات موجود در ماتریکس نمونه‌های ادرار، آب آشامیدنی و آب رودخانه بر روی پاسخ حسگر می‌باشد.

نتیجه گیری: حسگر الکتروشیمیایی می‌تواند برای تعیین مقدار آنالیت‌ها در نمونه‌های مختلف با موفقیت و بدون نیاز به مرحله آماده سازی خاص و پیچیده‌ای استفاده شود.

کلیدواژه‌ها: دی کلران، پلیمر قالب مولکولی، حسگر، پایش بیولوژیکی.

مقدمه

غذایی گردد. آفت کش‌ها از جمله ترکیباتی هستند که مواجهه‌ی انسان با آن‌ها در گستره وسیعی اتفاق می‌افتد. علاوه بر کارگران شاغل در کارخانجات تولید و فرمول بندی آفت کش‌ها، کشاورزانی که از این مواد استفاده می‌کنند و حتی عموم افراد هنگام مصرف آن‌ها برای کنترل آفات خانگی ممکن است در معرض قرار گیرند. مصرف تولیدات غذایی حاوی باقیمانده‌های آفت کش‌ها نیز به‌طور قابل توجهی بر تعداد افراد در معرض می‌افزاید. مواجهه با آفت کش‌ها اثرات زیان‌آور متعددی را به دنبال دارد و هرکدام از آن‌ها بسته به

آفت کش‌ها گروهی از ترکیبات شیمیایی هستند که برای آسیب رساندن به آفات و به‌طور آگاهانه در محیط استفاده می‌شوند. این ترکیبات برای پیشگیری، دور کردن و یا کنترل حشرات، باکتری‌ها، علف‌های هرز، جوندگان و آفت‌های دیگر به کار می‌روند. اگرچه کاربرد آفت کش‌ها می‌تواند منجر به افزایش تولید محصولات غذایی گردد، استفاده وسیع از آن‌ها در طول مراحل تولید، پرورش و حمل و نقل محصولات کشاورزی می‌تواند سبب آلودگی محیطی و افزایش باقیمانده‌ی این ترکیبات در مواد

۱- دکترای بهداشت حرفه‌ای، استادیار، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۲- استادیار، پردیس علوم، مرکز عالی الکتروشیمی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۳- استاد، پردیس علوم، مرکز عالی الکتروشیمی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۴- دکترای آمار زیستی، استاد، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۵- استاد، پردیس علوم، مرکز عالی الکتروشیمی، دانشگاه تهران، استاد پژوهشگاه علوم غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۶- (نویسنده مسئول) دکترای بهداشت حرفه‌ای، استاد، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. shahataheri@sina.tums.ac.ir

۷- دانشیار، مرکز تحقیقات آلودگی هوا، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

و آموزش دیده دارند. در روش‌های مذکور یک مرحله پیش تغلیظ برای تعیین آنالیت‌ها در سطوح غلظت بسیار پایین لازم می‌باشد. در کشورهای پیشرفته و صنعتی روش‌های کروماتوگرافی با آشکارساز جرمی برای شناسایی و تعیین مقدار آفت‌کش‌ها کاربرد دارند؛ اما در کشورهای درحال توسعه این دستگاه‌ها از نظر مالی برای استفاده وسیع مقرون به‌صرفه نیستند. از طرفی نیاز به آنالیز آفت‌کش‌ها در این کشورها بیشتر از کشورهای صنعتی احساس می‌شود به دلیل این‌که اغلب آن‌ها کشاورزی محور بوده و شغل کشاورزی در برخی از آن‌ها شغل اصلی مردم محسوب می‌گردد. بنابراین توسعه‌ی روش‌های معتبر و مناسب برای تجزیه آفت‌کش‌ها با استفاده از ابزارهای نسبتاً ارزان و ساده هدف مهمی می‌باشد. از طرفی، در ارزیابی‌های شغلی و محیطی تعداد زیادی نمونه موردنیاز می‌باشد، بنابراین تکنیک‌های آنالیز کننده سریع و ارزان ضرورت دارد (۶، ۱۳، ۱۴).

مطالعات نشان می‌دهند که روش‌های الکتروشیمیایی می‌توانند بر تعداد زیادی از مشکلات موجود فائق آیند و این کار با تجزیه نمونه‌های بیولوژیکی و محیطی بدون انجام برخی از مراحل خالص‌سازی و استخراج و در نتیجه کوتاه کردن زمان تجزیه و تعیین مقدار در سطوح بسیار پایین آفت‌کش‌های سمی عملی می‌باشد. این روش‌ها از تجهیزات نسبتاً ارزانی برای تولید اطلاعات کمی و کیفی استفاده می‌کنند، حساسیت بالایی دارند، قادر به تشخیص مقادیر بسیار پایین از ترکیبات موردنظر هستند و گزینش پذیری نسبتاً بالایی دارند. همچنین امکان کوچک‌سازی ابعاد ابزار تجزیه و تعیین مقدار میدانی را میسر می‌نمایند. در این راستا، حسگرهای اصلاح‌شده می‌توانند روش‌های پایش سریع، معتبر و مقرون به‌صرفه‌ای برای ترکیبات شیمیایی مهیا نمایند. حسگر الکتروشیمیایی ابزاری است که پاسخ پیوسته‌ای را از تغییر غلظت یک‌گونه در محیط‌های مختلف نشان دهد. به‌منظور اصلاح ساختار حسگرها از اصلاح‌کننده‌های مختلفی استفاده می‌شود. با وجود این‌که تاکنون هر دو نوع عنصر تشخیص بیولوژیکی و سنتزی در ساختمان حسگرها مورد استفاده قرار گرفته‌اند اما به دلیل محدودیت‌های رسپتورهای

ساختار شیمیایی می‌تواند اثرات خاصی را در افراد ایجاد نماید.

دی کلران (۲ و ۶ دی کلرو-۴ نیتروآنیلین) به عنوان یک قارچ‌کش برای مهار تکثیر اسپور قارچ‌ها در محصولات مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳-۱). مواجهه با دی کلران از طریق تماس پوستی، تنفسی و خوردن غذای آلوده به این ترکیب اتفاق می‌افتد. بر اساس مطالعات، موارد افزایش‌یافته‌ای از مشکلات در مراحل رشد و نمو و همچنین تومورزایی در اثر مواجهه با قارچ‌کش‌ها دیده شده است. علاوه بر این، افزایش تولید گرما در بدن، تب شدید، آسیب کبدی و تاری قرینه ممکن است رخ دهد (۴). ارگان‌های هدف این آفت‌کش شامل کبد، کلیه، سیستم خونسازی و به‌ویژه گلبول‌های قرمز خون می‌باشد (۳).

با توجه به افزایش کاربرد آفت‌کش‌ها، توسعه‌ی روش‌های تجزیه‌ی دقیق و معتبر برای اندازه‌گیری آن‌ها در انواع نمونه‌ها مانند آب، خاک، مواد غذایی و نمونه‌های بیولوژیکی ضروری به نظر می‌رسد (۵، ۶). توسعه‌ی روش‌های حساس در این زمینه می‌تواند امکان سنجش‌های مقرون به‌صرفه، آسان، معتبر و دقیق را فراهم نماید. در دهه‌های گذشته روش‌های مختلفی برای تعیین مقدار آفت‌کش‌ها مورد استفاده قرار گرفته است که از جمله می‌توان گاز کروماتوگرافی با آشکارساز ربایش الکترون^۱ و کروماتوگرافی مایع را نام برد. سایر روش‌های به کار گرفته شده در مطالعات مختلف شامل روش‌های طیف‌سنجی (۷، ۸)، سنجش ایمنی^۲ (۷)، طیف‌سنجی مادون قرمز (۹) همراه با استخراج فاز جامد^۳ (۱۰)، تکنیک‌های آنزیمی (۱۱) و طیف‌سنجی جرمی (۱۲) می‌باشد.

اگرچه برخی از تکنیک‌های نامبرده، حدود تشخیص پایینی دارند اما به دلیل نیاز به آماده‌سازی نمونه در طول استخراج و روش‌های خالص‌سازی، این روش‌ها هزینه‌بر بوده و اغلب نیاز به وسایل خیلی مجهز و تیم آنالیز ماهر

1. Electron Capture Detector

2. Immunoassay

3. Solid Phase Extraction

داشته و بر اساس نوع الکتروود و هدف موردنظر، حساس ترین روش انتخاب می‌گردد. به عنوان مثال روش ولتامتری چرخه ای معمولاً جهت شناسایی محل ظهور پیک مربوط به یک آنالیت استفاده شده و بیشتر از جنبه کیفی اهمیت دارد. دلیل انتخاب روش ولتامتری موج مربعی در این مطالعه حساسیت بالا در تجزیه، سرعت بالا در اسکن پتانسیل و عدم تأثیر جریان‌های مزاحم و زمینه ای بر روی پاسخ آن می‌باشد. در روش ولتامتری از سه الکتروود تحت نام الکتروودهای مرجع، کمکی و کار به منظور تجزیه آنالیت استفاده می‌شود. پتانسیل در یک گستره‌ی مشخص بین الکتروود کار و الکتروود مرجع اعمال می‌گردد و جریان بین الکتروود کار و الکتروود کمکی اندازه گیری می‌شود. ارتفاع پیک ظاهر شده به‌طور مستقیم متناسب با غلظت آنالیت می‌باشد. هدف از این مطالعه بهینه سازی و معرفی حسگر اصلاح‌شده با استفاده از پلیمرهای قالب مولکولی و نانولوله های کربنی به‌منظور تعیین مقدار الکتروشیمیایی آفت کش دی کلران در نمونه‌های محیطی و بیولوژیکی می‌باشد.

روش بررسی

تجزیه الکتروشیمیایی توسط سیستم سه الکتروودی با استفاده از دستگاه اتولاب (AUTOLAB PGSTAT302) انجام شد. حسگر اصلاح‌شده به عنوان الکتروود کار و الکتروودهای نقره/کلرید نقره و میله گرافیتی به ترتیب به عنوان الکتروودهای مرجع و کمکی استفاده شدند. متاکریلیک اسید، اتیلن گلیکول دی متاکریلات (شرکت فولوکا، سوئیس)، دی کلران (شرکت ارنستوفر، آلمان)، ۲،۲-آزوبیس ایزوبوتیرونیتریل (شرکت سیگما، آلمان)، روغن پارافین و پودر گرافیت (شرکت مرک، آلمان) برای آزمایشات مورد استفاده قرار گرفتند. نانولوله های کربنی چند دیواره از انستیتو تحقیقات شرکت نفت (ایران) خریداری شد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در طول آزمایشات از شرکت مرک تهیه شدند.

آماده سازی پلیمر قالب مولکولی (MIP): برای سنتز پلیمر قالب مولکولی از روش قالب سازی غیر

بیولوژیکی یا بیورسپتورها، امروزه استراتژی سنتز پلیمرهای قالب مولکولی (MIP)^۱ به عنوان جایگزین استفاده می‌شود (۱۵-۱۸). در حسگرهایی که از MIP به عنوان حسگر استفاده می‌شود یک سیگنال در پیوند آنالیت سمی با این حسگر تولید می‌شود، سپس یک سیستم میدل این سیگنال را به یک سیگنال خروجی (اغلب سیگنال الکتریکی) با قابلیت کمی سازی تبدیل می‌نماید. این پلیمرها دارای پایداری حرارتی، شیمیایی و مکانیکی عالی هستند و همچنین مانند سیستم های بیولوژیکی توانایی تطابق با ویژگی های مولکول های موردنظر را دارند (۱۹-۲۱).

اصلاح سیستم های حسگری جهت کاربرد در نمونه‌های بیولوژیکی یکی از چالش های موجود در زمینه تجزیه الکتروشیمیایی سموم می‌باشد. به دلیل غلظت پایین آنالیت‌های سمی در نمونه‌های بیولوژیکی و وجود انواع ترکیبات مداخله کننده در ماتریکس، به‌منظور تجزیه آنالیت در این نوع نمونه‌ها اصلاحات اساسی در ساختار حسگر و روش مورد استفاده ضروری است. کاربرد پلیمرها در حسگرهای الکتروشیمیایی به‌منظور تجزیه ترکیبات مذکور می‌تواند به ایجاد و ارتقاء روشی مناسب برای اندازه گیری و تجزیه آفت کش‌ها کمک نماید. همچنین استفاده از ترکیباتی در مقیاس نانو به عنوان اصلاح کننده‌ی ساختار حسگرها امروزه مورد توجه قرار گرفته است. در این راستا نانو ساختارهای مختلفی مانند نانولوله های کربنی و گرافن مورد استفاده قرار گرفته است (۲۳-۲۲). حسگرهای اصلاح شده می‌توانند در ترکیب با انواع مختلفی از روش‌های الکتروشیمیایی استفاده شوند که از جمله می‌توان به پلاروگرافی تفاضلی^۲، ولتامتری عاری سازی^۳، ولتامتری موج مربعی^۴ و ولتامتری چرخه ای^۵ اشاره نمود (۲۴-۲۵). هر یک از این روش‌ها با توجه به نوع الکتروودی که مورد استفاده قرار می‌گیرد مزایایی

1. Molecular imprinted polymers (MIPs)

2. Differential Pulse Polarography

3. Stripping Voltammetry

4. Square Wave Voltammetry

5. Cyclic Voltammetry

قرار گرفت. در مخلوط الکترودهای اصلاح شده که با روش مشابه آماده شدند از ترکیب پودر گرافیت، روغن پارافین، نانو لوله کربنی و MIP یا NIP سنتز شده با درصدهای مختلف استفاده گردید. به منظور بررسی نقش هر یک از ترکیبات اضافه شده به خمیر کربنی در بهبود پاسخ الکتروود، چندین الکتروود حاوی درصدهای مختلفی از ترکیبات مذکور ساخته شد.

تجزیه الکتروشیمیایی: جهت تجزیه دی کلران از روش ولتامتری موج مربعی طبق مراحل زیر استفاده گردید:

مرحله ی استخراج: هرکدام از الکتروود های آماده شده در محلول دی کلران با غلظت مشخص قرار گرفت و pH آن بر روی ۶ تنظیم گردید. همه ی محلول ها به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۷۰۰ دور در دقیقه هم زده شدند.

مرحله ی تجزیه: بعد از مرحله استخراج الکتروود در سل الکتروشیمیایی حاوی محلول الکتروولیت (کلرید پتاسیم ۰/۴ مولار) با pH برابر با ۸ قرار گرفت و این سل برای آزمایشات الکتروشیمیایی استفاده شد. پیش پتانسیل ۰/۵- ولت به مدت ۱۵ ثانیه به الکتروود اعمال شده و سپس پتانسیل در بازه ی ۰/۱- تا ۰/۵+ اسکن گردید. کاربرد پیش پتانسیل برای مدت زمان مناسب منجر به تجمع آنالیت در سطح الکتروود اصلاح شده می گردد و بر حساسیت الکتروود در طول تجزیه الکتروشیمیایی می افزاید. در تجزیه الکتروشیمیایی دی کلران بالاترین شدت جریان در دامنه موج مربعی برابر با ۰/۱۵ ولت و فرکانس موج مربعی ۱۵۰ هرتز به دست آمد. قابل ذکر است که فاکتورهای تأثیر گذار بر استخراج آنالیت و پارامترهای دستگاهی هنگام انجام ولتامتری بر اساس برخی از آزمایشات به دست آمده، به گونه ای تنظیم شدند که الکتروود بالاترین پاسخ را نشان دهد.

آماده سازی محلول ها: محلول دی کلران با غلظت 1×10^{-2} مولار در حلال اتانول آماده شد. محلول های کاری برای آزمایشات بهینه سازی با رقیق کردن مقادیر مناسب از محلول مادر با آب مقطر تهیه شدند. به منظور ارزیابی قابلیت تعیین مقدار دی کلران در نمونه های

کوالانسی استفاده شد (۲۶). دی کلران به عنوان مولکول الگو به همراه متاکریلیک اسید (منومر عاملی)، اتیلن گلیکول دی متاکریلات (منومر پیوند دهنده ی عرضی) در ۱۰ میلی لیتر حلال کلروفرم ترکیب شده و سپس ۲،۲-آزوبیس ایزوبوتیرونیتریل (۵۰ میلی گرم) به عنوان عامل آغازگر واکنش پلیمریزاسیون به مخلوط اضافه گردید. پس از دمش نیتروژن در مخلوط به منظور اکسیژن زدایی، لوله شیشه ای کاملاً درزبندی شده و به مدت ۱۶ ساعت در حمام آب گرم با دمای ۶۰ درجه قرار گرفت. نسبت پلیمریزاسیون به کار گرفته شده ۱:۴:۲۰ بوده و به ازای ۱ میلی مول مولکول الگو، چهار میلی مول منومر عاملی و ۲۰ میلی مول پیوند دهنده عرضی استفاده گردید. پس از پایان واکنش، پلیمر حاصل خشک شده و به شکل پودری در آمد. سپس مولکول الگو توسط روش سوکسله (با استفاده از حلال اتانول/اسید استیک و به مدت ۴۸ ساعت) از پلیمر خارج گردید. بدین ترتیب پلیمری با محل های واکنش اختصاصی برای دی کلران به دست آمد. جهت اطمینان از حذف کامل مولکول الگو از پلیمر از دستگاه طیف سنجی نوری مرئی/ماوراء بنفش Perkin Elmer استفاده شد. به منظور امکان انجام مقایسه و تصدیق گزینش پذیری پلیمر سنتز شده، پلیمر قالب نشده ی مولکولی (NIP) به عنوان پلیمر شاهد سنتز شد. مراحل ساخت کاملاً مشابه MIP بود به استثنای این که در مخلوط پلیمریزاسیون از مولکول دی کلران استفاده نشد.

آماده سازی الکتروود خمیر کربنی اصلاح شده:

در این مطالعه از الکتروود خمیر کربنی^۱ (CPE) استفاده گردید. ابتدا خمیر کربنی به وسیله مخلوط کردن پودر گرافیت و روغن پارافین با نسبت وزنی ۲۵:۷۵ درصد آماده شد. این مخلوط در یک هاون برای حداقل ۱۰ دقیقه هم زده شد تا کاملاً هموزن و یکنواخت گردد. سپس خمیر حاصل در یک لوله پلی اتیلنی با قطر داخلی ۳ میلی متر وارد شده و فشرده شد. برای امکان برقراری جریان الکتریکی، یک سیم مسی در ساختمان الکتروود

^۱ Carbon Paste Electrode

نانولوله های کربنی افزایش یافت که به دلیل خواص ویژه ای این نانوذرات مانند مساحت سطح وسیع، رسانایی الکتریکی بالا و پایداری شیمیایی مناسب می باشد. استفاده از این اصلاح کننده رسانایی سنسور (الکتروود) و میزان تبدیل سیگنال شیمیایی به سیگنال الکتریکی را افزایش می دهد. بنابراین کاربرد نانولوله های کربنی در اندازه گیری های الکتروشیمیایی می تواند منجر به حسگرهایی مطلوب با ویژگی های مناسب گردد. درصد ثابتی که برای این اصلاح کننده در تمامی حسگرها در نظر گرفته شد بر اساس مطالعات قبلی انتخاب گردید (۲۸-۲۷). علاوه بر این، استفاده از MIPs در ساختار الکتروودهای خمیر کربن یک رهیافت نویدبخش در توسعه حسگرهای مقلد زیستی^۱ می باشد. این قبیل الکتروودهای اصلاح شده ابزارهایی جدید برای غلبه بر برخی محدودیت های حسگرهای زیستی معرفی می کنند. خواص ذاتی MIPs مانند گزینش پذیری بالا برای آنالیت موردنظر، پایداری مکانیکی و شیمیایی، آماده سازی آسان، قابلیت کاربرد در محیط های خشن و دوام بالا، بر جذابیت آن ها برای استفاده به عنوان عنصر تشخیصی در ساختار حسگر می افزاید. در متون علمی زیادی بر کاربرد رو به رشد MIPs برای اهداف تشخیصی تأکید شده است (۳۰ و ۲۹). همان گونه که در جدول ۱ دیده می شود بالاترین جریان به دست آمده مربوط به خمیر کربنی اصلاح شده با هر دو اصلاح کننده MIP و نانو لوله کربنی می باشد. بنابراین الکتروود خمیر کربنی اصلاح شده با این دو ترکیب می تواند به عنوان یک حسگر جدید برای تعیین مقدار گزینش پذیر آنالیت هدف در نظر گرفته شود. علاوه بر این، درصد MIP در ترکیب خمیر بر پاسخ حسگر مؤثر بوده و بر اساس نتایج، خمیر حاوی ۲۲٪ از این اصلاح کننده بالاترین راندمان را در جذب آنالیت نشان داده است. بنابراین الکتروود شماره ۵ به عنوان الکتروود بهینه انتخاب گردید. کاربرد درصد های بالاتر MIP منجر به کاهش پاسخ الکتروود شد که در اثر افزایش مقاومت خمیر می باشد (MIPs یک

بیولوژیکی و محیطی واقعی، نمونه های ادرار، آب آشامیدنی و آب رودخانه مورد استفاده قرار گرفتند. شایان ذکر است که نمونه های واقعی نیازی به مرحله ای آماده سازی خاصی نداشته و در مورد ادرار تنها یک مرحله رقیق سازی با آب مقطر انجام شد. با استفاده از روش افزایش استاندارد، دی کلران به همه نمونه ها اضافه شده و کاربرد روش برای نمونه های محیطی و بیولوژیکی مورد بررسی قرار گرفت. الکتروود کار انتخاب شده با ساختار بهینه به مدت ۲۰ دقیقه جهت استخراج دی کلران در این نمونه قرار گرفته و سپس اندازه گیری با وارد کردن این الکتروود به سل الکتروشیمیایی حاوی محلول الکتروولیت انجام شد.

یافته ها و بحث

الف- بهینه سازی و اصلاح ترکیب الکتروود خمیر کربن: پایه خمیرهای کربنی معمولاً مخلوطی از پودر گرافیت و مایعی مانند روغن پارافین می باشد. خمیر کربن می تواند به وسیله ترکیبات دیگری اصلاح گردد. در این مطالعه به منظور بررسی اثر افزودن اصلاح کننده ها بر عملکرد الکتروود، از نانو لوله های کربنی چند دیواره (MWCNTs) و پلیمر سنتز شده برای دی کلران (MIP) به عنوان اصلاح کننده استفاده گردید. از آن جا که نوع و نسبت ترکیبات به کار رفته برای داشتن الکتروودی با ساختار بهینه مهم می باشد، مقادیر مختلفی از اصلاح کننده ها به خمیر اضافه شده و الکتروود آماده گردید. به منظور مقایسه ی دقیق، تعداد ۷ الکتروود تهیه شد. الکتروود پایه (ترکیبی از پودر گرافیت و روغن پارافین) و الکتروود اصلاح شده با NIP نیز مورد توجه قرار گرفت. آزمایشات الکتروشیمیایی در شرایط یکسان برای همه الکتروودهای آماده شده انجام شد تا بتوان نقش اصلاح کننده ها و نیز نسبت آن ها در بهبود پاسخ الکتروود را مورد بررسی قرار داد. جدول ۱ پاسخ مربوط به الکتروودهای مختلف در شرایط الکتروشیمیایی مشابه را نشان می دهد. با توجه به داده ها، هر دو متغیر نوع اصلاح کننده و مقدار آن در این زمینه نقش معناداری را داشته اند. جریان به دست آمده با الکتروودهای حاوی

¹. Biomimetic sensors



دیازینون، دی کلروفتنیون و دی متوات نتوانست تداخلی در جریان پیک دی کلران ایجاد نماید. به منظور تصدیق بیشتر گزینش پذیری حسگر، میزان ترکیبات اضافه شده به محلول دی کلران به تدریج اضافه گردید. بر اساس یافته ها، تا غلظت حدود 1000 برابر غلظت دی کلران موجود در محلول، تداخلی در سیگنال مربوط به دی کلران ایجاد نگردید و پس از آن کاهش در جریان پیک دی کلران پدیدار شد. بنابراین می توان گفت که الکتروود اصلاح شده با MIP گزینش پذیری قابل ملاحظه و بسیار بالایی برای دی کلران داشته و حضور سایر آفت کش ها نمی تواند در پاسخ آن خللی وارد نماید. این نتایج توانایی الکتروود MIP-CP (حسگر طراحی شده) برای برهمکنش قوی با آنالیت موردنظر را اثبات می کند که به دلیل وجود حفره ها یا محل های برهم کنش ویژه برای مولکول آنالیت در ساختار MIP می باشد.

ب- مقایسه ی MIP و NIP سنتز شده: برای مقایسه تفاوت بین پاسخ MIP و NIP سنتز شده

پلیمر نارسا می باشد). با انتخاب درصد بهینه برای پلیمر، افزایش محل های گزینش پذیر در سطح الکتروود منجر به بهبود پاسخ الکتروود می گردد. کاهش سیگنال الکتروود در درصدهای بالاتر احتمالاً مربوط به اثرات عایق سازی ذرات MIP می باشد (۳۱).

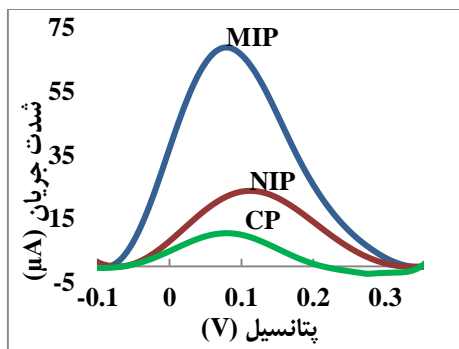
ب- مطالعه ی اثر مداخله کننده ها: به منظور ارزیابی گزینش پذیری، حسگر آماده شده تحت شرایط تجزیه ای و دستگاهی بهینه در محلول های حاوی دی کلران و تعدادی از آفت کش های رایج قرار داده شد. در ابتدا آزمایشات برای هر ترکیب به طور جداگانه انجام شد تا در صورتی که پیک مربوط به هر کدام با محل ظهور پیک مربوط به دی کلران تداخل دارد مشخص گردد. در این رابطه تداخلی دیده نشد و محل ظهور پیک مربوط به ترکیبات آزمایش شده کاملاً متفاوت بود. سپس پاسخ حسگر برای دی کلران در حضور هم زمان سایر ترکیبات به دست آمد. جدول ۲ پاسخ حسگر در آزمایشات انجام شده را نشان می دهد. حضور ترکیبات کربوفوران،

جدول ۱- بهینه سازی ترکیب خمیر کربن برای تعیین مقدار دی کلران (غلظت دی کلران 5×10^{-7} مولار)

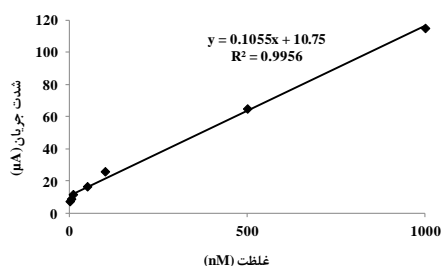
پاسخ ولتاژمتری (μA)	ترکیب خمیر کربنی (Wt. %)				شماره الکتروود
	NIP	MIP	MWCNT	روغن پارافین	
$2/9 \pm 15/90$.	.	.	۲۵	۱
$3/5 \pm 21/16$.	.	۳	۲۵	۲
$2/8 \pm 34/50$.	۲۲	.	۲۵	۳
$2/6 \pm 36/84$.	۱۵	۳	۲۵	۴
$2/2 \pm 57/10$.	۲۲	۳	۲۵	۵
$3/2 \pm 45/20$.	۲۷	۳	۲۵	۶
$1/7 \pm 32/60$	۲۲	.	۳	۲۵	۷

جدول ۲- پاسخ حسگر آماده شده برای دی کلران در حضور سایر آفت کش ها

ترکیبات تست شده		پاسخ MIP-CP	
کربوفوران	دیازینون	دی متوات	دی کلروفتنیون
N.D	N.D	N.D	N.D
۸/۵	۳/۴	۴/۶	۰/۵۹
۱۱	۶۳/۱	۵/۳	۲۴/۷
دی کلران (در حضور سایر ترکیبات)			



شکل ۱- ولتاموگرام پاسخ های MIP-CP، NIP-CP و CP برای غلظت مشخص دی کلران (5×10^{-7} مولار)



شکل ۲- منحنی کالیبراسیون رسم شده برای تعیین مقدار ولتامتری دی کلران توسط حسگر MIP-CP

شش آزمایش پیوسته برای غلظت مشخصی از دی کلران در طول یک روز انجام شد. انحراف استاندارد نسبی (RSD) به دست آمده در این آزمایشات برابر با ۳/۱ درصد به دست آمد که از لحاظ آماری نشانگر عملکرد رضایت بخش روش به کار گرفته شده برای تعیین غلظت دی کلران می باشد. روش های دیگری که برای تعیین مقدار دی کلران در نمونه های مختلف مورد استفاده قرار گرفته اند شامل گروماتوگرافی گازی و مایع با آشکارسازهای جرمی می باشد که اگر چه گاهی حدود تشخیص پایینی برای آنها حاصل شده است، آماده سازی زیادی برای نمونه در آنها مورد نیاز می باشد و همچنین هزینه و زمان آماده سازی و تجزیه نمونه در آنها بالا می باشد. حد تشخیص روش GC-MS در یک مطالعه برای دی کلران ۰/۵ ppb اعلام شده است که از حد تشخیص حسگر پیشنهاد شده در این مطالعه بالاتر می باشد (۳۲).

آزمایشاتی تحت شرایط مشابه با آنها انجام شد. بر اساس نتایج، تفاوت معنی داری ($P < 0.05$) بین این پلیمرها در جذب مولکول های دی کلران وجود داشت. این یافته در حقیقت تشکیل محل های جذب سطحی گزینش پذیر در ساختار MIP را تصدیق می نماید. شکل ۳ ولتاموگرام های موج مربعی مربوط به تعیین مقدار غلظت مشخصی از دی کلران با NIP-CP، MIP-CP و الکتروود پایه (CP) را نشان می دهد.

ج- اعتبارسنجی روش: همان گونه که در بخش قبلی اشاره گردید، کاربرد حسگر MIP-CP برای تعیین مقدار دی کلران در حضور مداخله کننده ها مورد بررسی قرار گرفت و این ترکیبات تا غلظتی حدود ۱۰۰۰ برابر غلظت دی کلران اثر مداخله کننده ای بر پاسخ حسگر اعمال نکردند. بدین ترتیب سنسور طراحی شده و روش بکار گرفته شده در تعیین مقدار دی کلران از نظر گزینش پذیری مورد تأیید قرار می گیرد. پس از انتخاب پارامترهای آنالیزی مؤثر در پاسخ سنسور، از آن جهت رسم منحنی کالیبراسیون استفاده گردید. بازه غلظت مورد آزمایش از 1×10^{-4} تا 1×10^{-9} مولار را در بر می گرفت. جهت رسم منحنی کالیبراسیون، حسگر MIP-CP در محلول های دی کلران با غلظت های مورد نظر قرار گرفته و پاسخ مربوطه ثبت گردید. رابطه ی خطی بین غلظت دی کلران و شدت جریان در بازه ی 1×10^{-6} تا 1×10^{-9} مولار با ضریب خطی (R^2) برابر با ۰/۹۹۵۶ به دست آمد (شکل ۴). خطی نبودن رابطه در غلظت های بالاتر می تواند به محدود بودن محل های اختصاصی برهمکنش موجود در ساختار MIP و در نتیجه اشباع شدن آنها مربوط باشد. از آن جا که هدف از طراحی حسگرها، ردیابی و تعیین مقدار سطوح غلظت بسیار پایین در نمونه های بیولوژیکی و محیطی می باشد، خطی بودن منحنی کالیبراسیون غلظت های پایین از اهمیت بیشتری برخوردار است که در این مطالعه قابل مشاهده می باشد. در بخش دیگری از اعتبارسنجی روش، حد تشخیص (LOD) و حد کمی سازی (LOQ) به ترتیب برابر با 10^{-10} تا $4/8 \times 10^{-10}$ مولار محاسبه گردید. به منظور بررسی تکرارپذیری روش ولتامتری مورد استفاده، تعداد

نتیجه گیری

در این مطالعه، یک حسگر ولتامتری موج مربعی با گزینش پذیری بالا برای تشخیص سریع سطوح کم مقدار آفت کش دی کلران در نمونه‌های محیطی و بیولوژیکی طراحی گردید. کاربرد MIP و MWCNTs در ساختار حسگر، پاسخ گزینش پذیر آن را برای تعیین مقدار آنالیت به‌طور قابل ملاحظه ای افزایش داد. این قبیل حسگرهای اصلاح‌شده‌ی نانوکامپوزیتی به دلیل افزایش سطح ناشی از کاربرد نانوذرات و نیز بهبود انتقال الکترونی بین الکتروود (حسگر) و الکترولیت حامل منجر به پاسخ‌ها یا شدت جریان‌های بالاتری می‌گردند. همچنین حضور MIP قابلیت گزینش پذیری حسگر را به مقدار زیادی افزایش می‌دهد. در نهایت این که حسگر طراحی شده را می‌توان موفقیت و بدون نیاز به مراحل خاص و پیچیده‌ی آماده سازی نمونه، جهت تعیین مقدار غلظت‌های پایین دی کلران در نمونه‌های محیطی و بیولوژیکی مورد استفاده قرار داد. به عنوان پیشنهاد برای مطالعات آینده می‌توان به بررسی قابلیت استفاده از حسگرها در تعیین مقدار انواع مختلف سموم شغلی و محیطی در پلاسما و سایر واسطه های بیولوژیکی اشاره نمود.

منابع

1. Bolognesi C, Morasso G. Genotoxicity of pesticides: potential risk for consumers. Trends Food Sci Tech. 2000;11(5): 182-187
2. Stoytcheva M. Pesticides – Strategies for Pesticides Analysis, one edn., InTech, Rijeka, Croatia, 2011
3. United States Environmental Protection Agency (US-EPA), Reregistration Eligibility Decision for DCNA (Dicloran). EPA-738-F-05-003, 2006.
4. Rouabhi R. In: Fungicides, ed. By O. Carisse, InTech, Rijeka, Croatia, 2010: 363.
5. Ahmed Azmi M, Naqvi SNH. In: Pesticides - The Impacts of Pesticides Exposure, ed. By M. Stoytcheva, InTech, Rijeka, Croatia. 2011:1-24.
6. Kegley SE, Hill BR, Orme S, Choi AH. Pan Pesticide Database, Pesticide Action Network, North America, Oakland, CA, <http://www.pesticideinfo.org>, 2014.

جدول ۳- راندمان حسگر MIP-CP آماده شده برای تعیین مقدار دی کلران در نمونه‌های آب و ادرار

نمونه	مقدار اضافه شده (ng/ml)	مقدار یافت شده (ng/ml)	RSD (%) (n=3)	راندمان (%)
آب	۰	<۰/۲	-	-
آشامیدنی	۲۰	۱۹/۳۰	۳/۲۰	۹۶/۵۰
	۲۰۰	۱۹۰/۰۰	۲/۱۱	۹۵/۰۰
	۲۰۰۰	۱۸۸۴/۰	۳/۲۱	۹۴/۲۰
آب رودخانه	۰	<۰/۲	-	-
	۲۰	۱۸/۹۰	۲/۲۲	۹۴/۵۰
	۲۰۰	۱۸۵/۰۰	۳/۰۱	۹۲/۵۰
	۲۰۰۰	۲۰۰۶/۰	۲/۹۸	۱۰۰/۳۰
ادرار	۰	<۰/۲	-	-
	۲۰	۱۸/۶۰	۳/۴۷	۹۳/۰۰
	۲۰۰	۱۸۰/۰۰	۳/۶۲	۹۰/۰۰
	۲۰۰۰	۱۷۹۵/۰	۴/۳۱	۸۹/۷۰

۶- تعیین مقدار دی کلران در نمونه‌های ادرار

و آب: روش الکتروشیمیایی بهینه شده به‌طور موفقیت آمیز برای تعیین مقدار دی کلران در نمونه‌های آب و ادرار به کار گرفته شد. نکته‌ی قابل ملاحظه در این زمینه، عدم نیاز به هضم ادرار یا هرگونه مرحله‌ی آماده سازی پیچیده قبل از انجام تجزیه ولتامتری بوده و تنها اقدام انجام شده رقیق کردن ادرار به نسبت ۳ به ۱ توسط آب مقطر بود. با استفاده از روش افزایش استاندارد، مقادیر مشخصی از دی کلران به نمونه‌های آب و ادرار اضافه گردید و پس از انجام مراحل آنالیز الکتروشیمیایی توسط حسگر، مقدار راندمان محاسبه گردید. جدول ۴ راندمان‌های به دست آمده برای نمونه‌های استاندارد افزوده را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج، روش معرفی شده برای پایش محیطی و بیولوژیکی آفت کش دی کلران قابل قبول و کارآمد می‌باشد. ذکر این نکته حائز اهمیت است که آماده سازی نمونه به‌ویژه نمونه‌های بیولوژیکی یکی از کارهای سخت و زمان بر قبل از تجزیه دستگاهی محسوب شده و خطای رخ داده در این مرحله نیز گاهی قابل ملاحظه می‌باشد. بنابراین روش پیشنهادی با حذف این مرحله و عدم نیاز به قدم خاصی برای آماده سازی نمونه‌های واقعی، به حل این مشکل کمک می‌نماید.



H, Sedighi AR, Shahtaheri SJ. Application of molecular imprinted polymer nanoparticles as a selective solid phase extraction for preconcentration and trace determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in the human urine and different water samples. *J. Environ. Health. Sci. Eng.* 2014;12: 137-146.

19. Koohpaei AR, Shahtaheri SJ, Ganjali MR, Rahimi Forushani A, Golbabaie F. Application of multivariate analysis to the screening of molecularly imprinted polymers (MIPs) for ametryn. *Talanta.* 2008;75: 978-986.

20. Piletsky SA, Karim K, Piletska EV, Day CJ, Freebairn KW, Legge C, et al. Recognition of ephedrine enantiomers by molecularly imprinted polymers designed using a computational approach. *Analyst.* 2001;126: 1826-1830.

21. Omidi F, Behbahani M, Samadi S, Sedighi A, Shahtaheri SJ. Coupling of Molecular Imprinted Polymer Nanoparticles by High Performance Liquid Chromatography as an Efficient Technique for Sensitive and Selective Trace Determination of 4-Chloro-2-Methylphenoxy Acetic Acid in Complex Matrices. *Iran J Public Health.* 2014;43(5): 645.

22. Huang H, Nie R, Song Y, Ji Y, Guo R, Liu Z. Highly sensitive electrochemical sensor for tulobuterol detection based on facile graphene/Au nanowires modified glassy carbon electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical.* 2016;230: 422-426.

23. Sreeja V, Sasikumar R, Alagarsamy M, Manisankar P. Multiwall Carbon Nanotube Modified Electrochemical Sensor for Reactive Black 5. *AJAC.* 2011;2: 814-819.

24. Javanbakht M, EynollahiFard S, Abdouss M, Mohammadi A, Ganjali M.R, Norouzi P, et al. A Biomimetic Potentiometric Sensor Using Molecularly Imprinted Polymer for the Cetirizine Assay in Tablets and Biological Fluids. *Electroanalysis.* 2008;20: 2023-2030.

25. Ni Y, Qui P, Kokot S. Simultaneous determination of three organophosphorus pesticides by differential pulse stripping voltammetry and chemometrics. *Anal Chim Acta.* 2004;516: 7-17.

26. Ganjali MR, Motakef-Kazemi N, Norouzi P, Khoei S. A Modified Ho³⁺ Carbon Paste Electrode Based on Multi-walled Carbon Nanotubes (MWCNTs) and Nanosilica. *Int. J. Electrochem. Sci.* 2009;4: 906.

27. Haupt K. Molecularly imprinted polymers in analytical chemistry. *Analyst.* 2001;126: 747-756.

28. Shariyati M, Zamani HA, Dehnavi A, Abedi

7. Massaroppi MRC, Machado SAS, Avaca LA. Electroanalytical determination of the Herbicide Picloram in Natural Waters by Square Wave Voltammetry. *J. Braz. Chem. Soc.* 2003;14:113-119.

8. Shan Lin M, Iuan Jan B, Jyh Leu H, Shing Lin J. Trace measurement of dithiocarbamate based pesticide by adsorptive stripping voltammetry. *Anal Chim Acta.* 1999;388:111-117.

9. El Mhammedi MA, Bakasse M, Chtaini A. Electrochemical studies and squarewave voltammetry of paraquat at natural phosphate modified carbon paste electrode. *J Hazard Mater.* 2007;145: 1-7.

10. Meng Z, Ma Y. An Expert System Knowledge Base for the Analysis of Infrared Spectra of Organophosphorus Compounds. *Microchemical Journal.* 1996;53: 371-375.

11. Carro AM, Lorenzo RA. Simultaneous optimization of the solid-phase extraction of organochlorine and organophosphorus pesticides using the desirability function, *Analyst.* 2001;126: 1005-10.

12. Efremenko EN, Sergeeva VS. Organophosphate hydrolase-an enzyme catalyzing degradation of phosphorus-containing toxins and pesticides, *Russian Chemical Bulletin.* 2001;50: 1826-1832.

13. Ivanov AN, Evtugin GA, Brainina KZ, Budnikov GK, Stenina. Cholinesterase L.E. Sensors Based on Thick-Film Graphite Electrodes for the Flow-Injection Determination of Organophosphorus Pesticides. *J. Anal. Chem.* 2002;57: 1042-1048.

14. Alizadeh T. High Selective Parathion Voltammetric Sensor Development by Using an Acrylic Based Molecularly Imprinted Polymer-Carbon Paste Electrode. *Electroanalysis.* 2009;21: 1490-1498.

15. Kamel H, Moreira FTC, Almeida SAA, Sales MGF. Novel Potentiometric Sensors of Molecular Imprinted Polymers for Specific Binding of Chlormequat. *Electroanalysis.* 2007;20: 194-202.

16. Sosa-Ferrera Z, Mahugo-Santana S, Santana-Rodriguez JJ. Analytical methodologies for the determination of endocrine disrupting compounds in biological and environmental samples. *Biomed. Res. Int.* 2013;2013: 1.

17. Rahiminezhad M, Shahtaheri SJ, Ganjali MR, Koohpaei AR, Rahimi Forushani A, Golbabaie F. An experimental investigation of the molecularly imprinted polymers as tailor-made sorbents of diazinon. *J. Anal. Chem.* 2010;65: 694-698.

18. Omidi F, Behbahani M, Sadeghi Abandansari



MR. Construction of a Fe^{3+} Carbon Paste Electrode Based on Multi-walled Carbon Nanotubes (MWCNTs) /Nanosilica. Int. J. Electrochem. Sci. 2014;9: 8320.

29. Moreno-Bondi MC, Navarro-Villoslada F, Benito-Pena E, Urraca JL. Molecularly Imprinted Polymers as Selective Recognition Elements in Optical Sensing. Curr. Anal. Chem. 2008;4(4): 316.

30. Asman S, Mohamad S, Muhamad Sarih N. Effects of RAFT Agent on the Selective Approach of Molecularly Imprinted Polymers. Polymers. 2015; 7: 484-503.

31. Alizadeh T, Ganjali MR, Akhondian M. Fabrication of an Extra Sensitive Voltammetric Sensor Using Nanoparticles of Molecularly Imprinted Polymer for Determination of Ultra-Trace Promethazine in Plasma Sample Int. J. Electrochem. Sci. 2012;7: 10427.

32. al-Taher F, Juskelis R, Chen Y, Kapposso J. Comprehensive Pesticide analysis in Juice Using a Combination of GC-MS and LC-MS Methods. Application note, Food Safety, Aligent Technologies. 2012.

Designing and development of an electrochemical sensor modified with molecularly imprinted polymer and carbon nanotubes for evaluation of occupational and environmental exposures to dicloran pesticide

Monireh Khadem¹, Farnoush Faridbod², Parviz Norouzi³, Abbas Rahimi Foroushani⁴, Mohammad Reza Ganjali⁵, Seyed Jamaledin Shahtaheri^{6*}, Rasoul Yarahmadi⁷

Received: 2016/05/09

Revised: 2016/11/02

Accepted: 2017/02/27

Abstract

Background and aims: Dicloran pesticide is used to inhibit the fungal spore germination for different crops. Due to the increasing application of pesticides, evaluating the occupational and environmental exposures by reliable and accurate analytical methods is necessary. This work was aimed to design the high selective sensor to determine the dicloran in biological and environmental samples.

Methods: Multi-walls carbon nanotubes and a molecularly imprinted polymer (MIP) were used as modifiers in the sensor composition. A dicloran MIP was synthesized and applied in the carbon paste electrode (CP). After optimizing the electrode composition, it was used to determine the concentration of analyte. Parameters affecting the sensor response, such as sample pH, electrolyte concentration and its pH, and the instrumental parameters of square wave voltammetry were selected following some experiments.

Results: The MIP-CP electrode showed very high recognition ability for determining of dicloran in different matrices (tap water, river water, and urine). The obtained linear range was 1×10^{-6} to 1×10^{-9} mol L⁻¹. The detection limit was 4.8×10^{-10} molL⁻¹. No interfering effects was seen due to the other compounds in matrix.

Conclusion: Selective sensors can successfully used to determine the analyte of interest in different environmental and biological samples without special sample pretreatment before analysis.

Keywords: Dicloran, Molecularly imprinted polymer, Sensor, Biological monitoring.

1. Department of Occupational Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2. Center of Excellence in Electrochemistry, Faculty of Chemistry, University of Tehran, Tehran, Iran.

3. Center of Excellence in Electrochemistry, Faculty of Chemistry, University of Tehran, Tehran, Iran.

4. Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

5. Center of Excellence in Electrochemistry, Faculty of Chemistry, University of Tehran, Biosensor Research Center, Endocrinology & Metabolism Molecular-Cellular Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

6. (**Corresponding author**) Department of Occupational Health Engineering, School of Public Health, Institute for Environmental Research, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

7. Air Pollution Research Center, School of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.