فصلنامه بهداشت و ایمنی کار جلد ۹/ شماره ۳/ پاییز ۱۳۹۸ صفحات ۱۶۸-۱۷۸

ساخت و بهینه سازی عمل کرد جاذب پلیمری قالب مولکولی به منظور تشخیص انتخابی دو ایزومر پیرترواییدی در نمونه بیولوژیکی

امیدرضا هروی زاده[۱]، منیره خادم[۱]، رامین نبی زاده[۲]، سید جمال الدین شاه طاهری[۱*]

[۱] گروه مهندسی بهداشت حرفه ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۲] گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۱/۲۹، تاریخ پذیرش: ۹۸/۴/۱۶

چکیده

مقدمه: هم زمان با تولید و استفاده گسترده از آفت کش ها جهت کنترل انواع آفات و افزایش بهره وری در تولید محصولات کشاورزی، نگرانی رو به رشدی در رابطه با اثرات مضر این ترکیبات بر سلامتی انسان وجود دارد. لذا توسعه روش های حساس و دقیق جهت ارزیابی مداوم غلظت آفت کش ها در سطوح شغلی و محیطی و مقایسه مقادیر موجود با استاندارد های ملی و بین المللی از اهمیت بالایی برخوردار است. مطالعه حاضر با هدف سنتز و استفاده از پلیمر قالب مولکولی به عنوان یک جاذب نوین و اختصاصی در تشخیص مقادیر اندک دو نوع از ایزومر های پیرترواییدی در نمونه بیولوژیکی به انجام رسید.

روش کار: پلیمر قالب مولکولی به روش غیر کووالانسی و با استفاده از پرمترین به عنوان ملکول الگو، کلروفرم به عنوان حلال پلیمریزاسیون، متاکریلیک اسید به عنوان مونومر عاملی و اتیلن گلیکول دی متاکریلات به عنوان پیوند دهنده عرضی و تحت دمای ۵۵ درجه سانتی گراد در حمام روغن آماده سازی شد. جهت بررسی ساختار و اندازه ذرات پلیمری حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده گردید. پس از آن فاکتور های حیاتی تاثیر گذار بر ویژگی های تشخیصی پلیمر سنتز شده با در نظر گرفتن یک بازه عملیاتی مشخص جهت دست یابی به بالاترین راندمان جذب و بازیافت پرمترین از نمونه بیولوژیکی مورد ارزیابی و بهینه سازی قرار گرفتند.

یافته ها: با استفاده از روش پلیمریزاسیون رسوبی ذرات پلیمر قالب مولکولی یکنواخت با ساختار کروی و در محدوده ابعادی نانو (کمتر از ۲۱/۲ نانومتر) حاصل شد. تحت شرایط بهینه سازی شده روش جداسازی از طریق فاز جامد به کمک پلیمر قالب مولکولی توانایی بالایی برای جذب و بازیافت ایزومر های آفت کش مورد نظر از نمونه بیولوژیکی از خود نشان داد و بیش از ۹۳ درصد بازیافت از نمونه اسپایک حاصل گردید. هم چنین منحنی کالیبراسیون خطی در بازه غلظتی ۲۰ تا ۱۲۰ میکروگرم بر لیتر به دست آمد و حد تشخیص روش برای هر دو ایزومر مورد بررسی کم تر از ۶ میکروگرم بر لیتر محاسبه شد. در نهایت وجود ترکیبات مزاحم تا میزان ۱۰۰ برابر آنالیت اصلی تاثیر معنا داری در ویژگی انتخابی روش نداشت.

نتیجه گیری: کاربرد پلیمر قالب مولکولی به عنوان فاز استخراج کننده جامد به همراه روش آنالیز کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا مزایایی از جمله حساسیت و انتخاب پذیری بالا را نشان داد که این مساله روش مذکور را به انتخابی قابل اعتماد جهت ارزیابی کمی و دقیق آفت کش مورد نظر در نمونه بیولوژیکی پیچیده تبدیل می کند.

کلمات کلیدی: *حشره کش پیرترواییدی، پلیمر قالب مولکولی، استخراج فاز جامد، نمونه بیولوژیکی، کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا*

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول مکاتبه: *shahtaheri@tums.ac.ir*

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-09]

مقدمه

آفت کش ها از جمله مواد سمی هستند که به منظور جلوگیری از نابودی محصولات کشاورزی به طور گسترده در جهان مورد استفاده قرار می گیرند. توانایی این ترکیبات برای فعالیت در محیط های بیولوژیکی، موجودات غیر هدف را به صورت مستقیم و غیر مستقیم با ریسک های فراوانی روبه رو می سازد. تماس با این ترکیبات در طی فرآیند تولید، حمل و نقل، آماده سازی و مصرف آن ها در بخش کشاورزی و خانگی یا به صورت غیر مستقیم از طریق باقی مانده آن ها در آب و غذا اتفاق می افتد که باعث بروز اختلالات حاد و مزمن در ارگان های مختلف بدن و بروز بیماری های مختلف می گردد [۱، ۲].

پرمترین از جمله حشره کش های پرمصرف پیرتروییدی است که به منظور نابودی حشرات مضر برای محصولات کشاورزی و انسان مورد استفاده قرار می گیرد. مکانیزم ایجاد مسمومیت این حشره کش در سیستم عصبی و از طریق قطع نفوذ پذیری غشای سلول های عصبی نسبت به یون سدیم است [۳، ۴]. حشره کش های پیرتروییدی از جمله پرمترین ترکیباتی چربی دوست هستند و بدین سبب در غلظت های پایین در محیط های آبی قابل تشخیص می باشند. مواجهه مستقیم و غیر مستقیم با ترکیبات پیرتروییدی در زمان اختلاط و کاربرد و یا از طریق باقی مانده آن ها در آب و مواد غذایی اتفاق می افتد که تجمع این ترکیبات در ارگان های مختف بدن را به دنبال خواهد داشت [۵، ۶]. طبقه بندی ارایه شده از سوی سازمان حفاظت از محیط زیست آمریکا پرمترین را در میان ترکیباتی با امکان ایجاد سرطان برای انسان قرار داده است [۷]. علاوه براین، مطالعات سم شناسی بسیاری وجود رابطه میان تماس با پرمترین و بروز اثرات ژنوتوکسیک، آسیب DNA، سرکوب سیستم ایمنی، اختلال در سیستم اندوکرین و سرطان را نشان داده است [۸-۱۰].

با توجه به خطرات موجود، توسعه روش های آنالیز و تعیین مقدار آفت کش ها در نمونه های بیولوژیکی و محیطی و مقایسه نتایج حاصل با استاندارد های موجود ضروری به نظر می رسد و در این راستا امروزه آنالیز انواع آفت کش ها از جمله پرمترین با روش هایی نظیر کروماتوگرافی مایع و گازی، الکترو کروماتوگرافی، اسپکتروفوتومتری، الکتروفورز و کروماتوگرافی مایع و گازی طیف سنج جرمی صورت می گیرد [۱۱، ۱۲]. اما حتی با وجود تجهیزات پیشرفته آنالیز، وجود مشکلاتی نظیر ترکیبات مزاحم موجود در ماتریکس نمونه، عدم تامین حساسیت کافی جهت تشخیص ریز مقدار برخی از آنالیت ها توسط دتکتور های رایج و یا نبود چنین تجهیزاتی در آزمایش گاه های معمول، ضرورت توسعه روش های انتخابی و دقیق آماده سازی نمونه جهت تغلیظ و تخلیص نمونه‌ی انواع ترکیبات احساس می شود [۱۳-۱۵]. امروزه با توجه به معایب روش های سنتی آماده سازی نمونه گرایش ها به سمت توسعه روش های سریع و ارزان با قابلیت بازیابی و امکان اتوماسیون مانند جداسازی با استفاده از فاز جامد (Solid Phase (SPE) Extraction) و جداسازی با استفاده از فاز جامد میکرو (Solid Phase Microextraction (SPME)) افزایش یافته است [۱۶، ۱۷]. هم چنین تلاش های صورت گرفته به منظور بهبود خاصیت انتخابی در روش های ذکر شده سبب پیدایش جاذب هایی نوین با عمل کرد اختصاصی بر پایه مکانیزم ایمنی موجودات زنده و پلیمر های قالب مولکولی (Molecular Imprinted Polymers (MIPs)) گردیده است.

پلیمر های قالب مولکولی جاذب های نوین و اختصاصی هستند که با راندمان قابل توجه و پایداری و مقاومت بالایی که در شرایط مختلف از خود نشان می دهند یکی از گزینه های مناسب جهت آماده سازی نمونه ترکیباتی با چربی دوستی بالا نظیر بی فنیل های پلی کلرینه (PCB_s) و آفت کش ها به شمار می روند [۱۸]. این جاذب ها با بهره گیری از یک شبکه سه بعدی پلیمری که در طول فرآیند سنتز مطابق با شکل و اندازه ملکول الگو (آنالیت هدف) قالب گیری شده است، امکان جذب و بازیافت اختصاصی ترکیبات مورد نظر از انواع نمونه ها را به وجود آورده است [۱۹، ۲۰].

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-09]

مطالعه حاضر با هدف سنتز نانو ذرات پلیمر قالب مولکولی به عنوان جاذب اختصاصی مورد استفاده در فرآیند آماده سازی نمونه حشره کش پرمترین به عنوان یک آلاینده شغلی و محیطی و هم چنین ترکیب ویژگی های منحصر به فرد این نانو جاذب با روش سطح پاسخ (Response Surface Methodology) به عنوان یک روش مدل سازی قدرت مند جهت بهینه سازی فرآیند استخراج انتخابی و حساس ایزومر های حشره کش پرمترین از نمونه بیولوژیک (ادرار) به انجام رسید.

روش کار

مواد و تجهیزات

استاندارد حشره کش پرمترین (ترکیبی از دو ایزومر Cis و Trans) از شرکت سیگما آلدریچ، متاکریلیک اسید به عنوان منومر عاملی، اتیلن گلیکول دی متاکریلات به عنوان اتصال دهنده جانبی و ۲، ۲- آزوبیس ایزوبوتیرونیتریل به عنوان آغازگر واکنش رادیکالی از شرکت مرک آلمان، حلال های تولوئن، متانول، استیک اسید، هیدروژن کلراید با خلوص ۳۷ درصد و هم چنین سدیم هیدروکسید و محلول های بافر (pH= 4,7,11) با درجه خلوص بالا از شرکت مرک آلمان تهیه شد. از طرفی آب دیونیزه مورد نیاز به عنوان یکی از فاز های برنده دستگاه کروماتوگرافی مایع توسط دستگاه PURITE(Select) ساخت کشور آمریکا فراهم گردید.

آنالیز تمامی نمونه ها با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا ساخت شرکت Knauer آلمان مجهز به پمپ فشار بالا (K-1001)، آشکار ساز ماورای بنفش (K-2006)و ستون C18 فاز معکوس (Prontosil 120-5-C18) تحت شرایط بهینه سازی شده شامل ترکیب یکنواخت استونیتریل و آب به نسبت ۸۰:۲۰ به عنوان فاز متحرک، سرعت عبور ۱/۵ میلی لیتر بر دقیقه و طول موج ۲۰۰ نانومتر به انجام رسید. در فرآیند سنتز پلیمر قالب مولکولی و استفاده از آن به عنوان جاذب در فرآیند جداسازی فاز جامد جهت استخراج ایزومر های حشره کش پرمترین از تجهیزاتی شامل میکروسمپلر (Socorex، آلمان)، ترازوی دیجیتال (Sartorius، آلمان)، حمام اولتراسونیک (Sono، سوییس)، همزن مغناطیسی هیتر دار (Chiltern، آمریکا)، کپسول نیتروژن، دماسنج دیجیتال (TP3001، چین)، آون (Memmert، آلمان)، دستگاه سوکسله (Duran، آلمان)، pH متر (Metrohm، سوییس) و وکیوم منیفلد به همراه پمپ خلاء (تجهیز طب، ایران) نیز استفاده شد.

فرآیند سنتز پلیمر قالب مولکولی

سنتز ذرات پلیمر قالب مولکولی به روش رسوبی و با استفاده از نسبت ۱:۴:۲۰ ملکول الگو، مونومر عاملی و اتصال دهنده جانبی به ترتیب زیر به انجام رسید: ابتدا واکنش میان ملکول الگو و منومر عاملی از طریق ترکیب ۱ میلی مول از استاندارد پرمترین با ۸۰ میلی لیتر کلروفرم حاوی ۴ میلی مول متاکریلیک اسید در مدت ۴۰ دقیقه به انجام رسید. پس از آن مقدار ۲۰ میلی مول اتیلن گلیکول دی متاکریلات و ۴۰ میلی گرم ۲، ۲- آزوبیس ایزوبوتیرونیتریل به ظرف واکنش اضافه گردید. به منظور حذف اکسیژن، ظرف واکنش به مدت ۱۰ دقیقه تحت اتمسفر نیتروژن قرار گرفت و در نهایت در این شرایط درز بندی شد. فرآیند پلیمریزاسیون با قرار دادن ظرف واکنش در حمام روغن با دمای ۵۵ درجه سانتی گراد و هم زدن با سرعت ۸۰ دور در دقیقه به مدت ۱۸ ساعت صورت گرفت. پس از اتمام فرآیند پلیمریزاسیون به منظور حذف ملکول الگو از ساختار پلیمر فرآیند شست شو با استفاده از ۳۰۰ میلی لیتر ترکیب متانول/استیک اسید به نسبت ۱۰:۱ درون دستگاه سوکسله در سه روز متوالی و هر روز به مدت ۱۲ ساعت به انجام رسید. در نهایت پلیمر حاصله در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد خشک شد. هم چنین به منظور اثبات جذب اختصاصی سم مورد نظر با استفاده از پلیمر قالب مولکولی یک پلیمر شاهد تحت عنوان پلیمر غیر قالب مولکولی (None-imprinted polymer (NIP)) با روش مشابه و بدون اضافه نمودن ملکول الگو سنتز شد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-09]

بهینه سازی فرآیند جداسازی با استفاده از فاز جامد پلیمری

در ابتدا با توجه به نتایج حاصل از مطالعات پیشین و آزمایشات صورت گرفته مجموعاً ۶ فاکتور موثر در جذب و بازیافت حشره کش پرمترین توسط پلیمر قالب مولکولی شامل میزان جاذب مورد استفاده، pH و دبی نمونه، حجم حلال استخراج و درصد اسید موجود در آن جهت بررسی در فرآیند بهینه سازی انتخاب گردید که باید متوسط میزان جذب و بازیافت آنالیت مورد نظر با فاصله اطمینان آن برای ترکیبی از ۶ فاکتور مذکور به عنوان مقدار بهینه تعیین شود. بنابراین پس از تعیین حد بالا و پایین برای هریک از متغیر های مورد بررسی مطابق با جدول (۱)، تعداد نمونه مورد نیاز با استفاده از روش طراحی مرکب مرکزی (Central Composite Design (CCD) و به کمک نرم افزار آماری R 3.4.1 صورت گرفت و در نهایت دو دسته آزمایش ۲۹ مرحله ای به طور جداگانه برای دو فاز جذب و بازیافت طراحی شد.

با توجه به شرایط تعیین شده در هر یک از ۲۹ مرحله آزمایش طراحی شده جهت بهینه سازی فرآیند جذب پرمترین، در هر مرحله ابتدا مقدار مشخصی از پلیمر قالب مولکولی در داخل یک ستون خالی جداسازی فاز جامد قرار داده شد و با عبور mL ۱ متانول و به دنبال آن mL ۱ آب دی یونیزه با فلوی mL/min ۱ از ستون، مرحله مستعد سازی (Conditioning) به انجام رسید. پس از آن محلولی به غلظت ppm ۵ و حجم mL ۳۰ از پرمترین با pH و فلوی تعیین شده از ستون جداسازی فاز جامد عبور داده شد و در نهایت توانایی جذب آفت کش مورد نظر توسط پلیمر قالب مولکولی تحت شرایط تعیین شده از طریق مقایسه موجود در نمونه عبوری از MIP با استاندارد اولیه تعیین و به صورت درصد جذب گزارش شد.

در آزمایشات مربوط به بهینه سازی فرآیند بازیافت حشره کش پرمترین از ستون جداسازی فاز جامد، پس از بارگذاری نمونه با در نظر گرفتن شرایط بهینه پارامتر های موثر در مرحله جذب، حذف عوامل مداخله گر از طریق یک مرحله شست شو با استفاده از mL ۲ آب دیونیزه به انجام رسید. در مرحله شویش حجم مشخصی از متانول حاوی ۱۰-۱ درصد استیک اسید به عنوان حلال استخراج با دبی تعیین شده از ستون عبور داده شد و پس از تزریق به دستگاه کروماتوگرافی مایع، میزان استخراج از طریق مقایسه غلظت پرمترین موجود در نمونه قبل و بعد از عبور از ستون، جداسازی فاز جامد محاسبه و به صورت درصد بازیافت گزارش شد.

آماده سازی محلول ها

محلول مادر با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر در متانول تهیه و در یخچال نگه داری شد. هم چنین جهت تهیه محلول های استاندارد مورد نیاز روزانه مقادیر مختلفی از محلول مادر با آب دی یونیزه رقیق سازی شد. برای ارزیابی توانایی پلیمر قالب مولکولی سنتز شده در استخراج پرمترین از نمونه بیولوژیکی، مقدار ۲ میلی

جدول (۱)- حد پایین و بالای گستره انتخابی برای بهینه سازی فاکتور های موثر در مرحله جذب و بازیافت حشره کش پرمترین

مرحله	متغیر	حد پایین	حد بالا
جذب	مقدار جاذب (میلی گرم)	۱	۱۰
	pH نمونه	۳	۱۱
	سرعت عبور نمونه (میلی لیتر/ دقیقه)	۰/۵	۲
بازیافت	حجم حلال استخراج (میلی لیتر)	۱	۵
	سرعت عبور حلال استخراج (میلی لیتر/ دقیقه)	۰/۵	۲
	درصد اسید مورد استفاده در ترکیب حلال شویش	۱	۱۰

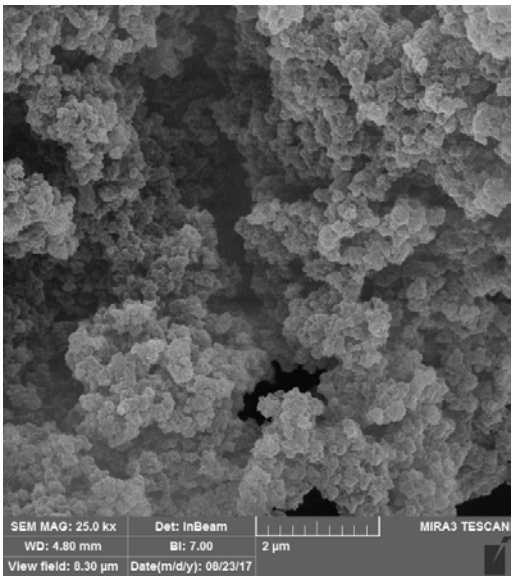
[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-09]

لیتر از نمونه ادرار افراد مواجهه نیافته با پرمترین با ۸ میلی لیتر آب دی یونیزه رقیق سازی شد و پس از تنظیم pH بهینه تعیین شده برای نمونه، غلظت های متفاوت پرمترین به آن اضافه گردید.

یافته ها

بررسی ساختار نانو ذرات پلیمر قالب مولکولی سنتز شده

به منظور بررسی ساختار سطحی و اندازه‌ی ذرات پلیمر قالب مولکولی سنتز شده، از روش اسکن با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (Scanning Electron Microscopy(SEM)) استفاده شد. نتیجه حاصل (شکل ۱) موفقیت روش پلیمریزاسیون رسوبی در دست یابی به ذرات پلیمر قالب مولکولی یکنواخت با ساختار کروی در محدوده ابعاد نانو (۱۲/۴ تا ۲۱/۲ نانومتر) را به اثبات رساند.



شکل (۱)- تصویر میکروسکوپی (SEM) مربوط به ساختار و اندازه سطوح پلیمر قالب مولکولی سنتز شده برای پرمترین

نتایج حاصل از بهینه سازی مرحله جذب و بازیافت پرمترین

پس از انجام ۵۸ مرحله آزمایش با توجه به شرایط از پیش تعیین شده، عمل کرد جاذب پلیمری سنتز شده از طریق مقایسه غلظت آنالیت موجود در محلول، قبل و بعد از هریک از مراحل جذب و بازیافت محاسبه گردید و پس از دست یابی به میانگین جذب و بازیافت حشره کش پرمترین تحت شرایط تعیین شده، ارتباط متغیر های مستقل عملیاتی با متغیر وابسته (میزان جذب و بازیافت) با آزمون رابطه خطی، متقابل و درجه دوم مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج آنالیز واریانس و بررسی برآوردگرهای آماری حاصل در مراحل جذب و بازیافت ایزومر های حشره کش پرمترین (جدول ۲و۳) فاکتور f-value ارایه شده به طور ایده آل مقادیر بالایی را نشان می دهد که این امر بیان گر پیش بینی قابل اطمینان مدل آماری از داده های تجربی است. از طرفی مقادیر پایین p-value حاصل در هر دو مرحله، اعتبار آماری مدل های ارایه شده در پیش بینی پاسخ مورد نظر را نشان می دهد.

کیفیت پیش بینی مدل های سطح پاسخ از طریق ضرایب آنالیز واریانس (R^2 و R^2-Adjusted) نشان داده می شود. نتایج ارایه شده در جدول (۲ و۳) برای مقدار ضریب تعیین R^2 نشان می دهد که بیش از ۹۷ و ۹۱ درصد از

جدول (۲)- نتایج آنالیز واریانس سه آزمون مورد بررسی جهت انتخاب مدل مناسب برای بهینه سازی فرآیند جذب دو ایزمر حشره کش پرمترین بر روی پلیمر قالب مولکولی

نوع آزمون مدل سطح پاسخ	Df	Cis- پرمترین				Trans- پرمترین			
		Sum of squares	Mean square	F-value	P- value	Sum of squares	Mean square	F-value	P- value
پاسخ درجه یک	۳	۶۲۴۳/۹	۲۰۸۱/۳۰	۲۵۰/۱۵	$۱/۹۱\times۱۰^{-۱۵}$	۶۷۷۳/۴	۲۲۵۷/۸	۲۱۶/۱۹	$۷/۳۷\times۱۰^{-۱۵}$
تعامل متقابل دو طرفه	۳	۲۳۴/۸	۷۸/۲۸	۹/۴۰	$۵/۰۴\times۱۰^{-۴}$	۲۲۴/۲	۷۴/۷۴	۷/۱۵	۰/۰۰۲
پاسخ درجه دوم	۳	۱۵۵۶/۲	۵۱۸/۷۲	۶۲/۳۴	$۵/۰۶\times۱۰^{-۱۰}$	۱۶۵۳/۳	۵۵۱/۱۱	۵۲/۷۷	$۲/۰۹\times۱۰^{-۹}$
Residuals	۱۹	۱۵۸	۸	-	-	۱۹۸	۱۰	-	-
Lack of fit	۵	۷۹/۵	۱۵/۹	۲/۸۳	۰/۰۵۶۹	۸۷/۸	۱۷/۵۶	۲/۲۲۲	۰/۱۰۹۸۷
		Multiple R^2 = 0.98; Adjusted R^2 = 0.97				Multiple R^2 = 0.97; Adjusted R^2 = 0.96			

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-09]

تغییرات داده های تجربی به ترتیب برای مراحل جذب و بازیافت دو ایزومر حشره کش پرمترین به لحاظ آماری قابل تفسیر می باشد. علاوه بر این تفاوت جزیی مقدار R^2 و R^2-Adjusted، انتخاب صحیح فاکتور های موثر در عمل کرد پلیمر قالب مولکولی سنتز شده را تایید می نماید.

در ادامه پس از تایید مدل های مورد آزمون، ضرایب رگرسیونی هریک از پارامتر ها با استفاده از رگرسیون چند متغیره محاسبه شد و در نهایت مقادیر بهینه فاکتور های موثر در مرحله جذب و بازیافت حشره کش پرمترین توسط پلیمر قالب مولکولی با در نظر گرفتن معادله رگرسیونی حاصل، از طریق افزونه Solver در نرم افزار Excel محاسبه گردید (جدول ۴).

در رابطه با تعیین مقدار بهینه جاذب مورد استفاده در فرآیند آماده سازی نمونه براساس نتایج ارایه شده در جدول (۴) حداکثر راندمان جذب اختصاصی حشره کش پرمترین نزدیک به حد بالای گستره انتخابی این پارامتر جهت طراحی آزمایشات بهینه سازی مشاهده گردید که از لحاظ تئوریک می توان این مساله را به افزایش تعداد سایت های جذب اختصاصی و در نتیجه افزایش ظرفیت جذب در مقادیر بالای جاذب مورد استفاده نسبت داد.

pH نمونه از دیگر پارامتر های مهم و تاثیر گذار در فرآیند جذب ترکیبات مختلف توسط پلیمر قالب مولکولی است که مقدار بهینه آن به ساختار شیمیایی جاذب و آنالیت مورد نظر بستگی دارد. براساس نتایج حاصل از میان گستره انتخابی جهت بررسی تاثیر pH نمونه در فرآیند استخراج، در نهایت pH برابر ۵/۵۸ و ۵/۶۸ به ترتیب به عنوان مقادیر بهینه جهت دست یابی به حداکثر راندمان جذب ایزومر Cis و Trans تعیین شد. به طور کلی با توجه به ماهیت پیوند های هیدروژنی بهبود کارایی فرآیند جذب در یک گستره خنثی و مایل به اسیدی مورد انتظار است، در صورتی که در نقطه مقابل بروز فرآیند هیدرولیز در pH قلیایی کاهش توانایی گروه های عاملی

جدول (۳)- نتایج آنالیز واریانس سه آزمون مورد بررسی جهت انتخاب مدل مناسب برای بهینه سازی فرآیند بازیافت دو ایزمر حشره کش پرمترین از پلیمر قالب مولکول

نوع آزمون مدل سطح پاسخ	Df	Cis- پرمترین				Trans- پرمترین			
		Sum of squares	Mean square	F-value	P- value	Sum of squares	Mean square	F-value	P- value
پاسخ درجه یک	۳	۱۴۲۵/۰۳	۴۷۵/۰۱	۶۳/۵۶	$۴/۲۹\times۱۰^{-۱۰}$	۲۹۶۶/۰۳	۹۸۸/۶۸	۱۵۲/۵۸	$۱/۷۹\times۱۰^{-۱۳}$
تعامل متقابل دو طرفه	۳	۸/۹۵	۲/۹۸	۰/۳۹۹	۰/۷۵۵	۶۹/۷۶	۲۳/۲۵	۳/۵۸	۰/۰۳۲
پاسخ درجه دوم	۳	۱۸۲/۰۶	۶۰/۶۹	۸/۱۲	۰/۰۰۱	۵۹/۸۳	۱۹/۹۴	۳/۰۷	۰/۰۵۲
Residuals	۱۹	۱۴۱/۹۹	۷/۴۷	-	-	۱۲۳/۱۱	۶/۴۸	-	-
Lack of fit	۵	۴۳/۷۹	۸/۷۶	۱/۲۴	۰/۳۳۸۷	۵۹/۴۱	۱۱/۸۸	۲/۶۱	۰/۰۷۱
		Multiple $R^2 = 0.91$; Adjusted $R^2 = 0.88$				Multiple $R^2 = 0.96$; Adjusted $R^2 = 0.94$			

جدول (۴)- مقادیر بهینه تعیین شده برای پارامترهای موثر در مرحله جذب و بازیافت ایزومر های حشره کش پرمترین توسط پلیمر قالب مولکولی

مرحله	مقدار بهینه تعیین شده		متغیر	حداکثر راندمان (٪)
	ایزومر Cis	ایزومر Trans		
جذب	۵/۵۸	۵/۶۸	pH	۱۰۰
	۷/۷۱	۷/۷۱	مقدار جاذب(میلی گرم)	
	۰/۶	۰/۶	سرعت عبور نمونه (میلی لیتر بر دقیقه)	
بازیافت	۵	۳/۹۴	حجم حلال شویش(میلی لیتر)	
	۹	۱۰	میزان اسید موجود در حلال شویش (٪)	
	۲	۲	دبی شویش (میلی لیتر بر دقیقه)	

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-09]

جاذب در برقراری پیوند موثر با ترکیب مورد نظر را به دنبال خواهد داشت.

جهت بررسی تاثیر سرعت عبور نمونه بر راندمان جذب پرمترین توسط MIP با توجه به نتایج مطالعات مشابه آزمایشات بهینه سازی مرحله جذب در گستره ۰/۵ تا ۲ میلی لیتر بر دقیقه برای بارگذاری نمونه به انجام رسید و در نهایت نتایج حاصل از مدل سازی داده های تجربی حاصل جذب موثر ایزومر های پرمترین در سرعت ۰/۶ میلی لیتر بر دقیقه را نشان داد. لذا به نظر می رسد در راستای نتایج حاصل از برخی مطالعات مشابه [۲۱، ۲۲]، کاهش سرعت عبور نمونه تا یک مقدار معین می تواند راندمان جذب آنالیت توسط جاذب را بهبود بخشد.

در مرحله بازیافت با انجام ۲۹ مرحله آزمایش که در هریک شرایط بهینه تعیین شده در مرحله جذب به طور جداگانه اعمال گردید، تاثیر ترکیبی سه فاکتور حجم و فلوی حلال شویش و هم چنین میزان اسید موجود در ترکیب حلال شویش بر میزان استخراج پرمترین مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج ارایه شده در جدول (۴) مقادیر ۵ و ۳/۹۴ میلی لیتر متانول در ترکیب با استیک اسید به عنوان عامل تسهیل کننده به نسبت ۹۱:۹ و ۹۰:۱۰ به ترتیب قادر است پیوند های ایجاد شده دو ایزومر Cis و Transe با پلیمر قالب مولکولی در مرحله جذب را به طور موثری تخریب و حداکثر راندمان استخراج آنالیت را تامین نماید. هم چنین به دلیل اهمیت دسترسی موثر حلال شویش به سایت های قالب گیری شده ذرات پلیمری و تامین مدت زمان لازم برای استخراج آنالیت مورد نظر، سرعت عبور حلال شویش در بازه تعیین شده و در ترکیب با دو فاکتور دیگر مورد بررسی قرار گرفت که در نهایت براساس نتایج مدل سازی صورت گرفته دبی ۲ میلی لیتر بر دقیقه به عنوان سرعت بهینه عبور حلال شویش تعیین شد.

مقایسه‌ی راندمان جذب MIP و NIP در شرایط بهینه

پس از اتمام مراحل بهینه سازی جذب و بازیافت حشره کش پرمترین به منظور اثبات گزینش پذیری پلیمر قالب مولکولی در جذب آنالیت مربوطه، راندمان MIP و NIP تحت شرایط بهینه تعیین شده و کاملا به صورت مشابه اندازه گیری شد. بر اساس نتایج به دست آمده که در جدول (۵) نشان داده شده است، بازده استخراج برای پلیمر قالب مولکولی به علت وجود سایت های اختصاصی تشکیل شده برای مولکول آفت کش انتخابی به میزان چشم گیری بیش تر از پلیمر قالب مولکولی نشده بوده که این نتایج تاییدی بر سنتز موفق جاذب مورد نظر می باشد.

بررسی اثر عوامل مداخله گر در عمل کرد پلیمر قالب مولکولی سنتز شده

به منظور بررسی و اثبات عمل کرد اختصاصی جاذب پلیمری سنتز شده در جذب و بازیافت پرمترین، محلولی با غلظت ppb ۵۰ و حجم mL ۳۰ از این آفت کش تهیه شد و آفت کش های متری بوزین، دیازینون و مالاتیون به عنوان عوامل مزاحم در دو نوبت و با غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ برابر غلظت آنالیت مورد نظر (پرمترین) به محلول تهیه شده اضافه گردید. پس از آن مراحل جذب و بازیافت هرکدام از نمونه های حاوی عوامل مزاحم تحت شرایط بهینه به انجام رسید و آنالیز محلول استخراجی از ستون جداسازی فاز جامد با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع انجام و میزان بازیافت آنالیت در حضور عوامل مزاحم محاسبه شد. بر اساس نتایج ذکر شده در جدول (۶) حضور عوامل مداخله گر تا غلظت ۱۰۰ برابر حشره کش پرمترین نتوانست بر درصد بازیافت این سم تاثیر قابل ملاحظه‌ای داشته باشد.

جدول (۵)- مقایسه راندمان و ظرفیت جذب ایزومرهای پرمترین توسط پلیمر قالب مولکولی در برابر پلیمر غیر قالب مولکولی

جاذب	نوع ایزومر	بازیافت (٪) (SD ± میانگین)
پلیمر قالب مولکولی(MIP)	Cis	۹۶/۷ ± ۰/۲۴
	Trans	۹۶/۸۸ ± ۰/۵۷
پلیمر غیر قالب مولکولی (NIP)	Cis	۳۷/۲۹ ± ۵/۱۸
	Trans	۳۷/۴۵ ± ۶/۶۷

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-09]

جدول (۶)- راندمان استخراج دو ایزومر پرمترین توسط MIP در حضور غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ برابر عوامل مزاحم

غلظت عوامل مزاحم	Cis پرمترین بازیافت (٪) (میانگین ± SD)	Trans پرمترین بازیافت (٪) (میانگین ± SD)
۵۰ برابر (مالاتیون، دیازینون، متری بوزین)	۹۴/۶۰ ± ۱/۸۴	۹۹/۳۲ ± ۰/۷
۱۰۰ برابر (مالاتیون، دیازینون، متری بوزین)	۹۲/۶۹ ± ۳/۹۸	۹۹/۰۷ ± ۰/۶۲

معتبر سازی روش

پس از بهینه سازی پارامتر های موثر در مراحل جذب و بازیافت و اثبات موفقیت روش، به منظور تعیین مقادیر جزیی ایزومرهای پرمترین در نمونه های مختلف و هم چنین برآورد حد تشخیص و محدوده خطی روش، رسم منحنی کالیبراسیون در بازه غلظتی ۱۲۰-۲۰ ppb تحت شرایط بهینه انجام گرفت و رابطه ای خطی با R^2=0.99 میان غلظت دو ایزومر پرمترین و سطح زیر کروماتوگرام در این محدوده مشاهده شد. از طرفی حد تشخیص روش با استفاده از رابطه زیر برای دو ایزومر Cis و Trans به ترتیب ۵/۵۱ و ۵/۷۲ میکروگرم بر لیتر محاسبه شد.

$$LOD = \frac{3\ Sb}{m}$$

در رابطه فوق Sb انحراف استاندارد شاهد و m شیب منحنی کالیبراسیون می باشد.

تعیین مقدار آفت کش مورد نظر در نمونه بیولوژیکی

به منظور سنجش توانایی روش طراحی شده در تعیین مقدار آنالیت مورد نظر در نمونه بیولوژیکی با ترکیب پیچیده و حاوی عوامل مزاحم، نمونه هایی با غلظت های مختلف (۱۱۰،۹۰،۷۰ و۵۰ ppb) از آفت کش مورد نظر در ۱۰ mL ادرار رقیق شده اسپایک و پس از انجام مراحل آماده سازی بهینه، حلال استخراجی به وسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع آنالیز و میزان بازیافت پرمترین از نمونه واقعی مشخص شد. براساس نتایج ارایه شده در جدول (۷) راندمان بازیافت پرمترین از نمونه های بیولوژیکی در تمامی غلظت های انتخابی مطلوب بوده که این امر علاوه بر اثبات عمل کرد قابل اطمینان، انتخابی

جدول (۷)- نتایج مربوط به راندمان استخراج دو ایزومر حشره کش پرمترین از نمونه بیولوژیکی با استفاده از پلیمر قالب مولکولی

نمونه واقعی		غلظت (ppb)	بازیافت (٪) (میانگین ± SD)
ادرار	Cis پرمترین	۵۰	۹۴/۰۵ ± ۳/۹۰
		۷۰	۹۳/۰۱ ± ۰/۸۶
		۹۰	۹۴/۶۴ ± ۲/۷۴
		۱۱۰	۹۷/۱۴ ± ۳/۹۰
	Trans پرمترین	۵۰	۹۴/۵۸ ± ۴/۲۷
		۷۰	۹۳/۱۰ ± ۰/۰۰۷
		۹۰	۹۴/۱۰ ± ۳/۱۱
		۱۱۰	۹۶/۲۶ ± ۲/۷۳

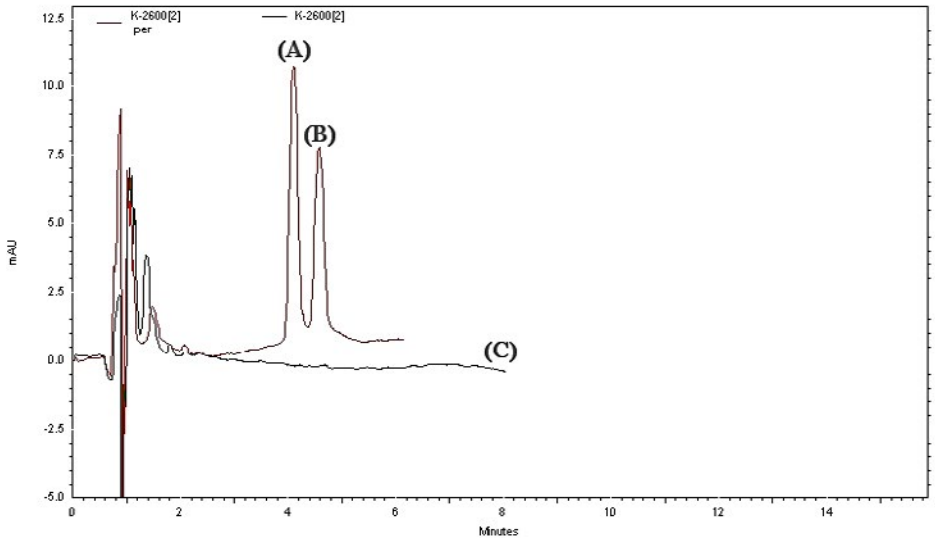
و دقیق پلیمر قالب مولکولی سنتز شده در مواجهه با نمونه های پیچیده، امکان استفاده از روش طراحی شده در ارزیابی بیولوژیکی تماس با آفت کش مورد نظر را نشان داد. کروماتوگرام استخراج دو ایزومر حشره کش پرمترین از نمونه ادرار تحت شرایط بهینه سازی شده در شکل (۲) نمایش داده شده است.

نتیجه گیری

در این مطالعه سنتز پلیمر قالب مولکولی به عنوان یک جاذب نوین و اختصاصی برای تعیین مقدار حشره کش پرمترین از نمونه بیولوژیکی به انجام رسید. پارامترهای مختلفی بر عمل کرد این جاذب‌های پلیمری در دو مرحله جذب و بازیافت تاثیر گذار است که با توجه به مطالعات انجام شده مهم ترین این عوامل مورد بررسی و بهینه سازی قرار گرفت. نتایج حاصل توانایی بسیار بالای MIP سنتز شده در جداسازی انتخابی و تعیین مقدار علف‌کش مورد نظر در شرایط بهینه را نشان داد و در نهایت آزمایشات انجام

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-09]

شکل (۲)- کروماتوگرام استخراج نمونه اسپایک پرمترین در ادرار با غلظت ۱۰۰ µg/L تحت شرایط بهینه سازی شده (A و B: به ترتیب ایزومر های Cis و Trans پرمترین و C: نمونه شاهد)



شده جهت مطالعه عمل کرد این جاذب برای جداسازی مقادیر جزیی آنالیت مورد نظر از نمونه بیولوژیکی نیز نتایج موفقیت آمیزی را به دنبال داشت. از مزایای استفاده از پلیمرهای قالب مولکولی به عنوان جاذب اختصاصی فاز جامد می‌توان به هزینه پایین، پایداری و مقاومت بالای این جاذب ها در شرایط مختلف، عدم نیاز به مقادیر بالای حلال و عمل کرد اختصاصی با راندمان و سرعت بالا اشاره کرد. با توجه به لزوم تعیین مقادیر جزیی آلاینده‌های مختلف در نمونه های محیطی و بیولوژیکی، مقایسه این مقادیر با استاندارد های موجود و در نهایت کنترل این آلاینده ها، امروزه توسعه گسترده‌ای در ساخت و استفاده از این نوع جاذب ها برای ترکیبات مختلف صورت گرفته است. در نهایت بررسی قابلیت کاربرد پلیمرهای قالب مولکولی جهت آماده سازی نمونه سموم و آلاینده های شغلی و محیطی در دیگر واسط های بیولوژیکی مانند خون و پلاسما جهت مطالعات آتی پیشنهاد می گردد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-09]

REFERENCES

1. Khadem M, Faridbod F, Norouzi P, Rahimi Foroushani A, Ganjali MR, Shahtaheri SJ, et al. Modification of Carbon Paste Electrode Based on Molecularly Imprinted Polymer for Electrochemical Determination of Diazinon in Biological and Environmental Samples. Electroanalysis. 2017;29(3):708-15.
2. Rahiminezhhad M, SHAHTAHERI S, Ganjali M, RAHIMI FA, GOLBABAEI F. MOLECULARLY IMPRINTED SOLID PHASE EXTRACTION FOR TRACE ANALYSIS OF DIAZINON IN DRINK-ING WATER. 2009.
3. Chocholouš P, Šatínský D, Sladkovský R, Pospíšilová M, Solich P. Determination of pesticides fenoxycarb and permethrin by sequential injection chromatography using miniaturized monolithic column. Talanta. 2008;77(2):566-70.
4. Shishovska M, Trajkovska V. HPLC-method for determination of permethrin enantiomers using chiral β-cyclodextrin-based stationary phase. Chirality. 2010;22(5):527-33.
5. Tornero-Velez R, Davis J, Scollon EJ, Starr JM, Setzer RW, Goldsmith M-R, et al. A pharmacokinetic model of cis-and trans-permethrin disposition in rats and humans with aggregate exposure application. Toxicological Sciences. 2012;130(1):33-47.
6. Du J, Yan H, She D, Liu B, Yang G. Simultaneous determination of cypermethrin and permethrin in pear juice by ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography. Talanta. 2010;82(2):698-703.
7. Feo M, Eljarrat E, Barceló D. A rapid and sensitive analytical method for the determination of 14 pyrethroids in water samples. Journal of Chromatography A. 2010;1217(15):2248-53.
8. Gabbianelli R, Nasuti C, Falcioni G, Cantalamessa F. Lymphocyte DNA damage in rats exposed to pyrethroids: effect of supplementation with Vitamins E and C. Toxicology. 2004;203(1-3):17-26.
9. Park E-K, Kim J-H, Gee SJ, Watanabe T, Ahn KC, Hammock BD. Determination of pyrethroid residues in agricultural products by an enzyme-linked immunosorbent assay. Journal of agricultural and food chemistry. 2004;52(18):5572-6.
10. Tisch M, Schmezer P, Faulde M, Groh A, Maier H. Genotoxicity studies on permethrin, DEET and diazinon in primary human nasal mucosal cells. European Archives of Oto-rhino-laryngology. 2002;259(3):150-3.
11. Pico Y, Rodrıguez R, Manes J. Capillary electrophoresis for the determination of pesticide residues. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2003;22(3):133-51.
12. Shen C-y, Cao X-w, Shen W-j, Jiang Y, Zhao Z-y, Wu B, et al. Determination of 17 pyrethroid residues in troublesome matrices by gas chromatography/mass spectrometry with negative chemical ionization. Talanta. 2011;84(1):141-7.
13. Massaroppi MR, Machado SA, Avaca LA. Electroanalytical determination of the herbicide picloram in natural waters by square wave voltammetry. Journal of the Brazilian Chemical Society. 2003;14(1):113-9.
14. Sosa-Ferrera Z, Mahugo-Santana C, Santana-Rodríguez JJ. Analytical methodologies for the determination of endocrine disrupting compounds in biological and environmental samples. BioMed research international. 2013;2013.
15. Omidi F, Behbahani M, Abandansari HS, Sedighi A, 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. Journal of Environmental Health Science and Engineering. 2014;12(1):137.
16. Liu R, Zhou J, Wilding A. Simultaneous determination of endocrine disrupting phenolic compounds and steroids in water by solid-phase extraction–gas chromatography–mass spectrometry. Journal of Chromatography A. 2004;1022(1):179-89.
17. Ghavidel F, Shahtaheri SJ, Jazani RK, Torabbeigi M, Froushani AR, Khadem M. Optimization of solid phase microextraction procedure followed by gas chromatography with electron capture detector for pesticides butachlor and chlorpyrifos. American Journal of Analytical Chemistry. 2014;5(09):535.
18. Koohpaei A, Shahtaheri S, Ganjali M, Forushani AR, Golbabaei F. Application of multivariate analysis to the screening of molecularly imprinted polymers (MIPs) for ametryn. Talanta. 2008;75(4):978-86.
19. Khadem M, Faridbod F, Norouzi P, Foroushani AR, Ganjali MR, Shahtaheri SJ. Biomimetic electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer for

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-09]

dicloran pesticide determination in biological and environmental samples. Journal of the Iranian Chemical Society. 2016;13(11):2077-84.

20. 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. Iranian journal of public health. 2014;43(5):645.

21. Zarejousheghani M, Fiedler P, Möder M, Borsdorf H. Selective mixed-bed solid phase extraction of atrazine herbicide from environmental water samples using molecularly imprinted polymer. Talanta. 2014;129:132-8.

22. Wang Q, Zhang X, Xu Z, Gao H. Simultaneous determination of three trace organophosphorus pesticide residues in vegetables using molecularly imprinted solid-phase extraction coupled with high-performance liquid chromatography. Food analytical methods. 2015;8(8):2044-51.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-09]

Journal of Health and Safety at Work *Volume 9, Issue 3, Autumn 2019*

Synthesis and optimization of application of a molecular imprinted sorbent for selective determination of two pyrethroid isomers from biological sample

Omid Reza Heravizadeh[1], Monireh Khadem[1], Ramin Nabizadeh[2], Seyed Jamaleddin Shahtaheri[1,*]

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

[2] Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

*Corresponding Author Email: *shahtaheri@tums.ac.ir*

Received: 2019-02-18, accepted: 2019-07-07

ABSTRACT

Introduction: Along with the extensive production and use of various pesticides for controlling pests and enhancing the production of agricultural crops, there is a growing concern about the adverse effects of these toxic materials on human health. Therefore, the development of sensitive, selective, and accurate methods for continuous assessment of pesticides concentration in occupational and environmental fields and comparing them with national and international standards is of great importance. This study was aimed at synthesis and application of molecularly imprinted polymer as a selective sorbent for residue determination of two pyrethroid isomers in biological samples.

Material and Methods: The MIP particles were prepared by a non-covalent approach using permethrin as a template, chloroform as progen solvent, methacrylic acid as functional monomer and ethyleneglycol dimethacrylate as cross-linker, at 55 °C for 18 hours in an oil bath. Field emission scanning electron microscopy was used to investigate the morphology and size of polymer particles. Afterward, the critical parameters, which could affect the recognition properties of synthesized MIP, were investigated and optimized under the selected operational ranges for the highest adsorption and recycling yield in solid-phase extraction of permethrin in biological samples

Results: using precipitation polymerization technique, uniform and spherical particles with the nano-ranged diameter (less than 21.2 nanometers) were obtained. Under the optimized condition, the designed molecularly imprinted solid-phase extraction (MISPE) technique exhibited great potential for the extraction of pesticide isomers in the real sample. More than 93 % of the recovery obtained from spiked urine samples. The linear calibration curve was obtained from 20-120 µg.L-1 (R2=0.99) and the detection limit was less than 6 ppb for both isomers. The presence of interferences had no effect on the selectivity of the method up to 100-fold.

Conclusion: employing the molecular imprinted solid-phase extraction method along with the high-performance liquid chromatography technique resulted in a selective and sensitive approach, suitable for quantitative monitoring of the desired pesticide in complex biological samples.

Keywords: *Pyrethroid Insecticide, Molecular Imprinted Polymer, Solid Phase Extraction, High Performance Liquid Chromatography*

HOW TO CITE THIS ARTICLE

Heravizadeh OA, Khadem M, Nabizadeh R, Shahtaheri SJ. (2019). Synthesis and optimization of application of a molecular imprinted sorbent for selective determination of two pyrethroid isomers from biological sample. Journal of Health and Safety at Work, 9(3): 168-178.

COPYRIGHTS

Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted to the Journal of Health and Safety at Work. This is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution. License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-07-09]