

اندازه‌گیری باقی مانده آفت کش‌ها در مواد غذایی با حسگرهای الکتروشیمیایی مبتنی بر

الکترودهای صفحه چاپی اصلاح شده با نانوذرات

مسلم جهانی*^۱ و جواد فیضی^۲

۱. استادیار گروه شیمی مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی

۲. استادیار گروه ایمنی و کنترل کیفیت مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی

چکیده

ابعاد کوچک، قابل حمل بودن، حساسیت، انتخاب پذیری بالا و گستره خطی وسیع ویژگی‌های ویژه حسگرهای الکتروشیمیایی هستند. در حسگرهای صفحه چاپی (SPEs)، سیستم الکترودی (الکترودهای کار، مرجع و کمکی) بر یک لایه واحد چاپ شده و با توجه به پاسخ‌های خطی و سریع، نیاز کم به انرژی، قابلیت کار در دمای محیط و تهیه آسان، می‌توانند مناسب‌ترین گزینه برای آنالیز درمحل باشند. برای بهبود عملکرد SPEs، سطح الکتروود کار را می‌توان با فلزات نجیب، نانوذرات، آنزیم‌ها، توالی‌های DNA و بسپارهای قالب‌گیری شده مولکولی اصلاح کرد. حسگرهای متفاوتی مبتنی بر اصلاح SPEs با آنزیم‌ها برای اندازه‌گیری باقی مانده آفت‌کش‌ها معرفی شده‌اند. واکنش آنزیم با پیش‌ماده خود گونه‌های الکتروفعال تولید می‌کند که به صورت الکتروشیمیایی قابل اندازه‌گیری هستند. آفت‌کش به‌عنوان عامل مهارکننده، از فعالیت آنزیم کاسته و متناسب با آن جریان عبوری نیز کاهش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: الکترودهای صفحه چاپی، حسگرهای الکتروشیمیایی، نانوذرات، آفت‌کش‌ها

m.jahani@rifst.ac.ir

ایمیل نویسنده مسئول:

۱- مقدمه

توسعه روش‌های اندازه‌گیری دقیق و با حساسیت بالا که قادر به تشخیص آنالیت‌هایی با خصوصیات متفاوت در نمونه‌های واقعی باشند از جمله چالش‌های مهم پیش روی دانشمندان شیمی تجزیه است. ایده آل است این روش‌ها قابلیت آنالیزهای سریع و در محل^۱ را نیز داشته باشند. در سال‌های اخیر بسیاری از مطالعات انجام شده در این حوزه متوجه استفاده از روش‌های الکتروشیمیایی بوده که به دلیل حساسیت بالا، انتخاب پذیری، ابعاد کوچک (قابل حمل بودن) و ارزانی است. روش‌های الکتروشیمیایی، به ویژه روش‌های جریان سازی^۲، همواره با روش‌هایی مانند طیف‌سنجی اتمی و کروماتوگرافی برای اندازه‌گیری مقادیر جزئی^۳ آنالیت‌ها رقابت می‌کنند. روش‌های آزمایشگاهی متداول در اندازه‌گیری‌های جریان سازی مبتنی بر الکتروود قطره جیوه هستند اما جایگزین کردن آن

با الکترودهای جدید و یکبارمصرف یکی از پیشرفت‌های چشمگیر بوده است. در آنها الکترودهای کار، مرجع و کمکی از نوارهای مسطحی از کربن، طلا یا نقره تشکیل شده‌اند که بر روی یک لایه^۴ سرامیک یا پلاستیک چاپ شده‌اند و آنها را تحت عنوان الکترودهای صفحه چاپی (SPEs)^۵ می‌شناسیم [۱]. در دهه‌های اخیر شاهد تأثیرات گسترده فناوری نانو در تمام حوزه‌ها بوده ایم. این تغییرات در حوزه شیمی تجزیه نیز موثر بوده و در بهبود روش‌های شناسایی، توسعه تکنیک‌های جداسازی جدید برای آماده سازی نمونه و به ویژه در کوچک سازی روش‌های تجزیه‌ای نقش داشته است. روش‌های الکتروشیمیایی تجزیه‌ای یکی از زمینه‌های خاص در شیمی تجزیه بوده که استفاده وسیعی از دستاوردهای فناوری نانو و نانو مواد در آن مشاهده می‌شود. این تأثیر را قبل از هر چیز می‌توان به نقش نانوذرات (NPs)^۶ در

4- Substrate

5- Screen-printed electrodes

6- Nano particles

1- In-situ

2- Stripping analysis

3- Trace

گزارش آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا در فوریه ۲۰۱۱ اشاره دارد که مصرف آفت کش‌ها در ایالات متحده در سال ۲۰۰۷ حدود ۱/۱ میلیارد پوند بوده و مصرف آفت کش‌های متداول در بازه ۲۰۰۲-۲۰۰۷ حدود ۳ درصد و در بازه ۲۰۰۷-۱۹۹۷ حدود ۱۱ درصد کاهش داشته است. با این حال در سال ۲۰۰۷ هنوز هم حدود ۸۵۷ میلیون پوند از آفت کش‌های فعال استفاده شده‌اند. در زمینه آفت کش‌های ارگانوفسفره، مصرف در بازه ۲۰۰۲-۲۰۰۷ حدود ۴۴ درصد، ۲۰۰۷-۲۰۰۰ حدود ۶۳ درصد و در گستره ۲۰۰۷-۱۹۹۷ حدود ۵۵ درصد کاهش داشته اما هنوز نیز در سال ۲۰۰۷ حدود ۳۳ میلیون پوند از این آفت کش‌ها استفاده شده‌اند [۵].

تلاش‌های زیادی شده تا روش‌های حساس، راحت و موثر برای آنالیز باقی مانده آفت کش‌ها در نمونه‌های زیست محیطی و غذایی ارائه شوند. در حال حاضر به این منظور از روش‌های کروماتوگرافی گازی و مایعی در تلفیق با آشکارساز جرمی (GC-MS و HPLC-MS) استفاده می‌شود که انتخاب پذیری، حساسیت و دقت مناسبی دارند اما گران هستند و به افراد آموزش دیده، آزمایشگاه‌هایی با تجهیزات مناسب و مواد شیمیایی با خلوص بالا نیاز دارند و همین دلایل کاربرد آنها برای غربالگری مقادیر جزئی از آفت کش‌ها را دشوار ساخته است. اما تلفیق واکنش‌های آنزیمی با حسگرهای الکتروشیمیایی روش‌هایی را برای اندازه‌گیری سریع و حساس آفت کش‌ها توسعه داده است. به طور خاص حسگرهای آنزیمی ساخته شده روی SPES دارای مزایای یکپارچه سازی الکترودها، آماده سازی آسان، قیمت کم و نیاز به مقدار کم نمونه هستند [۳، ۷ و ۸].

۳- الکترودهای صفحه چاپی

خاستگاه فناوری صفحه چاپی به چین باستان بر می‌گردد که از آن برای رنگ آمیزی پارچه استفاده می‌کردند. در اوایل قرن بیستم استفاده‌های صنعتی این روش معرفی شد و در دهه ۱۹۸۰ اولین گزارش از کاربرد آن برای تولید حسگرهای صفحه چاپی ارائه شد [۲]. تولید SPES سریع و آسان بوده و شامل عبور (با فشار) یک جوهر یا خمیر از یک صفحه مشبک (شابلون) است که الگوی الکترودی (الکترودهای کار، مرجع و کمکی) روی آن ایجاد شده است. با این کار الگوی مورد نظر بر یک

الکتروآنالیز فرایندهای فیزیکوشیمیایی نسبت داد. این فرایندها در سطح مواد رخ می‌دهند و مستقیم به توسعه سطح، قابلیت خودآرایی سطح و نیز امکان انجام انواع متفاوتی از اصلاحات روی سطح وابسته هستند و به همین دلیل NPs در مطالعات و کاربردهای الکتروشیمیایی خیلی جذاب هستند [۲].

۲- آلودگی محیط زیست به آفت کش‌های شیمیایی

همزمان با افزایش جمعیت در کشورهای در حال توسعه، تقاضا برای مواد غذایی نیز به شدت در حال رشد بوده است. برای جبران کمبود مواد غذایی، از مقدار زیادی کود و سموم دفع آفات استفاده می‌شود که کاربرد غیرعلمی آنها می‌تواند منجر به بروز مشکلات جدی در محیط زیست و آلودگی مواد غذایی شده و بر تعادل اکوسیستم و سلامت انسان تأثیر بگذارد. ترکیبات ارگانوفسفره، ارگانوکلره، کاربامات‌ها، پیرتروم‌ها^۱ و تری آزین‌ها برای مبارزه با آفات کشاورزی استفاده می‌شوند. باقی‌مانده این ترکیبات در محیط تجمع یافته و در نهایت از طریق خاک، آب و غذا به مصرف کننده‌های انسانی هم می‌رسد. طبق آمار، متوسط مصرف سموم دفع آفات در جهان بالغ بر ۲ میلیون تن در سال است اما مقدار مصرف به ازاء واحد سطح در کشورهای کمتر توسعه یافته بسیار بیشتر است [۳-۵].

با توجه به تأثیرات شناخته شده آفت کش‌ها بر انسان و محیط زیست، کشورهای مختلف قوانین سخت گیرانه‌ای برای حداکثر باقی مانده مجاز آنها در مواد غذایی تدوین کرده‌اند. بر اساس قوانین اتحادیه اروپا، حداکثر غلظت‌های قابل قبول از سموم دفع آفات و ترکیبات مربوط به آنها در آب و مواد غذایی با منشأ گیاهی به ترتیب 0.1 g/L و 0.05 mg/kg است. بر طبق گزارش‌های موجود، در دنیا هر ساله حدود ۳ میلیون نفر در معرض تماس با ترکیبات ارگانوفسفره قرار می‌گیرند و تلفاتی حدود ۳۰۰ هزار نفر ثبت شده است. تخمین زده می‌شود که تنها حدود ۰/۱ درصد از سموم استفاده شده به آفات هدف برسد و بخش عمده آن (یعنی ۹۹/۹ درصد) باقی می‌ماند تا محیط زیست را تحت تأثیر قرار دهد [۶]. در چین استفاده مؤثر از سموم دفع آفات حدود ۳۰٪ گزارش شده و قطعاً باقی مانده آن در محیط وجود خواهد داشت [۳].

1- Carbamate

2- Pyrethrum

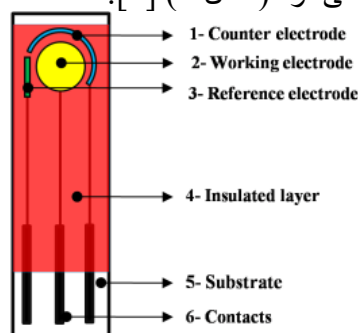
می‌توان خمیر چاپ را با مواد خاصی اصلاح نمود. در حال حاضر فلزات نجیب بهترین قابلیت الکتروکاتالیستی را نشان داده‌اند با این حال قیمت بالای آنها کاربردهای تجاری را محدود ساخته و لذا به جای فلزات نجیب از موادی ارزان‌تر (اکسید منگنز، اکسید بیسموت و نانوذرات بیسموت) استفاده شده که قبل از فرآیند چاپ با خمیر کربنی مخلوط می‌شوند [۹].

ابداع فناوری صفحه چاپی فرصت‌های هیجان انگیز جدیدی برای استفاده از تکنیک‌های الکتروشیمیایی در آنالیزهای زیست محیطی خارج از آزمایشگاه‌های متمرکز باز نمود. با استفاده از این فناوری تولید SPEs در مقادیر زیاد و با خصوصیات شیمیایی ثابت امکان‌پذیر است. آنها مناسب‌ترین حسگرهای الکتروشیمیایی برای آنالیزهای در محل هستند که به دلیل خروجی خطی، نیاز پایین به انرژی، پاسخ سریع، حساسیت بالا و قابلیت برای کار در دمای محیط است [۹]. در دهه‌های اخیر عمده پژوهش‌ها در حوزه SPEs به انتخاب ماده بستر، ترکیب جوهرهای چاپ، روش‌های اصلاح سطح الکترودها و نیز تولید آرایه‌های میکروالکترودی با هندسه خاص بر می‌گردد. در حال حاضر حسگرهای صفحه چاپی به طور گسترده برای ردیابی انواع آلاینده و مخصوصاً در توسعه حسگرهای زیستی^۳ برای کاربردهای زیست محیطی و غذایی استفاده شده اند [۲].

۴- الکترودهای صفحه چاپی اصلاح شده

ترکیب^۴ جوهر چاپ مستقیماً روی حساسیت و انتخاب پذیری حسگر آماده شده تاثیر می‌گذارد اما قابلیت انطباق بالای SPEs متأثر از امکان اصلاح آنها به روش‌های مختلف است. ترکیب جوهر را می‌توان با افزودن اجزاء متفاوتی همانند فلزات، آنزیم‌ها، بسپارها، یا عوامل کمپلکس دهنده تغییر داد (شکل ۲). همچنین، این امکان وجود دارد تا الکترودهای آماده را با ترسیب مواد مختلف (فیلم‌های فلزی، بسپارها یا آنزیم) بر سطح آنها اصلاح کرد [۱].

بستر مناسب چاپ می‌شود. این روش سرعت تولید بالایی دارد، می‌توان لایه‌های متعدد را بر روی بستر تثبیت نمود و در ضمن می‌توان الگوهای مختلفی را روی شابلون چاپ ایجاد کرد. بستر زیرین چاپ باید یک ماده بی‌اثر باشد و معمولاً پلی وینیل کلراید، پلی کربنات، پلی استر یا سرامیک است اگرچه از نیتروسولوز و الیاف شیشه هم استفاده شده است. الگوی‌های مورد نیاز روی صفحه چاپ از طریق روش فتولیتوگرافی و بر روی یک بستر حساس به نور (نایلون، پلی استر و ...) ایجاد می‌شود (شکل ۱) [۷].



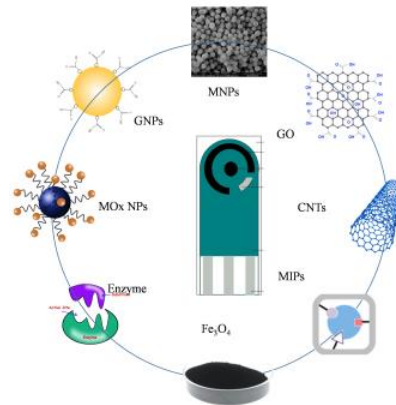
شکل ۱. ساختار کلی یک الکتروده SPE (۱) الکتروده کمکی (۲) الکتروده کار (۳) الکتروده مرجع (۴) لایه عایق (۵) بستر پلیاستیکی (۶) اتصالات (۱)

متداولترین خمیرهای مورد استفاده در تولید SPEs شامل جوهر کربن و نقره است. جوهر نقره به عنوان هادی چاپ می‌شود در حالی که الکترودهای کار عمدتاً با استفاده از جوهرهای طلا یا کربن چاپ می‌شوند. خمیر کربنی به دلیل ارزانی، بی‌اثر بودن و نیز قابلیت اصلاح شیمیایی بسیار پرکاربرد است. با توجه به قیمت بالا از خمیر طلا کمتر استفاده شده با این حال ایجاد تک لایه‌های خود آرایش یافته^۱ از طریق اتصالات Au-S موضوع جالبی است که در تولید SPEs مدنظر بوده است [۹]. جوهر چاپ SPEs معمولاً محتوی مقداری ماده همبند^۲ معدنی و یا پلیمرهای عایق نیز هست تا چسبندگی جوهر بر روی بستر چاپ را بهبود بخشند. اما وجود پلیمر در جوهر الکتروده کار، ممکن است با پوشش دادن ذرات رسانا (مثل کربن) مقاومت انتقال بار را افزایش دهد که نتیجه آن می‌تواند سینتیک آهسته‌تر واکنش‌ها و نیز فرایندهای ردوکس شبه برگشت‌پذیر یا کاملاً برگشت‌ناپذیر باشد. برای بهبود انتقال بار آهسته در SPEs خام،

است اما خیلی راحت نیست. علی رغم اینکه نانومواد در مقایسه با آنزیم‌ها یا اسیدهای نوکلئیک نسبت به دما حساس نیستند اما معمولاً در حلال‌های مورد استفاده برای تولید خمیر چاپ نامحلول هستند. به همین دلیل از روش‌های دیگری برای افزودن نانومواد به SPEs استفاده می‌شود که بعد از فرآیند تولید و چاپ انجام می‌شوند. این روش‌ها شامل اصلاح از طریق ترسیب الکتروشیمیایی نانوذرات فلزی و یا ریخته‌گری قطره‌ای روی الکتروود کار با محلولی از NPs پراکنده شده در حلال (مخلوط آب/دی‌متیل‌فرم‌امید (DMF)، نافیون^۴، پلی اتیلن ایمین یا دی‌متیل‌سولفوکساید) است [۷].

۴-۱-۱- نانولوله‌های کربنی

نانومواد کربنی شامل نانولوله‌های کربنی تک دیواره (SWCNTs)^۶ و چند دیواره (MWCNTs)^۷، فولرن و گرافن و بسیاری ساختارهای دیگر هستند که ویژگی‌های خاصی برای کاربرد در حسگرهای الکتروشیمیایی دارند. وجود گروه‌های عاملی باقی مانده در سطح و صفحات قرار گرفته در بخش‌های انتهایی ساختار آنها مسئول فعالیت الکتروکاتالیستی فوق العاده نانوذرات کربنی هستند. کاربرد CNTs به عنوان ماده ساخت الکتروود می‌تواند انتقال الکترون بین گونه‌های الکتروفعال و الکتروود را تسهیل کند و به همین دلیل گزینه‌هایی جالب برای توسعه حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی فوق العاده حساس هستند [۸]. اگر چه CNTs نوعاً بی اثر هستند، اما می‌توانند مولکول‌ها را از طریق نیروهای غیرکووالانسی جذب کنند [۱۰]. بدون شک CNTs پر استفاده‌ترین نانومواد کربنی برای اصلاح الکتروود کار در حسگرهای ولتامتری بوده‌اند. علت اصلی آن احتمالاً خصوصیات الکتروکاتالیزوری است که سبب کاهش اضافه ولتاژ و بهبود حساسیت در پاسخ‌های ولتامتری می‌شود. البته در مواردی گزارش شده که ویژگی الکتروکاتالیستی مشاهده شده در CNTs را می‌توان به ناخالصی‌های فلزی موجود در آنها نسبت داد. یکی از ساده‌ترین روش‌ها برای اصلاح SPEs با استفاده از CNTs تهیه تعلیق آنها در DMF، پوشش دهی قطره‌ای بر الکتروود کار (الکتروود



شکل ۲. انواع ساختارهای مورد استفاده برای اصلاح سطح SPEs

برای تولید SPEs معمولاً از دو نوع خمیر، هادی و دی‌الکتریک، استفاده می‌شود. بخش‌های رسانای الکتروودها با جوهرهای هادی چاپ می‌شود. آنها محتوی یک ماده همبند آلی هستند که طلا، نقره، پلاتین یا گرافیت درون آن پراکنده شده است. در فرمولاسیون این جوهر از مواد عملگرها همانند کوفاکتورها، واسطه‌های الکترون^۱، نانوذرات فلزی، نانومواد کربنی، آنزیم‌ها و یا پلیمرهای قالب‌گیری شده مولکولی (MIPs)^۲ هم می‌توان استفاده نمود. جوهرهای عایق هم اغلب مبتنی بر بسپارها یا سرامیک‌ها هستند که گستره عملکرد الکتروودهای رسانا را محدود می‌سازند [۷].

۴-۱- اصلاح الکتروودهای صفحه چاپی با نانومواد

طراحی نانومواد جدید کاربردهای گسترده‌ای در زمینه حسگرها یافته و انقلابی در این حوزه ایجاد نموده است. آنها حتی جایگاه خود را در توسعه SPEs هم پیدا کرده‌اند. از بین همه آنها، نانولوله‌های کربنی (CNTs)^۳، نانوسیم‌ها، نانوذرات فلزی و نانومواد مغناطیسی محبوبیت بیشتری در توسعه حسگرهای مبتنی بر SPEs داشته‌اند زیرا می‌توانند فرآیندهای انتقال الکترون را ارتقاء، پتانسیل کاری حسگر را کاهش، سرعت واکنش را افزایش و در مورد حسگرهای زیستی پایداری جزء فعال زیستی را افزایش دهند [۵ و ۷]. نانومواد را می‌توان با استراتژی‌های متفاوتی به ساختار SPEs الحاق کرد. در غالب موارد اضافه کردن نانومواد به جوهر چاپ، اگر چه امکانپذیر

4- Drop casting

5- Nafion

6- Single-walled carbon nanotubes

7- Multi-walled carbon nanotubes

1- Mediator

2- Molecularly imprinted polymers

3- Carbon-nano tubes

است. در ادامه از محلول گلوکز آدهاید به عنوان اتصال دهنده عرضی استفاده شده تا آنزیم را در سطح الکتروود تثبیت کند [۱۳].

۴-۱-۳- نانوذرات فلزی

در حسگرهای الکتروشیمیایی نانوذرات فلزی سبب بهبود پاسخ‌های ولتامتری می‌شوند و می‌توان از آنها به عنوان برچسب^۳ در زیست حسگرهای پیچیده استفاده نمود. فلزات نجیب بیشترین و متداولترین نانوذرات فلزی در اهداف تجزیه‌ای بوده‌اند اما از دیگر گونه‌های فلزی (Cu, Ni, Fe) و بسیاری دیگر (دیگر) هم نانوذره سنتز و استفاده شده است [۲]. نانوذرات فلزی را می‌توان درون محلول سنتز و یا روی سطوح جامد ترسیب نمود. برای سنتز از روش‌هایی شامل احیاء شیمیایی توسط واکنشگرهای مختلف، تابش دهی با نور فرابنفش یا پرتو الکترونی و روش‌های الکتروشیمیایی استفاده شده است. تلفیق ترسیب الکتروشیمیایی NPs و SPEs راهی برای تولید انبوه حسگرهای الکتروشیمیایی فراهم کرده و سنتز مستقیم نانوذرات Pt, Au, Ag بر روی SPEs با این روش گزارش شده است [۱]. نانوذره طلا (GNPs)^۴ پرکاربردترین نانوذره فلزی هستند که برای بهبود خواص عملگرای حسگرهای ولتامتری مورد استفاده قرار گرفته است. از GNPs به عنوان جزئی از مواد سازنده الکترودهای بزرگ، اصلاح سطح و نیز به عنوان برچسب در تشخیص‌های الکتروشیمیایی استفاده شده است. در بسیاری از موارد از GNPs عامل‌دار نشده برای اصلاح SPEs کربنی استفاده شده است. عمل اصلاح معمولاً از طریق تبخیر محلولی از GNPs و یا با ترسیب الکتروشیمیایی از یک محلول H₂AuCl₄ انجام می‌شود [۲ و ۱۴]. علاوه بر این برای اصلاح سطح SPEs از جوهر گرافیتی محتوی GNPs هم استفاده شده است [۱۵]. GNPs نه تنها در بهبود و تغییر خصوصیات الکتروشیمیایی الکتروود کار نقش دارند، بلکه از آنها به طور گسترده برای تثبیت جزء فعال زیستی روی سطح الکتروود هم استفاده شده است. پوشش‌دهی با GNPs سازگاری زیستی و نیز تثبیت آنزیم را بهبود می‌بخشد [۸]. در پژوهشی ابتدا محلولی از GNPs روی سطح SPEs به صورت قطره‌ای ریخته‌گری (قالب‌گیری) شده و سپس محلول

گرافیتی) و تبخیر حلال است. روش دیگر تهیه جوهر با استفاده از CNTs و چاپ الکتروود روی صفحات آلومینا و پخت آن در ۱۵۰ °C است. در مطالعاتی نیز نشان داده شده که امکان چاپ فیلم‌های CNTs روی بسترهای مختلف با استفاده از یک تکنولوژی چاپ مبتنی بر پلی‌دی‌متیل‌سیلوکسان^۱ وجود دارد. در بسیاری از موارد برای بهبود انتخاب‌پذیری، از CNTs عامل‌دار شده استفاده شده است. از این موارد می‌توان به حسگر زیستی گلوکز اشاره کرد که SPEs با جوهر محتوی MWCNTs آمین دار چاپ شده و آنزیم گلوکز اکسیداز (GOD)^۲ روی آن تثبیت شده است. گروه‌های آمین CNTs اجازه تثبیت جزء زیستی را روی سطح الکتروود کار می‌دهند [۲]. نانوله‌های کربنی با توجه به سطح بزرگی که در اختیار می‌گذارند میزان تثبیت آنزیم را افزایش داده، کارایی آن را حفظ، پتانسیل را کاهش داده و به همین دلیل در خیلی از موارد نیازی به استفاده از واسطه‌های الکترونی نیست [۱۱].

۴-۱-۲- گرافن و مشتقات آن

گرافن و مشتقات آن نیز به اندازه CNTs برای کاربردهای الکتروشیمیایی جذاب هستند. خصوصیات الکتروکاتالیستی گرافن بیشتر به توانایی برهم‌کنش مولکول‌های الکتروفعال با گروه‌های عاملی اکسیژن‌دار و نیز نقص‌های سطحی گرافن بر می‌گردد. استفاده از جوهر محتوی گرافن ساده‌ترین راه برای تهیه SPEs اصلاح شده می‌باشد. روش دیگر استفاده از سوسپانسیون گرافن (یا مشتقات آن) در یک حلال (اتانول، محلول آبی نافینون، محلول رقیق آمونیاک، DMF) برای پوشاندن سطح الکتروود کار و اجازه برای تبخیر حلال است. استفاده از مشتقات عامل‌دار شده گرافن نیز متداول است. به عنوان مثال از گرافن آمین‌دار شده به عنوان تکیه‌گاهی برای سنتز پلیمر قالب‌گیری شده مولکولی در سطح الکتروود کار به روش الکتروپلیمریزاسیون استفاده شده است [۲ و ۱۲]. از گرافن برای طراحی حسگرهای زیستی ولتامتری هم استفاده شده است. در پژوهشی سطح SPEs ابتدا با مایعات یونی و گرافن اکساید احیاء شده اصلاح و سپس با محلول آبی از آلومین سرم گاوی و GOD پوشانده شده

3- Lable

4- Gold nanoparticles

1- Polydimethylsiloxane

2- Glucose oxidase

آنزیمی در نزدیک سطح مبدل رخ دهد. بعداً این آنزیم به راحتی درون یک میدان مغناطیسی قابل جداسازی است و به این شکل سطح حساس حسگر قابلیت تجدید شدن یا بازسازی دارد. در ضمن محیط خوبی برای حفظ فعالیت زیستی آنزیم وجود دارد [۹، ۱۸]. در همین راستا نانوذرات هسته-پوسته شامل هسته‌هایی از Fe_3O_4 و پوسته‌ای از سیلیکای مزوحفره سنتز شده و آنزیم استیل کولین استراز (AChE) روی آن تثبیت شده است. از نانوذرات Fe_3O_4 پوشیده شده با طلا هم برای تثبیت AChE روی سطح SPEs استفاده شده است. پوسته طلا پایداری نانوذرات اکسید آهن را افزایش می‌دهد [۹]. علاوه بر Fe_3O_4 و نانوذرات سیلیکا، از دیگر نانوساختارهای اکسیدی مانند تیتانیوم اکساید هم برای اصلاح SPEs استفاده شده که معمولاً به روش قالب‌گیری قطره‌ای روی سطح اعمال می‌شوند. نانوذراتی مثل مس‌اکسید می‌توانند احیاء الکتروشیمیایی برخی گونه‌ها را بهبود بخشند [۲]. از نمونه‌های دیگر می‌توان به نانوذرات زیرکونیا (ZrO_2) اشاره کرد که یک اکسید معدنی با پایداری حرارتی بالا، بی‌اثر از نظر شیمیایی و غیرسمی است. بررسی‌ها نشان داده که این نانوذرات تمایل بالایی نسبت به گروه‌های اسید فسفریک دارند و از آنها برای ساخت حسگرهایی برای ترکیبات ارگانوفسفره استفاده شده است [۸].

۴-۲- حسگرهای زیستی مبتنی بر الکترودهای صفحه چاپی اصلاح شده با آنزیم

این حسگرها مبتنی بر استفاده از آنزیم در تماس مستقیم با مبدل هستند که به شکلی انتخابی با سوبسترای خود واکنش می‌دهد. آنها قابلیت تشخیص آنالیت هدف با دو مکانیسم را دارند. الف) در سازوکار مهار، آفت‌کش فعالیت آنزیمی را مهار و بنابراین، پاسخ حسگر را کاهش می‌دهد (ب) در سازوکار کاتالیستی که در آن آفت‌کش پیش‌ماده مستقیم آنزیم است و فرآورده واکنش آنزیمی اندازه‌گیری می‌شود [۵]. بیشتر حسگرهای SPEs مبتنی بر مهار آنزیم کولین استراز (ChE) به تنهایی و یا همراه با کولین اکسیداز (ChO) و یا سیستم‌های عدم مهار بر مبنای ارگانوفسفرورز هیدرولاز (OPH) هستند [۷ و ۱۹]. برای تثبیت

بافری آنزیم نیز به همین صورت افزوده شده است. همانگونه که اشاره شد از GNPها به عنوان برچسب هم استفاده شده است. در واقع در این موارد گونه مورد نظر قابلیت تشخیص الکتروشیمیایی ندارد به همین دلیل با استفاده از GNPها نشانه‌گذاری می‌شود. در جریان واکنش شیمیایی در سطح الکترودهای GNPها به $AuCl_4^-$ اکسید شده و در ادامه به روش ولتامتری پالس تفاضلی (DPV) احیاء می‌شود و به این شکل یک سیگنال الکتروشیمیایی قابل ردیابی ایجاد می‌گردد [۱۶]. در گزارش دیگری برای اصلاح سطح SPEs ابتدا سطح با لایه‌ای از سیستین اصلاح شده و در ادامه GNPها از محلولی از $HAuCl_4$ و توسط سدیم بورهیدرید تشکیل شده‌اند. این سطح برای تثبیت عامل فعال زیستی که قبلاً تیول‌دار شده استفاده شده است [۱۷]. نانوذرات Pt, Pd نیز از طریق کاهش یک پیش ماده فلزی در محلول تولید می‌شوند اما از آنها به ندرت در اصلاح SPEs استفاده شده است. مواردی از اصلاح سطح SPEs با نانوذراتی همانند Fe, Cu در اندازه‌گیری آفت‌کش‌ها گزارش نشده است [۲].

۴-۱-۴- نانوذرات مولکولی و کامپوزیت

در این حوزه شاهد استفاده از انواع مختلفی از نانوذرات پیچیده برای اصلاح SPEs بوده‌ایم. یکی از این انواع نانوساختارهای اکسیدی و از جمله نانوذرات مغناطیسی آهن اکسید (Fe_3O_4) است. نانوذرات Fe_3O_4 به راحتی سنتز شده و به طور گسترده در دسترس می‌باشند و خصوصیات منحصربفردی شامل مساحت سطح بالا، توانایی جذب بالا، سازگاری زیستی خوب، خواص سوپر پارامغناطیسی قوی و سمیت کم دارند. معمولاً سطح این نانوذرات با لایه‌ای از سیلیکا، لیگاندهای آلی بلند زنجیر و انواع مختلفی از پلیمرها پوشانده شده است. این عوامل بر روی پوسته بیرونی هستند و بنابراین، مولکول‌های زیستی ناپایدار می‌توانند به آنها متصل شوند و به این شکل به این ذرات خاصیت فعالیت زیستی داده می‌شود که بعداً می‌توان از آنها برای ساخت ابزارهای آنالیز زیستی همانند حسگرهای زیستی استفاده کرد. استفاده از نانوذرات مغناطیسی پوشیده شده با جزء زیستی یک راه موثر برای غلبه بر دشواری تجدید سطح حسگر است. ویژگی مغناطیسی این ذرات اجازه می‌دهد تا واکنش

2- Acetylcholinesterase

3- Cholinesterase

4- Organophosphorus hydrolase

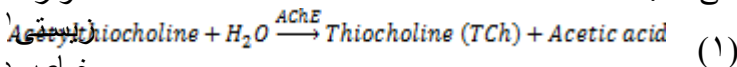
1- Differential pulse voltammetry

الکتروود و تیوکولین کمک می‌کند. همین ارتقاء در انتقال الکترون سبب کاهش اضافه ولتاژ شده و لذا کاهش مزاحمت سایر گونه‌ها را به دنبال دارد [۱ و ۲۱].

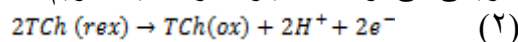
۵- بحث و نتیجه گیری

برخی از روش‌های طیف سنجی روش‌های کامل و کارآمدی برای آنالیز سموم دفع آفات هستند اما به ابزارهایی گران قیمت و فرآیندهای عملیاتی گسترده نیاز دارند و به همین دلیل کاربرد آنها برای استفاده‌های در محل محدود می‌شود. حسگرهای زیستی، مخصوصاً نوع آنزیمی، از جمله روش‌های اقتصادی با حساسیت و انتخاب‌پذیری مناسب برای اندازه‌گیری آفت کش‌های ارگانوفسفره هستند که می‌توانند محدودیت‌های روش‌های مذکور را پوشش دهند. به طور خاص حسگرهای زیستی آنزیمی ساخته شده بر SPEs دارای مزیت یکپارچه سازی سیستم الکتروودی، آماده سازی آسان، ارزانی و مصرف کم نمونه هستند. استفاده از مبدل‌های الکتروشیمیایی به اندازه فناوری نانو امیدوارکننده است چرا که در مقایسه با دیگر مبدل‌ها (مانند مبدل‌های نوری) قابلیت کار در محیط‌های با کدورت بالا را دارند و استفاده از آنها آسان و ارزان است. برای تثبیت آنزیم روی سطح SPEs از روش‌های جذب سطحی، برقراری اتصالات کووالانسی روی SPEs که قبلاً با دی آلهید اصلاح شده، روش غیر کووالانسی روی SPEs اصلاح شده با پلی اتیلن ایمین، تشکیل اتصالات عرضی با استفاده از آلبومین سرم گاوی و گلوتر آلهید، روش سل-ژل و ایجاد پیوندهای با میل زیستی) بین یک بستر فعال و گروه‌های عاملی خاص در سطح آنزیم است. استفاده از نانومواد (نانوکلونیدهای طلا، نانولوله‌های کربنی، نانوذرات مغناطیسی و نانو اکسیدها) برای اصلاح SPEs می‌تواند به تثبیت بیشتر و پایداری بالاتر آنزیم همراه با حفظ فعالیت زیستی، بهبود انتقال الکترون، کاهش مقاومت و بهبود ارقام شایستگی کمک نماید. نانولوله‌های کربنی انتقال الکترون بین سطح الکتروود و گونه‌های الکتروفعال را ارتقاء داده و حساسیت حسگر را بهبود می‌بخشند. نانوذرات Fe_3O_4 به تثبیت و پایداری بهتر آنزیم کمک می‌کنند. از نانوذرات TiO_2 نیز برای اصلاح SPEs استفاده شده که با خصوصیات فتوکاتالیستی

عامل زیستی روشی موفق است که ماده حاصل آن پایدار بوده و فعالیت و ویژگی عملگرای خود را حفظ کند و قابلیت استفاده‌های متعدد از آن طی زمان را ارائه دهد. آنزیم را می‌توان درون و یا بر روی یک ماده با مکانیسم‌های مختلفی کپسوله کرد. این کار می‌تواند از طریق پیوندهای کووالانسی، جذب فیزیکی، گیراندازی درون یک غشاء نیمه تراوا و یا میکروکپسوله کردن درون پلیمرها و هیدروژل‌ها باشد [۱۸ و ۲۰]. در تولید حسگرهای زیستی با فناوری صفحه چاپی، اجزاء زیستی را می‌توان به روش‌های مختلفی اضافه نمود. ترسیب دستی و یا گیراندازی الکتروشیمیایی پس از یک فرآیند ترسیب چند مرحله‌ای از متداولترین روش‌ها در این زمینه هستند. یک روش دیگر شامل ورود جزء فعال زیستی به خمیر و چاپ آن به عنوان آخرین لایه بر سطح الکتروود است. می‌توان این کار را به صورت تک مرحله هم انجام داد البته اگر بتوان یک کامپوزیت زیست سازگار با دیگر اجزاء خمیر چاپ تهیه کرد. شایان ذکر است که الحاق جزء زیستی به خمیر چاپ همیشه امکان پذیر نیست با توجه به اینکه خمیر چاپ یک طبیعت خشک شونده دارد که می‌تواند سبب غیرفعال شدن جزء فعال زیستی شود [۷]. از معروفترین حسگرهای آنزیمی برای اندازه گیری آفت کش‌ها آنهایی هستند که مبتنی بر مهار فعالیت آنزیم AChE هستند. در آنها آنزیم روی سطح الکتروود کار تثبیت می‌شود و برهمکنش آن با سوبسترا (مثلاً استیل کولین) یک گونه الکتروفعال (تیوکولین) و کربوکسیلیک اسید مربوطه را تولید می‌کند.



متعاقب آن الکترواکسایش تیوکولین منجر به تولید جریانی می‌شود که معیاری از فعالیت آنزیم است.



حضور آفت کش‌ها در نمونه تحت آنالیز فعالیت آنزیمی را مهار و سبب افت جریان عبوری می‌شود. حساسیت این گونه حسگرها اساساً به روش تثبیت آنزیم بستگی دارد. معمولاً پیش از تثبیت آنزیم، سطح SPEs با یک واسطه الکترونی نیز اصلاح می‌شود که این به تثبیت بهتر آنزیم، حفظ پایداری آن و ارتقاء انتقال الکترون بین

ادامه جدول ۱. الکترودهای صفحه چاپی اصلاح شده با نانوذرات برای اندازه‌گیری آفت کش‌ها در نمونه‌های غذایی

ردیف	گستره خطی	حد تشخیص	نمونه	رفرنس
۱	0.001-10 ng/mL	5.6×10^{-4} ng/mL	کلم [۸]	
۲	0.05-100 µg/L	0.02 µg/L	سبزیجات [۳]	
۳	0.1-1000 ng/L	52 pg/L	سبزیجات [۴]	
۴	0.005-2780 µM	0.5 µM	میوه و سبزی [۲۲]	
۵	0.1-30 µM	0.024 µM	آب، سبزیجات [۶]	
۶	0.2-1 µM	2 nM	سبزیجات [۲۳]	
۷	$0.05-1 \times 10^{-5}$ µg/L	0.05 µg/L	سبزیجات [۲۴]	
۸	up to 10^{-5} mol/L	5×10^{-9} mol/L	- [۱۸]	
۹	50-200 µM	0.05 µM	- [۲۵]	
۱۰	0.01-0.5 µg/mL 2-20 µg/mL	0.004 µg/mL	پیاز [۲۱]	
۱۱	-	-	- [۱۰]	
۱۲	up to 4 µM	150 nM	- [۱۹]	
۱۳	up to 2 µM	800 nM	- [۱۹]	
۱۴	up to 6.9 nM	0.5 nM	آب [۱۱]	
۱۵	5-50 µg/L	3 µg/L	آب [۲۶]	
۱۶	2-50 µg/L	2 µg/L	آب [۲۶]	
۱۷	0.07-15 µg/mL	0.022 µg/mL	میوه و سبزی [۱۴]	
۱۸	0.5-15 µg/mL	0.165 µg/mL	میوه و سبزی [۱۴]	
۱۹	$0.1-1 \times 10^5$ µg/L	0.05 µg/L	سبزیجات [۲۷]	
۲۰	1-600 µg/L	1 µg/L	سبزیجات [۲۷]	
۲۱	0.5-20 mg/L	0.3 mg/L	آب [۲۸]	
۲۲	0-330 ng/mL	22 ng/mL	روغن گیاهی [۲۹]	
۲۳	0.4-20 ng/mL	22.6 ng/mL	میوه و خاک [۳۰]	

منابع

- [1] O.D. Renedo, M.A. Alonso-Lomillo, and M.J.A. Martínez. *Talanta*, 73, 202-219 (2007).
- [2] M. Trojanowicz. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 84, 22-47 (2016).
- [3] H. Wang, G. Zhao, D. Chen, Z. Wang, and G. Liu. *International journal*

خود سبب تجزیه آفت کش در سطح الکتروده می‌شود. نانوذرات ZrO_2 نیز تمایل بالایی به گروه‌های فسفریک اسید دارند و برای طراحی حسگرهای ویژه آفت کش‌های ارگانوفسفره استفاده شده است. نانوذرات طلا به طور خاص مورد توجه بوده اند. آنها می‌توانند انتقال الکترون و تشخیص سیگنال را بهبود دهند که باعث کاهش حد تشخیص‌ها در حسگرهای الکتروشیمیایی می‌شود. از همه مهمتر اینکه GNPs برهم‌کنش‌های قوی با ترکیبات محتوی گوگرد انجام می‌دهند و به همین دلیل آنها یک اصلاح کننده خیلی مناسب در الکترودهای کار برای تشخیص ترکیبات محتوی گوگرد هستند. در جدول ۱ به برخی از موارد کاربرد نانوذرات در اصلاح SPEs و اندازه گیری آفت کش‌ها اشاره شده است.

جدول ۱. الکترودهای صفحه چاپی اصلاح شده با نانوذرات برای اندازه‌گیری آفت کش‌ها در نمونه‌های غذایی

ردیف	نانوذره	آنالیت	جزء زیستی	رفرنس
۱	$Fe_3O_4/Au/CNTs/nano ZrO_2$	Dimethoate	AChE	[۸]
۲	Fe_3O_4 -graphene	Chlorpyrifos	AChE	[۳]
۳	graphene	Parathion	Antibody	[۴]
۴	Ag/graphene	Parathion	-	[۲۲]
۵	Nickel oxide	Parathion	-	[۶]
۶	Nano TiO_2	dichlofenthion	-	[۲۳]
۷	CNTs	chlorpyrifos	AChE	[۲۴]
۸	$Fe_3O_4/Silica$	paraoxon	AChE	[۱۸]
۹	MWCNTs	parathion	AChE-CHO	[۲۵]
۱۰	MWCNTs	carbaryl	AChE	[۲۱]
۱۱	MWCNTs	paraoxon	OPH	[۱۰]
۱۲	CNTs	paraoxon	OPH	[۱۹]
۱۳	CNTs	methyl parathion	OPH	[۱۹]
۱۴	MWCNTs	paraoxon	AChE	[۱۱]
۱۵	SWCNTs	paraoxon	AChE	[۲۶]
۱۶	SWCNTs	malaoxon	AChE	[۲۶]
۱۷	Au	thiram	-	[۱۴]
۱۸	Au	disulfiram	-	[۱۴]
۱۹	carbon/chitosan/ Fe_3O_4	chlorpyrifos	AChE	[۲۷]
۲۰		methamidophos	AChE	[۲۷]
۲۱	MWCNTs	atrazine	tyrosinase	[۲۸]
۲۲	MWCNTs	ethion	Butyryl cholinesterase	[۲۹]
۲۳	Pt	chlorpyrifos-methyl	chlorpyrifos-methyl antigen	[۳۰]

- [17] A. Bagheri Hashkavayi, J. Bakhsh Raouf, R. Ojani, and E. Hamidi Asl. *Electroanalysis*, 27, 1449-1456 (2015).
- [18] Y.-H. Won, H.S. Jang, S.M. Kim, E. Stach, M. Ganesana, S. Andreescu, and L.A. Stanciu. *Langmuir*, 26, 4320-4326 (2010).
- [19] R.P. Deo, J. Wang, I. Block, A. Mulchandani, K.A. Joshi, M. Trojanowicz, F. Scholz, W. Chen, and Y. Lin. Determination of organophosphate pesticides at a carbon nanotube/organophosphorus hydrolase electrochemical biosensor. *Analytica Chimica Acta*, 530, 185-189 (2005).
- [20] M.A. Alonso-Lomillo, O. Domínguez-Renedo, and M.J. Arcos-Martínez. Screen-printed biosensors in microbiology; a review. *Talanta*, 82, 1629-1636 (2010).
- [21] J. Cai and D. Du. *Journal of Applied Electrochemistry*, 38, 1217-1222 (2008).
- [22] M. Govindasamy, V. Mani, S.M. Chen, T.W. Chen, and A.K. Sundramoorthy. *Scientific Reports*, 7, 46471-46482 (2017).
- [23] H. Li, J. Li, Z. Yang, Q. Xu, and X. Hu. *Analytical Chemistry*, 83, 5290-5295 (2011).
- [24] D. Chen, Z. Liu, J. Fu, Y. Guo, X. Sun, Q. Yang, and X. Wang. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 801, 185-191 (2017).
- [25] Y. Lin, F. Lu, and J. Wang. *Electroanalysis*, 16, 145-149 (2004).
- [26] A.N. Ivanov, R.R. Younusov, G.A. Evtugyn, F. Arduini, D. Moscone, and G. Palleschi. *Talanta*, 85, 216-221 (2011).
- [27] Q. Zhang, Q. Xu, Y. Guo, X. Sun, and X. Wang. *RSC Advances*, 6, 24698-24703 (2016).
- of electrochemical science, 11, 10906-10918 (2016).
- [4] J. Mehta, P. Vinayak, D.S. Tuteja, V. Chhabra, N. Bhardwaj, A.K. Paul, K.-H. Kim, and A. Deep. *Biosensors & Bioelectronics*, 83, (2016).
- [5] F. Arduini, S. Cinti, V. Scognamiglio, and D. Moscone. *Microchimica Acta*, 183, 2063-2083 (2016).
- [6] M. Khairy, H.A. Ayoub, and C.E. Banks. *Food Chemistry*, 255, 104-111 (2018).
- [7] E. Jubete, O.A. Loaiza, E. Ochoteco, J.A. Pomposo, H. Grande, and J. Rodriguez. *Journal of Sensors*, 2009, (2009).
- [8] N. Gan, X. Yang, D. Xie, Y. Wu, and W. Wen. *Sensors (Basel)*, 10, 625-638 (2010).
- [9] M. Li, Y.T. Li, D.W. Li, and Y.T. Long. *Analytica Chimica Acta*, 734, 31-44 (2012).
- [10] M. Trojanowicz, A. Mulchandani, and M. Mascini. *Analytical Letters*, 37, 3185-3204 (2004).
- [11] K.A. Joshi, J. Tang, R. Haddon, J. Wang, W. Chen, and A. Mulchandani. *Electroanalysis*, 17, 54-58 (2005).
- [12] D. Zang, M. Yan, S. Ge, L. Ge, and J. Yu. *Analyst*, 138, 2704-2711 (2013).
- [13] J. Ping, Y. Wang, K. Fan, J. Wu, and Y. Ying. *Biosensors and Bioelectronics*, 28, 204-209 (2011).
- [14] K. Charoenkitamorn, O. Chailapakul, and W. Siangproh. *Talanta*, 132, 416-423 (2015).
- [15] I. Tiwari, M. Singh, M. Gupta, J.P. Metters, and C.E. Banks. *Analytical Methods*, 7, 2020-2027 (2015).
- [16] S.A. Lim, H. Yoshikawa, E. Tamiya, H.M. Yasin, and M.U. Ahmed. *RSC Advances*, 4, 58460-58466 (2014).



- [28] C. Tortolini, P. Bollella, R. Antiochia, G. Favero, and F. Mazzei. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 224, 552-558 (2016).
- [29] E. Khaled, M.S. Kamel, H.N.A. Hassan, H. Abdel-Gawad, and H.Y. Talanta, 119, 467-472 (2014).
- [30] W. Wei, X. Zong, X. Wang, L. Yin, Y. Pu, and S. Liu. *Food Chemistry*, 135, 888-892 (2012).

