

طراحی الکتروود یون گزین مبتنی بر روش self-plasticizing جهت اندازه گیری یون سرب II در نمونه های خون بیماران معتاد

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۳۰ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۱۹

خلاصه

مقدمه: یکی از مشکلات مهم بهداشتی در برخی از کشورهای در حال توسعه مانند ایران، مسمومیت با سرب است. مطالعه حاضر ساخت یک الکتروود یون گزین جدید را برای تعیین سریع و حساس یون های سرب (II) در نمونه های واقعی توصیف می کند.

روش کار: از کالیکس-۶-آرن به عنوان یونوفور در طراحی الکتروود استفاده شد. برای تهیه لایه اول از ترکیب DMPP، HEMA و n-BA و همچنین برای تهیه لایه دوم از NaTFPB، Calix[6]arena و DMPP استفاده شد. پس از تهیه غشا، خصوصیات آن توسط تکنیک های مختلفی مانند طیف سنجی فرسوخ تبدیل فوری (FT-IR)، میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (FESEM) و طیف سنجی پرتو ایکس پراکنده انرژی (EDX) تعیین شد. در نهایت، الکتروود در نمونه های خون انسانی در غلظت های ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۷۰۰ و ۱۰۰۰ پی بی ام از کاتیون سرب (II) مورد سنجش قرار گرفت.

نتایج: نتایج به دست آمده از آزمایشات FT-IR، FESEM و EDX وجود یون های سرب (II) را در حسگر بهینه سازی شده تأیید کردند. الکتروود یون گزین پاسخ نرنستی به یون های سرب (II) با شیب $28,581 \text{ mV/decade}$ در محدوده غلظت 1×10^{-8} تا 1×10^{-2} مولار را نشان داد. الکتروود گزینش خوبی نسبت به یون های سرب (II) در حضور یون های مزاحم پتاسیم کلرید، سدیم کلرید، آمونیوم کلرید، کلسیم کلرید، منیزیم کلرید، روی کلرید، کلرید مس (II) و کلرید نیکل (II) نشان داد. در ارتباط با نمونه واقعی الکتروود تهیه شده ریکاوری بین $94,39\%$ تا $99,48\%$ و انحراف استاندارد نسبی کمتر از 1% را نشان داد.

نتیجه گیری: الکتروود طراحی شده، بدون نیاز به مراحل پیچیده آماده سازی نمونه، به طور موفقیت آمیزی جهت تعیین مقدار غلظت های پایین کاتیون سرب II در نمونه های خونی مورد استفاده قرار گرفت. در نتیجه، الکتروود طراحی شده صحت خوبی داشته و از آن میتوان برای اندازه گیری کاتیون سرب II در نمونه های خونی و احتمالاً هر نمونه زیستی دیگر استفاده نمود.

کلمات کلیدی: ت کالیکس-۶-آرن، کاتیون سرب II، الکتروود یون گزین

پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می باشد.

آرین آقامحمدی^۱

احسان کریمی^{*۱}

مجید رضایی^۲

^۱ گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی،

مشهد، ایران

^۲ گروه زیست فناوری پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه

علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

*دکتر احسان کریمی، گروه زیست شناسی، واحد مشهد،

دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

Email: ehsan_b_karimi@yahoo.com

مقدمه

کمتر پدیده ای را می توان یافت که همانند اعتیاد جوامع بشری را مورد تهدید قرار داده باشد بطوریکه اعتیاد بعد از بیکاری و گرانی سومین معضل اجتماعی می باشد. با وجود خطرات و عوارض ناشی از اعتیاد، هر روزه بر شمار قربانیان این دام مرگ بار افزوده می شود و مشاهده ی صحنه های هولناک آن اکنون نتوانسته به عنوان هشدار جدی برای اجتناب سایر افراد به ویژه قشر جوان جامعه تلقی می شود. در ایران نیز اعتیاد در سال های اخیر روند رو به رشدی داشته است (۱،۲). امروزه تریاک ها منابع جدید آلودگی با سرب هستند و با توجه به شیوع گسترده استفاده از تریاک و مواد مخدر سنتی و صنعتی، توزیع کنندگان مواد مخدر برای سودجویی بیشتر و با بهره گیری از جرم حجمی بالای سرب، اقدام به مخلوط کردن این ماده با مواد مخدر می کنند تا وزن این مواد را افزایش دهند (۳).

جذب سرب توسط بدن انسان و ترکیب آن با فلزات سنگین باعث آسیب دیدگی مغزی، مسمومیت و احتمال ریسک سرطان میشود. به طور معمول سرب به عنوان سم متابولیک و بازدارنده آنزیم استفاده میشود. در کودکان و نوجوانان، تجمع سرب در بدن منجر به ایجاد مشکلات و آسیب دیدگی مغزی میشود (۴،۵). سرب همینطور توانایی جایگزینی کلسیم در استخوان و ایجاد مشکلات مفصلی را دارد. جذب سرب بستگی به حجم ذرات دارد، به طوری که ذرات ریزتر زودتر جذب بدن میشوند. در خون به گلبولهای قرمز متصل میشوند هر چه میزان آهن در بدن کمتر باشد، میزان جذب سرب بیشتر است (۶). علاوه بر این سرب باعث از بین بردن فعالیت های سلولی می شود همچنین باعث اختلال در لیپیدهای غشایی و در نتیجه با آسیب زدن به جدار عروق، باعث انسداد آنها و نکروز در سراسر بدن می شود. از این رو، مصرف این مواد به صورت خوراکی و خصوصاً در مصرف خوراکی تریاک، باعث بروز مسمومیت مصرف کنندگان می شود (۷). در حال حاضر بیشتر کسانی که با علائم مسمومیت با سرب به بیمارستان ها مراجعه کرده اند، بیماران معتاد مصرف

کننده تریاک آن هم به شیوه خوراکی بوده اند و همین مسئله این ذهنیت را تقویت کرده است که این مسمومیت ها به دلیل سربی است که به ماده مصرفی آنها اضافه میشود و صدمات جبران ناپذیری را متوجه افراد می نماید (۸). امروزه برای تشخیص سرب خون افراد از روش های دستگاهی همچون اسپکتروسکوپی جذب اتمی، طیف سنجی و ولتامتری نوار آندی استفاده می کنند که با محدودیت هایی از جمله زمان بر بودن، عدم حساسیت بالا، پر هزینه بودن و نیاز به افراد آموزش دیده همراه است (۹). جهت رفع این محدودیت ها می توان از الکترودهای یون گزین که مهم ترین گروه سنسورهای پتانسیومتری هستند به عنوان یک جایگزین مناسب استفاده کرد زیرا آنها دارای مزایایی نسبت به روش های دستگاهی هستند. از جمله این مزایا می توان به سادگی، ارزانی و قابل دسترس بودن تجهیزات و مواد اولیه مورد نیاز الکترودهای یون گزین و همچنین سهولت کار، دقت و حساسیت بسیار زیاد آنها اشاره کرد (۱۰).

الکترودهای یون گزین در دهه های قبل توسعه یافته است. یک الکتروده یون گزین اختلاف در پتانسیل الکتریکی بین خودش و یک الکتروده مرجع را اندازه گیری می کند. از آنجا که اندرکنش یون با غشاء اختصاصی است، این الکتروده را می توان برای یک یون خاص به کار برد. لذا در این مطالعه در جستجو طراحی یک حسگر پلیمری یون گزین جدید بر اساس روش خود نرم کنندگی ۱ جهت اندازه گیری کاتیون سرب (II) در نمونه های خون بیماران معتاد بودیم تا به روشی سریع، ارزان و پرتابل با کارایی بالا جهت اندازه گیری کاتیون سرب (II) در پلاسما افراد بیمار دست یابیم.

روش کار

مواد و روش ها

در این تحقیق کالیکس-۶-آرن، هیدروکسی اتیل متاکریلات (HEMA) ۲، ۲و۲ دی متوکسیل ۲- فیل استوفون (DMPP)

برای این منظور ابتدا مقادیر متفاوتی از HEMA (منومر) به DMPP (آغاز کننده نوری) اضافه شد و برای ۱۰ دقیقه در دستگاه سونیکاتور قرار داده شد. سپس ۰٫۱ میکرولیتر از این محلول بر روی سطح الکتروود یون گزین بارگذاری شد. الکتروود به منظور پلیمریزاسیون به مدت ۵ دقیقه زیر تابش فرابنفش و جریان ثابت از گاز نیتروژن قرار داده شد. سپس برای ۲ دقیقه توسط محلول سرب نترات ۰٫۰۱ مولار هیدراته شد. در مرحله بعد به منظور تهیه لایه دوم، مقادیر متفاوتی از کالیکس-۶-آرن (یونوفور)، DMPP و نمک چربی دوست (NaTFPB) به ۱۰۰ میکرولیتر از استوک n-BA و HDDA اضافه شد و ۱۰ دقیقه به منظور همگن شدن در سونیکاتور، قرار داده شد. در نهایت الکتروود به مدت ۵ دقیقه زیر تابش فرابنفش و گاز نیتروژن قرار داده شد.

۱، نمک سدیم تتراکسیس (۴-کلروفنیل) بورات (NaTFPB)، ۲، ان-بوتیل اکریلات (n-BA) ۳، هگزان دیول دی آکریلات (HDDA) ۴، اتیلن دی آمین تترا استات اسید ۵ (EDTA) و سرب نترات با درجه خلوص آزمایشگاهی خریداری شدند. علاوه بر این از منیزیم کلراید، مس کلراید، سدیم کلراید، کلسیم کلراید، پتاسیم کلراید، آمونیوم کلراید، نیکل کلراید، روی کلراید و محلول آمونیا با خلوص آزمایشگاهی استفاده شد. نمونه گلبول قرمز خون انسان از آزمایشگاه بیمارستان امام رضا تهیه شد.

بهینه‌سازی و ساخت سنسور

ابتدا ۱۵ غشا با اجزاء متفاوت تهیه شد تا بهترین حالت آن جهت انجام آزمایشات مورد بررسی بیشتری قرار گیرد (جدول ۱).

جدول ۱. بهینه سازی اجزاء غشاء حسگر یون گزین سرب (II) بر پایه یونوفور کالیکس-۶-آرن

ردیف	الکتروود	لایه اول		لایه دوم		استوک		شیب محدود خط (میلی ولت بر هر دهه)	ضریب همبستگی
		DMPP (wt.%)	HEM (wt.%)	NaTFPB (wt.%)	Calix (wt.%)	HDDA (wt.%)	n-BA (wt.%)		
۱	۰٫۹۸۵	۲٫۰۲	۹۷٫۹۷	۰٫۰۰	۱۳٫۸۱	۰٫۰۹۲	۸۵٫۶۳	۱۶٫۵۲	۰٫۹۸۵
۲	۰٫۹۷۱	۰٫۵۱۲	۹۹٫۴۸	۰٫۰۰	۱۳٫۸۱	۰٫۰۹۲	۸۵٫۶۳	۱۶٫۲۵	۰٫۹۷۱
۳	۰٫۹۸۸	۰٫۵۱۲	۹۹٫۴۸	۱۲٫۱۳	۱۲٫۱۳	۰٫۰۸	۷۵٫۲۴	۱۴٫۹۱	۰٫۹۸۸
۴	۰٫۹۷۲	۱٫۲۷	۹۸٫۷۲	۱۲٫۱۳	۱۲٫۱۳	۰٫۰۸	۷۵٫۲۴	۲۱٫۲۴	۰٫۹۷۲
۵	۰٫۹۹۷	۲٫۰۲	۹۷٫۹۷	۶٫۴۵	۱۲٫۹۱	۰٫۰۸۶	۸۰٫۱۰	۲۳٫۱۸	۰٫۹۹۷
۶	۰٫۹۷۳	۲٫۰۲	۹۷٫۹۷	۱۲٫۱۳	۱۲٫۱۳	۰٫۰۸	۷۵٫۲۴	۱۸٫۸۷	۰٫۹۷۳

- 3 .n-butyl acrylate
- 4 . 2-hexane-dioldaclyate
- 5 .Ethylenediaminetetracetic acid

- 1 . 2-2- dimethoxyl-2-phenylacetophenone
- 2 . Sodium tetrakis (4-chlorophenyl)borate

۰,۹۷۷	۱۵,۶۷	-۱۰	-۱,۰×۱	۰,۴۶	۱۳,۸۱	۰,۰۰	۰,۰۹۲	۸۵,۶۳	۹۸,۷۲	۱,۳۷	۷
	۷	۳	-۵	۱,۰×۱۰							
۰,۹۷۶	۱۴,۵۹	-۱۰	-۱,۰×۱	۰,۴۶	۱۳,۸۱	۰,۰۰	۰,۰۹۲	۸۵,۶۳	۹۹,۴۸	۰,۵۱۲	۸
	۹		-۵	۱,۰×۱۰							
۰,۹۹۳	۱۹,۵۴	-۱۰	-۱,۰×۱	۰,۴۳	۱۲,۹۱	۶,۴۵	۰,۰۸۶	۸۰,۱۰	۹۹,۴۸	۰,۵۱۲	۹
	۱	۷	-۴	۱,۰×۱۰							
۰,۹۹۰	۲۸,۵۸	-۱۰	-۱,۰×۲	۰,۴۳	۱۲,۹۱	۶,۴۵	۰,۰۸۶	۸۰,۱۰	۹۸,۷۲	۱,۳۷	۱۰
	۱	۱	-۸	۱,۰×۱۰							
۰,۹۷۴	۱۸,۱۶	-۱۰	-۱,۰×۱	۰,۳۵	۲۱,۱۲	۱۰,۵۶	۰,۳۵	۶۷,۶۰	۹۲,۲۵	۲,۰۲	۱۱
	۱		-۵	۱,۰×۱۰							
۰,۹۸۷	۱۶,۵۳	-۱۰	-۱,۰×۱	۰,۸۰	۱۲,۰۸	۱۲,۰۸	۰,۰۸	۷۴,۹۳	۹۲,۲۵	۲,۰۲	۱۲
	۹	۳	-۳	۱,۰×۱۰							
۰,۹۶۵	۱۵,۲۵	-۱۰	-۱,۰×۱	۰,۳۵	۲۱,۵۸	۱۰,۷۹	۰,۳۵	۶۶,۹۰	۱۰۰	۰,۵۱	۱۳
	۷	۷	-۴	۱,۰×۱۰							
۰,۹۸۰	۹,۵۴۷	-۱۰	-۱,۰×۱	۰,۷۰	۲۱,۱۱	۱۰,۵۵	۰,۰۷	۶۷,۵۵	۱۰۰	۰,۵۱	۱۴
	۳	۶	-۶	۱,۰×۱۰							
۰,۹۸۷	۱۱,۹۱	-۱۰	-۱,۰×۱	۰,۸۰	۱۲,۰۴	۱۲,۰۴	۰,۴۰	۷۴,۶۹	۱۰۰	۰,۵۱	۱۵
	۱	۳	-۵	۱,۰×۱۰							

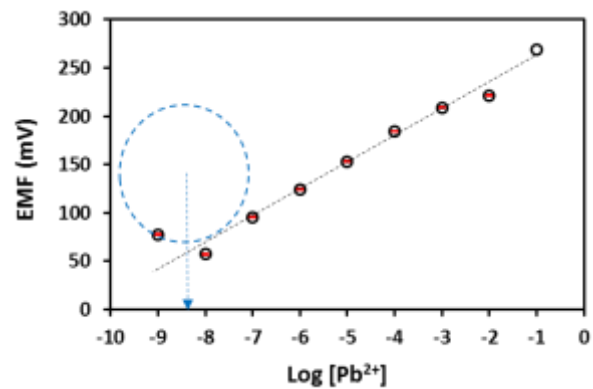
بررسی حساسیت الکتروود یون گزین

به منظور سنجش حساسیت الکتروود طراحی شده به کاتیون سرب (II)، دو الکتروود مرجع و الکتروود یون گزین طراحی شده به عنوان الکتروود کار در درون سل حاوی محلول استاندارد کاتیون سرب (II) با غلظت 1×10^{-10} مولار قرار گرفت. هر دو الکتروود توسط گیره، به دستگاه دیجیتال pH/ISE متر مدل Orion Star A214 متصل شد. پس از ۱۰ دقیقه جهت ثابت شدن شرایط درون سل، اختلاف پتانسیل (EMF) میان دو الکتروود اندازه گیری و ثبت شد. اندازه گیری اختلاف پتانسیل برای هر غلظت چندین بار تکرار شد تا اختلاف پتانسیل های نشان داده شده در دستگاه در هر مرتبه به میزان حداکثر $\pm 0,5$ میلی ولت با مرتبه قبل یا بعد خود اختلاف داشته باشد. پس از ثابت شدن ۳ اختلاف پتانسیل به اندازه گیری این غلظت از محلول استاندارد کاتیون سرب (II) خاتمه داده شد. در مرحله بعد محلول استاندارد کاتیون سرب (II) درون سل با

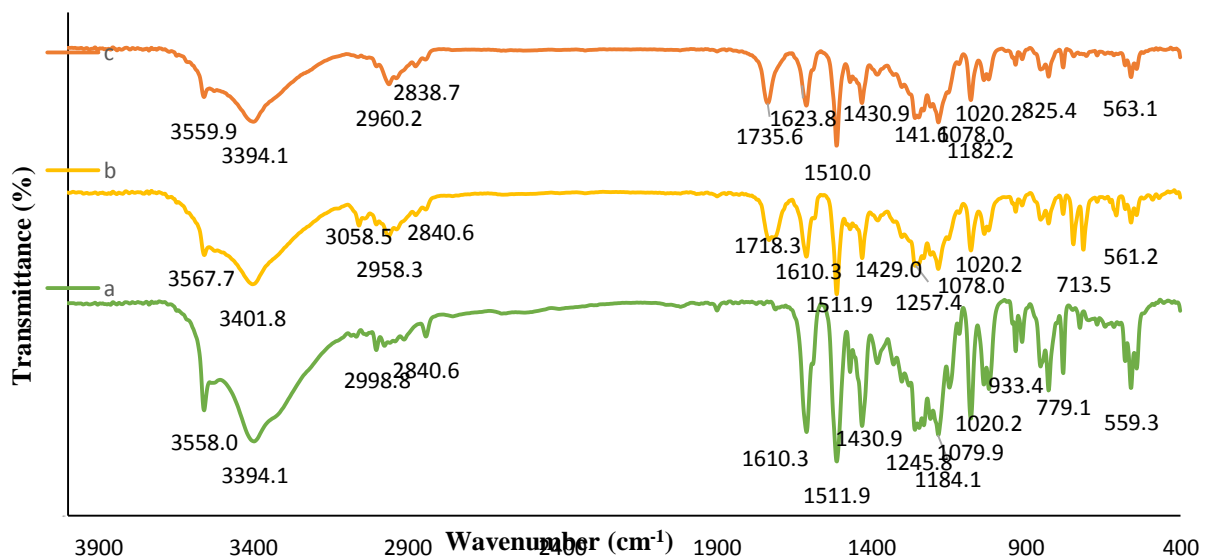
محلول دوم با غلظت 1×10^{-9} مولار جایگزین شد. پس از ۵ دقیقه اختلاف پتانسیل بین دو الکتروود توسط دستگاه پتانسیومتر اندازه گیری و ثبت شد. به همین ترتیب اندازه گیری اختلاف پتانسیل بین دو الکتروود کار و مرجع برای محلول های استاندارد کاتیون سرب (II) از غلظت 1×10^{-8} تا 1×10^{-1} مولار انجام شد. نمودار اختلاف پتانسیل (EMF) بر حسب لگاریتم غلظت محلول های استاندارد کاتیون سرب (II) رسم شد (شکل ۱).

طیف سنجی فرو سرخ تبدیل فوریه (FTIR)

ابتدا یونوفر کلیکس-۶-آرن، غشاء بهینه‌سازی شده و غشاء بعد از مجاورت با محلول کاتیون سرب (II) با برمید پتاسیم (هیچ پیکی در طول موج مورد استفاده جهت شناسایی گروه‌های عاملی نمونه ایجاد نمی‌کند) مخلوط گردید. مخلوط حاصل جهت به دست آوردن قرص مناسب فشرده شد. طیف FTIR از نمونه‌ها در محدوده طول موج $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ توسط دستگاه (Thermo Nicolet) FTIR ، مدل Avatar ۳۷۰ ، ساخت آمریکا) ثبت شدند و مورد آنالیز قرار گرفتند.

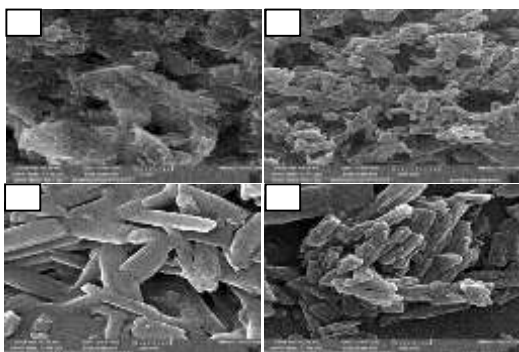


شکل ۱. نمودار کالیبراسیون سنسور انتخابی یون Pb^{2+} بهینه شده



شکل ۲. طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (a) برای یونوفر کلیکس-۶-آرن، (b) غشاء بهینه‌سازی شده قبل و (c) بعد از مجاورت با محلول کاتیون سرب (II)

آب دو بار تقطیر، دو بار شستشو داده شدند و هر ۵ دقیقه به صورت پشت سر هم با اتانول (۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۶ و ۱۰۰ درصد)، خشک شدند. سپس نمونه‌ها در زیر هود قرار گرفته تا حلال‌های باقیمانده نیز از آن‌ها خارج شود و در یخچال نگهداری شدند. بعد از آن نمونه‌ها مورد تصویربرداری قرار گرفتند



میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FESEM)

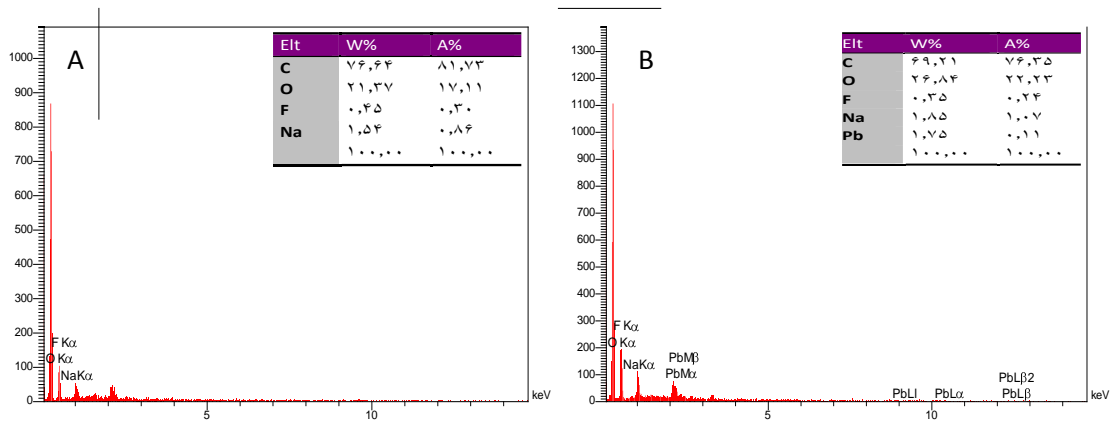
به منظور بررسی مورفولوژی غشاء و ساختار سطح مقطع آنها، نمونه‌ها با میکروسکوپ FE-SEM ساخت شرکت HITACHI کشور ژاپن در ولتاژ ۱۵ کیلووات روبش شدند. همه نمونه‌ها توسط یک لایه از طلا پوشش داده شدند. برای بررسی مورفولوژی، ابتدا سطح غشاء الکتروود قبل و بعد از قرار گرفتن در محلول سرب (II) روی سطح تثبیت شدند. برای تثبیت آنها از یک میلی‌لیتر محلول گلو تار آلدهید (۴ درصد حجمی) در بافر فسفات با pH ۷٫۴ استفاده شد، لذا در این مرحله نمونه‌ها باید به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه درون آن غوطه ور باشند. سپس به آرامی با

های نشان داده شده به یک اتم خاص اختصاص دارد که پیک های با ارتفاع بیشتر نشان دهنده غلظت بیشتر عنصر مورد نظر می باشد. با توجه به اینکه در این مطالعه، مقدار کربن در ساختار نانو کامپوزیت بیشتر از سایر عناصر می باشد بیشترین درصد وزنی را عنصر کربن به خود اختصاص داده است. همچنین پیک های نشان داده شده مربوط به غشا بهینه شده حسگر بر پایه کلیکس-۶-آرن، پس از مجاورت با محلول استاندارد کاتیون سرب (II)، وجود اتم سرب را در غشا بهینه شده تایید می کند.

شکل ۳. میکروگراف های FESEM غشاء پلیمری بهینه شده حسگر کاتیون سرب (II) بر پایه یونوفر کلیکس-۶-آرن قبل (A و C) و بعد (B و D) از مجاورت با محلول استاندارد کاتیون سرب (II)

طیف سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (EDX)

آنالیز و تعیین خصوصیات سطح الکتروود اصلاح شده بر پایه یونوفر کلیکس-۶-آرن پس از قرار گرفتن در محلول حاوی کاتیون سرب (II) انجام شد. بر اساس شکل ۴ هر یک از پیک



شکل ۴. طیف سنجی پراش انرژی پرتو ایکس غشاء پلیمری بهینه شده حسگر کاتیون سرب (II) بر پایه یونوفر کلیکس-۶-آرن قبل (A) و بعد (B) از مجاورت با محلول استاندارد کاتیون سرب (II)

این معنی است که دارای انتخاب پذیری بالایی برای کاتیون سرب (II) در حضور سایر یون های مزاحم است.

جدول ۲. انتخاب پذیری الکتروود بهینه سازی شده نسبت به کاتیون سرب (II) در حضور یون مزاحم مختلف

Interfering ion	Log K _{Pb} ^{MPM}
K ⁺	-۲
Na ⁺	-۰٫۳۰
NH ₄ ⁺	-۱
Ca ²⁺	-۱٫۹۰
Mg ²⁺	-۲٫۰۴
Zn ²⁺	-۲
Cu ²⁺	-۱٫۹۵
Ni ²⁺	-۱٫۸۸

انتخاب پذیری الکتروود بهینه سازی شده نسبت به کاتیون سرب (II) در حضور یون های مزاحم

جدول ۲ میزان انتخاب پذیری (log kMPM) حسگر طراحی شده برای Pb^{2+} نسبت به کاتیون های متداول در خون انسان را نشان می دهد. در واقع برای انتخاب پذیری هر چه قدر مطلق اعداد به دست آمده ($|\log K^{MPM}|$) بزرگتر باشد به این معنی است که حسگر نسبت به یون اصلی در حضور سایر یون های مزاحم انتخاب پذیری بیشتری دارد. یا به عبارت دیگر مقدار منفی ضریب انتخاب پذیری بیانگر تمایل کمتر یونوفر بکار رفته در ساختار غشاء حسگر نسبت به یون اصلی می باشد. بنابراین با توجه به اعداد به دست آمده در جدول ۲، هر چه اعداد کوچکتر از صفر باشد به

مطالعات تطبیقی

نرم کننده استفاده شد. همانطور که مشاهده شد حسگر پیشنهادی در گزینش پذیری، محدوده غلظت کاری و حد تشخیص با الکتروودهای یون گزین سرب گزارش شده قابل مقایسه است. می توان نتیجه گرفت که الکتروودهای پیشنهادی می توانند به طور موثر برای تشخیص صحیح و دقیق غلظت Pb^{2+} در خون انسان استفاده شوند (جدول ۳)

الکتروود یون گزین ساخته شده در این مطالعه با کالیکس ۶ آرین به عنوان یونوفور با الکتروود انتخابی Pb^{2+} که اخیراً منتشر شده است، مقایسه شد. همانطور که در جدول ۳ نشان داده شده است، تمام مطالعات بر روی الکتروودهای یون گزین سرب نیترات دارای نرم کننده در غشای خود بودند، در حالی که این کار به روش خود

جدول ۳. مقایسه الکتروودهای یون گزین سرب پیشنهادی در این مطالعه با سنسورهای پتانسیومتری گزارش شده

شماره	یونوفور	شیب (میلی ولت بر هر دهه)	محدوده خطی (مولار)	حد تشخیص (مولار)	رفرنس
۱	Calix 6 arene	۲۸,۵۸	$1,0 \times 10^{-10} - 1,0 \times 10^{-7}$	4×10^{-10}	این مطالعه
۲	1,2-bis(N ¹ -benzoylthioureido)benzene	$0,62 \pm 30,37$	$6,31 \times 10^{-10} - 3,98 \times 10^{-7}$	$2,51 \times 10^{-10}$	(۲۴)
۳	Carboxyphenyl azo groups	۲۹,۴	$1,0 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-10}$	$1,0 \times 10^{-6}$	(۲۵)
۴	Calixarene Phosphine Oxide Derivatives	$0,2 \pm 29,5$	$8 \times 10^{-7} - 6 \times 10^{-10}$	$1,0 \times 10^{-6}$	(۲۶)
۵	Benzyl disulphide	$29,2 \pm 1,3$	$2 \times 10^{-5} - 5 \times 10^{-10}$	$1,0 \times 10^{-6}$	(۲۷)
	meso-tetrakis(2-hydroxy-1-naphthyl)porphyrin (THNP: I) meso-tetrakis(2-methoxy-1-naphthyl)porphyrin (TMNP: II)	$29,2 \pm 0,3$	$3,2 \times 10^{-10} - 1 \times 10^{-10}$	$3,5 \times 10^{-6}$	(۲۸)
۶	semi-conducting poly(m-phenylenediamine)	۲۹,۸	$3,16 \times 10^{-6} - 0,316$	$7 \times 10^{-6}, 31$	(۲۹)

بحث

منابع سرب می تواند به صورت شغلی یا حتی محیطی و به صورت ناخواسته باشد که در کشورهای مختلف متفاوت است (۱۱، ۱۴). متأسفانه با گذشت زمان و میل به مصرف مواد مخدر همچون تریاک، استفاده از این منابع رو به افزایش است. در معرض سرب قرار گرفتن می تواند اثرات مضر روی سیستم عصبی، کلیوی، قلبی-عروقی، خون سازی و اندامهای تولیدمثل ایجاد کند (۱۱، ۱۵). بنابراین جذب سرب یک تهدید جدی برای سلامت بشر به خصوص در کشورهای در حال توسعه مانند ایران محسوب شود (۱۳). با توجه به عوارض ذکر شده، روشی آسان، سریع، ارزان و دقیق برای تشخیص سرب در غلظت کم بسیار حائز اهمیت است. در این پژوهش سعی شد به این مهم دست یابیم. به طور خلاصه می توان گفت در این مطالعه، از الکتروود گلسی کرین تغییر داده شده بر کالیکس ۶ به عنوان یونوفور، برای تشخیص کاتیون سرب (II) در محلول های حاوی این کاتیون استفاده شد.

، ۳۰۰، ۵۰۰، ۷۰۰ و ۱۰۰۰ ppm از کاتیون سرب (II) تهیه شد. در انتها توسط الکتروود یون گزین بهینه سازی شده مورد سنجش واقع شد. در نهایت همان طور که در جدول زیر نشان داده شده است، ضریب تغییرات (CV) آن نسبت به سنجش الکتروود با محلول های استاندارد سرب (II) محاسبه شد (جدول ۴).

جدول ۴. ضریب تغییرات سنجش الکتروود طراحی شده میان محلول استاندارد سرب (II) و سرب (II) موجود در خون رقیق شده

شماره نمونه	Added (ppm)	Found (ppm)	ریکاوری (%)	انحراف استاندارد نسبی (%)
۱	۲۰۰	۱۸۸,۷۸	۹۴,۳۹	۰,۲۹
۲	۳۰۰	۲۹۱,۴۵۶	۹۷,۱۵	۰,۲۲
۳	۵۰۰	۴۹۷,۴۴	۹۹,۴۸	۰,۲۳
۴	۷۰۰	۶۹۰,۶۸	۹۸,۶۶	۰,۰۸
۵	۱۰۰۰	۹۷۰,۱۶	۹۷,۰۱	۰,۱۱

کلی کالیکس ها دارای چرخه های ماکرو مصنوعی هستند که از تراکم فنل و فرمالدئید جایگزین شده با p در محیط قلیایی به دست می آیند. عامل دار کردن لبه پایین و بالایی کالیکس های مادر منجر به تنوع زیادی از مشتقات آنها می شود و ساختار کاسه مانند کالیکس ها به آنها اجازه می دهد تا مجتمع هایی با گونه های مختلف تشکیل دهند (۱۸).

در مطالعه ای دیگر Aghaie و همکاران در سال ۲۰۰۹ یک الکتروود یون گزین جهت شناسایی یون های نقره تهیه کردند. در مطالعه آنها از کالیکس-۴-آرن استفاده شد. الکتروود طراحی شده به عنوان الکتروودهای نشانگر در تیتراسیون پتانسیومتری یون نقره و در تعیین Ag^+ در امولسیون عکاسی و فیلم های رادیوگرافی و عکاسی استفاده شدند (۱۹). در مبحث الکتروود های یون پذیر، مهم ترین ویژگی الکتروود یون گزین آن است که گزینش پذیری نسبت به یون اولیه نسبت به یون های مزاحم باید به اندازه ای بالا باشد که الکتروود تهیه شده فقط به غلظت یون اولیه پاسخ دهد. متأسفانه، بسیاری از یونفورهای این نیاز را برآورده نمی کنند. لذا گزینش پذیری، پاسخ حسگر، و توانایی یونفورهای برای ایجاد برهمکنش های قوی با Pb^{2+} در سطح فوق مولکولی مورد آزمایش قرار گرفت. ضریب انتخاب پذیری آن برای هر یک از یون های آمونیوم، نیکل (II)، منیزیم (II)، کلسیم (II)، پتاسیم، سدیم، روی (II) و مس (II) توسط روش پتانسیل همتا شده (MPM) محاسبه شد. نتایج به دست آمده نشان داد که الکتروود طراحی شده انتخاب پذیری بالایی را نسبت به Pb^{2+} در حضور سایر یون های مزاحم دارد. لذا در حال حاضر بهترین یونفور انتخابی تجاری موجود برای سرب (II) مشتق تیوآمید- p-tert-butylcalix[4]arene است که به عنوان یونفور سرب IV به فروش می رود. جای تعجب نیست زیرا ترکیبات حاوی اتم گوگرد با پیوند دوگانه میل ترکیبی بالایی با کاتیون های سرب (II) نشان می دهند و حفره کالیکس-۴-آرن با ابعاد کاتیون های سرب (II) متناسب است. از سوی دیگر، یکی از مهمترین معایب کالیکس-۴-آرن میل ترکیبی به کاتیون های نقره است که این تمایل و گزینش پذیری معمولاً بیشتر از سرب (II) است (۲۰).

سپس الکتروود کار و رفرنس در محلول های استاندارد سرب (II) با غلظت های متفاوت قرار داده شد. از میان ۱۵ فرمولاسیون مختلف که هر کدام از لحاظ اجزای تشکیل دهنده با هم متفاوت بودند الکتروود شماره ۱۰ دارای بهترین خصوصیات بود. لذا این الکتروود و برهمکنش آن با کاتیون سرب (II) با استفاده از تکنیک های طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)، میکروسکپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FESEM)، طیف سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (EDX) مورد تایید قرار گرفت. آنچه در تهیه یک الکتروود یون گزین بسیار مهم است ترکیبات استفاده در آن است. در این مطالعه از کالیکس-۶-آرن به عنوان یونفور استفاده است. کالیکس-۶-آرن یک ترکیب الیگومر حلقوی متشکل از واحدهای آروماتیک است که توسط یک پل متیلن به هم متصل شده اند به طوری که اگر گروه های عاملی در بالا و پایین ساختار حلقوی اصلاح شوند، می تواند انتخاب پذیری متفاوتی داشته باشد. ترکیبات کالیکس-۶-آرن قادر به ایجاد پیوندهای هماهنگی با یون های فلزات واسطه هستند، این موضوع به این دلیل است که ترکیب کالیکس-۶-آرن دارای سه اتم اکسیژن است که هر کدام دارای دو جفت الکترون آزاد هستند تا به عنوان یک عامل شلات کننده عمل کنند (۱۶). لذا همانگونه که انتظار می رفت وجود یونفورهای کالیکس-۶-آرن عملکرد الکتروود تجزیه و تحلیل یون Pb^{2+} را بهبود بخشد. در ارتباط با این موضوع Varvari و همکاران در سال ۲۰۰۹ از کالیکس-۶-آرن به عنوان یونفور جهت اندازه گیری پتاسیم تهیه شد. اندازه گیری پتانسیل محلول حاوی Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , NH_4^+ و Li^+ انجام شد که بهترین پاسخ برای تشخیص پتاسیم با شیب ۵۲ mV/ ΔpK مشاهده شد. محدوده خطی از غلظت ۰٫۱ میلی مولار تا ۰٫۱ مولار را نشان داد. آنها اشاره کردند که کالیکس-۶-آرن جهت ساخت الکتروود یون گزین مناسب است و می تواند جایگزین والینومایسین گران قیمت شود (۱۷). علاوه بر این Sadeghi و همکاران در سال ۲۰۱۱ الکتروود یون گزین جهت تعیین سزیم را طراحی کردند. در مطالعه آنها از کالیکس-۴-آرن استفاده شد که یکی از مشتقات کالیکس-۶-آرن است. به طور

بالایی را به سرب (II) در رنج خطی $10^{-1} \times 6,31$ تا $10^{-2} \times 3,98$ مولار، شیب نرنستی $0,62$ میلی ولت $\pm 30,37$ و حد تشخیصی 10^{-8} مولار را نشان داد. حسگر طراحی شده در محدوده ۸- $\text{pH} 4$ مورد استفاده قرار گرفت. این حسگر به طور موفقیت آمیزی برای اندازه گیری کاتیون سرب (II) در شیر خام و در تیتراسیون پتانسیومتریکی Pb^{2+} مورد استفاده قرار گرفت. ساختار لیگاند BBTB و تشکیل کمپلکس آن با بعضی کاتیون های رایج با استفاده از محاسبات DFT مکانیکی کوانتومی مورد استفاده قرار گرفت. در مطالعه آنها کاتیون سرب (II) تمایل زیادی به یونوفور BBTB نشان داد (۲۳).

نتیجه گیری

همان طور که مشاهده می شود، حسگر شیمیایی طراحی شده در این پژوهش، پاسخ انتخابی بالایی را به سرب (II) در محدوده خطی از غلظت $10^{-2} \times 1$ مولار تا $10^{-8} \times 1$ مولار را با شیب نرنستی $28/581$ میلی ولت نشان داد به ازای هر ده واحد تغییر غلظت سرب (II) بوده و $R^2 = 0/9901$ است. این حسگر طراحی شده برای اندازه گیری کاتیون سرب (II) در نمونه خون انسان مورد استفاده قرار گرفت که نتایج به دست آمده ریکاوری بین $99,48-94,39\%$ و انحراف استاندارد نسبی کم تر از 1% در گلوبول قرمز خون انسان را اندازه گیری کرد. یکی از مزایای این الکتروود استفاده از روش خود نرم کنندگی بود که مشکلات استفاده از نرم کننده در غشاء را ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد برای حمایت از این پروژه تحقیقاتی تقدیر و تشکر مینمایند.

حسگر ساخته شده در این مطالعه به عنوان الکتروود شناساگر در تیتراسیون پتانسیومتری در محلول سرب (II) توسط محلول استاندارد EDTA (تیرانت) برای تعیین دقیق غلظت کاتیون سرب (II) مورد استفاده قرار گرفت که نتایج کسب شده مشابه سایر مطالعات انجام شده در این حوزه بود. جهت تشخیص میزان سرب در محلول حاوی این یون در سال ۲۰۱۶ Raj و همکاران حسگر نواری رنگ سنجی بر پایه کورکومین بار شده روی نانوفیبرهای سلولز استات طراحی کردند که توانست Pb^{2+} را با حد تشخیص 20 میکروولتر به صورت چشمی و $0,01$ میکرومولار $\pm 0,12$ از نمودار خطی با ضریب $0,977$ تشخیص دهد. رنگ این حسگر در هنگام برهمکنش با Pb^{2+} ، از زرد به نارنجی تغییر یافت (۲۱). در مطالعه دیگری که یک الکتروود یون گزین جهت شناسایی یون های سرب تهیه شده بود از HMDMN به عنوان آیونوفور استفاده شد. در مطالعه آنها میزان پاسخ خطی در محدوده $10^{-6} \times 1$ تا $0,1$ مولار مشاهده شد و میزان شیب خطی برابر با $25,79$ میلی ولت بر هر دهه بدست آمد. آنها پیشنهاد دادند که حسگر پیشنهادی انتخاب خوبی نسبت به یون pb^{2+} با توجه به بسیاری از یون های قلیایی، قلیایی خاکی، انتقالی و فلزات سنگین نشان می دهد. لذا از آن برای تعیین pb^{2+} در نمونه های آب و خاک می توان استفاده کرد (۲۲). Abraham و همکاران در سال ۲۰۱۵، یک الکتروود یون گزین بر اساس روش پتانسیومتری با غشاء PVC و با حساسیت بالا برای pb^{2+} طراحی نمودند. در کار تحقیقاتی آنها، یک الکتروود کربن شیشه ای (GCE) با ترکیب سنتز شده او ۲- بیس (ان-بنزویل تیواوره) بنزن (BBTB) به عنوان یک یونوفور و اکسید گرافن کاهش یافته (RGO) به کار گرفته شد. حسگر شیمیایی طراحی شده حساسیت و پاسخ انتخابی

References

1. Farjad MH. A Comparative Sociological Study of Students Behaviour in Aligarh Muslim University and Tehran University: Aligarh Muslim University; 1973.
2. Sharg A, Shakibi A, Neisari R, Aliloo L. Survey of factors related to the relapse of addiction from view of addict patients attending to drug abuse treatment clinics in West Azerbaijan. Studies in Medical Sciences. 2011;22(2):129-36.
3. BORYSOWICZ J. Symptoms of lead poisoning. Polski tygodnik lekarski. 1948;3(12):369-72.
4. Martins E, Varea A, Hernandez K, Sala M, Girardelli A, Fasano V, et al. Blood lead levels in children aged between 1 and 6 years old in La Plata, Argentina. Identification of risk factors for lead exposure. 2016;114(6):543-9.
5. Zhang M, Guang S, Zhai R, Liu J, Guang H, Chen D, et al. The blood lead levels of outpatients aged 1–18 years from Lu'an, China, 2012–2014. 2016;33:48-53.
6. Swets JA. Measuring the accuracy of diagnostic systems. Science. 1988;240(4857):1285-93.
7. Salman-Roghani H, Foroozan A. Lead poisoning, report of an interesting case. Govarehsh. 2011;14(1):39-46.

8. Salehi H, SAYADI AAR, Tashakori M, YAZDAN DR, SOLTANPOUR N, Sadeghi H, et al. Comparison of serum lead level in oral opium addicts with healthy control group. 2009.
9. Deibler K, Basu PJEjoic. Continuing issues with lead: Recent advances in detection. 2013;2013(7):1086-96.
10. Hilwa W. Clinical Instrumentation Refresher Series: Ion Selective Electrodes. Med TechNet Online Services. 1998:1-16.
11. Schütz A, Bergdahl IA, Ekholm A, Skerfving S. Measurement by ICP-MS of lead in plasma and whole blood of lead workers and controls. Occupational and environmental medicine. 1996;53(11):736-40.
12. Klotz K, Göen T. Human biomonitoring of lead exposure. Lead-Its Effects on Environment and Health: De Gruyter; 2017.
13. Mehrpour O, Karrari P, Abdollahi M. Chronic lead poisoning in Iran; a silent disease. Springer; 2012.
14. Obeng-Gyasi E. Sources of lead exposure in various countries. Reviews on environmental health. 2019;34(1):25-34.
15. Mitra P, Sharma S, Purohit P, Sharma P. Clinical and molecular aspects of lead toxicity: An update. Critical reviews in clinical laboratory sciences. 2017;54(7-8):506-28.
16. Nurdin M, Dali N, Irwan I, Maulidiyah M, Arham Z, Ruslan R, et al. Selectivity determination of Pb²⁺ ion based on TiO₂-ionophores BEK6 as carbon paste electrode composite. Anal Bioanal Electrochem. 2018;10:1538-47.
17. Varvari L, Dorneanu S-A, POPESCU IC. POTASSIUM-SELECTIVE ELECTRODE BASED ON A CALIX [6] ARENIC ESTER (C₆Es₆). STUDIA UNIVERSITATIS BABES-BOLYAI CHEMIA. 2009;54(3):247-53.
18. Bagheri Sadeghi H, Sid Kalal H, Hoveidi H, Molavi Z, Adeli Asl N. A new potentiometric sensor for determination of cesium ion in environmental samples. International Journal of Environmental Research. 2011;5(2):561-6.
19. Aghaie M, Giahi M, Aghaie H, Atryan A. Silver (I)-selective membrane potentiometric sensor based on two recently synthesized ionophores containing calix [4] arene. Russian Journal of Electrochemistry. 2009;45(7):804-9.
20. Kulesza J, Bocheńska M. Calixthioamides as Ionophores for Transition-and Heavy-Metal Cations. European Journal of Inorganic Chemistry. 2011;2011(6):777-83.
21. Raj S, Shankaran DR. Curcumin based biocompatible nanofibers for lead ion detection. Sensors and Actuators B: Chemical. 2016;226:۲۰-۳۱۸.
22. Ghaedi M, Montazerzohori M, Andikaey Z, Shokrollahi A, Khodadoust S, Behfar M, et al. Fabrication of Pb²⁺ Ion Selective Electrode Based on 1-((3-((2-Hydroxynaphthalen-1-yl) Methyleneamino)-2, 2-Dimethylpropylimino) Methyl) Naphthalen-2-ol as New Neutral Ionophore. Int J Electrochem Sci. 2011;6:4127-40.
24. Abraham AA, Rezayi M, Manan NS, Narimani L, Rosli ANB, Alias YJEA. A novel potentiometric sensor based on 1, 2-Bis (N'-benzoylthioureido) benzene and reduced graphene oxide for determination of lead (II) cation in raw milk. 2015;165:221-31.

Original Article

Designing an ion selective electrode based on self-plasticizing method for determining lead ion in sera samples of addicted patients

Received: 21/08/2023 - Accepted: 09/07/2024

Arian Agha Mohammadi¹
Ehsan Karimi^{1*}
Majid Rezayi²

¹Department of Biology, Mashhad branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

²Department of Medical Biotechnology and Nanotechnology, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

*Dr. Ehsan Karimi, Department of Biology, Mashhad branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Email:
ehsan_b_karimi@yahoo.com

Abstract

Introduction and purpose: One of the significant health problems in some developing countries such as Iran is lead toxicity. The present study describes the fabrication of a novel ion selective electrode for the rapid and sensitive determination of Pb (II) ions in real samples.

Methodology: The electrode was prepared by Glassy carbon electrode modification with Calyx[6]arena as an ionophore. A mixture of DMPP, HEMA and n-BA were used to prepare the first layer as well as NaTFPB, Calyx[6]arena and DMPP were used to prepare the second layer. After preparing the membrane, it was characterized by different techniques such as by Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy, field emission scanning electron microscopy (FESEM) and energy dispersive X-Ray (EDX) spectroscopy.

Findings: The results obtained from FT-IR, FESEM, and EDX confirm the presence of Pb (II) ions in the optimized sensor. Ion selective electrode exhibits nernstian response to Pb (II) ions with slope of 28.58 mV/decade in the concentration range of 1×10^{-8} to 1×10^{-2} M. Moreover, the electrode showed good selectivity toward Pb(II) ions over KCL, NaCL, NH₄CL, CaCL₂, MgCL₂, ZnCL₂, CuCL₂ and NiCL₂. In relation to the real sample, the prepared electrode showed a recovery between 94.39_99.48 % and a relative standard deviation of less than 1 %.

Conclusion: The designed electrode, without the need for complicated sample preparation steps, was successfully used to determine the low concentrations of Pb(II) cation in the blood samples.

As a result, the designed electrode is of good accuracy and can be used to measure Pb(II) cation in blood samples and possibly any other biological sample.

Key words: Calyx[6]arena; Pb (II) ion, Self-plasticizing; Ion selective electrode.

Acknowledgement: There is no conflict of interest