

## طراحی و ساخت حسگر نوری مبتنی بر تلفن هوشمند و بر پایه کلروفیل تثبیت شده در نانوکاغذ سلولزی جهت اندازه گیری فلورسانسی متیل پاراتیون

آذرنوش کشاورز سیاهمرد<sup>۱</sup>، حامد گل محمدی قانع<sup>۱\*</sup>، تینا نقدی<sup>۱</sup>، فروغ قاسمی<sup>۲</sup>، محمد کیایی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران، تهران، ایران

<sup>۲</sup> پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، کرج، ایران

<sup>۳</sup> دانشگاه پیام نور دماوند، دماوند، ایران

Email: golmohammadi@ccerci.ac.ir

### چکیده

امروزه به دلیل افزایش جمعیت در جهان، نیاز به تولید محصولات کشاورزی و بالطبع آن مصرف سموم جهت افزایش تولید آنها به طور بی سابقه ای افزایش یافته است. با توجه به جدی بودن خطر سموم اورگانوفسفاته و تاثیر قابل ملاحظه آن ها برای سلامت انسان و محیط زیست، تلاش ها و مطالعات متعددی جهت اندازه گیری متیل پاراتیون به عنوان یکی از پر کاربردترین سموم اورگانوفسفاته صورت پذیرفته است. با وجود ارائه و توسعه روش های جدید در اندازه گیری متیل پاراتیون، بیشتر روش های توسعه پیدا کرده به منظور اندازه گیری این سم، دارای معایبی چون نیاز به واکنشگرهای غالباً سمی و سرطانزا، تجهیزات و دستگاه های پیچیده و گران قیمت و مهارت بالا هستند. بنابراین ارائه و توسعه روش های ساده، کارا، ارزان، غیر سمی و دوست دار محیط زیست به منظور اندازه گیری متیل پاراتیون از اهمیت ویژه ای برخوردار هستند. در تحقیق حاضر، از خاصیت فلورسانسی کلروفیل جهت اندازه گیری متیل پاراتیون استفاده شده است. کلروفیل از برگ های تازه گیاه اسفناج استخراج و در بستر نانوکاغذ سلولزی باکتریایی تثبیت شد. کاهش شدت فلورسانس کلروفیل تثبیت شده در بستر نانوکاغذ سلولزی باکتریایی با افزایش غلظت متیل پاراتیون به دلیل پدیده "اثر فیلتر داخلی" به عنوان مکانیسم محتمل جهت حسگری این سم پیشنهاد شد. در ادامه جهت کمی سازی سیگنال های بدست آمده از نانوحسگر طراحی شده، از یک پلتفرم نوری مبتنی بر تلفن هوشمند که دارای یک سیستم اپتوالکترونیکی و نرم افزار مویایل خود توسعه یافته است استفاده شد. تحت شرایط بهینه، روش در محدوده غلظتی ۷-۱ ppm از متیل پاراتیون خطی بوده و حد تشخیص روش ۰/۱ ppm به دست آمد.

**واژگان کلیدی:** متیل پاراتیون، حسگر نوری، کلروفیل، نانوکاغذ سلولزی، تلفن هوشمند

## مقدمه

امروزه به دلیل افزایش جمعیت در جهان، نیاز به تولید محصولات کشاورزی روز به روز در حال افزایش بوده و به طبع آن مصرف آفت‌کش‌ها نیز به طور بی‌سابقه‌ای افزایش یافته است. این سموم و محصولات جانبی آن‌ها، باعث آلودگی‌های زیست محیطی متعددی می‌شوند. باقی‌مانده سموم بر روی میوه‌ها و گیاهان یک تهدید محیط زیستی و بحران جدی برای سلامت جوامع بشری محسوب می‌شوند. سموم کشاورزی می‌توانند اثرات کوتاه مدت و دراز مدتی بر سلامت انسان داشته باشند. کسانی که به طور مستقیم با سموم کشاورزی کار می‌کنند در معرض مشکلات مختلفی از جمله سوزش و قرمزی چشم، اختلال در عملکرد سیستم تنفسی و حساسیت‌های پوستی مواجه هستند. تماس طولانی مدت با این سموم می‌تواند منجر به مسمومیت‌های شدید و حتی مرگ شود. همچنین سموم کشاورزی می‌توانند در آب، خاک و محصولات کشاورزی باقی بمانند و منجر به تاثیرات دراز مدتی مثل سرطان و یا جهش‌های ژنتیکی شوند [۳ و ۱۱]. دستیابی به روش‌های نوین باعث درک کامل‌تری درباره رفتار و سرنوشت سموم در محیط شده است [۱-۳]. به طور کلی، کنترل و پایش آفت‌کش‌ها و اورگانوفسفاته‌ها در سه بخش تقسیم‌بندی می‌شوند که شامل سموم موجود در آب و خاک، سموم موجود بر روی گیاه و سموم موجود در محصولات کشاورزی و غذایی است [۱۰].

متیل پاراتیون از جمله سموم کشاورزی پرکاربرد با ترکیب نیتروآروماتیک اورگانوفسفاته است. متیل پاراتیون نام رایج O-O دی‌متیل O-P نیتروفنیل فسفروتیوات، یک حشره‌کش اورگانوفسفاته غیرسیستماتیک است که با عملکرد تماسی و اثر بر روی سیستم تنفسی حشرات از درخت‌ها و میوه‌ها در برابر آنها محافظت می‌کند.

با توجه به جدی بودن خطر سم متیل پاراتیون و تاثیر قابل ملاحظه آن برای سلامت انسان و محیط زیست، تلاش‌ها و مطالعات متعددی جهت اندازه‌گیری این سم اورگانوفسفاته پرکاربرد انجام شده است [۱۲-۱۸]. با وجود ارائه و توسعه

روش‌های جدید در اندازه‌گیری متیل پاراتیون، بیشتر روش‌های توسعه پیدا کرده به‌منظور اندازه‌گیری این سم دارای معایبی چون نیاز به واکنشگرهای غالباً سمی و سرطان‌زا، تجهیزات و دستگاه‌های گران قیمت و پیچیده، نیروی متخصص جهت انجام آزمایش‌ها و تفسیر نتایج آنها و همچنین زمان آنالیز طولانی هستند. بنابراین ارائه و توسعه روش‌های ساده، کارا، ارزان، سریع، غیر سمی و دوست‌دار محیط‌زیست به‌منظور اندازه‌گیری متیل پاراتیون از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند [۲۰، ۱۹].

طی سال‌های اخیر، استفاده از "مواد شیمیایی گیاهی" به عنوان گروه بزرگی از ترکیبات طبیعی در ساخت انواع مختلفی از حسگرهای (زیست) شیمیایی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. ویژگی‌های منحصر به فرد و ذاتی ارائه شده توسط این ترکیبات طبیعی از جمله در دسترس بودن، هزینه کم، تجزیه-پذیری زیستی، زیست سازگاری و پایداری بالا، در کنار ویژگی‌های فوق العاده و منحصر به فرد نوری و الکتریکی، آن‌ها را به عنوان ترکیباتی کارآمد برای توسعه حسگرهای (زیست) شیمیایی در زمینه‌های مختلف از جمله تشخیص‌های کلینیکال، تصویربرداری زیستی، کنترل کیفیت غذا و پایش-های زیست محیطی تبدیل کرده است [۲۱، ۲۲]. در بین انواع مواد شیمیایی گیاهی، کلروفیل شناخته شده‌ترین رنگدانه طبیعی است که تقریباً در همه گیاهان سبز و همچنین برخی از اشکال سیانوباکتری‌ها و جلبک‌ها یافت می‌شود. کلروفیل از نظر ساختمانی، به گروه "هم" هموگلوبین شباهت دارد. رنگدانه قرمز هموگلوبین دارای آهن و رنگدانه سبز کلروفیل دارای منیزیم است. در گیاهان، انواع مختلف کلروفیل وجود دارد که بر حسب ساختار به نام کلروفیل‌های a، b، c و غیره نام‌گذاری شده‌اند. در گیاهان معمولاً دو نوع کلروفیل a و b وجود دارد که ساختار مشابه‌ای دارند و تفاوت آنها در گروه R است. اگر R یک گروه متیل ( $\text{CH}_3$ ) باشد، کلروفیل از نوع a و اگر عامل فرمیل ( $\text{CHO}$ ) باشد کلروفیل از نوع b است. هر دو کلروفیل a و b نور مرئی را در طول موج مشخصی بین ۷۰۰-۴۰۰ nm جذب می‌کنند [۲۳-۲۶].

<sup>1</sup> Phytochemicals

در این پژوهش از کلروفیل تثبیت شده در نانو کاغذ سلولز باکتریایی جهت ساخت یک حسگر نوری ساده، ارزان و دوست‌دار محیط زیست برای اندازه‌گیری فلورسانسی سم متیل‌پاراتیون استفاده شده است. متیل‌پاراتیون در محیط قلیایی هیدرولیز و به پارانیتروفنول تبدیل می‌شود. طول موج جذب پارانیتروفنول در محدوده ۴۰۵ nm است و از آنجایی- که طول موج برانگیختگی کلروفیل در بازه ۴۲۰-۴۰۰ nm قرار دارد پارانیتروفنول می‌تواند با جذب این طول موج مانع از برانگیختگی فلورسانسی کلروفیل شود. بنابراین در این تحقیق، کاهش فلورسانس کلروفیل تثبیت شده در نانو کاغذ سلولز باکتریایی با افزایش غلظت متیل‌پاراتیون، به‌عنوان علامت تجزیه‌ای جهت اندازه‌گیری این سم مورد استفاده قرار گرفت. در ادامه جهت کمی‌سازی سیگنال‌های بدست آمده از نانو حسگر طراحی شده، از یک پلتفرم نوری مبتنی بر تلفن هوشمند که دارای یک سیستم اپتوالکترونیکی و نرم افزار مویایل خودتوسعه یافته است استفاده شد.

## مواد و روش‌ها

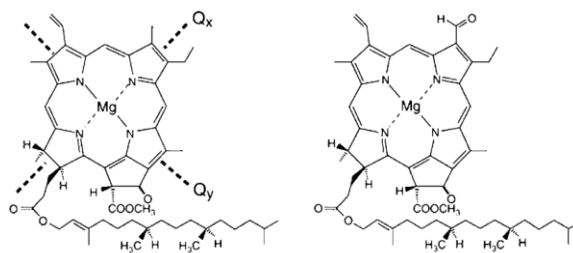
### مواد شیمیایی مورد استفاده

مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش از قبیل متیل‌پاراتیون، پتاسیم هیدروکسید، سدیم هیدروکسید، جیوه سولفات، مس نیترات، روی کلراید، سرب نیترات از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. جهت استخراج کلروفیل استون صنعتی (با خلوص ۹۸٪) مورد استفاده قرار گرفت. نانو کاغذ سلولز باکتریایی از شرکت نانونوبین پلیمر خریداری و کلروفیل مورد استفاده به روش ذکر شده در بخش بعدی استخراج شد. در همه آزمایش‌ها، از آب با درجه خلوص Mili-Q و با مقاومت ۱۸٫۲ MΩ استفاده شد.

### تجهیزات و دستگاه‌ها

طیف‌های نشری در دستگاه اسپکتروفلورومتر Jasco مدل FP-6500 و با استفاده از سل کوارتز شفاف در همه جهات (با طول عبور نور ۱cm) ثبت شد. داده‌های فلورسانسی و آنالیز تجزیه‌ای آن‌ها به‌وسیله یک پلتفرم نوری مبتنی بر

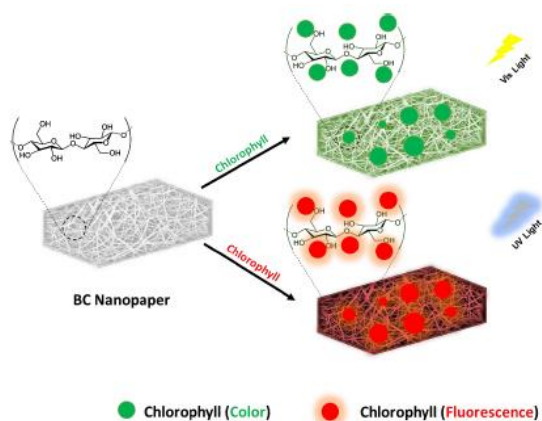
ساختارهای شیمیایی کلروفیل a و b در شکل ۱ نمایش داده شده‌اند.



شکل ۱- ساختار شیمیایی دو نوع کلروفیل a و b

به دلیل جذب فوق‌العاده قسمت آبی و بازتاب بخش‌های سبز و نزدیک به سبز طیف الکترومغناطیسی توسط این مولکول زیستی در فرآیند فتوسنتز، بافت‌های حاوی کلروفیل رنگ سبز را نشان می‌دهند. خاصیت فلورسانسی کلروفیل، به همراه سایر ویژگی‌های نوری و زیستی ذاتی، در دسترس بودن و ارزانی آن را به یک عنصر سنجش رنگ‌سنجی و فلورسانس-سنجی کارآمد و سازگار با محیط زیست تبدیل کرده است. با توجه به اهمیت توسعه سیستم‌های حسگری سازگار با محیط‌زیست، از میان سیستم‌های حسگری مختلف مبتنی بر مواد سلولزی، حسگرهای بر پایه نانو کاغذ توجه زیادی را اخیراً به خود جلب کرده‌اند تا از آن‌ها به عنوان بستر حسگر در طراحی و ساخت انواع مختلفی از حسگرهای (زیست) شیمیایی استفاده شود. نانو کاغذ به صورت صفحه‌ای که به‌طور کامل و متراکم از نانوالیاف سلولزی ساخته شده است تعریف می‌شود. مقایسه ویژگی‌های نانو کاغذ با کاغذ معمولی نشان‌دهنده عملکرد بسیار بهتر نانو کاغذ در بسیاری از شاخص‌های فیزیکی و مکانیکی مانند خواص نوری، ارتجاعی، انبساط گرمایی، استحکام کششی و کرنشی است. در واقع نانو کاغذ ضمن حفظ بسیاری از ویژگی‌های مفید کاغذ معمولی هم‌چون ارزانی، زیست تخریب‌پذیری، تراوایی بالا نسبت به آب و غیره، بر خلاف کاغذ شفاف بوده و از استحکام مکانیکی و کشسانی بسیار بالاتری برخوردار است. علت بسیاری از خواص منحصر به فرد نانو کاغذ را می‌توان به شبکه یکنواخت و کاملاً متراکم نانوالیاف سلولزی سازنده آن مرتبط دانست [۲۷].

همزدن به مدت ۳ h غوطه‌ور شدند. سپس نانوکاغذهای کلروفیلی پس از شستشو با آب در ظرف شیشه‌ای تیره و در محیط تاریک و خنک نگهداری شدند. تصویر شماتیک کلروفیل تثبیت شده در بستر نانوکاغذ سلولز باکتریایی در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲- کلروفیل تثبیت شده در بستر نانوکاغذ سلولز باکتریایی

### طراحی و ساخت پلتفرم نوری

در این پژوهش پلتفرم نوری با فناوری چاپگر سه بعدی ساخته شد که مجهز به دو لامپ فرابنفش LED برای برانگیختگی حسگر فلورسانس و یک فیلتر نارنجی برای حذف نشر زمینه است. جریان الکتریکی موردنیاز برای روشن کردن لامپهای LED با اتصال USB تلفن هوشمند به مدار الکترونیکی تامین می‌گردد. در پلتفرم ساخته شده، فاصله (۷ cm) و زاویه (صفر درجه) بین دوربین تلفن هوشمند و ناحیه مورد اندازه‌گیری ثابت هستند که این امر باعث حصول نتایج تکرارپذیر در شرایط نوری یکسان می‌شود. تصاویر مربوط به این دستگاه در شکل C-3A نشان داده شده است. همچنین یک نرم‌افزار توسعه‌یافته تلفن هوشمند برای محاسبه شدت رنگ میانگین هر حسگر (در کانال R مد RGB) و متعاقباً اندازه‌گیری مقدار متیل‌پاراتیون براساس

تلفن هوشمند انجام شد که با استفاده از پرینتر سه بعدی طراحی و ساخته شده است. پلتفرم ساخته شده مجهز به دو لامپ LED Epileds (ساخت تایوان، 3/3 V، جریان حداکثر ۷۰۰ mA، طول موج ۴۲۰ nm) برای برانگیختگی حسگرها و یک فیلتر رنگی در محل قرارگیری دوربین تلفن هوشمند برای حذف نشر زمینه است. از تلفن هوشمند سامسونگ مدل J5 (سرعت شاتر ۱/۱۰، ISO1800، 8 MP) جهت عکس‌برداری، آنالیز تصاویر (با نرم‌افزار خودتوسعه یافته) و همچنین جهت تأمین جریان الکتریکی مورد نیاز برای روشن کردن لامپ‌های پلتفرم استفاده شد.

### استخراج کلروفیل

کلروفیل به‌وسیله استون از برگ‌های سبز گیاه اسفناج استخراج شد. ابتدا ۲۰ g برگ سبز گیاه اسفناج شسته شده و در آون در دمای ۶۰ °C به مدت ۲۴ h خشک شد. مواد خشک شده به صورت پودر ریز خرد و در هاون به همراه ۲۰۰ mL استون کوبیده شدند. سپس به یک ارلن مخروطی منتقل شده و به مدت ۳ h با یک همزن مغناطیسی با سرعت ۸۰۰ دور بر دقیقه همزده شدند. سوسپانسیون حاصل جهت ته‌نشینی بافت برگ و جداسازی کلروفیل استخراج شده به مدت ۱۵ min با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول فاز بالایی جهت اطمینان از عدم حضور باقی‌مانده بافت برگ در فاز استخراجی، با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد. محلول کلروفیل استخراجی در بطری شیشه‌ای قهوه‌ای رنگ و در یخچال نگهداری شد. کلروفیل استخراجی برای مدت بیش از یک سال پایدار است.

### ساخت حسگر نوری از طریق تثبیت کلروفیل در

#### نانوکاغذ سلولز باکتریایی

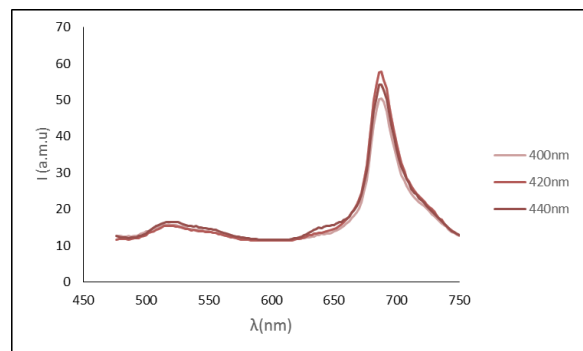
نانوکاغذهای سلولز باکتریایی بعد از شستشو در ابعاد ۱ cm × ۱ cm بریده و به مدت ۱ h در استون روی همزن با سرعت ۵۰۰ دور بر دقیقه همزده شدند تا آب موجود در ساختار آنها با استون جایگزین شود. سپس نانوکاغذهای باکتریایی با نسبت ۱ به ۳ درون عصاره استخراج شده کلروفیلی ضمن

گردید. با افزایش غلظت متیل‌پاراتیون و متعاقباً افزایش غلظت پارانیتروفنول، شدت فلورسانس نانوحسگرهای نانوکاغذی کلروفیلی کاهش و متعاقباً شدت رنگ میانگین نواحی آزمون کاهش می‌یابد. کاهش شدت رنگ میانگین نواحی آزمون حسگر کاغذی متیل‌پاراتیون که در واقع به علت خاموشی فلورسانسی کلروفیل با افزایش غلظت پارانیتروفنول است به عنوان علامت تجزیه‌ای جهت اندازه‌گیری متیل‌پاراتیون به کار رفت.

### نتایج و بحث

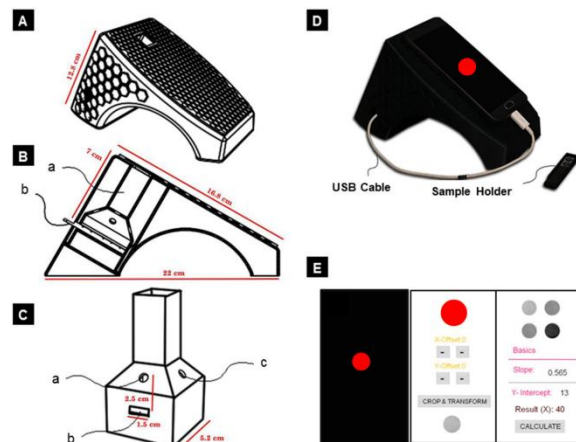
بررسی طول‌موج‌های نشر کلروفیل تثبیت شده در نانوکاغذ سلولز باکتریایی جهت انتخاب طول‌موج برانگیختگی مناسب و مکانیسم حسگری متیل‌پاراتیون

با توجه به طیف فلورسانس کلروفیل تثبیت شده در نانوکاغذ سلولز باکتریایی در طول‌موج‌های مختلف، طول موج برانگیختگی ۴۲۰ nm با شدیدترین نشر فلورسانس در طول موج ۶۸۰ nm به عنوان مناسب‌ترین طول‌موج در نظر گرفته شد (شکل ۴).



شکل ۴- طیف فلورسانس کلروفیل تثبیت شده در نانوکاغذ سلولز باکتریایی جهت انتخاب مناسب‌ترین طول‌موج برانگیختگی

مقدار نیتروفنول اندازه‌گیری شده با استفاده از معادلات رگرسیون طراحی شد (شکل ۳E).



شکل ۳- پلتفرم نوری طراحی شده: (A) نمای بیرونی، (B) نمای داخلی: (a) محفظه تاریک، (b) محل قرارگیری نمونه. (C) نمای از محفظه تاریک: (a) محل لامپ فرابنفش LED، (b) محل لامپ سفید LED، (c) محل قرارگیری نمونه. (D) شماتیکی از وسیله نوری طراحی شده بر پایه تلفن هوشمند. (E) تصاویر نرم‌افزار هوشمند توسعه یافته (از چپ به راست: تصویر گرفته شده از نمونه، پنجره پردازش تصویر، پنجره محاسبه و نتایج نهایی)

### روش کار اندازه‌گیری سم متیل‌پاراتیون

به منظور اندازه‌گیری غلظت متیل‌پاراتیون روش کار زیر استفاده شد. حجم‌های ۲ mL از محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف از متیل‌پاراتیون به طور جداگانه در pH=۱۰ ساخته شدند. سطوح آزمون ساخته شده در مراحل قبل، پس از غوطه‌وری درون محلول‌های سم متیل‌پاراتیون به مدت ۱ h مورد سنجش قرار گرفتند و نشر فلورسانس آنها با دستگاه اسپکتروفلوریمتر و پلتفرم نوری ساخته شده اندازه‌گیری شدند. در ادامه تصاویر ثبت شده از هر ناحیه آزمون با استفاده از نرم افزار (برنامه ی موبایل خود توسعه یافته)، مورد پردازش و آنالیز قرار گرفتند و شدت رنگ میانگین در حالت قرمز برای هر ناحیه آزمون به طور جداگانه محاسبه

## بررسی و بهینه‌سازی پارامترهای موثر بر اندازه‌گیری متیل‌پاراتیون

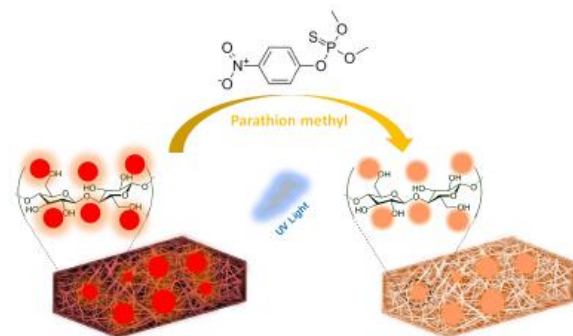
### بررسی اثر pH

اثر pH بر روی حسگری متیل‌پاراتیون در محدوده ۷-۱۲= مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج گزارش شده در نمودار ۱ و بررسی طیف نشری کلروفیل بیشترین مقدار نشردر pH=۱۰ به دست می‌آید. بنابراین با توجه به نتایج حاصل از بررسی طیف نشر متیل‌پاراتیون در pHهای ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، و با در نظر گرفتن ساختار حسگر طراحی شده و حساسیت کلروفیل وهمچنین با در نظر گرفتن pH در محیط‌زیست (آب چاه، رودخانه و ...)، pH=۱۰ به عنوان pH بهینه در اندازه‌گیری متیل‌پاراتیون در مطالعات پیشرو انتخاب شد.

### بررسی اثر زمان

شکل B ۶ بررسی طیف UV-vis متیل‌پاراتیون در محیط قلیایی در دقیقه اول هیدرولیز سم، پس از ۳۰ دقیقه، یک ساعت و یک شبانه‌روز را نشان می‌دهد. غلظت متیل‌پاراتیون در طول موج ۲۲۰nm با گذشت زمان به تدریج کاهش یافته و غلظت پارانیتروفنول در طول موج ۴۰۰nm به تدریج افزایش می‌یابد. این روند پس از گذشت ۲۴h تقریباً ثابت می‌شود و با توجه به طیف مورد بررسی مناسب‌ترین زمان پیشنهادی ۱h پس از هیدرولیز سم است.

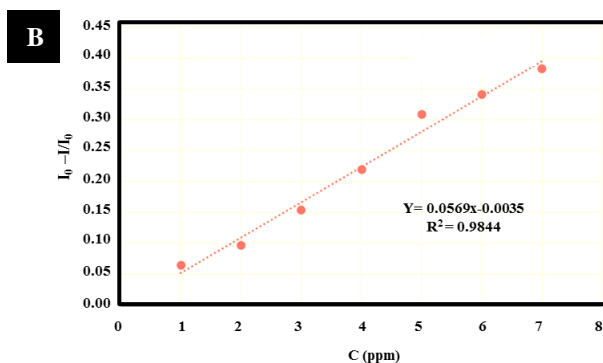
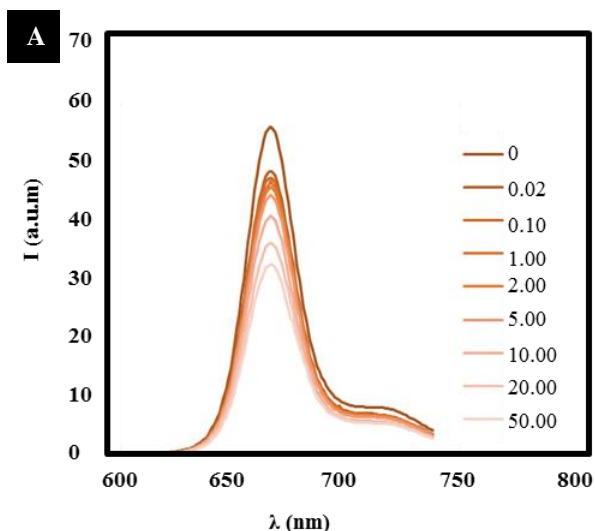
محلولهای متیل‌پاراتیون هیدرولیز شده در محیط قلیایی با غلظت‌های مشخص به نانوکاغذهای کلروفیلی افزوده شدند. هیدرولیز متیل‌پاراتیون منجر به تولید پارانیتروفنول به عنوان فرآورده واکنش می‌شود (شکل ۵). پارانیتروفنول به تنهایی در طول موج ۴۰۵nm جذب دارد و از آنجایی که نشر قوی کلروفیل در طول موج ۶۸۰nm به واسطه طول موج برانگیختگی در محدوده ۴۲۰nm است حضور متیل‌پاراتیون با جذب طول موج تابیده شده، باعث کاهش نشر کلروفیل در محدوده ۶۸۰nm می‌شود. این پدیده را "اثر فیلتر داخلی"<sup>۲</sup> می‌نامند. تغییر در شدت فلورسانس کلروفیل تثبیت شده در نانوکاغذ سلولز باکتریایی در حضور مقادیر مختلف متیل‌پاراتیون در ابتدا از طریق دستگاه فلوریمتر مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به بررسی‌های طیفی انجام شده، کاهش شدت فلورسانس کلروفیل تثبیت شده در نانوکاغذ سلولز باکتریایی با افزایش غلظت متیل‌پاراتیون به دلیل پدیده اثر فیلتر داخلی که به نوبه خود به دلیل همپوشانی طیف فلورسانس کلروفیل با طیف جذبی پارانیتروفنول که در اثر هیدرولیز قلیایی متیل‌پاراتیون تولید می‌شود به عنوان مکانیسم محتمل برای حسگری متیل‌پاراتیون پیشنهاد شد. طی بررسی‌های اولیه و پیش از بررسی خواص نوری حسگر متیل‌پاراتیون ساخته شده در محیط کاغذ مشاهده گردید که رنگ ذرات کلروفیل به تدریج با افزایش غلظت متیل‌پاراتیون کم‌رنگ می‌شود که این تغییر رنگ به راحتی به صورت چشمی قابل رؤیت است.



شکل ۵- مکانیسم اثر متیل‌پاراتیون بر روی نشر کلروفیل

<sup>2</sup> Inner filter effect

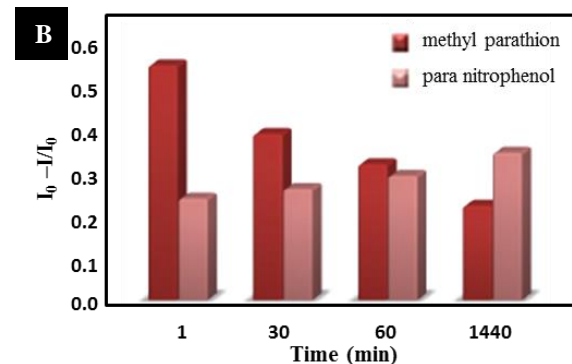
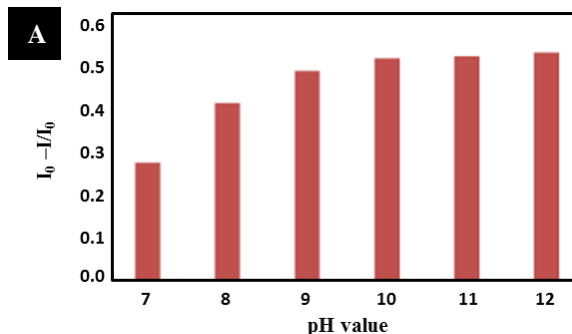
متیل‌پاراتیون برای ۱۰ بار اندازه‌گیری تکراری به ترتیب برابر با ۶٫۳۴٪ و ۲٫۲۷٪ به دست آمد.



شکل ۷- A) طیف نشر فلورسانس کلروفیل در حضور غلظت‌های مختلف از سم متیل‌پاراتیون. B) منحنی کالیبراسیون برای اندازه‌گیری متیل‌پاراتیون با استفاده از حسگر برپایه کلروفیل

### بررسی اثر گونه‌های مزاحم

به منظور ارزیابی گزینش‌پذیری روش، اثر مزاحمت احتمالی گونه‌های مختلف بر علامت تجزیه‌ای متیل‌پاراتیون در سیستم مخلوط دوتایی از گونه آنالیت و مزاحم تحت شرایط بهینه به دست آمده مورد بررسی واقع شد. به همین منظور تحت شرایط بهینه به محلول حاوی متیل‌پاراتیون، مقادیر متفاوتی از سایر سموم اورگانوفسفاته احتمالی مزاحم و یون‌های احتمالی مزاحم که ممکن است در نمونه‌های حقیقی



شکل ۶- A) بررسی فلورسانس کلروفیل در غلظت‌های یکسان ppm ۰٫۱ متیل‌پاراتیون در محدوده pH های ۷-۱۲. B) بررسی طیف جذب متیل‌پاراتیون و پارانیتروفنول در زمان‌های مختلف در غلظت ۵ ppm متیل‌پاراتیون در حین واکنش هیدرولیز: تغییرات غلظت متیل‌پاراتیون و پارانیتروفنول در دقیقه ابتدایی، ۳۰ دقیقه، ۶۰ دقیقه، ۱۴۴۰ دقیقه پس از شروع واکنش هیدرولیز

اندازه‌گیری متیل‌پاراتیون با استفاده از حسگر توسعه یافته

طیف فلورسانس کلروفیل در حضور غلظت‌های مختلف یون متیل‌پاراتیون در محیط محلول مورد بررسی قرار گرفت. تغییر رنگ و طیف نشر ذرات کلروفیل با افزایش غلظت متیل‌پاراتیون همراه با منحنی کالیبراسیون مربوط به آن در شکل ۷ آورده شده است. کلیه تصاویر و طیف‌های فلورسانس، ۱ h پس از افزودن متیل‌پاراتیون گرفته شده‌اند. حسگر پیشنهادی در محدوده‌ی غلظتی ۷-۱ ppm متیل‌پاراتیون با ضریب همبستگی ۰٫۹۹۲۲ و معادله  $\Delta A = 0.0569 C + 0.0035$  خطی بود جایی که  $\Delta A$  اختلاف شدت فلورسانس نسبت به شاهد و C غلظت متیل‌پاراتیون بر حسب ppm است. حدتشخیص برابر با ۰٫۱ ppm بود و انحراف استاندارد نسبی برای غلظت‌های ۱ ppm و ۵ ppm از

می‌نامند. تغییر در شدت فلورسانس کلروفیل تثبیت شده در نانوکاغذ سلولز باکتریایی در حضور مقادیر مختلف متیل-پاراتیون ابتدا از طریق دستگاه اسپکتروفلوریمتر مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به بررسی‌های طیفی انجام شده، کاهش شدت فلورسانس کلروفیل تثبیت شده در نانوکاغذ سلولز باکتریایی با افزایش غلظت متیل‌پاراتیون به دلیل پدیده "اثر فیلتر داخلی" که از همپوشانی طیف برانگیختگی نشر کلروفیل با طیف جذبی پارانیتروفنول که در اثر هیدرولیز قلیایی متیل‌پاراتیون تولید می‌شود به‌عنوان مکانیسم محتمل برای حسگری متیل‌پاراتیون پیشنهاد شد. کاهش شدت رنگ میانگین کلروفیل تثبیت شده در نانوکاغذ سلولز باکتریایی با افزایش غلظت متیل‌پاراتیون که با استفاده از وسیله نوری طراحی شده و فناوری گوشی هوشمند اندازه‌گیری و محاسبه شده است به‌عنوان علامت تجزیه‌ای جهت اندازه‌گیری این سم استفاده شد. حدتشخیص این حسگر نوری برای اندازه‌گیری سم متیل‌پاراتیون ppm ۰/۱ است. حسگر نوری طراحی شده به‌دلیل استفاده از کلروفیل و نانوکاغذ به‌عنوان مواد کاملاً طبیعی و استفاده از تجهیزات بسیار ساده جهت ساخت حسگر، روشی ارزان، دوستدار محیط‌زیست و با کاربری آسان برای اندازه‌گیری انتخابی متیل‌پاراتیون محسوب می‌شود.

## منابع

- [۱] مروتی، محسن؛ مهدوی، وحیده؛ حیدری، احمد؛ فرآورده، لیلا؛ حیدری علیزاده، بابک؛ نوربخش، رویا، باقی‌مانده آفت‌کش‌ها در محصولات کشاورزی، انتشارات جهاد کشاورزی (۱۳۹۷).
- [۲] سفیدکار، راضیه؛ مظلومی، سیدمحمد، مروری بر تاثیر انواع روش‌های فرآوری بر مقدار باقی‌مانده آفت‌کش‌ها در مواد غذایی گیاهی خام و فرآوری شده، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، (۶): ۲۲ تا ۲۴ (۱۳۹۳).
- [۳] جهرمی، خلیل طالبی؛ ترابی، سید احسان؛ اندازه‌گیری باقی‌مانده آفت‌کش‌ها در محصولات کشاورزی، انتشارات دانشگاه تهران (۱۳۹۷).

آب به همراه متیل‌پاراتیون حضور داشته باشند افزوده شد. هر گونه‌ای که موجب بروز خطای نسبی بزرگ‌تر یا برابر با  $\pm 5\%$  علامت تجزیه‌ای به‌دست آمده برای متیل‌پاراتیون به غلظت ۱ ppm شود به‌عنوان گونه مزاحم در نظر گرفته شد. همانگونه که در جدول ۱ نشان داده شده است تحت شرایط بهینه، حضور بیشتر گونه‌های شیمیایی موجود در نمونه‌های آبی حتی در غلظت‌های بالا، تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر علامت تجزیه‌ای حسگر کاغذی متیل‌پاراتیون ندارند بنابراین می‌توان حسگر کاغذی طراحی شده را به‌عنوان حسگری با انتخاب پذیری بالا برای متیل‌پاراتیون در نظر گرفت.

جدول ۱- بررسی اثر گونه‌های مزاحم

گونه مورد بررسی	غلظت گونه (ppm)
Chlorpyrifos	این سم در غلظت‌های بالای ۵ ppm مزاحمت ایجاد می‌کند.
Hg <sup>2+</sup>	جیوه در غلظت ۲ ppm مزاحمت ایجاد می‌کند.
Fe <sup>3+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup>	هیچ کدام از یون‌های نامبرده در اندازه‌گیری سم متیل‌پاراتیون در این روش مزاحمت ایجاد نمی‌کنند.

## بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق از کلروفیل تثبیت شده در نانوکاغذ سلولز باکتریایی به‌عنوان یک حسگر نوری ساده، ارزان و دوستدار محیط‌زیست در تلفیق با فناوری گوشی هوشمند برای اندازه‌گیری فلورسانسی متیل‌پاراتیون استفاده شده است. کلروفیل استخراجی از برگ اسفناج درون ساختار نانوکاغذ سلولز باکتریایی تثبیت شد. محلول متیل‌پاراتیون هیدرولیز شده در محیط قلیایی با غلظت‌های معین به‌بستر آزمون افزوده شد. هیدرولیز متیل‌پاراتیون منجر به تولید پارانیتروفنول به‌عنوان فرآورده واکنش می‌شود. پارانیتروفنول به‌تنهایی در طول موج ۴۰۵ nm جذب دارد و از آنجایی که نشر قوی کلروفیل در طول موج ۶۸۰ nm به واسطه طول موج برانگیختگی در محدوده ۴۲۰ nm است. حضور متیل‌پاراتیون با جذب طول موج تابیده شده، باعث کاهش نشر کلروفیل در محدوده ۶۸۰ nm می‌شود. این پدیده را "اثر فیلتر داخلی"



کشاورزی، دومین کنفرانس بین المللی پژوهش‌های نوین در علوم کشاورزی و محیط زیست (۱۳۹۴).

[12] Govindasamy M., Chen Sh. M., Mani V., Akilarasan M., Kogularasu S., Subramani B. Nanocomposites composed of layered molybdenum disulfide and graphene for highly sensitive amperometric determination of methyl parathion, *Microchim Acta*. **2017**, 184(3), 725-733.

[13] Roberto de Oliveira P., Kalinke C., Luiz Gogola J., Mangrich A.S., Marcolino Junior L.H., Bergamini M.F., The use of activated biochar for development of a sensitive electrochemical sensor for determination of methyl parathion, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. **2017**, 799, 602-608.

[14] Hou X., Liu X., Li Z., Zhang J., Du G., Ran X., Yang L. Electrochemical determination of methyl parathion based on pillar [5] arene@ AuNPs@ reduced graphene oxide hybrid nanomaterials, *New Journal of Chemistry*. **2019**, 43(33), 13048-13057.

[15] dos Santos Caetano K., da Rosa D. S., Pizzolato T. M., dos Santos P. A. M., Hinrichs R., Benvenuti E. V., Pereira Dias S.L., Arenas L.T, Costa T. M. HMWCNT/zirconia porous composite applied as electrochemical sensor for determination of methyl parathion, *Microporous and Mesoporous Materials*. **2020**, 309, 110583.

[16] Zhao H., Li B., Liu R., Chang Y., Wang H., Zhou L., Komarneni S. Ultrasonic-assisted preparation of halloysite nanotubes/zirconia/carbon black nanocomposite for the highly sensitive determination of methyl parathion, *Materials Science and Engineering: C*. **2021**, 123, 111982.

[17] Oliveira M. C., Caetano F. R., Papi M. A., Watanabe E. Y., Marcolino-Júnior L. H., Bergamini M. F. Chemical wet oxidation of carbon nanotubes for electrochemical determination of methyl parathion, *Journal of Analytical Chemistry*. **2020**, 75(1), 119-126.

[18] Yao J., Liu Z., Jin M., Zou Y., Chen J., Xie P., Wang X., Metin Akinogluc E., Zhou G., Shui, L. Uniform honeycomb CNT-microparticles prepared via droplet-microfluidics and sacrificial nanoparticles for electrochemical determination

[4] Patsias J, Papadopoulou-Mourkidou EJ. Rapid method for the analysis of a variety of chemical classes of pesticides in surface and ground waters by off-line solid-phase extraction and gas chromatography-ion trap mass spectrometry, *Journal of Chromatography*. **1996**, 740, 83-98.

[5] Costa A.I., Queiroz M.E., Neves A.A., de Sousa F.A., Zambolim L. Determination of pesticides in lettuce using solid-liquid extraction with low temperature partitioning, *Food Chemistry*. **2015**, 181, 64-71.

[6] da Silva D.F., Paiva Silva F.E., Silva F.G.S., Nunes G.S., Badea M., Direct determination of methyl parathion insecticide in rice samples by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry, *Pest management science*. **2015**, 71(11), 1497-1502.

[7] Papadopoulou-Mourkidou E, Patsias JJ. Development of asemi-automated high-performance liquid chromatographicdiode array detection system for screening pesticides at trace levels in aquatic systems of the Axios River basin, *Journal of Chromatography*. **1996**, 726, 99-113.

[8] Seebunrueng K., Santaladchaiyakit Y., Srijaranai S. Vortex-assisted low density solvent based demulsified dispersive liquid-liquid microextraction and high-performance liquid chromatography for the determination of organophosphorus pesticides in water samples, *Chemosphere*. **2014**, 103, 51-58 (2014).

[9] G. Peng, Q. He, D. Mmerekki, G. Zhou, W. Pan, L. Gu, L. Fan, X. Tang, J. Chen, Y. Mao, Vortex-assisted liquid-liquid microextraction using a low-toxicity solvent for the determination of five organophosphorus pesticides in water samples by high-performance liquid chromatography, *Journal of separation science*. **2015**, 38(20), 3487-3493.

[۱۰] اسکندری، وحید؛ شریفی، نفیسه، آشکارسازی آسان و سریع آفتکش متیل پاراتیون به‌وسیله بسترهای انعطاف پذیر پلاسمونیک، لیزر در پزشکی، (۱) ۱۷: ۱۰ تا ۱۷ (۱۳۹۹).

[۱۱] تسلیسمیان، مریم؛ اسماعیل زاده کناری، رضا؛ روش های تعیین باقی‌مانده سموم آفتکش ها در محصولات

smartphone fluorimetric multi-sensing of sweat biomarkers, *Biosensors and Bioelectronics*. **2020**, 168,112450.

of methyl parathion, *Sensors and Actuators B: Chemical*. **2020**, 321, 128517.

[19] Fahimi-Kashani N., Hormozi-Nezhad M. R. A smart-phone based ratiometric nanoprobe for label-free detection of methyl parathion, *Sensors and Actuators B: Chemical*. **2020**, 322, 128580.

[20] Wang X., Yang Y., Dong J., Bei F., Ai S. Lanthanum-functionalized gold nanoparticles for coordination-bonding recognition and colorimetric detection of methyl parathion with high sensitivity, *Sensors and Actuators B: Chemical*. **2014**, 204, 119-124.

[21] Mendoza N., Silva E. M. E. Introduction to phytochemicals: secondary metabolites from plants with active principles for pharmacological importance, *Phytochemicals: source of antioxidants and role in disease prevention*. **2018**, 25.

[22] Ran C., Xu X., Raymond S. B., Ferrara B. J., Neal K., Bacskai B. J., Medarova Z., Moore A., Design, synthesis and testing of difluoroboron-derivatized curcumins as near-infrared probes for in vivo detection of amyloid- $\beta$  deposits, *Journal of the American Chemical Society*. **2009**, 131 (42), 15257-15261.

[23] Vernon L.P., Seely G.R., The chlorophyll, *Academic Press*. **1966**.

[24] Grimm B., Porra R., Rudiger W., Scheer H., Chlorophylls and bacteriochlorophylls: biochemistry, biophysics, functions and applications, *springer publication* (**2006**).

[25] Gross J., Pigments in vegetables: chlorophylls and carotenoids, *Springer publication*. **1991**.

[۲۶] جدی، مریم؛ ربانی، محبوبه؛ مصباح، عبدالوحد؛ سنتز و مطالعه ترکیبی جدید از نانوذرات فریتروی با پوشش کلروفیل و کاربرد آنها به عنوان فتوکاتالیست جهت حذف متیلن‌بلو، نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران، ۶: ۶۹ تا ۸۰ (۱۴۰۰).

[27] Yousefi H., Faezipour M., Hedjazi Z., Mousavi M.M., Azusa Y., Heidari A. H. *Ind. Crops Prod.* **2013**, 43, 732-737.

[28] Ardalan S., Hosseinifard M., Vosough M., Golmohammadi H. Towards smart personalized perspiration analysis: An IoT-integrated cellulose-based microfluidic wearable patch for