

Developing a sensitive and selective method for determination of tetra-butyl benzoquinone in edible oils

Pourmadadkar, H.¹, Nasirizadeh, N.^{2*}, Jafari, S.³, Dehghani, M.⁴

1. M.Sc Graduate in Polymer Engineering, Department of Textile and Polymer Engineering, Islamic Azad University of Yazd, Yazd, Iran
2. Associate professor, Department of Textile and Polymer Engineering, Islamic Azad University of Yazd, Yazd, Iran
3. M.Sc Graduate of Polymer Engineering, Department of Textile and Polymer Engineering, Islamic Azad University of Yazd, Yazd, Iran
4. Ph.D Student in Textile, Young researches and Elite Club, Islamic Azad University of Yazd, Yazd, Iran

*Corresponding Author: Nasirizadeh@iauyazd.ac.ir

(Received: 2018/4/26 Accepted :2019/5/22)

Abstract

The presence of trace amount of Tetra -butyl hydroquinone or its metabolite, Tetra -butyl benzoquinone (TBQ), may inhibit cell proliferation and cause biologic abnormalities due to the high prevalence of thiolate groups of proteins or cell walls. The aim of this study was to fabrication an electrochemical nanosensor based on the molecularly imprinted polymer to detection of TBQ in edible oil. This study is a methodological study. The statistical population included edible oil samples containing TBQ. The effect of different factors such as amount of MIP and MWCNT for production of ceramic carbon electrodes as well as pH of pre-concentration solution and the incubation time of the prepared nanosensor in the solution on the oxidation signal of TBQ was optimized by response surface methodology. Differential pulse voltammetry has been used to determine the TBQ in oil samples. The Morphologies of MIP and prepared sensors were described by scanning electron microscopy. Optimal conditions for the separation and determination of TBQ in edible oil, including 10 mg of multiwall carbon nanotube, 30 mg of MIP for preparing a modified carbon ceramic electrode, and 8 minutes as incubation time in a 0.1 M phosphate buffer solution with pH 10 was obtained. The proposed method is capable of detecting TBQ in edible oil samples at a concentration range of 6 - 680 nM with a detection limit of 3.1 nM. Based on the results, the proposed sensor can be used as a suitable tool for the determination of TBQ in edible oil samples in industries and laboratories.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Tetra- butyl benzoquinone, Edible oil, Molecular Imprinted Polymer, Carbon Ceramic Electrode

«مقاله پژوهشی»

DOI: 10.30495/JFH.2019.665675

ارائه روشی حساس و گزینش پذیر برای اندازه گیری تترابوتیل بنزوکینون در روغن های خوراکی

هستی پورمددکار^۱، نوید نصیری زاده^{۲*}، سعید جعفری^۳، محمد دهقانی^۴

۱. کارشناسی ارشد مهندسی پلیمر، دانشکده مهندسی نساجی و پلیمر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد یزد، یزد، ایران

۲. دانشیار گروه پلیمر، دانشکده مهندسی نساجی و پلیمر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد یزد، یزد، ایران

۳. دانش آموخته کارشناسی ارشد مهندسی پلیمر، دانشکده مهندسی نساجی و پلیمر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد یزد، یزد، ایران

۴. دانشجوی دکترا نساجی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد یزد، یزد، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: nasirizadeh@iauyazd.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۷/۶/۱۷ پذیرش نهایی: ۹۸/۳/۱)

چکیده

حضور مقادیر کم ترشری بوتیل هیدروکینون یا محصول متابولیتی آن، تترابوتیل بنزوکینون (TBQ)، به دلیل تمایل زیاد به گروه های تیولدار پروتئین ها یا دیواره سلول ها ممکن است مانع تکثیر سلولی و بروز ناهنجاری های بیولوژیک شوند. هدف از این پژوهش ساخت یک نانوحسگر الکتروشیمیایی بر پایه پلیمر قالب مولکولی برای شناسایی TBQ در نمونه های روغن خوراکی می باشد. این مطالعه از نوع متدولوژیک بوده و جامعه آماری شامل نمونه های روغن خوراکی حاوی TBQ است. تأثیر عوامل مختلف نظیر مقدار پلیمر قالب مولکولی و نانولوله های کربنی در ساخت الکتروود کربن سرامیکی اصلاح شده و هم چنین pH محلول پیش تغلیظ و زمان اقامت نانوحسگر تهیه شده در محلول پیش تغلیظ بر میزان جریان حاصل از اکسایش TBQ بر اساس روش سطح پاسخ بهینه سازی شد. برای تعیین مقدار TBQ موجود در نمونه های روغن از روش ولتامتری پالس تفاضلی استفاده شده است. مورفولوژی پلیمرهای قالب مولکولی و حسگر تهیه شده با میکروسکوپ الکترونی روبشی تشریح شد. شرایط بهینه برای جداسازی و اندازه گیری TBQ در روغن خوراکی شامل ۱۰ میلی گرم نانولوله کربنی چند دیواره، ۳۰ میلی گرم پلیمر قالب مولکولی برای تهیه الکتروود کربن سرامیکی اصلاح شده به عنوان نانوحسگر و مدت زمان ۸ دقیقه در محلول حاوی بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH=۱۰/۰ حاصل گردید. روش پیشنهادی قادر به شناسایی TBQ در نمونه های روغن در محدوده غلظتی ۶-۶۸۰ نانومولار با حد تشخیص ۳/۱ نانومولار می باشد. بر اساس نتایج به دست آمده، روش پیشنهادی مبتنی بر حسگر تهیه شده می تواند به عنوان ابزاری مناسب جهت اندازه گیری TBQ در نمونه های روغن خوراکی در صنایع و آزمایشگاه های تخصصی به کار برده شود.

واژه های کلیدی: ترشری بوتیل بنزوکینون، روغن خوراکی، پلیمر قالب مولکولی، الکتروود کربن سرامیکی

مقدمه

امروزه مشغله فراوان افراد و رویکرد جامعه نسبت به مصرف چربی به‌ویژه سرخ‌کردنی‌ها موجب شده تا مصرف روغن‌های خوراکی بیش از حد افزایش یابد. در طول سرخ کردن عمیق مجموعه‌ای از واکنش‌ها مانند هیدرولیز، اکسیداسیون، پلیمریزاسیون و ایزومریزاسیون اتفاق می‌افتد که منجر به تشکیل ترکیبات مؤثر بر ویژگی‌های حسی، کاربردی و تغذیه‌ای روغن سرخ‌کردنی می‌گردد (Azadmard-Damirchi and Torbati, 2015). در تولید روغن‌های خوراکی معمولاً آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی استفاده می‌شود تا در طی سرخ کردن و نگهداری تغییرات نامطلوب کاهش یافته و ماندگاری محصول سرخ شده افزایش یابد. ترکیبات فنولی به‌ویژه خانواده کینون‌ها (تترابوتیل هیدروکینون (TBHQ)، بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA) و تترابوتیل بنزوکینون (TBQ) از جمله آنتی‌اکسیدان‌های پرکاربرد در تولید روغن‌های گیاهی و حیوانی هستند (Dorni et al., 2018). مصرف بیش از اندازه این ترکیبات یا تجمع مقادیر بالای آن‌ها در بدن می‌تواند اثرات مضر بر سلامتی انسان داشته باشد (Aluyor et al., 2009). TBHQ یا محصول متابولیتی آن TBQ، به دلیل تمایل زیاد به گروه‌های تیول دار ممکن است به گروه‌های سیستم پروتئین‌ها یا دیواره سلول‌ها برهم کنش داشته و مانع تکثیر سلولی شوند (Silva and Lidon, 2016). حتی برخی از پژوهشگران ادعا داشته‌اند این ترکیبات ممکن است با رشته‌های DNA برهم کنش داشته و حالت ایده‌آل مارپیچی آن‌ها را تغییر دهند (Elshafie et al., 2012). با توجه به اثرات سمی و سرطان‌زایی آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی روی سلامتی

انسان، در سال‌های اخیر توجه محققان به سوی روش‌های شناسایی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مضر معطوف شده است (Pan et al., 2014). لذا با توجه به نکات ذکر شده تاکنون روش‌هایی از قبیل اسپکتروفتومتر جذبی (Espinosa-Mansilla et al., 1996)، کروماتوگرافی گازی (Ding and Zou, 2012) و کروماتوگرافی با عملکرد بالا (Li et al., 2015) و الکتروشیمی (Tormin et al., 2012; Thomas et al., 2014; Goulart et al., 2015) برای اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌ها به کار برده شده‌اند. در این بین، روش الکتروشیمی مبتنی بر الکترودهای اصلاح شده به‌عنوان روش‌های حساس و گزینش‌پذیر به‌طور گسترده در تجزیه‌های زیست‌محیطی مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

روش‌های الکتروشیمیایی یکی از روش‌های سریع، مؤثر و کارآمد برای شناسایی ترکیبات آلی و بیولوژیکی می‌باشد (Hajisafari and Nasirizadeh, 2017). در روش‌های الکتروشیمیایی با اصلاح ساختاری یا شیمیایی الکترودها می‌توان دقت، صحت، حساسیت و گزینش‌پذیری حسگر را نسبت به یک ماده خاص بهبود بخشید (Aghaei et al., 2017; Aghili et al., 2017). پلیمرهای قالب مولکولی (Molecular Imprinted Polymers, MIP)، ماتریسی پلیمری حاوی جایگاه‌های اختصاصی مولکول الگو هستند، این نوع پلیمرها به‌روش توده‌ای در حضور مولکول الگو تشکیل می‌شوند و پس از استخراج مولکول الگو به کمک حلال جایگاه‌های اختصاصی در بطن پلیمر ایجاد می‌شوند (Selvolini and Marrazza, 2017). این نوع پلیمرها دارای پایداری حرارتی، شیمیایی و مکانیکی عالی هستند و هم‌چنین مانند سیستم‌های بیولوژیکی توانایی

NanoLab USA) و گرافیت می‌باشند. این کامپوزیت به‌روش سل ژل تهیه شده است (Jafari *et al.*, 2017). در ابتدا محلولی حاوی متانول و آب به نسبت ۱:۹ تهیه شده، به این مخلوط ۱۲۰ میکرولیتر پتاسیم تری‌متوکسی سیلان اضافه شد. پس از تنظیم pH محلول در ۴/۰، به مدت ۹۰ دقیقه بر روی هم‌زن مغناطیسی قرار داده شد تا شبکه پلیمری از سیلان در محلول حاصل گردد. برای تهیه کامپوزیت کربن‌سرامیکی چندین قطره از این محلول به مخلوط پلیمر قالب مولکولی، نانولوله کربنی و گرافیت اضافه شده است.

- بهینه‌سازی شرایط تهیه حسگر

تأثیر عوامل مختلف نظیر میزان نانولوله‌های کربنی چنددیواره (MWCNT) و پلیمر قالب مولکولی (MIP) در فرآیند ساخت الکتروود، هم‌چنین pH محلول و زمان اقامت الکتروود تهیه شده در محلول پیش‌تغلیظ بر میزان جریان حاصل از اکسایش TBQ به‌روش سطح پاسخ بهینه‌سازی شدند. براین اساس این روش ۳۰ آزمون توسط نرم‌افزار Design Expert 8.0.5 طراحی شد، در واقع با استفاده از این روش آماری تأثیر هم‌زمان ۴ مشخصه یاد شده بر میزان جریان TBQ مورد مطالعه قرار گرفت.

- اندازه‌گیری TBQ

در شرایط بهینه، الکتروودهای تهیه شده حاوی ۱۰ میلی‌گرم نانولوله کربنی چند دیواره و ۳۰ میلی‌گرم پلیمر قالب مولکولی، در محلول بافر با pH=۱۰ حاوی ۲/۰ میلی‌مولار TBQ در زمان ۸ دقیقه قرار گرفته و پس از شستشو با مخلوط آب/اتانول (۵۰/۵۰)، کارایی الکتروود جهت اندازه‌گیری TBQ با کمک روش

تطابق با ویژگی‌های مولکول‌های موردنظر را دارند (Dechtrirat *et al.*, 2018). هدف از این پژوهش ساخت یک حسگر الکتروشیمیایی برپایه پلیمرهای قالب مولکولی برای شناسایی TBQ می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- آماده‌سازی پلیمر قالب مولکولی و حسگر الکتروشیمیایی

در این پژوهش برای تهیه پلیمر قالب مولکولی، مقدار مشخصی از متاکرلیک اسید (مونومر، Sigma Aldrich)، کلروفرم (حلال، Merck) و TBQ (مولکول الگو، Merck) به نسبت ۳/۰:۴۰:۱ حجمی - حجمی به مدت ۱۰ دقیقه داخل بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰ میلی‌لیتر اتیلن‌گلایکول دی‌متاکریلات (عامل شبکه‌ای‌کننده، سیگما آلدریچ) مخلوط شده و ۵/۰ میلی‌گرم ۲-۲-آزوبیس-۲-متیل‌پروپیل‌نیتریل (-2-Azobis-2,2-methylpropionitrile, آغازگر، Merck) به این مخلوط اضافه گردید. بالن در حمام آب گرم با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت به‌منظور انجام فرآیند پلیمری قرار گرفت. در ادامه پلیمر حاصل، از بالن خارج شده و به‌منظور خشک شدن به یک آون با دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت منتقل شد. پلیمر حاصل به کمک یک هاون از جنس عقیق به شکل پودر درآورده شده و سپس به‌وسیله حلال طی فرآیندی در طی مدت ۴۸ ساعت TBQ از پلیمر خارج گردید. حسگر پیشنهادی شامل الکتروودهای کامپوزیت کربن‌سرامیکی حاوی مقادیر مختلف پلیمر قالب مولکولی، نانولوله کربنی چند دیواره (تقویت‌کننده جریان،

یافته‌ها

- تأثیر همزمان عوامل مختلف بر عملکرد حسگر

الکتروشیمیایی در شناسایی TBQ

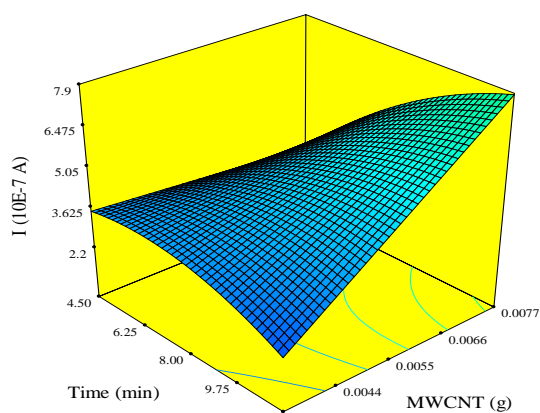
جهت بهینه‌سازی شرایط تهیه حسگر الکتروشیمیایی کربن سرامیکی بر پایه پلیمر قالب مولکولی به واسطه اعمال متغیرهای غیروابسته، نمودارهای سطح پاسخ رسم شدند، که در نمودار (۱) نمایش داده شده است. در نمودار (الف) ملاحظه می‌گردد که با افزایش مقدار MIP از ۰/۰۰۹ تا ۰/۰۱ گرم میزان جریان اکسایش TBQ تجمع یافته در سطح الکتروود اصلاح شده نیز برحسب میکروآمپر افزایش می‌یابد و در ادامه با افزایش بیش از این، مقدار جریان اکسایش کاهش خواهد یافت. علاوه بر آن، در شرایطی که pH محلول پیش تغلیظ از ۴ به ۶ افزایش می‌یابد میزان جریان اکسایش TBQ کاهش یافته و با افزایش pH محلول در دامنه ۶ تا ۸، میزان جریان اکسایش TBQ تجمع یافته در سطح الکتروود اصلاح شده مشاهده افزایش می‌یابد. نتایج بررسی اثر متغیرهای زمان فرآیند پیش تغلیظ و میزان نانولوله‌های کربنی چند دیواره بر جریان اکسایش TBQ در نمودار (۱-ب) نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل ملاحظه می‌گردد با افزایش مقدار نانولوله‌های کربنی چند دیواره، جریان پیک اکسایش TBQ از ۱/۰ میکروآمپر به ۷/۹ میکروآمپر افزایش می‌یابد. از سوی دیگر با افزایش مدت زمان اقامت الکتروود کربن سرامیکی تهیه شده در محلول پیش تغلیظ از ۴/۵ دقیقه تا ۸ دقیقه، جریان اکسایش TBQ افزایش یافته و هرچه مدت اقامت الکتروود در محلول پیش تغلیظ از ۸ دقیقه طولانی‌تر شود، جریان اکسایش TBQ افزایش نخواهد یافت.

ولتامتری پالس تفاضلی در بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷) بررسی گردید.

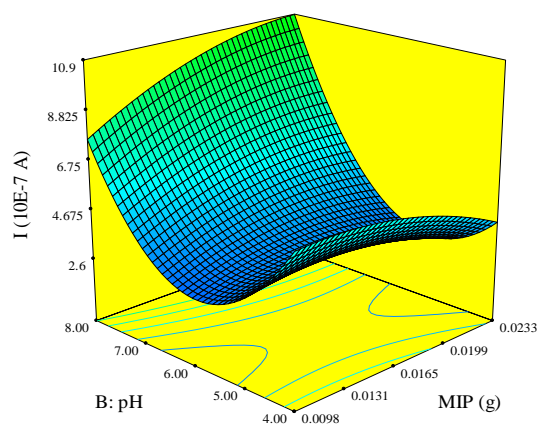
به منظور اندازه‌گیری TBQ در نمونه‌های حقیقی که شامل روغن ذرت، روغن کنجد و روغن آفتابگردان بود. نمونه‌های روغن با محلول بافر با pH=۱۰ رقیق (نسبت حجمی ۲:۱) گردید. سپس حسگر آماده شده به مدت ۸ دقیقه در محلول روغن رقیق شده غوطه‌ور گردید، در نهایت پس از شستشو با مخلوط آب/اتانول (۵۰/۵۰)، میزان TBQ موجود در نمونه روغن به روش ولتامتری پالس تفاضلی در بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷) تعیین گردید. علاوه بر آن، جهت تأیید بیشتر روش پیشنهادی در اندازه‌گیری TBQ، محلول‌های استاندارد از TBQ تهیه و در حجم‌های میکرولیتری به نمونه روغن‌های خوراکی افزوده شده و مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

- تجهیزات

اندازه‌گیری‌های الکتروشیمیایی با استفاده از دستگاه گالوانواستات/پتانسیواستات مدل PGSTAT30 μ Autolab ساخت شرکت AutoLab هلند و نرم‌افزار v 4.9 GPES انجام شده‌اند. تجزیه‌های الکتروشیمیایی در یک سیستم سه الکتروود شامل الکتروود کربن سرامیکی اصلاح شده با پلیمر قالب مولکولی TBQ به عنوان الکتروود کار، یک الکتروود پلاتین به عنوان الکتروود کمکی و یک الکتروود کالومل اشباع ساخت شرکت آذر الکتروود ارومیه ایران به عنوان الکتروود مرجع انجام شده‌اند.



ب



الف

نمودار (۱) - نمودار سطح پاسخ تأثیر هم‌زمان الف) مقدار پلیمر قالب مولکولی و pH محلول (در شرایط ثابت بودن نانولوله کربنی و زمان، ۰/۰۰۴ گرم و ۹ دقیقه)

ب) نانولوله کربنی چنددیواره و مدت زمان قرارگیری الکتروود کربن سرامیکی در محلول پیش تغلیظ ترشری بوتیل بنزوکینون (در شرایط ثابت در نظر گرفتن pH=۴ و ۰/۰۲۰۹ گرم پلیمر قالب مولکولی) بر جریان حاصل از اکسایش ترشری بوتیل بنزوکینون.

کنش مقدار نانولوله کربنی چند دیواره و پلیمر قالب مولکولی تأثیر معناداری بر میزان جریان اکسایش TBQ دارد. مدل ارائه شده بر اساس میزان عدم برازش محاسبه شده ۲/۴۵ رضایت‌مند و کارآمد می‌باشد و می‌توان از این مدل برای پیش‌بینی میزان جریان پیک اکسایش TBQ استفاده کرد.

-آنالیز واریانس داده‌ها

در جدول (۱) آنالیز واریانس نتایج جریان حاصل از اکسایش TBQ و اثر متغیرهای pH محلول و زمان فرآیند پیش تغلیظ TBQ، همچنین مقدار پلیمرهای قالب مولکولی و نانولوله کربنی چند دیواره در ساخت الکتروود کربن سرامیکی نشان داده شده است. طبق مدل ارائه شده در این جدول متغیرهای زمان فرآیند پیش تغلیظ، pH محلول، مقدار پلیمر قالب مولکولی و برهم

جدول (۱) - نتایج آنالیز واریانس مربوط به تأثیر عوامل مختلف بر میزان جریان حاصل از اکسایش ترشری بوتیل بنزوکینون

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار F	احتمال مقدار p-> F	معنادار
مدل	۸۵۲	۱۲	۷۱/۰۴	۲۸/۲۲	<۰/۰۰۰۱	معنادار
A پلیمر قالب مولکولی	۷/۶۳	۱	۷/۶۳	۲/۹۲	۰/۱۰۵۴	
B-pH	۱/۱۸	۱	۱/۱۸	۰/۴۷	۰/۵۰۱۹	
C- زمان	۱/۷۱	۱	۱/۷۱	۰/۶۸۲	۰/۴۲	
D - نانولوله کربنی چند دیواره	۱۴/۲۷	۱	۱۴/۲۷	۵/۶۷	۰/۰۲۹	
AB	۲۶/۴۱	۱	۲۶/۴۱	۱۰/۴۹	۰/۰۰۰۴	
AC	۱۵/۳۴	۱	۱۵/۳۴	۶/۰۹۵	۰/۰۲۴۵	
AD	۱۴/۰۷	۱	۱۴/۰۷	۵/۵۹۲	۰/۰۳۰۲	
BD	۱۶۹/۵۶	۱	۱۶۹/۵۶	۶۷/۳۷	<۰/۰۰۰۱	
CD	۳۸/۰۴۷	۱	۳۸/۰۴۷	۱۵/۱۱۶	۰/۰۰۱۲	
A ²	۱۳/۲۵۱	۱	۱۳/۲۵۱	۵/۲۶۵	۰/۰۳۴۸	
B ²	۴۹۰/۶۷	۱	۴۹۰/۶۷	۱۹۴/۹۵	<۰/۰۰۰۱	
C ²	۱۲/۴۵۵	۱	۱۲/۴۵۵	۴/۹۴۸	۰/۰۳۹۹	
باقی مانده	۴۲/۷۸۷	۱۷	۲/۵۱۶			
عدم برازش	۲۹/۳۴۵	۱۲	۲/۴۴۶	۰/۹۱۰	۰/۵۸۹	بدون معنا
خطای مطلق	۱۳/۴۳۲	۵	۲/۶۸۶			
Cor Total	۸۹۵/۲۷۲	۲۹				

که در نمودار (۲ الف) نشان داده شده‌اند. نمودار a (۲ الف) ولتاموگرام پالس تفاضلی الکتروکربن سرامیک، نمودار b ولتاموگرام پالس تفاضلی الکتروکربن سرامیک اصلاح شده با نانولوله کربنی چند دیواره و نمودار c ولتاموگرام پالس تفاضلی الکتروکربن سرامیک اصلاح شده با نانولوله کربنی تک دیواره را نشان می‌دهد. در این نمودارها به‌طور واضح مشخص است که الکتروکربن سرامیک و کربن سرامیک اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی چند دیواره و تک دیواره توانایی جذب TBQ را ندارد.

نمودار d (۲-الف) نشان دهنده ولتاموگرام پالس تفاضلی الکتروکربن سرامیک اصلاح شده با پلیمر قالب

- مقایسه الکترودهای اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی چند دیواره، نانولوله‌های کربنی تک دیواره و پلیمر قالب مولکولی

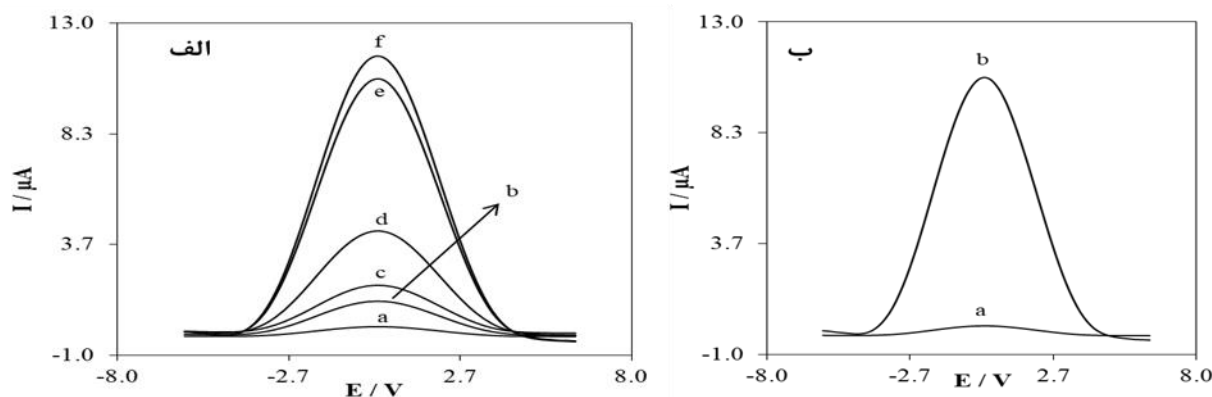
اثر بخشی افزودن پلیمر قالب مولکولی TBQ به الکتروکربن سرامیک اصلاح شده با مواد مختلف بر اساس شرایط بهینه در اندازه‌گیری TBQ با روش ولتامتری پالس تفاضلی بررسی شد. هر یک از الکترودها به مدت ۸ دقیقه در محلول ۲ میلی‌مولار TBQ به‌منظور پیش تغلیظ TBQ قرار گرفت. پس از پایان زمان یاد شده الکتروکربن با محلول آب - اتانول (۵۰/۵۰) شستشو داده شد. سپس ولتاموگرام پالس تفاضلی الکترودها به‌عنوان الکتروکربن در محلول بافر فسفات در pH=۷ رسم شد،

محلول بافر با $\text{pH}=10$ قرار گرفت و سپس از محلول خارج شده و با محلول آب - اتانول (۵۰/۵۰) شستشو داده شد.

سپس ولتاموگرام پالس تفاضلی الکتروود حاضر به عنوان الکتروود کار در سیستم سه الکتروودی در محلول بافر در $\text{pH}=7$ رسم گردید، که نمودار a (۲ب) نشان دهنده آن می باشد. در مرحله بعد، الکتروود کربن سرامیک اصلاح شده با نانولوله های کربنی چند دیواره و پلیمر قالب مولکولی در محلول ۲/۰ میلی مولار TBQ به مدت ۸ دقیقه در محلول بافر در $\text{pH}=10$ قرار داده شد، پس از فرآیند پیش تغلیظ TBQ، الکتروود با محلول آب- اتانول شسته شد. سپس ولتاموگرام پالس تفاضلی الکتروود حاضر به عنوان الکتروود کار در سیستم سه الکتروودی در محلول بافر در $\text{pH}=7$ رسم شد که نمودار b (۲ب) نشان دهنده نمودار پالس تفاضلی آن می باشد.

مولکولی است. حضور پیک اکسایشی در این نمودار نشان دهنده توانایی جذب TBQ توسط پلیمر قالب مولکولی درون الکتروود می باشد. در نمودار e و f ولتاموگرام پالس تفاضلی الکتروود کربن سرامیک اصلاح شده با پلیمر قالب مولکولی و نانولوله کربنی چند دیواره و تک دیواره رسم شده است. در این شکل به وضوح می توان دید که پیک اکسایش TBQ در مقایسه با نمودار d به دلیل افزودن نانولوله های کربنی چند دیواره و تک دیواره تقویت شده است.

به منظور بررسی عملکرد الکتروود کربن سرامیک اصلاح شده با نانولوله کربنی چند دیواره و پلیمر قالب مولکولی در جداسازی و اندازه گیری TBQ از محلول حاوی TBQ، آزمایشی بر اساس شرایط بهینه طراحی شد. الکتروود کربن سرامیک اصلاح شده با نانولوله کربنی چند دیواره و پلیمر قالب مولکولی به مدت ۸ دقیقه در

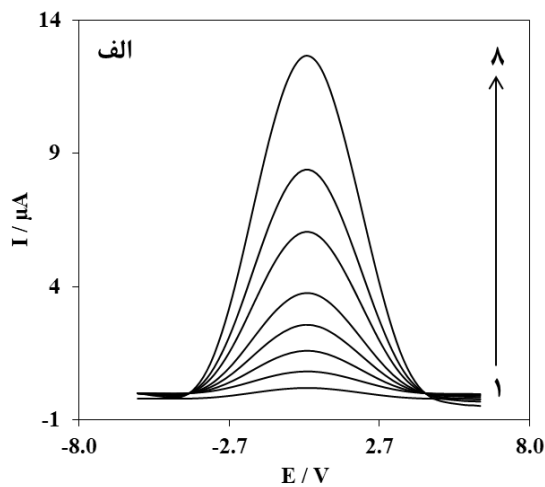


نمودار (۲-الف) ولتاموگرام پالس تفاضلی الکتروودهای: a) کربن سرامیک، b) کربن سرامیک اصلاح شده با نانولوله کربنی چند دیواره، c) کربن سرامیک اصلاح شده با نانولوله کربنی تک دیواره d) کربن سرامیک اصلاح شده با پلیمر قالب مولکولی e) کربن سرامیک اصلاح شده با پلیمر قالب مولکولی و نانولوله کربنی چند دیواره و f) کربن سرامیک اصلاح شده با پلیمر قالب مولکولی و نانولوله کربنی تک دیواره (پس از قرارگیری در محلول پیش تغلیظ بافر فسفات با $\text{pH}=10$ و حاوی ۲ میلی مولار ترشری بوتیل بنزوکینون مدت زمان قرارگیری الکتروود در محلول پیش تغلیظ ۸ دقیقه) b) اصلاح شده با پلیمر قالب مولکولی و نانولوله کربنی چند دیواره، (پس از قرارگیری در محلول پیش تغلیظ بافر فسفات با $\text{pH}=10$ مدت زمان قرارگیری الکتروود در محلول پیش تغلیظ ۸ دقیقه)، در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار در $\text{pH}=7$ ، a) در غیاب ترشری بوتیل بنزوکینون و b) در حضور ۲ میلی مولار ترشری بوتیل بنزوکینون.

خطی می‌باشند که این امر بیان‌گر مناسب بودن الکتروود اصلاح شده در سنجش TBQ در این محدوده غلظتی می‌باشد. به منظور محاسبه حد تشخیص سنجش TBQ بر روی الکتروود کربن سرامیک اصلاح شده با پلیمر قالب مولکولی و نانو لوله‌های کربنی چند دیواره از رابطه (۱) استفاده شد:

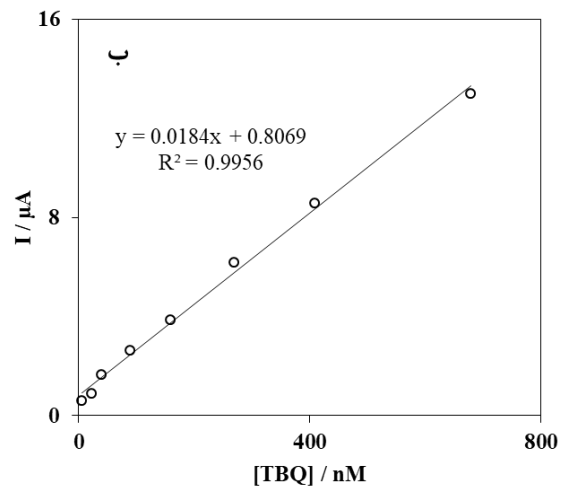
$$D.L = 3S_{bl}/m \quad (1)$$

برای محاسبه S_{bl} ده ولتاموگرام تکراری در محلول بدون TBQ رسم شد و حد تشخیص TBQ در سطح الکتروود ساخته شده با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی برابر ۳/۱ نانومولار به دست آمد.



- بررسی اکسایش دماغه‌ی آندی TBQ به روش ولتامتری پالس تفاضلی

نمودار (۳ الف) ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی الکتروود کربن سرامیکی اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره و پلیمر قالب مولکولی را در محلول‌هایی با غلظت‌های متفاوت از TBQ در محدوده ۶-۶۸۰ نانومولار در بافر فسفات ۰/۱ مولار با $pH=7$ نشان می‌دهد. نمودار (۳ ب) بیان‌گر وجود محدوده خطی مناسب برای اندازه‌گیری مقدار TBQ می‌باشند. همان‌طور که نمودارهای رسم شده در این شکل نشان می‌دهد، نمودارهای تغییرات جریان ولتاموگرام‌های رسم شده به ازای غلظت TBQ در محدوده ۶-۶۸۰ نانومولار



نمودار (۳-الف) ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی الکتروود کربن سرامیک اصلاح شده با نانو لوله کربنی چند دیواره و پلیمر قالب مولکولی در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار در $pH=7$ حاوی غلظت‌های متفاوت ترشری بوتیل بنزوکینون. اعداد ۱ الی ۸ نشان دهنده ولتاموگرام‌های رسم شده از غلظت‌های ۶ نانومولار تا ۶۸۰ نانومولار از ترشری بوتیل بنزوکینون می‌باشند. (ب) نمودار جریان ولتاموگرام بر حسب غلظت ترشری بوتیل بنزوکینون در محدوده ۶-۶۸۰ نانومولار.

در نمونه‌های حقیقی گزارش شده است (Thomas *et al.*, 2015 and Li *et al.*, 2015). همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود، در مقایسه با دیگر روش‌های ذکر شده، روش پیشنهادی مبتنی بر الکتروود کربن

کارایی روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری TBQ با سایر روش‌های مرسوم در جدول (۲) مورد مقایسه قرار گرفته است. با بررسی متون منتشر شده مشاهده شد که مطالعات محدودی برای شناسایی و اندازه‌گیری TBQ

پیشنهادی با روش‌های کرماتوگرافی قابل مقایسه است؛ علاوه بر آن الکتروود به شیوه ساده و مقرون به صرفه تهیه شده است.

سرامیک اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره و پلیمرهای قالب مولکولی دارای دامنه خطی وسیع‌تری می‌باشد. ضمن آن‌که حد تشخیص کمی روش

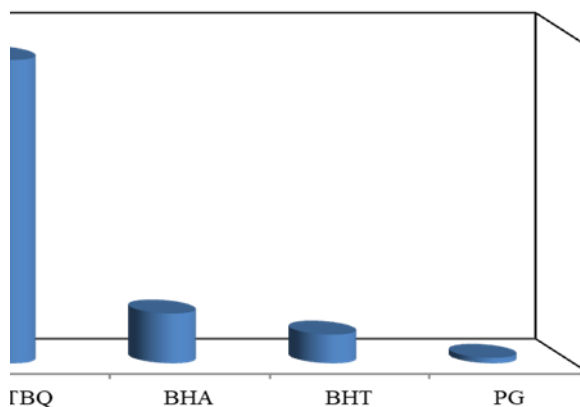
جدول (۲) - مقایسه کارایی روش پیشنهادی با روش‌های دیگر در اندازه‌گیری ترشری بوتیل بنزوکینون

روش اندازه گیری	حسگر	محدوده خطی [nM]	حد تشخیص [nM]	مرجع
ولتامتری پالس تفاضلی	الکتروود کربن سرامیک اصلاح شده با پلیمر قالب مولکولی و نانولوله‌های کربنی چند دیواره	۶-۶۸۰	۳/۱	مطالعه حاضر
ولتامتری پالس تفاضلی	الکتروود طلای اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی چند دیواره	۴-۱۰۰	۳۲	(Thomas <i>et al.</i> , 2015)
HPLC	-	۰/۶-۳۰	۰/۶	(Li <i>et al.</i> , 2015)

Gallate, PG) مورد بررسی قرار گرفت. در این سری آزمایش مقادیری از هر گونه (غلظت ۲ میکرومولار) به محلول حاوی ۲ نانومولار TBQ افزوده شد. نتایج این بررسی در نمودار (۴) نشان داده شده است.

گزینش پذیری روش پیشنهادی نسبت به اندازه‌گیری TBQ در حضور گونه‌هایی با ساختار شیمیایی مشابه نظیر بوتیل هیدروکسی آنیسید (Butyl Hydroxy Butylated)، بوتیل هیدروکسی تولوئن (Anisd, BHA)، پروپیل گالات (Hydroxytoluene, BHT) و پروپیل گالات (PG)

شیمیایی مشابه در سطح الکتروود کربن سرامیک اصلاح شده با نانولوله کربنی چند دیواره و پلیمر قالب مولکولی (غلظت ترشری بوتیل بنزوکینون ۲ نانومولار و سایر گونه‌ها ۲ میکرومولار).



نمودار (۴) - مقایسه جریان اکسایش ترشری بوتیل بنزوکینون و گونه‌های

- اندازه‌گیری TBQ در نمونه روغن خوراکی

به‌منظور نشان دادن کاربرد عملی روش پیشنهادی جهت اندازه‌گیری TBQ، مقدار این ترکیب در هگزان (به‌عنوان ماتریس ساده) و روغن‌های خوراکی مختلف شامل (روغن ذرت، روغن کنجد و روغن آفتابگردان) اندازه‌گیری شد. از طرفی جهت تأیید بیشتر روش در اندازه‌گیری TBQ در نمونه‌ها، محلول‌های استاندارد

از این ترکیب تهیه و در حجم‌های میکرولیتری به نمونه‌های محلول افزوده شده و مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده که در جدول (۳) نشان داده شده است، بیان‌گر این مطلب است که روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری TBQ در نمونه‌های حقیقی شامل روغن خوراکی کارایی لازم را داراست.

جدول (۳) - عملکرد حسگر الکتروشیمیایی اصلاح شده با پلیمر قالب مولکولی در اندازه‌گیری ترشری بوتیل بنزوکینون در نمونه روغن خوراکی

نمونه	مقدار TBQ اندازه‌گیری شده در نمونه [nM]	مقدار TBQ اضافه شده [nM]	مقدار TBQ اندازه‌گیری شده [nM]	درصد بازیابی
		۴۰/۰	۳۹/۶۵	۹۹/۱
هگزان	*	۶۰/۰	۶۱/۲۸	۱۰۲/۱
		۸۰/۰	۸۰/۷۵	۱۰۰/۹
		۴۰/۰	۴۰/۵۰	۱۰۱/۲
روغن بکر	*	۶۰/۰	۵۹/۸۰	۹۹/۶
کنجد		۸۰/۰	۸۱/۲۱	۱۰۱/۵
		۴۰/۰	۱۶۳/۹۲	۹۹/۴
روغن ذرت	۱۲۴/۷۸	۶۰/۰	۱۸۵/۲۴	۱۰۰/۲
		۸۰/۰	۲۰۳/۱۲	۹۹/۱
		۴۰/۰	۲۱۶/۵۴	۹۹/۴
روغن آفتابگردان	۱۷۷/۷۵	۶۰/۰	۲۴۰/۱۴	۱۰۱/۲
		۸۰/۰	۲۵۳/۶۴	۹۸/۴

* در ناحیه زیر حد تشخیص حسگر پیشنهادی.

- بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش به‌منظور استخراج مدل و یافتن بیشترین تأثیر متغیرهای مختلف از روش سطح پاسخ برای بهینه‌سازی شرایط اندازه‌گیری TBQ در روغن خوراکی به کمک حسگر الکتروشیمیایی ساخته شده استفاده شده است. روش سطح پاسخ (Response

Surface Methodology) به‌عنوان یکی از روش‌های مدل‌سازی تجربی برای طراحی آزمایش مطرح است. مزیت اصلی این روش آن است که با حداقل تعداد آزمایش‌ها، راهی برای تخمین برهمکنش‌ها، اثرات درجه دوم و حتی شکل موضعی سطح پاسخ مورد مطالعه، یافته شود (Etemadifar et al., 2014). با

به کارگیری روش سطح پاسخ، معادله زیر که نشان دهنده رابطه تجربی میان متغیرهای آزمایش و میزان

$$I_{ox} (TBQ) = -16.53 + 673.90A - 9.56B + 3.0C + 2560.87D + 65.69AB - 50.49AC + 92139.91AD + 0.16BC - 241.25BD - 153.55CD - 12562.41A^2 + 0.56B^2 - 0.04C^2 + 66123.45D^2 \quad (2)$$

(2017) و اندازه گیری رنگزای بازیگ قرمز ۱۳ در محلول های آبی با استفاده از حسگر اصلاح شده با پلیمرهای قالب مولکولی (Jafari et al., 2018).

در بررسی اثر pH بر پاسخ الکتروشیمیایی حسگر حاوی پلیمرهای قالب مولکولی نسبت به TBQ به نظر می رسد که گروه های عاملی متاکریلیک اسید MIP (COO) که در شرایط اسیدی تبدیل به COOH⁺ می شود (Jafari et al., 2018). اکسیژن های روی TBQ به دلیل خاصیت الکترون گاتیوی به سمت H⁺ جذب می شود. در فرآیند الکتروشیمی، مولکول های TBQ جذب شده بر روی الکتروود، بر روی الکتروود وارد واکنش های اکسایش می شود. در pH=۶ مولکول الگو (TBQ) و قالب (پلیمر قالب مولکولی) در شرایط خنثی به سر می برند و هیچ تمایلی به هم ندارند در نتیجه جریان حداقل است. در pH بازی ملایم OH⁻ به کربن متصل به گوگرد روی TBQ حمله کرده و پیوند دوگانه ی C-O را باز می کند و در نتیجه TBQ و پلیمر قالب به سمت هم کشیده می شوند.

زمان تماس یکی از پارامترهای بسیار مهم در فرآیند جذب و نفوذ سطحی می باشد (Esfandiyari et al., 2017). با بررسی اثر زمان اقامت الکتروود تهیه شده در نمونه حاوی TBQ می توان این طور بیان کرد در زمان ۸ دقیقه مولکول های TBQ زمان کافی برای جای گرفتن در قالب مولکولی در سطح الکتروود کربن سرامیکی را

بررسی نتایج و داده ها نشان داد که شرایط بهینه جهت ساخت حسگر الکتروشیمیایی TBQ مبتنی بر پلیمر قالب مولکولی شامل pH=۱۰، زمان پیش تغلیظ ۸ دقیقه، مقدار نانولوله های کربنی ۱۰ میلی گرم و مقدار پلیمر قالب مولکولی برابر ۳۰ میلی گرم می باشد.

در خصوص تأثیر مقدار پلیمر قالب مولکولی بر جداسازی و پاسخ الکتروشیمیایی حسگر تهیه شده نسبت به اکسایش TBQ، هر چه مقدار پلیمر قالب مولکولی بر روی سطح الکتروود بیشتر باشد، تعداد مکان های فعال و اختصاصی برای جذب مولکول های TBQ در مرحله پیش تغلیظ بیشتر خواهد بود. در نتیجه، در مرحله پیش تغلیظ، مولکول های TBQ بیشتری بر روی الکتروود جذب شده و در فرآیند اکسایش الکتروشیمیایی شرکت خواهد کرد. از سوی دیگر، با توجه به ماهیت غیرسانای پلیمر قالب مولکولی، مقدار زیاد آن در الکتروود کامپوزیت کربن سرامیکی می تواند از رسانایی حسگر کاسته، در نتیجه میزان جریان اکسایش TBQ در شرایط استفاده از مقادیر بالای پلیمر قالب مولکولی کاهش می یابد. در بررسی اثر افزودن پلیمر قالب مولکولی در ساختار الکتروود خمیر کربن به منظور شناسایی گالیک اسید نتایج مشابهی گزارش شده است (Shojaei et al., 2016). نتایج مشابه دیگری نیز توسط سایر محققین گزارش شده است از جمله، اندازه گیری تیواوره در نمونه های صنعتی (Jafari et al.,

ساخت حسگر اصلاح شده با پلیمرهای قالب مولکولی و نانولوله‌های کربنی انجام شد، نتایج تأیید کننده خواص ویژه این نانو ذرات مانند مساحت سطح وسیع، رسانایی الکتریکی بالا و پایداری شیمیایی مناسب می‌باشد (Khadem et al., 2017).

مقایسه نمودارهای پالس تفاضلی الکترودهای اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی چند دیواره و پلیمر قالب مولکولی، در غیاب و در حضور ۲ میلی‌مولار TBQ نشان داد که در اثر حضور TBQ، پیک اکسایش ولتاموگرام به شدت افزایش یافته؛ که این مورد به خوبی نشان دهنده توانایی الکتروود ساخته شده برای پیش تغلیظ TBQ از درون محلول می‌باشد. از طرفی نمودار a (۲ ب) بیان می‌دارد که TBQ در پلیمر قالب مولکولی از قبل وجود نداشته و تمامی آن در مرحله شستشو با سوکسله از ماده پلیمری خارج گردیده است.

پلیمرهای قالب مولکولی به گونه‌ای ساخته می‌شوند که با توجه به ویژگی‌های مولکولی مواد، به شکل قالب مولکول در آمده و در مقابل این مولکول‌ها شبیه قفل عمل می‌کنند و به این ترتیب فقط مولکول مورد نظر را جذب می‌کنند. ویژگی‌های استثنایی این مواد آن‌ها را برای استفاده در حسگرهای شیمیایی، دارورسانی، جداسازی مواد و اندازه‌گیری ترکیبات دارویی مناسب کرده است (Jafari et al., 2018). ضمن آن‌که با استفاده از این نوع پلیمرها می‌توان ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر بهتر از روش‌های معمول آزمایشگاهی، غلظت مواد مورد نظر در نمونه‌های واقعی و بیولوژیکی مانند خون یا ادرار را اندازه‌گیری کرد (Shojaee et al., 2016). نتایج گزینش‌پذیری ارابه شده در نمودار (۴) نشان می‌دهد که حسگر پیشنهادی نسبت به محلول حاوی TBQ در

دارند. با افزایش زمان، مولکول‌های TBQ فرصت کافی برای قرارگیری و گیر افتادن در قالب مولکولی را به دست آورده و در نتیجه با اعمال اختلاف پتانسیل، TBQ اکسید شده و جریان دماغه آندی افزایش یافته است. در مطالعه انجام شده به منظور جداسازی و اندازه‌گیری گالیک اسید با استفاده از حسگرهای مبتنی بر پلیمر قالب مولکولی گزارش شده است که با افزایش مدت زمان اقامت حسگر، پاسخ تجزیه‌ای حاصل از اکسایش گالیک اسید افزایش می‌یابد (Shojaei et al., 2016). هم‌چنین، در مطالعه‌ای دیگر به منظور اندازه‌گیری دیازپام با استفاده از حسگر مبتنی بر پلیمر قالب مولکولی، مطرح شده که با افزایش زمان استخراج تا زمان بهینه جریان پیک اکسایش دیازپام افزایش می‌یابد و زمان‌های بیشتر اثر قابل توجهی بر میزان استخراج و جریان اکسایش دیازپام ندارد (Motaharian and Milani-Hosseini, 2016).

نانولوله‌های کربنی یکی از کاندیدای اصلی برای ساخت و اصلاح حسگرها می‌باشند (Nasirizadeh et al., 2016). در این پژوهش نیز نانولوله‌های کربنی به دلیل افزایش سطح مخصوص الکتروود و افزایش رسانایی الکتروود در سینتیک انتقال الکترون مؤثر بوده و افزایش جریان اکسایش و در نتیجه افزایش حساسیت حسگر را موجب شده است (Jafari et al., 2017; Nasirizadeh et al., 2016). نتایج به دست آمده از مطالعه‌ای که روی اندازه‌گیری دیازینون با استفاده از الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی انجام گرفت، نشان دهنده افزایش حساسیت حسگر اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی نسبت به دیازینون بود (Khadem et al., 2016). هم‌چنین در مطالعه‌ای روی

شد. متغیرهایی مانند زمان و pH محلول در فرآیند پیش تغلیظ TBQ بر سطح الکتروود هم‌چنین مقدار نانولوله‌های کربنی چند دیواره و پلیمرهای قالب مولکولی در ساخت الکتروود تأثیر دارند. شرایط بهینه جهت ساخت حسگر الکتروشیمیایی TBQ مبتنی بر پلیمر قالب مولکولی شامل $pH=10$ ، زمان پیش تغلیظ ۸ دقیقه، مقدار نانولوله‌های کربنی ۱۰ میلی‌گرم و مقدار پلیمر قالب مولکولی TBQ برابر ۳۰ میلی‌گرم می‌باشد. رفتار الکتروشیمیایی الکتروود اصلاح شده برای اکسایش الکتروشیمیایی TBQ با روش‌های ولتامتری بررسی شد. جریان‌های پیک ولتامتری پالسی تفاضلی به‌طور خطی با غلظت TBQ در محدوده ۶ تا ۶۸۰ نانومولار افزایش یافته و حد تشخیص ۳/۱ نانومولار به‌دست آمد. براساس نتایج حاصل الکتروود کربن سرامیکی اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی و پلیمر قالب مولکولی از توانایی مناسبی جهت جداسازی و اندازه‌گیری TBQ در نمونه‌های واقعی برخوردار است.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

مقایسه با سه گونه شیمیایی مورد بررسی پیک اکسایش بیشتری نشان می‌دهد. به این معنی که روش پیشنهادی تنها قادر به شناسایی و تعیین مقدار TBQ می‌باشد. به عبارت دیگر، تنها مولکول‌های TBQ قادر هستند به سایت‌های اختصاصی شکل گرفته در MIP موجود در الکتروود کربن سرامیکی وارد شده و تثبیت شوند و پس از شستشوی الکتروود، این مولکول‌های تجمع یافته بر سطح الکتروود در فرآیند اکسایش کاهش شرکت می‌نمایند.

بر اساس نتایج، روش معرفی شده برای پایش TBQ در روغن‌های خوراکی قابل قبول و کارآمد می‌باشد. ذکر این نکته حائز اهمیت است که آماده‌سازی نمونه به‌ویژه نمونه‌های محیطی و صنعتی یکی از کارهای سخت و زمان‌بر قبل از تجزیه دستگاهی محسوب شده و خطای رخ داده در این مرحله نیز گاهی قابل ملاحظه می‌باشد. بنابراین روش پیشنهادی با حذف این مرحله و عدم نیاز به قدم خاصی برای آماده‌سازی نمونه‌های واقعی، به حل این مشکل کمک می‌نماید.

در این پژوهش نانو حسگر مبتنی بر پلیمر قالب مولکولی برای شناسایی TBQ با کمک کامپوزیت کربن سرامیکی اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی چند دیواره با استفاده از روش آماری طراحی مرکب مرکزی ساخته

منابع

- Aghaei, F., Seifati, S.M. and Nasirizadeh, N. (2017). Development of a DNA biosensor for detection of phenylketonuria based on screen-printed gold electrode and hematoxylin. *Analytical Methods*, 9(6): 966-973.
- Aghili, Z., Nasirizadeh, N., Divsalar, A., Shoeibi, S. and Yaghmaei, P. (2017). A nanobiosensor composed of exfoliated graphene oxide and gold nano-urchins, for detection of GMO products. *Biosensors and Bioelectronics*, 95: 72-80.

- Aluyor, E., Oboh, I. and Okieimen, C. (2009). The effect of tertiary butyl hydroquinone on the biodegradability of palm olein. *Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies*, 14: 47-56.
- Azadmard-Damirchi, S. and Torbati, M. (2015). Adulterations in Some edible oils and fats and their detection methods. *Journal of Food Quality Hazard Content*, 2: 38-44.
- Dechtrirat, D., Sookcharoenpinyob, B., Prajongtata, P., Sriprachuabwongac, C., Sanguankiatd, A. Tuantranontc, A. *et al.*, (2018). An electrochemical MIP sensor for selective detection of salbutamol based on a graphene/PEDOT: PSS modified screen printed carbon electrode, *RSC Advanced*, 8: 206-212.
- Ding, M. and Zou, J. (2012). Rapid micropreparation procedure for the gas chromatographic-mass spectrometric determination of BHT, BHA and TBHQ in edible oils. *Food Chemistry*, 131: 1051-1055.
- Dorni, C., Sharma, P., Saikia, G. and Longvah, T. (2018). Fatty acid profile of edible oils and fats consumed in India. *Food Chemistry*, 238: 9-15.
- Elshafie, M.M., Nawar, I.A., Algamal, M.A. and Ahmad, S.M. (2012). Evaluation of the biological effects for adding cinnamon volatile oil and tbhq as antioxidant on rats' lipid profiles. *Asian Journal of Plant Science*, 11: 100-108.
- Esfandiyari, T., Nasirizadeh, N., Dehghani, M. and Ehrampoosh, M.H. (2017). Graphene oxide based carbon composite as adsorbent for Hg removal: preparation, characterization, kinetics and isotherms studies. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 25: 1170-1175.
- Espinosa-Mansilla, A., Salinas, F., Olmo, M. and Payá, I.O. (1996). Determination of synthetic food antioxidants mixtures using UV-visible spectrophotometry and partial least-squares calibration. *Applied Spectroscopy*, 50: 449-453.
- Etemadifar, A., Dehghanizadeh, H., Nasirizadeh, N. and Rohani-Moghadam, M. (2014). Statistical optimization of wool dyeing with alizarin red s as a natural dye via central composite design. *Fibers and Polymers*, 15 (2): 254-260.
- Goulart, L.A., Teixeira, A.R.L., Ramalho, D.A., Terezo, A.J. and Castilho, M. (2014). Development of an analytical method for the determination of tert-butylhydroquinone in soybean biodiesel. *Fuel*, 115:126-131.
- Hajisafari, M. and Nasirizadeh N. (2017). An electrochemical nanosensor for simultaneous determination of hydroxylamine and nitrite using oxadiazole self-assembled on silver nanoparticles modified glassy carbon electrode. *Ionics*, 23 (6): 1541-1551.
- Jafari, S., Dehghani, M. and Nasirizadeh, N. (2017). Developing a highly sensitive electrochemical sensor using thiourea-imprinted polymers based on an MWCNT modified carbon ceramic electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 802: 139-146.
- Jafari, S., Dehghani, M., Nasirizadeh, N. and Azimzadeh, M. (2018). An azithromycin electrochemical sensor based on an aniline MIP film electropolymerized on a gold nano urchins/graphene oxide modified glassy carbon electrode, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 829: 27-34.
- Jafari, S., Dehghani, M., Nasirizadeh, N. and Akrami, H. (2018). Voltammetric determination of basic red 13 during its sonoelectrocatalysis degradation. *Microchimica Acta*, 184 (11): 4459-4468.
- Khadem, M., Faridbod, F., Norouzi, P., Rahimi Foroushani, A.F., Ganjali, M.R., Shahtaheri, S.J. *et al.*, (2016). Development of a specific electrochemical sensor for occupational and environmental monitoring of diazinon. *Journal of Health and Safety at Work*, 7 (1): 9-22. [In Persian]
- Khadem, M., Faridbod, F., Norouzi, P., Rahimi Foroushani, A.F., Ganjali, M.R., Shahtaheri, S.J. *et al.*, (2017). Designing and development of an electrochemical sensor modified with molecularly imprinted polymer and carbon nanotubes for evaluation of occupational and environmental exposures to dicloran pesticide. *Iran Occupational Health*, 14(3): 1-11. [In Persian]

-
- Li, J., Bi, Y., Liu, W. and Sun, S. (2015). Simultaneous analysis of tertiary butylhydroquinone and 2-tert-butyl-1, 4-benzoquinone in edible oils by normal-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 63(38):8584-8591.
 - Motaharian, A. and Milani-Hosseini, M.R. (2016). Electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer nanoparticles for determination of diazepam drug. *Journal of Applied Research in Chemistry*, 9(3):51-59.
 - Nasirizadeh, N., Shekari, Z., Nazari, A. and Tabatabaee, M. (2016). Fabrication of a novel electrochemical sensor for determination of hydrogen peroxide in different fruit juice samples. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24: 72-82.
 - Pan, Y., Lai, K., Fan, Y., Li, C., Pei, L., Rasco, B.A. *et al.*, (2014). Determination of tert-butylhydroquinone in vegetable oils using surface-enhanced Raman spectroscopy. *Journal of Food Science*, 79(6): 1225-1230.
 - Selvolini, G. and Marrazza, G. (2017). MIP-based sensors: promising new tools for cancer biomarker determination. *Sensors (Basel)*, 17 (4): 718-730.
 - Shojaei, S., Nasirizadeh, N., Entezam, M., Koosha, M. and Azimzadeh, M. (2016). An electrochemical nanosensor based on molecularly imprinted polymer (mip) for detection of gallic acid in fruit juices. *Food Analytical Methods*, 9: 2721-2731.
 - Silva, M.M. and Lidon, F.C. (2016). An overview on applications and side effects of antioxidant food additives. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 28(12): 823-832.
 - Thomas, A., Vikraman, A.E., Thomas, D. and Kumar, K.G. (2015). Voltammetric sensor for the determination of TBHQ in coconut oil. *Food Analytical Methods*, 8: 2028-2034.
 - Tormin, T.F., Cunha, R.R., Richter, E.M. and Munoz, R.A.A. (2012). Fast simultaneous determination of BHA and TBHQ antioxidants in biodiesel by batch injection analysis using pulsed-amprometric detection. *Talanta*, 99: 527-531.