

یک حسگر الکتروشیمیایی بر پایه ی پلیمر قالب ملکولی نوین برای تعیین فنیل افرین هیدروکلرید در نمونه دارویی

مریم قناعت پیشه جهرمی، علیرضا محدثی*⁺، محمدعلی کریمی

گروه شیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

چکیده: در این پژوهش، یک پلیمر قالب گیری شده با ملکول برای اندازه گیری فنیل افرین هیدروکلرید ارایه شده است. پلیمر قالب گیری شده ملکولی (MIP) به وسیله الکتروپلیمریزاسون و با به کار بردن ۱ و ۴. فنیل دی آمین (PE) به عنوان مونومر و فنیل افرین هیدروکلرید (PHE) به عنوان الگو آماده شد. ارزیابی پاسخ حسگر به وسیله مقایسه ی پاسخ الکتروشیمیایی پلیمر قالب ملکولی و پلیمر بدون قالب ملکولی (NIP) در محلول پتاسیم فروسانید ۲/۰ میلی مولار محتوی سدیم سولفات ۰/۲ مولار، که به عنوان محلول حسگر می باشد، انجام شد. اندازه گیری ها در بازه ی ۰/۶- تا ۰/۸+ ولت و با سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه انجام گرفت. تعدادی از پارامترها بر پاسخ حسگر بهینه شدند و منحنی برازش رسم شد. فنیل افرین هیدروکلرید در بازه ی غلظتی ۵-۱۱۰ μM خطی بود. حد تشخیص ۰/۹ μM بود. این روش برای تعیین فنیل افرین هیدروکلرید در نمونه دارویی کلداکس استفاده شد.

واژه های کلیدی: پلیمرهای قالب گیری شده ملکولی؛ سنتز الکتروشیمیایی؛ فنیل افرین هیدروکلرید؛ ۱ و ۴- فنیل دی آمین.

KEYWORDS: Molecularly imprinted polymer; Electropolymerization; Phenylephrine hydrochloride; 1, 4-phenylenediamine.

مقدمه

بی اشتهایی، تهوع، استفراغ با مقدارهای زیاد دیده شده است. بنابراین شناسایی و اندازه گیری کمی آن ها در آزمایشگاه های تجزیه دارویی به صورت گسترده ای مورد مطالعه قرار گرفته است [۱،۲]. روش های تجزیه ای متفاوتی مانند آنالیز تزریق جریان [۳،۴]، اسپکترومتری [۵-۸]، کروماتوگرافی با عملکرد بالا [۹-۱۴]، اسپکتروفلوئوریمتری [۱۵،۱۶]، الکتروفورزمیوینه [۱۷]، رزنانس مغناطیسی پروتون [۱۸] برای تعیین PHE در نمونه های زیستی و هم چنین فرمولاسیون دارویی گزارش شده است. در این میان، روش های الکتروشیمیایی به عنوان سامانه هایی سریع، ساده، ارزان

فنیل افرین هیدروکلرید (PHE) به دلیل اثرهایی همچون ضد گرفتگی های بینی، برطرف کردن نشانه های آلرژی و سرماخوردگی، منقبض کننده رگ های خونی داخل چشم که می تواند التهاب ملتحمه را کاهش دهد، گشاد کردن مردمک در زمان معاینه و جراحی چشم و نیز درمان افت شدید فشارخون، به گروهی از پرمصرف ترین داروها تبدیل شده اند و به طور گسترده ای در سراسر جهان تجویز می شوند. با این حال، موردهایی چون بی خوابی، اضطراب، افزایش قند خون، تپش قلب، ضعف، بی اشتهایی، با مقدارهای کم و افزایش سریع فشار خون،

*عهدہ دار مکاتبات

+E-mail: mohadesi_a@yahoo.com

مولکولی بازی می‌کند. در همان حال، PE می‌تواند با PHE تشکیل پیوند هیدروژنی دهد، که فرایند قالب‌گیری مولکولی را تسهیل می‌کند. همچنین سنتز الکتروشیمیایی پلیمر بهترین راه برای ایجاد فیلم یا لایه نازکی از پلیمر قالب مولکولی را روی سطح الکتروود فراهم می‌کند. در این روش امکان کنترل ضخامت و ریخت شناسی فیلم پلیمری با استفاده از کنترل پارامترهای الکتروشیمیایی فراهم می‌شود.

بخش تجربی

دستگاه‌ها

همه اندازه‌گیری‌های الکتروشیمیایی با استفاده از دستگاه پلاروگراف مدل VA computrance 797 و در یک سامانه سه الکترودی شامل الکتروود مرجع Ag/AgCl، الکتروود کمکی پلاتین و الکتروود کار از نوع کربن شیشه‌ای با قطر ۲mm به عنوان الکتروود کار انجام شد. برای تنظیم pH از دستگاه pH متر مدل 827 ساخت شرکت مترهم کشور سوئیس استفاده شد.

معرف‌ها و مواد

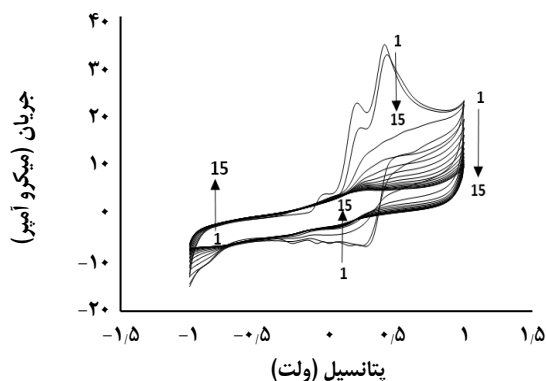
مواد شیمیایی مورد استفاده مانند ۱-۴-فنیلن دی‌آمین، پتاسیم فروسیانید، سدیم سولفات، سدیم دی‌هیدروژن فسفات، استیک اسید، متانول و فنیل افرین هیدروکلرید از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. پودر آلومینای با اندازه ۰/۰۵mm از شرکت فلوکا خریداری شد. کلداکس از شرکت عبیدی خریداری شده است.

آماده‌سازی الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با فیلم پلیمری

حک شده ملکولی

برای سنتز فیلم از یک سامانه سه الکترودی شامل الکتروود کمکی پلاتین، الکتروود مرجع Ag/AgCl و الکتروود کربن شیشه (GCE) به عنوان الکتروود کار استفاده شد. پیش از سنتز پلیمر قالب ملکولی، نخست برای زدودن آلودگی از سطح الکتروود کار، الکتروود بر روی صفحه پولیش با پودر آلومینا، خوب صیقل داده شد و سپس با آب دوبار تقطیر به خوبی شسته و در ادامه، الکتروود به مدت ۵ دقیقه در نیتریک اسید ۰/۰۵ مولار، استون و آب در حمام فراصوت قرار گرفت. این کار باعث می‌شود سطح الکتروود به خوبی تمیز و در ادامه ذره‌های آلومینای احتمالی چسبیده به آن به کمک امواج فراصوت از سطح جدا شوند. محلول دارای مونومر (PE) ۴ میلی مولار و ملکول الگو (PHE) ۱ میلی مولار که با سدیم سولفات ۰/۲ مولار به حجم رسیده ساخته شد، با دمیدن

و با گزینش پذیری بالا و نتیجه‌های تکرارپذیر، جایگاه ویژه‌ای را به خود اختصاص داده‌اند. گستره وسیعی از حسگرهای الکتروشیمیایی سازگار با محیط زیست که این نیازها را برآورده می‌سازند به صورت تجاری در دسترس هستند [۲۳-۱۹]. در دهه‌های گذشته، الکتروودهای اصلاح شده‌ی شیمیایی به دلیل کارایی و گزینش‌پذیری مناسب خود که از طریق تغییر گونه اصلاح کننده به دست می‌آید، به صورت گسترده‌ای برای تعیین کمی انواع گونه‌های آلی و معدنی (در سطح الکتروود) به کاررفته‌اند. معرف اصلاح کننده می‌تواند در سطح الکتروودهای جامد و یا در ترکیب اصلی در زمان ساخت الکتروود، قرارگیرد [۲۴]. پلیمرهای قالب مولکولی مواد قابل اطمینانی هستند که در سال‌های اخیر به طور پیوسته در اصلاح الکتروودها، برای تهیه انواع حسگرهای الکتروشیمیایی، به عنوان عناصر تشخیص یا عوامل اصلاح کننده مورد استفاده قرار گرفته‌اند. پلیمرهای قالب مولکولی از واکنش کوپلیمریزاسیون بین مونومر عاملی در حضور یک مولکول هدف به صورت یک قالب سه بعدی پلیمری با اتصال عرضی قوی به دست می‌آیند. پس از تشکیل مولکول الگو را از ساختار حاصل خارج می‌کنند که نتیجه آن ایجاد مکان‌های مکمل با شکل، اندازه و گروه‌های عاملی منطبق با مولکول الگو می‌باشد. بنابراین، این مواد تهیه شده دارای مکان‌های تشخیص ویژه‌ای هستند که می‌توانند به صورت بسیار انتخابی با گونه الگو نسبت به سایر ترکیب‌ها با ساختمان همانند پیوند دوباره برقرارکنند. پلیمرهای قالب مولکولی به طور عموم در روش تجزیه‌ای که نیاز به انتخاب گری بالایی دارند مورد استفاده قرار می‌گیرند [۳۱-۲۵]. در این بین با توجه به اینکه PHE دارای پتانسیل اکسایش بالا می‌باشد برای جلوگیری از مزاحمت سایر گونه‌های رایج‌تر اکسید شونده، در کار حاضر یک حسگر الکتروشیمیایی نوین بر اساس الکتروپلیمریزاسیون با به‌کارگیری فناوری پلیمرهای قالب مولکولی برای اندازه‌گیری فنیل افرین هیدروکلرید ارائه شده است. در این‌جا از یک ردیاب الکتروشیمیایی (فروسیانید) برای شناسایی میزان PHE پیش تغلیظ شده روی سطح حسگر استفاده شده است. در نتیجه به این روش، امکان اندازه‌گیری این ماده با روش‌های الکتروشیمیایی در پتانسیل‌های کم‌تر فراهم شد. همچنین PE که یک ترکیب آلی از خانواده‌ی آمین‌های آروماتیک است، که نشان داد که به آسانی می‌تواند بر روی سطح الکتروود الکتروپلیمریزه شود. این مونومر به عنوان یک ترکیب چند گروه‌عاملی باعث ایجاد پلیمری با ساختار پلیمری غیر خطی و تقاطع‌های عرضی می‌شود. ایجاد این تقاطع‌های عرضی نقش مهمی را در فرایند قالب‌گیری



شکل ۱- ولتاموگرام چرخه ای الکتروپوزیت PE بر روی GCE در حضور PHE در گستره پتانسیل ۱- تا ۱+ ولت.

به تدریج در حال کاهش است. به عبارتی می توان نتیجه گرفت، طی اسکن های متوالی یک لایه با هدایت کم، روی سطح الکتروود در حال ایجاد و افزایش ضخامت می باشد. [۳۲،۳۳]. به هر حال با توجه به نتیجه های به دست آمده مشخص می شود که فیلم پلیمری PE چسبنده بر روی سطح GCE الکتروپوزیت شده است.

مقایسه ولتاموگرام های MIP و NIP هیچ تغییر چشمگیری در شکل چرخه ی ولتاموگرام های سنتز نشان نمی دهد. این نشان دهنده ی این واقعیت است که PHE هیچ فعالیت الکتروشیمیایی بر روی الکتروود کربن شیشه در بازه ی پتانسیل انتخاب شده برای پلیمریزاسیون ندارد. از طرف دیگر میزان جریان در حضور PHE (در هنگام سنتز MIP) کمتر از زمانی است که پلیمریزاسیون در عدم حضور PHE (در هنگام سنتز NIP) انجام می شود. این مسئله می تواند به دلیل برهمکنش های بین مونومر PE و الگوی PHE و در نتیجه کاهش سرعت پلیمریزاسیون PE در هنگام تهیه MIP باشد. انتظاری که از الکتروپوزیت شدن پلیمر حک شده ملکولی می رود این است که، ملکول هدف (PHE) در قالب پلیمر به دلیل اثر حک شده ملکولی به دام انداخته شود. گروه های هیدروکسیل و آمین PHE قادر به تشکیل پیوند هیدروژنی با هر دو گروه آمین PE می باشد. افزون بر آن، بر همکنش $\pi - \pi^*$ بین حلقه بنزن PE با ساختار آروماتیک PHE به وجود می آید. در نتیجه این ارتباط متقابل و شاخه های زنجیری در PE باعث ایجاد یک قالب سه بعدی با ملکول الگو (PHE) شده است.

گاز نیتروژن به مدت ۵ دقیقه اکسیژن زدایی از محلول صورت گرفت. سپس الکتروپلیمریزاسیون در بازه ی پتانسیل ۱- تا ۱+ ولت با سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه در ۱۵ چرخه انجام گرفت. بعد از پلیمریزاسیون، برای حذف الگو، حسگر را برای مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰ میلی لیتر محلول ۱:۱ استیک اسید و متانول که توسط همزن مغناطیسی هم زده می شود قرار داده شد پس از این مرحله ها الکتروود اصلاح شده با پلیمر قالب ملکولی تهیه شد.

برای ساخت پلیمر NIP دقیقاً از مواد بالا، از همین روش کار بدون حضور مولکول الگو استفاده شد.

اندازه گیری های تجربی

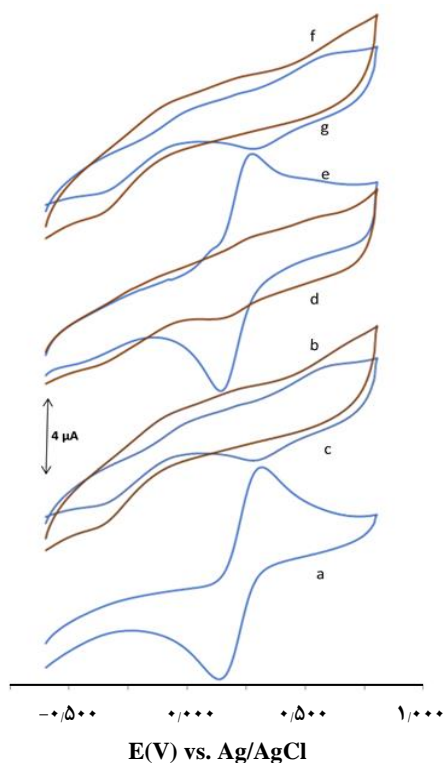
برای اندازه گیری PHE با الکتروود اصلاح شده نخست الکتروود در سل الکتروشیمیایی شامل محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH ۹ شامل PHE قرار داده شده و با اعمال پتانسیل ۱ ولت در زمان ۳۰ ثانیه جذب PHE روی سطح الکتروود انجام شد. در ادامه به منظور ارزیابی پاسخ حسگر، پس از شستن الکتروود با آب مقطر، آنرا در محلول پتاسیم فروسیانید با غلظت ۲/۰ میلی مولار محتوی سدیم سولفات ۰/۲ مولار قرار داده شد. پتاسیم فروسیانید یک گونه الکتروفعال بوده و از آن به عنوان ردیاب^(۱) استفاده می شود. اندازه گیری های الکتروشیمیایی، در بازه ی پتانسیل ۰/۸+ - ۰/۶- ولت با سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد. میزان کاهش جریان پیک آندی مربوط به اکسایش ردیاب فروسیانید متناسب با میزان PHE وارد شده در شبکه MIP در مرحله جذب می باشد و در نتیجه می تواند به عنوان سیگنال تجزیه ای برای اندازه گیری PHE مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه ها و بحث

تهیه الکتروشیمیایی پلیمر قالب گیری شده ملکولی در حضور الگو و در نبود الگو

شکل ۱ ولتاموگرام چرخه ای الکتروپوزیت PE بر GCE شیشه در حضور PHE در گستره ی پتانسیل ۱- تا ۱+ ولت را نشان می دهد. همان گونه که دیده می شود، با افزایش شمار اسکن ها مقدارهای جریان های پیک های کاتدی و آندی تا رسیدن به یک حد مشخص، کاهش می یابد. این نتیجه ها نشان می دهد، هدایت سطح الکتروود

(۱) Prope



شکل ۲- ولتاموگرام های چرخه ای در محلول فروسیانید ۲ mM و Na_2SO_4 ۰/۲ مولار در گستره پتانسیل ۰/۸ تا ۰/۶ و سرعت روبش ۵۰ V/S. (a) الکتروده برهنه GCE، (b) الکتروده NIP/GCE، (c) الکتروده MIP/GCE، (d) NIP پس از فرایند حذف الگو، (e) MIP پس از فرایند حذف الگو، (f) NIP پس از حذف الگو و برهمکنش دوباره با الگو، (g) MIP پس از حذف الگو و برهمکنش دوباره با الگو.

دارد، که آن هم به نوبه ی خود بر روی حساسیت و پایداری حسگر اثر می گذارد. با توجه به نمودار شکل ۳، تعداد ۱۵ چرخه، بیشترین حساسیت یا جریان را نشان می دهد. دلیل کاهش حساسیت در شرایط تعداد چرخه بیشتر از ۱۵، این است که به طور کلی، اگر غشای پلیمر حک شده بیش از اندازه ضخیم باشد، ملکول های الگو که در مرکز غشای پلیمری قرار گرفته اند به طور کامل نمی توانند از قالب پلیمر خارج شوند [۳۳]. بررسی ها نشان داد که بالاترین اختلاف جریان میان MIP / GCE برای PHE با به کار بردن ۱۵ چرخه در جریان الکتروپلیمریزاسیون به دست آمد. بنابراین ۱۵ چرخه به عنوان شرایط بهینه برای ضخامت غشای بهینه برای دستیابی به بالاترین حساسیت به PHE انتخاب شد.

رفتار الکتروشیمیایی PHE در سطح GCE اصلاح شده با PE

به منظور بررسی قابلیت شناسایی و اندازه گیری PHE توسط MIP/GCE، دو سامانه MIP/GCE و NIP/GCE تهیه شد. رفتار الکتروشیمیایی این دو سامانه توسط محلول پتاسیم فروسیانید ۲/۰ میلی مولار دارای سدیم سولفات ۰/۲ مولار، که به عنوان ردیاب ردوکس به کار گرفته شده، بررسی شد. نتیجه های این مطالعه در ولتاموگرام های شکل ۲ ارایه شده است. منحنی (a) نشان دهنده یک جفت پیک اکسایش و کاهش پتاسیم فروسیانید در سطح GCE بهینه سازی نشده می باشد. در ولتاموگرام های b و c هیچ پیک اکسایش و کاهش دیده نشده است. این دو منحنی مربوط به الکتروده دارای NIP و MIP می باشد. این مسئله می تواند ناشی از این حقیقت باشد که فیلم پلیمری سنتز شده باعث ایجاد لایه ی محافظی روی سطح الکتروده می شود و امکان عبور فروسیانید از این لایه برای رسیدن به سطح الکتروده جهت فرایند الکتروشیمیایی وجود ندارد. زمانی که فرایند حذف الگو روی هر دو الکتروده های NIP و MIP انجام می شود، تغییری در رفتار الکتروده NIP به وجود نمی آید (منحنی d)، ولی در مورد MIP، جفت پیک ردوکس مربوط به فروسیانید دیده می شود (منحنی e) این مسئله بخوبی گویای این واقعیت است که حذف الگو از شبکه پلیمر باعث تشکیل سایت های تشخیص و یا حفره هایی می شود که امکان عبور فروسیانید و رسیدن آن به سطح الکتروده برای انجام فرایند الکتروشیمیایی را می دهد. زمانی که الکتروده های MIP و NIP توسط الگو دوباره لود می شوند، در مورد NIP تغییری در رفتار الکتروده در محلول فروسیانید دیده نمی شود (منحنی f). ولی در مورد MIP دوباره پیک های مربوط به فروسیانید ناپدید می شوند (منحنی g). این مسئله می تواند ناشی از پیر شدن دوباره روزنه موجود در MIP توسط الگو و متوقف شدن فرایند رسیدن ردیاب به سطح الکتروده باشد.

بهینه سازی چرخه های اسکن

به منظور بررسی تأثیر تعداد چرخه های اسکن در ولتامتری چرخه ای، تولید پلیمر حک شده، با تعداد چرخه های گوناگون اسکن تکرار شد. پس از تولید هر الکتروده، پاسخ حسگر، توسط محلول دارای پتاسیم فروسیانید ۲/۰ میلی مولار و سدیم سولفات ۰/۲ مولار مورد ارزیابی قرار گرفت. داده ها در شکل ۳ ارایه شده است. نتیجه های نمودار شکل ۳ نشان می دهد که تعداد چرخه های اسکن در ولتامتری چرخه ای تأثیر مستقیم روی ضخامت پلیمر حک شده

به‌طور کامل و سریع خارج شود. نتیجه‌های به دست آمده، توسط نمودار e از شکل ۲ هم تأیید می‌شود.

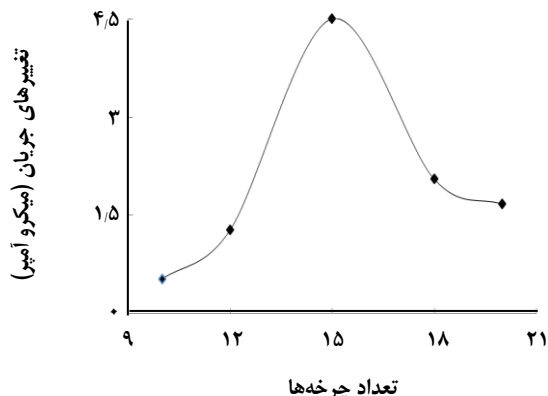
بهینه کردن غلظت مونومر

غلظت مونومر در فرایند الکتروپلیمریزاسیون، روی رفتار حسگر تأثیر دارد. همچنین، غلظت مونومر به کار گرفته شده باید متناسب با ضخامت غشا و غلظت مولکول الگو (حک شده) در قالب پلیمر باشد. [۳۵،۴۳]. به منظور بررسی تأثیر غلظت مونومر روی پاسخ حسگر، غلظت‌های گوناگونی از گونه PE در گستره ۲ تا ۱۰ میلی مولار انتخاب شد، پس از ساخت حسگر در غلظت‌های گوناگون از مونومر، حساسیت حسگر توسط محلول پروب (محلول پتاسیم فروسیانید ۲/۰ میلی مولار و ۰/۲ مولار سدیم سولفات) در بازه‌ی پتانسیل ۰/۶- تا ۰/۸+ ولت مورد بررسی قرار گرفت، نتیجه‌های این پژوهش در نمودار شکل ۴ ارایه شده است.

نتیجه‌ها نشان می‌دهد که پاسخ MIP / GCE به PHE با افزایش غلظت PE تا ۴ میلی مولار افزایش می‌یابد. وقتی غلظت بیش از ۴ میلی مولار افزایش یابد، جریان پیک کاهش می‌یابد. یافته‌ها نشان داده که غلظت زیاد مونومر ممکن است منجر به تولید یک غشا توده‌ای شود و این باعث می‌شود که سایت‌های تشخیصی به آسانی در دسترس نباشند [۳۹،۴۱]. بنابراین غلظت بهینه ی مونومر در این کار ۴ میلی مولار انتخاب شد.

بهینه کردن غلظت الگو

یک پارامتر مهم در پاسخ حسگر، غلظت الگو در مخلوط پلیمریزاسیون می‌باشد. تأثیر غلظت الگو بر روی پاسخ GCE / MIP در طی الکتروپلیمریزاسیون PE در گستره ۰/۵ تا ۱ میلی مولار و توسط محلول پروب (شامل ۲/۰ میلی مولار پتاسیم فروسیانید و ۰/۲ مولار سدیم سولفات) در بازه‌ی پتانسیل ۰/۶- تا ۰/۸+ ولت مورد بررسی قرار گرفت. و نتیجه‌ها در شکل ۵ آورده شده است. پاسخ MIP / GCE به PHE با افزایش غلظت الگو بین ۰/۵ تا ۱ میلی مولار افزایش می‌یابد. وقتی غلظت بیش از ۱ میلی مولار افزایش می‌یابد، پاسخ MIP / GCE کاهش می‌یابد. این پدیده ممکن است به این دلیل باشد که در غلظت کم PHE، حسگر به دلیل این که تعداد سایت‌های تشخیصی کم‌تری در قالب پلیمری تشکیل می‌شود، حساسیت آن کاهش می‌یابد. در غلظت‌های بالاتر از ۱ میلی مولار از PHE، ملکول‌های PHE با ملکول‌های بیش‌تری از مونومر تشکیل کمپلکس می‌دهند، این امر منجر به کاهش

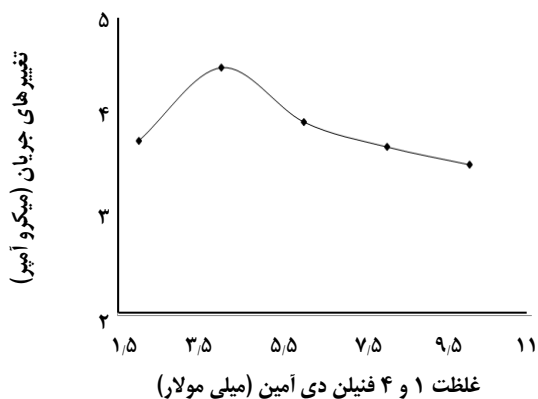


شکل ۳- تعداد چرخه‌های به کار برده شده برای پاسخ MIP/GEC در طی ولتامتری چرخه‌ای (CV) (جریان مربوط به حسگر در محلول شامل ۰/۲ مولار پتاسیم فروسیانید و ۰/۲ مولار سدیم سولفات می‌باشد).

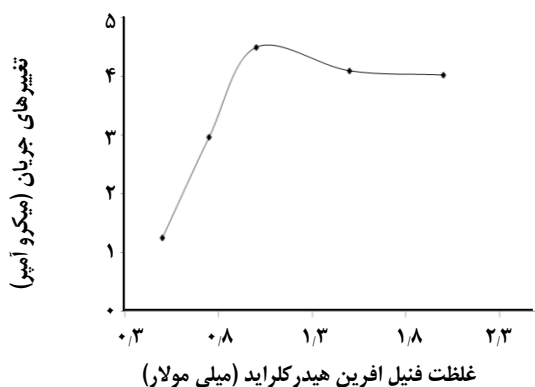
حذف مولکول الگو

پس از الکتروستنتز، الگو باید به جهت ایجاد حفره‌های حک شده به روشی حذف شود. بین مولکول‌های مونومر (PE) و الگو (PHE) برهمکنش‌های متعددی، از جمله پیوند هیدروژنی و الکترواستاتیک بین گروه‌های هیدرکسی و آمین وجود دارد. روش‌های زیادی برای حذف الگو در پلیمرهای حک شده ملکولی وجود دارد. این روش‌ها شامل واجذب سیال فوق بحرانی [۳۴]، استخراج به کمک امواج میکروویو [۳۴]، اکسیداسیون پلیمر [۳۵]، احیای الگو در پلیمر [۳۶،۳۷] و استخراج با حلال [۳۸-۴۳] می‌باشد. از میان این روش‌ها، استخراج با حلال جزء مهم‌ترین‌ها می‌باشد. چرا که حلال می‌تواند با پلیمر تعامل قوی داشته باشد و الگو را در خود حل کند. در پژوهش پیش رو، سامانه‌های حلالی متعددی مانند الکل، آب خالص، مخلوط استونیتریل - استیک اسید (۸:۲ V/V)، مخلوط استونیتریل - آب (۱:۱ V/V) و مخلوط استیک اسید - متانول (۱:۱ V/V) بکار گرفته شد. نتیجه‌ها نشان داد که مخلوط استیک اسید - متانول (۱:۱ V/V) می‌تواند به‌طور کامل و سریع الگو را حذف کند. چرا که PHE در محلول اسید استیک - متانول به آسانی حل می‌شود. درحالی‌که محلول‌های دیگر یا به‌صورت جزئی یا اصلاً قادر به حذف ملکول الگو نبودند.

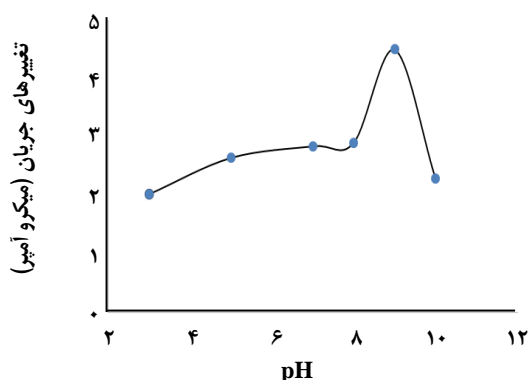
بنابراین برای مرحله‌های بعدی پژوهش، محلول شامل استیک اسید و متانول با نسبت حجمی - حجمی ۱:۱ انتخاب شد. به عبارتی برای حذف الگو، الکتروود حک شده را در ۱۰ میلی لیتر محلول شامل ۱:۱ استیک اسید و متانول که توسط همزن مغناطیسی هم زده می‌شود قرار می‌دهیم، در این شرایط الگو می‌تواند



شکل ۴- تأثیر غلظت مونومر در طی الکتروپلیمریزاسیون بر روی پاسخ MIP/GCE (جریان مربوط به حسگر در محلول شامل ۰/۲ مولار پتاسیم فروسیانید و ۰/۲ مولار سدیم سولفات می باشد).



شکل ۵- تأثیر غلظت الگو در طی الکتروپلیمریزاسیون بر روی پاسخ MIP/GCE (جریان مربوط به حسگر در محلول شامل ۰/۲ مولار پتاسیم فروسیانید و ۰/۲ مولار سدیم سولفات می باشد).



شکل ۶- تأثیر pH محلول بر روی عملکرد MIP/GCE نسبت به جذب PHE در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار (جریان مربوط به حسگر در محلول شامل ۰/۲ مولار پتاسیم فروسیانید و ۰/۲ مولار سدیم سولفات می باشد).

احتمالی تشکیل پیوند متقابل و بدام افتادن نتیجه بخش ملکول الگو در قالب سه بعدی می شود [۴۱]. بنابراین، مقدار بهینه از PHE که برای آماده سازی MIP / GCE لازم است با توجه به نتیجه‌ها، مقدارهای ۱/۰ میلی مولار از غلظت PHE به عنوان مقدارهای بهینه ارزیابی شد. و نسبت ملکول مونومر به الگو ۴ به ۱ ارزیابی شد و برای مطالعه‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

بهینه سازی pH

اثر pH محلول بر روی عملکرد MIP / GCE نسبت به جذب PHE در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار در pH های گوناگون از ۳ تا ۱۰ و توسط ولتاموگرام چرخه ای مربوطه و در سرعت روبش ۵۰ mV/s ثبت شد. شکل ۶ نتیجه‌های به دست آمده را نشان می دهد. همان گونه که منحنی نشان می دهد، با افزایش pH جریان پیک افزایش می یابد. بیشترین جریان در pH = ۹ دیده می شود. با افزایش pH بیش تر از ۹ جریان پیک کاهش می یابد. بنابراین pH = ۹ نشان دهنده pH بهینه می باشد.

بهینه کردن جذب فنیل افرین هیدرکلراید

جذب الگوی خارج شده از MIP یکی دیگر از پارامترهای مهم در عملکرد حسگر حک شده می باشد، که در این کار مورد مطالعه قرار گرفت. بعد از خارج کردن الگو از فیلم MIP ، حسگر را در محلول بافر فسفات با pH = ۹ محتوی ۰/۰۳ میلی مولار PHE قرار داده شد، و پتانسیل‌ها و زمان‌های گوناگون برای جذب الگو مورد بررسی قرار گرفت. سپس حسگر را در محلول پروب قرار داده و جریان کیفی پیک‌ها مورد بررسی قرار گرفت. تغییر پتانسیل از ۰/۵ تا ۱/۵ مورد بررسی قرار گرفت، نتیجه‌های به دست آمده از ولتاموگرام های ثبت شده در شکل ۷ آمده است. زمان‌های جذب ۵ تا ۶۰ ثانیه مورد بررسی قرار گرفت. ولتاموگرام‌های آن در شکل ۸ آمده است. بهترین نتیجه وقتی پتانسیل بر روی ۱ ولت شکل ۷ و بهترین زمان در ۳۰ ثانیه شکل ۸ تنظیم شد به دست آمد. در ادامه پتانسیل ۱ ولت و زمان ۳۰ ثانیه به عنوان پتانسیل و زمان جذب بهینه انتخاب شد.

منحنی درجه بندی، حد تشخیص و تکرار پذیری روش و تجدید پذیری روش

ارقام شایستگی، در ارزیابی یک روش تجزیه ای از اهمیت بالایی برخوردارند. به همین دلیل، در این بخش، روش بهینه شده

از نظر بازه‌ی خطی منحنی کالیبراسیون، حد تشخیص روش و تکرارپذیری و تجدید پذیری مورد بررسی قرار گرفت.

جهت محاسبه گستره خطی روش حاضر در تعیین غلظت PHE، از روش ولتامتری پالسی تفاضلی (DPV) استفاده شد. به منظور محاسبه گستره خطی حسگر ارایه شده، محلول‌های با غلظت‌های گوناگون از داروی PHE توسط الکتروود مورد نظر و روش پالسی تفاضلی مورد استفاده قرار گرفت. در هر ولتاموگرام، ارتفاع پیک آندی متناظر با غلظت داروی PHE می باشد. با توجه به داده‌های نمودار ولتاموگرام شکل ۹، با افزایش غلظت PHE در محلول، جریان پیک آندی کاهش می یابد. دلیل آن این است که مولکول PHE می تواند سایت‌های پیوندی را اشغال کند. در نتیجه باعث کاهش جریان آندی می شود.

منحنی برسنجی به صورت جریان پیک آندی در مقابل غلظت PHE ترسیم شد. نتیجه‌های به دست آمده در شکل ۱۰ گزارش شده اند، که نشان دهنده خطی بودن منحنی در بازه ی $5 \mu\text{M}$ تا $110 \mu\text{M}$ و حد تشخیص $0.9 \mu\text{M}$ می باشد.

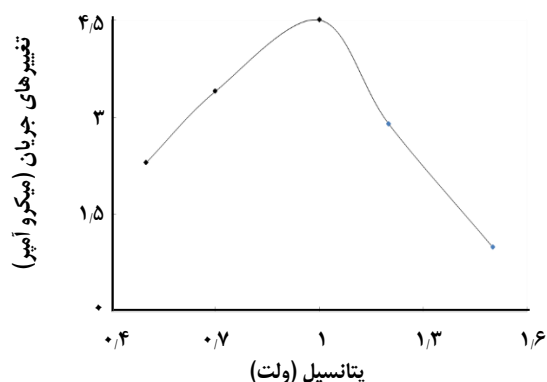
تکرارپذیری روش و تجدید پذیری ساخت الکتروود

به منظور بررسی تکرارپذیری روش حاضر، الکتروود اصلاح شده تهیه و آنالیز PHE با استفاده از این الکتروود ۵ بار تکرار شد و جریان‌های پیک آندی به دست آمده ثبت شد. که با استفاده از آن‌ها انحراف استاندارد نسبی برای دو غلظت ۵/۰ و ۸۰/۰ میلی مولار به ترتیب ۲/۱٪ و ۱/۹٪ درصد محاسبه شد. این نتیجه‌ها نشان دهنده تکرارپذیری خوب روش، در استفاده از الکتروود در مرحله اندازه‌گیری می‌باشد.

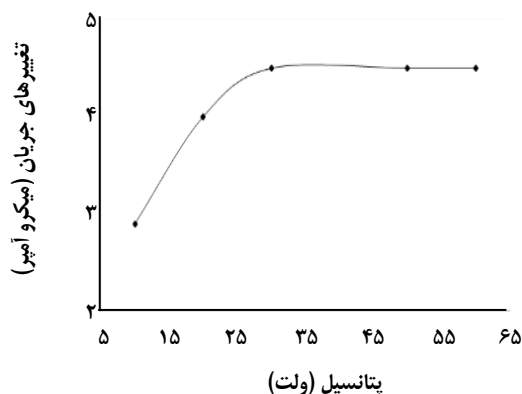
برای بررسی تجدید پذیری ساخت الکتروود، ۵ الکتروود اصلاح شده به طور مجزا تهیه و آنالیز PHE با استفاده از این الکتروودها انجام شد. انحراف استاندارد نسبی پاسخ حسگر برای ۳۵/۰ میکروگرم برلیتر PHE، ۳/۲٪ به دست آمد. این نتیجه‌ها نشان دهنده تجدید پذیری خوب روش در هنگام ساخت الکتروود می‌باشد.

گزینش پذیری روش

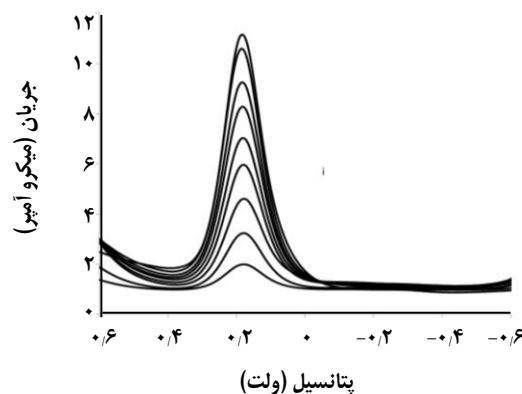
از پارامترهایی که در کارایی یک الکتروود به ویژه در زمان استفاده از آن در نمونه‌های حقیقی بسیار مؤثر می‌باشد، گزینش‌پذیری آن است. برای بررسی میزان اثر سایر ترکیب‌ها بر روی پاسخ



شکل ۷- تأثیر پتانسیل بر جذب الگو خارج شده از MIP.



شکل ۸- تأثیر زمان بر جذب الگو خارج شده از MIP.



شکل ۹ - ولتاموگرام‌های DP مربوط به PHE بر روی الکتروود MIP/GCE. غلظت‌های PHE از a تا i به ترتیب: ۰، ۵، ۲۰، ۳۵، ۵۰، ۶۵، ۸۰، ۹۵ و $110 \mu\text{M}$ می‌باشد.

جدول ۱- اثر حضور داروهای گوناگون در خطای اندازه‌گیری داروی PHE.

داروهای گوناگون	درصد خطا در اندازه‌گیری داروی فنیل آفرین هیدروکلراید
فنیل پروپانولامین هیدروکلراید	۴
کلروفنیرآمین مالئات	۳
دیفن هیدرامین هیدروکلراید	۲
بیوتن	۲
جتتامایسین	۱
دوپامین	۵
اسکوربیک اسید	۴
استامینوفن	۴

غلظت PHE و مزاحم به ترتیب ۳۵/۰ و ۳۵۰ میکرومولار می‌باشد.

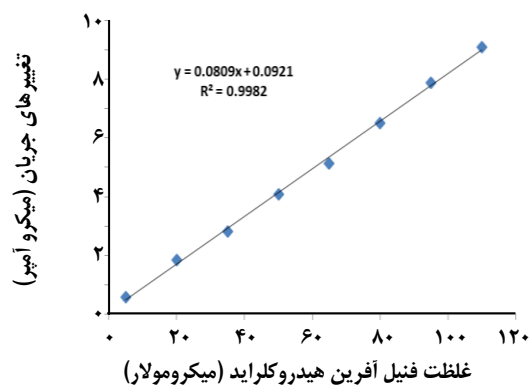
نتیجه‌های به دست آمده در جدول ۱ گزارش شده است. با توجه به نتیجه‌های به دست آمده، روش حاضر از گزینش‌پذیری مناسبی برای آنالیز داروی PHE در نمونه‌ها برخوردار می‌باشد.

کاربرد تجزیه ای روش

جهت نشان دادن کاربرد الکتروود ارایه شده در کار حاضر، استفاده از آن در تعیین PHE در نمونه ی داروی کلداکس (تولید شده در کارخانه داروسازی عبیدی، ایران) مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این امر ۱ عدد قرص کلداکس (شامل ۵ میلی گرم فنیل آفرین هیدروکلراید) تهیه و در بافر فسفات با pH = ۹/۰ حل شد و توسط کاغذ صافی صاف و سرانجام در بالن ژوژه ۱۰۰۰ میلی لیتری به حجم رسانده شد. در ادامه با روش افزایش استاندارد مقدار PHE در آن اندازه گیری شد. نتیجه‌های آنالیز این دارو در جدول ۲ گزارش شده است. با استفاده از اضافه کردن مقادیر استاندارد از PHE درستی روش مورد ارزیابی قرار گرفت. همان گونه که دیده می‌شود، بازیابی PHE، بین ۹۷/۲ و ۱۰۳٪ به دست آمد. درصد بازیافت خوب این آزمایش‌ها نشان می‌دهد که MIP/GCE روش قابل پذیرش برای اندازه گیری PHE در نمونه های دارویی مانند کلداکس می باشد.

نتیجه گیری

این مطالعه، یک حسگر الکتروشیمیایی نوین بر اساس PE برای شناسایی PHE ارایه شده است. پلیمر حک شده ملکولی MIP با به کار گرفتن PE به عنوان مونومر و PHE بعنوان الگو و به وسیله



شکل ۱۰- نمودار کالیبراسیون PHE.

الکتروود نسبت به یون PHE، داروهای گوناگون به طور جداگانه به محلول آبی دارای ۳۵/۰ میکروگرم برلیتر PHE افزوده و با روش ارایه شده اندازه‌گیری شد و تأثیر آن‌ها در پاسخ الکتروود نسبت به PHE مورد مطالعه قرار گرفت. درصد خطای نسبی در سیگنال مربوط به PHE در اثر حضور گونه مزاحم از معادله (۱) قابل محاسبه است:

$$\%E = \frac{|S_{A+I} - S_A|}{S_A} \times 100 \quad (1)$$

%E درصد خطا، S_{A+I} سیگنال (جریان) پیک آندی در حضور آنالیت و گونه مزاحم و S_A سیگنال تجزیه‌ای (جریان پیک آندی) در حضور آنالیت به تنهایی می‌باشد. بر این اساس، اثر برخی گونه‌ها بر روی پاسخ الکتروود نسبت به PHE مورد ارزیابی قرار گرفت. این نتیجه‌ها نشان می‌دهند که داروهای آزمایش شده مزاحمتی نداشتند.

جدول ۲- اندازه گیری فنیل افرین هیدروکلراید در نمونه ی داروی کلداس.

نمونه	فنیل افرین هیدروکلراید اضافه شده (μM)	فنیل افرین هیدروکلراید تعیین شده (μM)	بازیابی (%)	RSD%
داروی کلداس	۰/۰	۲۴/۲۳	-	-
	۱۰/۰	۳۳/۹۲۶	۹۹/۱	۲/۱
	۳۰/۰	۵۲/۷۱۰	۹۷/۲	۳/۸
	۵۰/۰	۷۶/۳۰۰	۱۰۳	۲/۷

جدول ۳ مقایسه حسگر حاضر برای اندازه گیری PHE با روش های دیگر را در نمونه های حقیقی نشان می دهد. همان گونه که در جدول ۳ قابل دیدن است، روش حاضر دارای گستره ی خطی گسترده تر نسبت به برخی از روش ها می باشد. تکرارپذیری خوب این روش نسب به بیش تر روش ها از برتری دیگر این روش هستند. حد تشخیص این روش از بسیاری از روش های دیگر پایین تر می باشد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۷/۲

الکتروپلیمریزاسیون بر روی الکتروود کربن شیشه سنتز می شوند. ویژگی های سطح الکتروود تصحیح شده بوسیله ی ولتامتری چرخه ای و ولتامتری پالسی تفاضلی مورد بررسی قرار گرفت. از برتری های دیگر روش MIP / GCE این است که با محلول استخراج در زمان کوتاه ۱۰ ثانیه می توان الگو را خارج و آنالیت (الگو) را با اعمال پتانسیل کم (۱ ولت) و زمان کوتاه (۳۰ ثانیه) جذب آنالیت را سرعت بخشید، درحالی که فیلم قالب گیری شده موجب جذب انتخاب گری ترکیبها می شود. استفاده از روش حاضر در نمونه های حقیقی بدون مزاحمت سایر داروها از برتری های دیگر این روش می باشد.

مراجع

- [1] Mestre Y.F., Zamora L.L., Calatayud J.M., [Determination of Phenylephrine Hydrochloride by Flow Injection Analysis with Chemiluminescence Detection](#), *AOAC International*, **84**: 13-18(6) (2001).
- [2] Kalambate P.K., Srivastava A.K., [Simultaneous Voltammetric Determination of Paracetamol, Cetirizine and Phenylephrine Using a Multiwalled Carbon Nanotube-Platinum Nanoparticles Nanocomposite Modified Carbon Paste Electrode](#), *Sensors and Actuators B: Chemical*, **233**: 237-248 (2016).
- [3] Knochen M., Giglio J., [Flow-Injection Determination of Phenylephrine Hydrochloride in Pharmaceutical Dosage Forms with on-Line Solid-Phase Extraction and Spectrophotometric Detection](#), *Talanta*, **64**: 1226-1232 (2004).
- [4] Beyene N.M., Van Staden J.F., [Sequential Injection Spectrophotometric Determination of Phenylephrine Hydrochloride in Pharmaceutical Preparations](#), *Talanta*, **63**: 599-604 (2004).
- [5] Shama S.A., [Spectrophotometric Determination of Phenylephrine Hcl and Orphenadrine Citrate in Pure and in Dosage Forms](#), *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **30**: 1385-1392 (2002).
- [6] Palabiyık I.M., Onur F., [The Simultaneous Determination of Phenylephrine Hydrochloride, Paracetamol, Chlorpheniramine Maleate and Dextromethorphan Hydrobromide in Pharmaceutical Preparations](#), *Chromatographia*, **66**: 93-96 (2007).

- [7] Mahgoub H., Computerized Derivative Spectrophotometric Assay of two Component Mixture Using Least Squares Method, *Ind. Pharm.*, **16**: 2135-2144 (1990).
- [8] Salem H., Latef H.E.A., Elsadek M.A., Aboul-kheir A., UV Derivative Spectrophotometric Determination of Phenylephrine Hydrochloride in Presence of Chlorpheniramine Maleate, Sulphacetamide or Prednisolone Acetate, *Spectrosc. Lett.* **23**: 1065-1080 (1990).
- [9] Galmier M.J., Frasey A.M., Meski S., Beyssac E., Petit J., Aiache J.M., Lartigue C., High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Phenylephrine and Tropicamide in Human Aqueous Humor, *Biomed. Chromatogr.*, **14**: 202-204 (2000).
- [10] Erk N., Kartal M., Simultaneous High Performance Liquid Chromatographic and Derivative Ratio Spectra Spectrophotometry Determination of Chlorpheniramine Maleate and Phenylephrine Hydrochloride, *Farmaco*, **53**: 617-622 (1998).
- [11] Caraballo L., Fernández-Arévalo M., Holgado M.A.R.I.A., Alvarez-Fuentes J., Rabasco A.M., Communications Simultaneous Hplc Determination of some Drugs Commonly Used in Cold Medications: Dextromethorphan, Diphenhydramine, Phenylephrine, Phenylpropanolamine and Pseudoephedrine, *Drug Dev. Ind. Pharm.* **21**: 605-613 (1995).
- [12] Lau L.W., Mok C.S., High-performance Liquid Chromatographic Determination of Active Ingredients In Cough-Cold Syrups with Indirect Conductometric Detection, *J. Chromatogr. A.*, **693**: 45-54 (1995).
- [13] El Sadek M., El Shanawany A., AboulKhier A., Rucker G., Determination of the Components of Analgesic Mixtures Using High-Performance Thin-Layer Chromatography, *Analyst*, **115**: 1181-1184 (1990).
- [14] Kountourellis J.E., Markopoulou C.K., Georgakopoulos P.P., An HPLC Method for the Separation and Simultaneous Determination of Antihistamines, Sympathomimetic Amines and Dextromethorphan in Bulk Drug Material and Dosage Forms, *Anal. Lett.*, **23**: 883-891 (1990).
- [15] Arancibia J.A., Nepote A.J., Escandar G.M., Olivieri A.C., Spectrofluorimetric Determination of Phenylephrine in the Presence of a Large Excess of Paracetamol, *Anal. Chim. Acta*, **419**: 159-168 (2000).
- [16] Nepote A.J., Olivieri A.C., Simultaneous Spectrofluorometric Determination of Oxatamide and Phenylephrine in the Presence of a Large Excess of Paracetamol, *Anal. Chim. Acta*, **439**: 87-94 (2001).
- [17] Gomez M.R., Olsina R.A., Martinez L.D., Silva M.F., Simultaneous Determination of Dextromethorphan, Diphenhydramine and Phenylephrine in Expectorant and Decongestant Syrups by Capillary Electrophoresis, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **30**: 791-799 (2002).
- [18] Shoukrallah L., Sakla A., Paletta B., Quantitative Determination of Some Pharmaceuticals in Bulk Drugs and Tablets by Proton Magnetic Resonance (PMR) Spectroscopy, *Farmaco*, **45**: 455-63 (1990).

- [19] Perlado J.C., Zapardiel A., Bermejo E., PCrez J.A., Hemhndez L., [Determination of Phenylephrine with a Modified Carbon Paste Electrode](#), *Anal. Chim. Acta*, **305**: 83-90 (1995).
- [20] Samadi Maybodi A., Hassani Nejad Darzi S.K., Ilkhani H., [A New Sensor for Determination of Paracetamol, Phenylephrine Hydrochloride and Chlorpheniramine Maleate in Pharmaceutical Samples Using Nickel Phosphate Nanoparticles Modified Carbon Paste Electrode](#), *Anal. Bioanal. Electrochem*, **2**: 134-145 (2011).
- [21] Huang F., Jin G., Liu Y., Kong J., [Sensitive Determination of Phenylephrine and Chlorprothixene at Poly \(4-Aminobenzene Sulfonic Acid\) Modified Glassy Carbon Electrode](#), *Talanta*, **74**: 1435 – 1441 (2008).
- [22] Zhu Y.H., Zhanag Z.L., Zhao W., Pang D.W., [Voltammetric behavior and Determination of Phenylephrine at a Glassy Carbon Electrode Modified with Multi-Wall Carbon Nanotubes](#), *Sens. Actuators B: Chem.*, **119**: 308 -314 (2006).
- [23] Li K., Zhu M., Zhang H., Zhao J., [Electrochemical Determination of Phenylephrine Hydrochloride Based on Graphene-TiO₂ Modified Glassy Carbon Electrode](#), *Int. J. Electrochem. Sci.*, **8**: 4047- 4054 (2013).
- [24] SunD., Zhang Y., Wang F.R., Wu K.B., Chen J.W., Zhou Y.K., [Electrochemical Sensor for Simultaneous Detection of Ascorbic Acid, Uric Acid and Xanthine Based on the Surface Enhancement Effect of Mesoporous Silica](#), *Sens. Actuators*, **141**: 641-645 (2009).
- [25] Aghaei A., Hosseini M.R.M., Najafi M., [A Novel capacitive Biosensor for Cholesterol Assay that Uses an Electropolymerized Molecularly Imprinted Polymer](#), *Electrochim. Acta*, **55**: 1503-1508 (2010).
- [26] Ma J., Yuan L.H., Ding M.J., Wang S., Ren F., Zhang J., Du S.H., Li F., Zhou X.M., [The Study of Core-Shell Molecularly Imprinted Polymers of 17 \$\beta\$ -Estradiol on the Surface of Silica Nanoparticles](#), *Biosens. Bioelectron*, **26**: 2791-2795 (2011).
- [27] Ting Liu Y., Deng J., Lin Xiao X., Ding Li., Li Yuan Y., Li H., Ting Li X., Na Yan X., Li Wang L., [Electrochemical Sensor Based on a Poly \(Para-Aminobenzoic Acid\) Film Modified Glassy Carbon Electrode for the Determination of Melamine in Milk](#). *ElectroChemica Acta*, **56**: 4595-4602 (2011).
- [28] Zhang Z.H., Hu Y.F., Zhang H.B., Luo L.J., Yao S.Y., [Electrochemical Layer-by-Layer Modified Imprinted Sensor Based on Multi-Walled Carbon Nanotubes and Sol-Gel Materials for Sensitive Determination of Thymidine](#), *J. Electroanal.Chem.*, 644: 7-12 (2010).
- [29] Ashley J., Shahbazi M.A., Kant K., Wolff V.A.C.B., Bang D.D., Sun Y., [Molecularly Imprinted Polymers for Sample Preparation and Biosensing In Food Analysis: Progress and Perspectives](#), *Biosensors and Bioelectronics*, **91**:606-615(2017)
- [30] Ostovan A., Ghaedi M, Arabi M., Asfaram A, [Hollow Porous Molecularly Imprinted Polymer for Highly Selective Clean-Up Followed by Influential Preconcentration of Ultra-Trace Glibenclamide from Bio-Fluid](#), *Journal of Chromatography A*, **1520**: 65-74 (2017).

- [31] Liu X, Ren J, Su L, Gao X, Tang Y, Ma T, Zhu L, [Novel Hybrid Probe Based on Double Recognition of Aptamer-Molecularly Imprinted Polymer Grafted on Upconversion Nanoparticles for Enrofloxacin Sensing](#), *Biosensors and Bioelectronics*, **87**: 203-208 (2017).
- [32] Peng H., Liang C., Zhou A., Zhang Y., Xie Yao S., [Development of a New Atropine Sulfate Bulk Acoustic Wave Sensor Based on a Molecularly Imprinted Electrosynthesized Copolymer of Aniline with O-Phenylenediamine](#), *Anal. Chim. Acta*, **423**: 221-228 (2000).
- [33] Xu F., Gao M.N., Shi G.Y., Wang L., Zhang W., Xue J., Jin L.T., [Simultaneous Detection of Monoamines in Rat Striatal Microdialysate at Poly\(Para-Aminobenzoic Acid\) Modified Electrode by High-Performance Liquid Chromatography](#), *Anal. Chim. Acta.*, **439**: 239-246(2001).
- [34] Xie G., Gao S., Gue Q., Xu K., [Electrochemical Sensor for 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid Using Molecularly Imprinted Polypyrrole Membrane as Recognition Element](#), *Mikrochim Acta*, **169**: 145-152 (2010).
- [35] Ellwanger A., Kalsson L., Owens P.K, Berggren C., Crecenzi C., Ensing K., Bayouhd S., Cormack P., Sherrington D., Sellegren B., [Evaluation of Methods Aimed at Complete Removal of Template From Molecularly Imprinted Polymers](#), *Analyst*, **126**: 784-792 (2001).
- [36] Özcan L., Şahin Y., [Determination of paracetamol Based on Electropolymerized-Molecularly Imprinted Polypyrrole Modified Pencil Graphite Electrode](#), *Sens. Actuators B: Chem.*, **127**: 362-369 (2007).
- [37] Liu Y., Song Q.J., Wang L., [Development and Characterization of an Amperometric Sensor for Triclosan Detection Based on Electropolymerized Molecularly Imprinted Polymer](#), *Microchem. J.*, **91**: 222-226 (2009).
- [38] Gómez-Caballero A., Goicolea M.A., Barrio R.J., [Paracetamol Voltammetric Microsensors Based on Electrocopolymerized-Molecularly Imprinted Film Modified Carbon Fiber Microelectrodes](#), *Analyst*, **130**: 1012-1018 (2005).
- [39] Albano D.R., Sevilla III F., [Piezoelectric Quartz Crystal Sensor for Surfactant Based on Molecularly Imprinted Polypyrrole](#), *Sens. Actuators B: Chem.*, **121**: 129-134 (2007).
- [40] Gómez-Caballero, A.; Unceta, N.; Aranzazu Goicolea, M.; Barrio, R.J. [Evaluation of the Selective Detection of 4,6-Dinitro-O-Cresol by a Molecularly Imprinted Polymer Based Microsensor Electrosynthesized in a Semiorganic Media](#), *Sens. Actuat. B*, **130**: 713–722 (2008).
- [41] Ebarvial B.S., Cabanilla S., Sevilla III F., [Biomimetic Properties and Surface Studies of a Piezoelectric Caffeine Sensor Based on Electrosynthesized Polypyrrole](#), *Talanta*, **66**: 145-152 (2005).
- [42] Zhang J., Wang Y.Q., Lv R.H., Xu L., [Electrochemical Tolazoline Sensor Based on Gold Nanoparticles and Imprinted Poly-o-aminothiophenol Film](#), *Electrochim. Acta.*, **55**: 4039-4044 (2010).
- [43] Özkorucuklu S.P., Şahin Y., Alsancak G., [Voltammetric Behaviour of Sulfamethoxazole on Electropolymerized-Molecularly Imprinted Overoxidized Polypyrrole](#), *Sensors*, **8**: 8463-8478 (2008).