

مروری بر ساختار، روش تهیه و کاربرد تخصصی پلیمرهای قالب مولکولی در استخراج انتخابی آنتی بیوتیک‌ها از شیر

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۶

کد مقاله: ۹۷۰۳۸

درسا دیده‌روشن^{۱*}، رضا جهانمردی^۲

چکیده

این مقاله بر مبنای گزارشی از مطالعات اخیر در مورد پلیمرهای قالب مولکولی (MIPs) شامل نحوه‌ی سنتز، عملکرد آن‌ها و کاربردهای گسترده‌ی آن به دلیل خاصیت گزینش پذیری به ویژه در کاربردهای مربوط به مواد غذایی تهیه شده است. MIPs بر پایه‌ی برهمکنش میان مونومر و مولکول قالب سنتز می‌شوند. امروزه یافتن راهکاری برای رفع وجود برخی داروها و سموم باقی مانده در مواد غذایی، به دلیل داشتن عوارض جانبی برای انسان‌ها به یکی از مهمترین اهداف سازمان بهداشت جهانی تبدیل شده است. هدف از انجام این پروژه ابتدا بررسی نحوه‌ی عملکرد MIPs به منظور جداسازی و استخراج، سپس بررسی روش‌های مختلف و متداول برای جداسازی آنتی بیوتیک از شیر و در نهایت ارائه‌ی بهترین روش با بالاترین بازده می‌باشد.

واژگان کلیدی: پلیمر قالب مولکولی، استخراج انتخابی، آنتی بیوتیک، شیر

۱- دانشجوی سال آخر کارشناسی مهندسی پلیمر، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه مهندسی پلیمر، تهران، ایران (نویسنده مسئول) d.didehroshan@gmail.com

۲- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه مهندسی پلیمر، تهران، ایران

۱- مقدمه

پلیمرهای قالب مولکولی (Molecularly Imprinted Polymers) که به اختصار نیز آن‌ها را MIPs می‌نامند، نوع خاصی از پلیمرهای سنتز شده هستند که ویژگی منحصر به فرد آن‌ها، قابلیت گزینش و انتخاب پذیری است. MIPs در طی فرآیند نشانه‌گذاری مولکولی سنتز می‌شوند. فرآیند سنتز آن‌ها با ایجاد حفره‌هایی خاص برای هدف خاص همراه است (Hongyuan 2006, Figueiredo 2016). MIPs مکانیسمی مشابه عملکردهای سیستم‌های بیولوژیکی که به عملکرد قفل و کلید نیز معروف‌اند، دارند (Villa 2021). در تعاریف دیگری از این نوع پلیمرها می‌توان به این مورد نیز اشاره کرد که برهمکنش‌های شیمیایی فیزیکی بین قسمت‌های عامل‌دار ماتریس پلیمری و گروه‌های عاملی قالب مولکولی در هنگام پلیمری شدن به حافظه‌ای سپرده می‌شود و بعد از حذف قالب، حفره‌ی مولکولی با شکل مشخصی حاصل می‌شود.

تولید و سنتز MIPs به روش غیر کووالانسی که شامل چینش مونومرهای عاملی حول یک قالب هدف است، انجام می‌گیرد. مولکول هدف باید توانایی تولید یک ترکیب پیش‌پلیمر با مونومر عاملی توسط برهمکنش‌های غیر کووالانسی مانند پیوندهای هیدروژنی، یونی و یا برهمکنش‌های آب‌گریز را داشته باشد. کمپلکس ایجاد شده در یک پلیمریزاسیون رادیکالی و با استفاده از یک عامل اتصال عرضی مناسب، دچار کوپلیمریزاسیون می‌شوند. در نهایت قالب با روش‌هایی مانند شستشو با حلال‌ها آلی، حذف شده و تنها پیوندهای ویژه‌ی آن باقی می‌ماند (Villa 2021, Bitas 2018, BelBruno 2019). MIPs از دو جز اصلی شامل قالب مولکول و مونومر یا پیش‌پلیمر تشکیل می‌شوند. برای تشکیل MIPs ابتدا مونومرهای عامل‌دار بر روی قالب مولکولی شبکه‌ای می‌شوند. سپس در طی یک مرحله دیگر پس از انجام عمل پخت، قالب جدا و حذف می‌گردد. در نهایت پلیمری شبکه‌ای شده حاصل می‌شود که امکان پذیرش و یا اتصال مجدد قالب یا مولکول هدف را دارد. مولکول هدف، مولکولی است که ساختاری مشابه با قالب یا محل‌هایی مشابه با محل اتصال پلیمر داشته باشد (Alvarez-lorenzo 2013).

۲- انواع MIPs

بر اساس نوع و نحوه‌ی اتصال (برهمکنش شیمیایی) میان مونومر و قالب مولکولی، آن‌ها را به دو دسته‌ی زیر تقسیم می‌کنیم که در ادامه به توضیح آن‌ها می‌پردازیم.

۲-۱- قالب مولکولی کووالانسی

در این روش، پیوندهای میان مونومر و قالب مولکولی از نوع پیوند کووالانسی و برگشت‌پذیر است و پس از تبدیل شدن به پلیمر شبکه‌ای، پیوندهای کووالانسی به راحتی شکسته شده و قالب حذف می‌شود. این روش برای نخستین بار توسط وولف و همکارانش (G. O. Wulff 1985) برای تهیه‌ی MIPs با استفاده از قندها یا مشتقات آمینواسیدهایی که دارای عامل مناسب برای پلیمری شدن دارند، استفاده شد که در این آزمایش پس از پلیمری شدن، پیوند ذرات قند به روش آبکافت به راحتی شکسته شده و پلیمر قالب مولکولی به دست آمد.

۲-۲- قالب مولکولی غیر کووالانسی

در این روش، که نخستین بار توسط مسیج و همکارانش (Mosbach 1998) ارائه شد، برای اتصال میان مونومر و قالب مولکولی از برهمکنش‌های غیر کووالانسی الکترواستاتیک، برهمکنش‌های دوقطبی و یا هیدروژنی استفاده می‌کنند. این روش امروزه به دلیل سادگی، سریع بودن اتصال و همچنین قابل استفاده بودن برای انواع مونومرهای عامل‌دار بسیار مورد توجه و استفاده است (Alvarez-lorenzo 2013).

۳- ساختار و اجزا MIPs

در اینجا به بررسی تمامی اجزا برای تهیه‌ی MIPs و تاثیر آن‌ها بر روی خواص پلیمر نهایی می‌پردازیم (Mattiasson 2015, Alvarez-lorenzo 2013, Bitas ۲۰۱۸).

۳-۱- قالب یا الگو

الگوها معمولاً کوچک مولکول‌های آلی مانند قندها، پتیدها، آمینو اسیدها و داروها هستند که نقش آن‌ها در فرآیند تهیه‌ی MIPs برهمکنش با مونومرهای عامل‌دار و ایجاد پیوند و نگهداری آنهاست. در این فرآیند مولکول هدف به عنوان همان قالب

استفاده می‌شود اما اگر مولکول هدف بسیار گران، نایاب و یا سمی باشد، باید از مولکولی با ساختار و آرایش فضایی مشابه مولکول هدف به عنوان قالب استفاده کنیم. از جمله خصوصیات مهمی که برای انتخاب قالب به آن توجه داشت عبارتند از :

- باید در شرایط پلیمری شدن رادیکال پایداری باشد.
- نباید شامل گروه عاملی باشد که سینتیک و سرعت پلیمری شدن را تغییر دهد.
- بهترین قالب‌ها مولکول‌هایی با وزن مولکولی بین ۲۰۰ تا ۱۲۰۰ دکاگرم هستند.

۳-۲- مونومر دارای گروه عاملی

این مونومرها نقش برهمکنش با مولکول هدف در حفره‌های حک شده را بر عهده دارند. نکته قابل توجه در انتخاب مونومرها این است که هرچه مونومر قادر به ایجاد برهمکنش‌های قوی‌تری باشد، پلیمر قالب مولکولی حاصل انتخاب پذیری بیشتری خواهد داشت. همچنین باید دقت داشت که گروه عاملی مونومر با قالب مولکولی باید متمم یکدیگر باشند. به عنوان مثال اگر مونومر دارای گروه اسیدی است، قالب مولکولی باید شامل گروه‌های بازی باشد. از جمله مونومرهای مناسب و پرمصرف برای تهیه‌ی MIPS عبارتند از : اکریلیک اسید، متاکریلیک اسید، متیل متاکریلات، استایرن و وینیل پیریدین

۳-۳- عوامل شبکه‌ای کننده

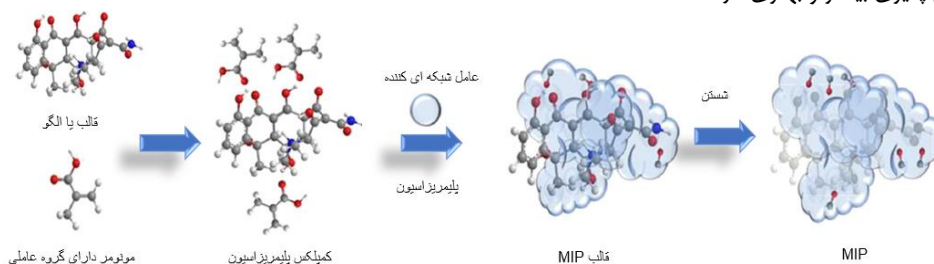
این عوامل مسئولیت محکم نگه‌داشتن مونومرها بر سر جای خود را دارند، همچنین اجازه نمی‌دهند مونومرها پس از پخت و جداسدن قالب مولکولی، تغییر مکان دهند. نسبت عامل شبکه‌ای کننده به مونومر هرچه بیشتر باشد، قابلیت تورم را کاهش داده و باعث سخت‌تر شدن پلیمر می‌شود در نتیجه از منبسط شدن MIPS مانع می‌کند. عوامل شبکه‌ای کننده مانند اتیلن گلیکول دی‌متاکریلات، دی‌وینیل بنزن، تترامتیلن دی‌متاکریلات و ... در تهیه‌ی MIPS با اتصال غیرکووالانسی به کار می‌روند.

۳-۴- حلال

حلال‌ها به منظور راحت‌تر شدن انتقال به مولکول هدف و دسترسی بیشتر به سایت‌های فعال در سیستم استفاده می‌شوند. از ویژگی‌های مهم برای انتخاب نوع حلال، می‌توان به قابلیت ایجاد حفره در پلیمر اشاره کرد. برخی از حلال‌های غیرقطبی مورد استفاده عبارتند از : تولوئن، استونیتریل و کلروفرم

۳-۵- آغازگر

از آنجا که اغلب MIPS به روش رادیکالی پلیمریزه می‌شوند، آغازگر از نوع حرارتی یا فتوشیمیایی دارند. میزان استفاده از آغازگر در سیستم در حدود ۱٪ مول نسبت به کل پیوندهای دوگانه‌ای است که قابلیت پلیمر شدن را دارند. اما هرچه غلظت آغازگر بیشتر شود، سرعت پلیمریزاسیون بیشتر شده ولی وزن مولکولی کاهش می‌یابد، اما در حالت کلی نرخ تخریب آغازگرها و ایجاد رادیکال قابل کنترل است. بهترین آغازگرهایی که در فرآیند سنتز MIPS استفاده می‌شوند عبارتند از : ترکیبات آزو، ترکیبات پروکسی، اکسایش کاهش و آغازگرهای نوری. به عنوان مثال از آغازگرهای معروف و کاربردی می‌توان آزوبیس ایزوبوتیرونیتریل (AIBN) را نام برد که تخریب آن حرارتی یا توسط نور فرابنفش صورت می‌گیرد. تنها عیب آن را می‌توان تولید گاز اکسیژن که موجب به تاخیر انداختن رشد مونومرها می‌شود، نام برد. برای رفع این مشکل باید توجه داشت که با عبور دادن گازهای بی اثر مانند نیتروژن از محلول پلیمری، گاز اکسیژن حذف می‌گردد. از عوامل موثر دیگر در فرآیند سنتز MIPS میتوان دما را نام برد. طبق آزمایش و بررسی‌های انجام شده هرچه پلیمری شدن در دمای کمتری صورت گیرد، پلیمر قالب مولکولی تشکیل شده گزینش پذیری بیشتر و بهتری دارد.



شکل ۱- شماتیک تولید MIP (برگرفته از Aguilar 2020)

۴- انواع روش‌های پلیمریزاسیون در سنتز MIPS

شکل فیزیکی پلیمر نهایی وابسته به روش پلیمریزاسیون MIPS است که این روش‌ها عبارتند از: روش توده‌ای، تعلیقی، رسوبی، تورم چند مرحله‌ای، پلیمرشدن قالب سطحی و پلیمرشدن قالب یکپارچه، که در ادامه به بررسی روش‌های معمول و معایب و مزایای آن می‌پردازیم.

روش توده‌ای: ساده‌ترین و سریع‌ترین روش پلیمریزاسیون برای تهیه MIPS روش توده‌ای است. در این روش پس از پلیمریزاسیون برای ایجاد ذرات کوچکتر، توده‌های پلیمری را به روش‌های مکانیکی آسیاب کرده و برای داشتن توزیع یکنواخت‌تر آن‌ها الک می‌کنیم. با این روش قطر نهایی ذرات در حد ابعاد میکرومتری است. از معایب این روش می‌توان به از بین رفتن برخی مراکز و سایت‌های فعال هنگام آسیاب کردن و یکسان نبودن شکل ذرات اشاره کرد (Villa 2021, Bitas 2018).

روش تعلیقی: در این روش نیازی به آسیاب کردن ذرات پس از پلیمری شدن نیست و پس از پلیمریزاسیون ذرات کروی تقریباً یکنواختی خواهیم داشت و اگر سیستم به حد کافی رقیق باشد، میکرو کره‌هایی با ابعاد یکنواخت خواهیم داشت (Villa 2021).

روش رسوبی: اساس این روش انعقاد دانه‌های نانوذله است. به این صورت که ذرات الیگومرهای موجود در محلول اطراف خود را به دام انداخته و باعث رشد منظم‌تر ذرات می‌شوند. بنابراین اگر توزیع یکنواخت‌تری مورد نظر باشد، این روش گزینه‌ی بهتری خواهد بود (Hongyuan 2006).

روش پلیمری شدن قالب مولکولی سطحی: در این روش لایه‌های قالب نازکی را به عنوان پوشش بر روی تخلخل سیلیکا به کار می‌برند. این روش عموماً برای تهیه‌ی MIPS برای کاربرد کروماتوگرافی استفاده می‌شود (Hongyuan 2006).

۵- کاربردهای MIPS

از مهم‌ترین خواص کاربردی MIPS می‌توان به خاصیت عملکرد گزینشی برای مولکول قالب اشاره کرد. این پلیمرها به عنوان فاز ثابت در کروماتوگرافی، جداسازی انانتیومری و در استخراج فاز جامد و به علاوه به عنوان گیرنده آنتی‌بادی و مقلدهای آنزیمی شناخته می‌شوند. کاربرد این پلیمرها به صورتی جزئی‌تر شامل موارد زیر می‌شود:

- کاتالیست
- کشت سلولی
- دارورسانی
- غشا
- تبلور

که در اینجا به طور مختصر بررسی می‌کنیم.

۵-۱- کاتالیست

برای سرعت بخشیدن به واکنش‌ها، نمی‌توان همواره از آنزیم‌های طبیعی استفاده کرد. به همین دلیل MIPS و پادتن‌های مصنوعی به عنوان مقلدهای مصنوعی آنزیم‌ها به کار می‌روند و فعالیتی همانند آنزیم‌ها خواهند داشت. گسترده‌ترین انواع کاتالیست‌های مصرفی متعلق به خانواده فلزات است اما فلزات به دلیل داشتن سطح مقطع کم مشکلاتی را به همراه دارند که برای رفع آن می‌توان از تلفیق فلزها و MIPS به عنوان کاتالیست استفاده کرد (Takeuchi 2016, G. Wulff 2002, Dan-Lian 2015).

۵-۲- غشا

هزینه و کیفیت تولید و خالص سازی در صنایع شیمیایی همیشه یکی از موارد حائز اهمیت است و بیشتر از هر عامل دیگری مورد توجه است. برای سنتز استفاده از کاتالیست مناسب و اقتصادی است اما برای خالص سازی راه مناسبی نبوده و یکی از پرهزینه‌ترین روش‌هاست بنابراین روش‌هایی همچون تقطیر، بلورینگی، کروماتوگرافی و غشا مطرح می‌شود. روش خالص سازی ایده‌آل تک مرحله‌ای و نیازمند کمترین مقدار انرژی و حلال است. روشی که تقریباً ایده‌آل باشد، جداسازی بر اساس غشاست که به صورت پیوسته و اغلب بدون پیشامد پدیدهای چندفازی انجام می‌شود. در غشاهای جداسازی نفوذ انتخاب‌پذیری با شار رابطه‌ی عکس دارند. به این صورت که با افزایش شار، خاصیت گزینش یا انتخاب‌پذیری کاهش می‌یابد. اما اگر غشاهای جداسازی بر پایه‌ی MIPS تهیه شوند، با افزایش شار انتخاب‌پذیری کاهش پیدا نمی‌کند (Yoshikawa 2016).

۵-۳- شناسایی و تبلور پروتئین

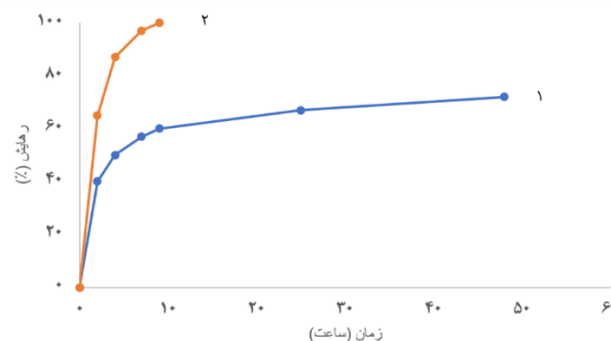
در ابتدا از MIPS برای جداسازی و خالص سازی کوچک مولکول‌ها استفاده می‌شد اما با گسترش علم در زمینه MIPS، از آن‌ها برای جداسازی و ایزوله سازی پروتئین‌ها، به عنوان جایگزین آنتی بادی‌های زیستی در آزمایش‌های ایمنی، زیست حسگرها برای دارو و سهولت بلورینگی پروتئین‌ها استفاده می‌شود.

پروتئین‌ها به دلیل داشتن شکل نامشخص در حالت بلوری به سختی آرایش یافته می‌شوند. به این منظور از MIPS به عنوان آغازگر برای تبلور پروتئین‌ها استفاده می‌شوند. با توجه به مکانسیم تولید بلور باید از بسترهایی از جمله مواد معدنی، سیلیکا و ... به عنوان عوامل هسته‌گذار استفاده کنیم که خواص خوبی حاصل می‌شود اما بزرگترین عیب آن‌ها نداشتن خاصیت گزینش پذیری و عملکرد کاملاً تصادفی در مقابل پروتئین‌هاست. در حالی که MIPS به صورتی سنتز می‌شوند که پروتئین‌های مشابه قالب خود را جذب کرده و تبلور پروتئین‌ها تابع این اتفاق است (Schirhagl 2014).

۵-۴- دارو رسانی

بسیاری از داروها به خصوص داروهای درمان سرطان به دلیل مشکلاتی از قبیل اثرات جانبی شدید، حلالیت کم در مایعات بدن و یا تخریب توسط سیستم ایمنی بدن، نمی‌توانند به تنهایی و به صورت معمول مصرف شوند. یکی از راه‌هایی که به کاهش و رفع این مشکلات کمک می‌کند استفاده از نانو ذرات MIPS است که علاوه بر رفع مشکلات گفته شده، قابلیت رهایش طولانی مدت دارو را نیز دارند.

به عنوان مثال در یکی از پژوهش‌های انجام شده در این رابطه، پلیمر قالب مولکولی تک توزیعی به روش رسوبی از متیل متاکریلات به عنوان مونومر عامل‌دار و اتیلن گلیکول دی متاکریلات به عنوان عامل شبکه‌ای کننده سنتز کردند. در طول این فرآیند از یوراسیل که ساختار آن شباهت بسیار زیادی به ساختار داروی ضد سرطان ۵-فلئورویوراسیل دارد، به عنوان قالب استفاده کردند. سپس رهایش یوراسیل توسط این دو ترکیب، یکی پلیمر قالب مولکولی کروی و دیگری پلیمر کروی، را بررسی کردند. مشاهده شد که ترکیب دارو به عنوان قالب با پلیمر قالب مولکولی ابتدا یک رهایش انفجاری داشته سپس به مدت ۵۰ ساعت به صورت پایدار و کنترل شده رها شده است (نمودار شکل ۲، منحنی شماره ۱) اما رهایش دارو با پلیمر کروی در همان ساعات اول تنها یک رهایش کاملاً انفجاری داشته و رهایش هیچ گونه پایداری و کنترل و همچنین انتخاب پذیری و مکان‌های خاصی برای یوراسیل ایجاد نشده است (نمودار شکل ۲، منحنی شماره ۲) (Cirillo, 2009) (Wackerlig, 2016)



شکل ۲: نمودار رهایش ۵-فلئورویوراسیل از پلیمر قالب مولکولی کروی و پلیمر کروی (برگرفته از Cirillo 2009)

۵-۵- کاربردهای غذایی

MIPS به دلیل پایدار بودن در طیف وسیعی از pH، حلال، دما و همچنین داشتن خواصی برای شناسایی و استخراج، و همچنین بازیابی و یا حذف مواد خاص از مواد غذایی، اخیراً جایگاه ویژه‌ای در صنایع مواد غذایی پیدا کرده‌اند. ساختار و نحوه سنتز MIPS که در زمینه مواد غذایی به کار می‌روند شامل هیدروژل، غشاء، نانوذرات، نانوذرات هسته پوسته و نانوذرات پوسته توخالی است که در ادامه به بررسی پرکاربردترین آن‌ها می‌پردازیم (Villa 2021).

MIP هیدروژل: این دسته از MIPS امروزه به نوعی تعیین کیفیت و سالم بودن مواد غذایی را بر عهده دارند و معمولاً به روش سل‌ژل و با داشتن عملکردی با هدف شناسایی سموم دفع آفات و قارچ‌کش‌هایی مانند ایپرودیون و متولکارب برای میوه‌جات و سبزیجات تولید می‌شوند. در این رابطه آزمایش‌ها و بررسی‌های فراوانی از جمله برای مواد غذایی مانند آناناس، فلفل سبز، دارچین و ... توسط MIPS انجام شده است. علاوه بر وجود سموم در مواد غذایی، وجود برخی آنتی بیوتیک‌ها در رابطه با کیفیت غذا نگران کننده است. به این منظور محققین برای تشخیص وجود کلرامفنیکل که نوعی آنتی‌بیوتیک در شیر است، یک MIP بر

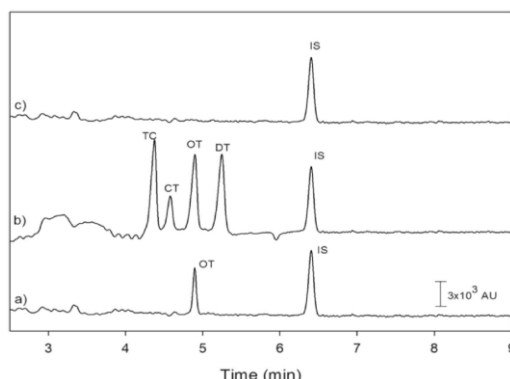
جدول ۱: میزان حذف (%) آنتی بیوتیک‌ها با استفاده از ترکیب های مختلف MIP (برگرفته از Aguilar 2020)

MIP	ترکیب TC:MAA:EDGMA	میزان حذف (%)			
		TC	OT	CT	DT
۱	۱,۰:۷,۰:۲۵,۰	۰,۰۰ (---)	۰,۰۰ (---)	۰,۰۰ (---)	۰,۰۰ (---)
۲	۱,۰:۵,۰:۵۰,۰	۷۵,۱۳ (۱,۷۵)	۸۱,۷۳ (۳,۸۱)	۷۹,۹۷ (۳,۴۲)	۷۷,۵۵ (۲,۵۶)
۳	۱,۰:۶,۰:۵۰,۰	۷۸,۶۵ (۱,۴۷)	۸۰,۴۵ (۲,۸۱)	۹۳,۲۲ (۲,۱۷)	۷۶,۳۳ (۰,۹۷)
۴	۱,۰:۷,۰:۵۰,۰	۸۱,۸۳ (۱,۰۲)	۹۵,۴۷ (۲,۰۳)	۹۶,۴۴ (۳,۱۸)	۹۳,۲۵ (۳,۳۱)
۵	۱,۰:۸,۰:۵۰,۰	۶۸,۰۳ (۳,۲۵)	۷۹,۴۳ (۱,۷۸)	۷۳,۵۷ (۲,۵۲)	۷۱,۲۳ (۱,۷۶)
۶	۱,۰:۹,۰:۵۰,۰	۵۴,۷۴ (۲,۳۴)	۷۳,۰۲ (۱,۲۰)	۶۷,۳۱ (۲,۴۳)	۶۰,۴۰ (۱,۴۶)
۷	۱,۰:۷,۰:۷۵,۰	۵۶,۲۱ (۱,۱۱)	۷۴,۲۱ (۳,۲۱)	۶۹,۲۳ (۲,۱۸)	۵۹,۴۳ (۲,۱۷)

تتراسایکلین (TC) به عنوان مولکول قالب ، ۰,۷ میلی مول متاکریلیک اسید (MAA) به عنوان مونومر عامل دار ، ۳۰ میلی لیتر متانول به عنوان حلال و ۴,۹ میلی مول اتیلن گلیکول در متاکریلات (EGDMA) به عنوان عامل شبکه‌ای کننده به روش رسوبی سنتز کردند.

بر اساس نتایج به دست آمده ، درصد حذف با توجه به میزان MAA افزایش یافته است یعنی با استفاده از MIP با MAA نسبت ۵:۷:۰، درصد حذف ۷۶,۰۰-۹۲,۶۰ به دست آمده است. کارایی MIP ها با نسبت‌های مولار بالاتر از ۷:۰، به طور قابل ملاحظه‌ای تأثیر می پذیرند تا جایی که درصد حذف در حدود ۳۰٪ نسبت به ۹۲,۶۰٪ کاهش می‌یابد. گروه‌های هیدروکسیل اضافی MAA بر حالت تعامل (قالب/مونومر) تأثیر می‌گذارد و می‌تواند یک مانع استتاریک در MIP ایجاد کند.

آنها همچنین تأثیر مقدار عامل شبکه‌ای کننده در طول فرآیند سنتز بر درصد حذف در سه نسبت (۲۵,۰ ، ۵۰,۰ و ۷۵,۰) در رابطه با مولکول الگو را بررسی کردند. MIP با نسبت ۱:۰:۷۰:۲۵,۰ (TC/MAA/EDGMA) به دلیل مقدار کم عامل اتصال دهنده، که فرآیند پلیمریزاسیون را تسهیل نمی‌کند، به دست نیامد. با این حال، برای MIP با نسبت ۱:۰:۷۰:۷۵,۰ (TC/MAA/EDGMA) درصد حذف در مقایسه با MIP ها با نسبت ۱:۰:۷۰:۷۵,۰ به میزان قابل توجهی کاهش یافته است. درجه بالایی از ارتباط متقابل به طور قابل توجهی بر تعامل (الگو/گروه های عملکردی) تأثیر می‌گذارد و توانایی اتصال MIP را کاهش می‌دهد. با توجه به نتایجی که از این تحقیق به دست آمد، محققین نتیجه گرفتند که بیشترین درصد حذف TC با MIP (۱:۰:۷۰:۵۰,۰ ؛ TC/MAA/EDGMA) ، با درصد حذف از ۸۱,۸۳ تا ۹۶,۴۴ برای آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار گیرد.



شکل ۳: نمودار الکتروفروگرام سه مورد تحت آزمایش (برگرفته از Aguilar 2020)

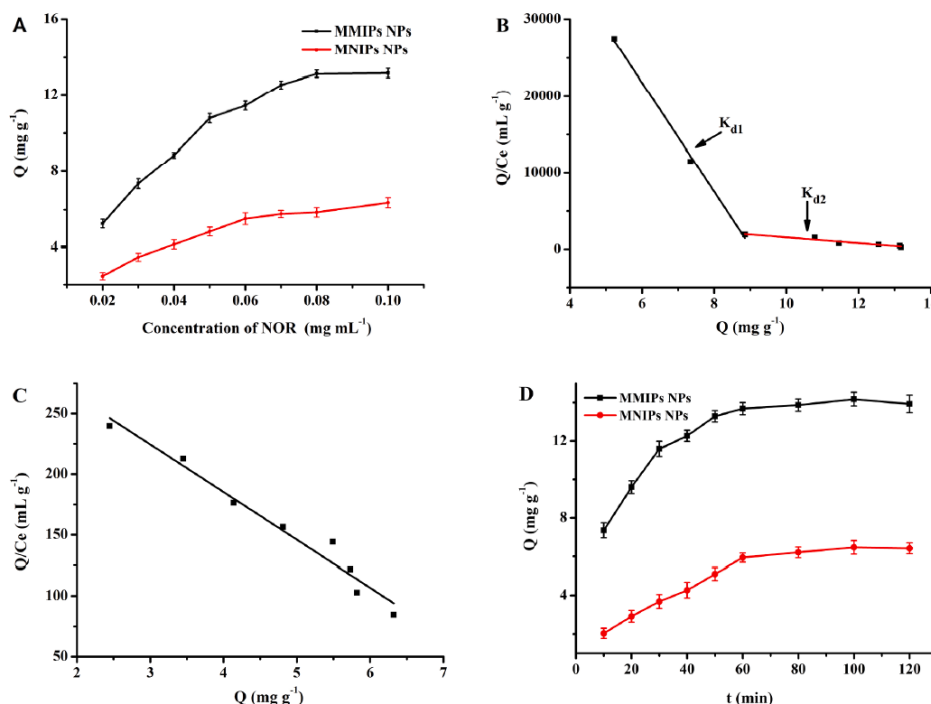
مطالعه دقیق‌تر برای شناسایی و بررسی میزان عملکرد این جداسازی از نتایج به دست آمده به روش FTIR انجام شد. شکل زیر (شماره ۳) نمودار الکتروفروگرام ها برای سه نمونه (a) شیر دارای $100 \mu\text{g L}^{-1}$ TC (b) شیر دارای $300 \mu\text{g L}^{-1}$ از هر گونه TC (c) شیر پس از فرآیند جداسازی TC توسط MIP را نمایش می‌دهد.

برتری و مزیت این روش در مقایسه با روش‌های دیگر و MIPs که تاکنون برای استخراج TC استفاده می‌شد این است که قبل‌تر، MIPs تنها توانایی جداسازی یک گونه از TC در محیط‌های ساده مانند آب، عسل و تخم‌مرغ را داشتند. اما طبق این بررسی، MIP سنتز شده می‌تواند هر ۴ گونه از TC (TC, CT, OT و DT) را استخراج کرده و برای محیط‌های پیچیده مانند شیر به کار رود.

در نهایت طبق نتایج مطلوب این تحقیق، این روش به عنوان روشی کارآمد با بازدهی استخراج بین ۸۱٫۸۳ تا ۹۶٫۴۴٪ در حذف TC از شیر مورد قبول است. به علاوه در مقابل دیگر روش‌های جداسازی از مزیت‌هایی همچون هزینه‌ی کمتر، سرعت استخراج بیشتر، مصرف کم حلال و کمترین میزان تغییر در نمونه برخوردار است (Aguilar 2020).

۲-۶- نورفلوکساسین (NOR)

این دارو نوعی آنتی بیوتیک حیوانی است که برای درمان بیماری‌های عفونی به کار می‌رود. منشا NOR متابولیسم ناقص بدن در مواد غذایی و بافت‌های خوراکی است که بیشترین مقدار گزارش شده‌ی NOR در جگر مرغ با غلظت $1000 \mu\text{gKg}^{-1}$ است. وجود اثرات منفی از باقی مانده‌ی NOR در مواد غذایی همچون سرگیجه، استفراغ و افسردگی برای انسان‌ها، لزوم استخراج این ماده از مواد غذایی را بیشتر تأیید می‌کند. در یکی از آخرین تحقیقات برای رفع محدودیت‌هایی مانند حذف ناقص مولکول قالب، اتصال‌های ضعیف و انتقال جرم آهسته، نانوذره‌های مغناطیسی MIP (MMIPs NPs) جایگزین MIP شدند. با این روش نه تنها جذب مواد مورد نظر به راحتی صورت می‌گیرد، بلکه جداسازی از ماتریس‌های غذایی نیز با مکانسیم مشابه آهن‌ربا به آسانی انجام می‌شود. به علاوه MMIPs NPs به دلیل داشتن نسبت سطح به حجم زیاد، ظرفیت اتصال بیشتری با قالب دارند. کائو و همکارانش (Cao 2021) برای سنتز MMIPs NPs به روش خود پلیمریزاسیون سطحی، از نانوذرات Fe_2O_3 اصلاح شده با ۳-آمینوپروپیل تری اتوکسی سیلان (APTES) و مخلوطی با نسبت ۱:۱ از آب و اتانول به عنوان حلال استفاده کردند. برای جداسازی نیز به روش‌های جداسازی دینامیکی و مغناطیسی عمل کردند.



شکل ۴: ایزوترمهای جذب MMIPs NPs/MNIPs NPs (۴ میلی گرم) برای ۲ میلی لیتر NOR (۰٫۱-۰٫۲ میلی گرم/میلی لیتر) در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد (A)، تجزیه و تحلیل نمودار Scatchard از MMIPs NPs (B) و MNIPs NPs (C) و سینتیک جذب از MMIPs NPs/MNIPs NPs (۴ میلی گرم) برای ۱ میلی لیتر NOR (۰٫۱ میلی گرم/میلی لیتر) در فواصل زمانی منظم از ۱۰ دقیقه تا ۱۲۰ دقیقه در 25°C (D) (برگرفته از (Cao 2021))

ایزوترمهای جذب MMIPs NPs و MNIPs NPs نسبت به NOR که در شکل ۲ ارائه شده است، نشان می‌دهد که ظرفیت جذب MMIPs NPs بسیار بالاتر از MNIPs NP برای NOR در کل دامنه غلظت است. در همین حال، جذب به میزان اشباع در ۰٫۰۸ میلی گرم در میلی لیتر می‌رسد. ظرفیت جذب MMIPs NPs ۱۳٫۲ میلی گرم در گرم برای ۰٫۱ میلی گرم در میلی لیتر NOR محاسبه شده است که تقریباً ۲٫۱ برابر بیشتر از MNIPs NPs (۶٫۳ میلی گرم در گرم) است. در پایان، زمان سنتز MMIPs NPs در حدود ۱۳ ساعت و زمان جداسازی ۱ ساعت با عملکرد حداکثر یعنی بیشترین ظرفیت جذب و جداسازی و

انتخاب کنترل شده گزارش شد. همچنین از این بررسی‌ها نتیجه گرفتند که از این گونه MIPS نه تنها یکبار مصرف نیستند بلکه می‌توانند حداقل ۶ بار دیگر مورد استفاده مجدد قرار دهند (Cao 2021).

۳-۶- پنی‌سیلین‌ها

پنی‌سیلین‌ها یکی از گسترده‌ترین و از قدیمی‌ترین داروهای ضد باکتری هستند. این خانواده وسیع از آنتی‌بیوتیک‌ها شامل آمپی‌سیلین (AMP)، آموکسی‌سیلین (AMX)، اکسالین (OXA)، پنی‌سیلین G (PEN G) است که در بین آن‌ها، AMP و AMX بیشترین طیف عملکرد را دارند. بر طبق استانداردهای تعریف شده توسط اتحادیه اروپا، حداکثر میزان مجاز برای وجود AMP و AMX در نمونه‌های خوراکی و شیر، $4\mu g Kg^{-1}$ اعلام شده است. بر اساس بررسی‌های انجام شده توسط بیتاس و همکارش در سال ۲۰۱۸ (Bitas 2018)، MIP سنتز شده به روش توده‌ای با استفاده از AMP به عنوان مولکول قالب، متاکریلیک اسید (MAA) به عنوان مونومر و EGDMA به عنوان عامل شبکه‌ای کننده، قابلیت جداسازی و استخراج آمپی‌سیلین از شیر را تا بیش از ۹۵٪ دارد. این نتایج عموماً از روش آنالیز و شناسایی انواع مختلف کروماتوگرافی از جمله کروماتوگرافی مایع-جرمی به دست آمده است. در جدول زیر (جدول ۲)، روش‌های مختلف استخراج انواع آنتی‌بیوتیک‌ها از خانواده پنی‌سیلین به همراه میزان عملکرد و روش شناسایی مشاهده می‌کنیم (Aguilar 2020).

۴-۶- کلرامفنیکل (CLP)

این دارو نیز برای درمان طیف وسیعی از بیماری‌های عفونی در حیوانات و انسان‌ها استفاده می‌شود. اما به دلیل داشتن اثرات جانبی و بسیار منفی مانند کم‌خونی، سرطان خون، نارسایی مغز استخوان در انسان‌ها، سازمان بهداشت جهانی با همکاری سازمان بهداشت و غذا، وجود هر مقدار از این دارو را در مواد غذایی غیرقابل قبول و ممنوع اعلام کرده است. ولی به دلیل هزینه‌ی کم، در دسترس بودن و تاثیر بسیار زیاد در کنترل و رفع عفونت، همچنان در برخی از دامداری‌ها استفاده می‌شود. جلیلی و همکارش (Jalili 2020)، از پروب حساس به فلورسانس برای استخراج و شناسایی CLP در شیر توسط MIPS استفاده کرده‌اند. معایبی همچون صرف هزینه و زمان بیشتر، آماده‌سازی و سخت بودن تهیه‌ی نمونه در روش‌های قبلی مانند کروماتوگرافی باعث مطرح شدن این روش شد. در این روش به منظور نسبت سنجی پروب فلورسانس، از دو نقاط کربنی متفاوت با انتشار به رنگ‌های زرد و آبی استفاده کردند و در کنار آن از MIP سیلیکا به عنوان بخش شناسایی پروب بهره بردند. سپس میزان عملکرد این جداسازی را با استفاده از دستگاه FTIR بررسی کردند.

جدول ۲: کاربرد MIPS برای تعیین پنی‌سیلین‌ها در نمونه‌های شیر (برگرفته از Bitas 2018)

میزان باز یافت (%)	آنالیز استخراج	قالب-مونومر-پیوند دهنده	روش پلیمریزاسیون	ترکیب MIP	ماتریکس	آنالیت
۹۵ >	MISPE-HPLC-UV	AMP-MAA-EGDMA	پلیمریزاسیون توده‌ای	AMP-MIPs	شیر گاو	AMP
۷۰-۱۱۰	MISPE-LC-MS/MS	benzylpenicillin-MAA-TRIM	پلیمریزاسیون سوسپانسیون	benzylpenicillin-MIPs	شیر خام	Benzylpenicillin
۹۴-۱۰۱	MISPE-HPLC-DAD	2-biphenylpenicillin-EAMA-TRIM	-	2-biphenylpenicillin-MIPs	شیر	OXA, CLOX, DICLOX
۶۰-۹۱	MISPE-HPLC-MS/MS	NAFC-MAA-EGDMA	پلیمریزاسیون رسوبی	NAFC-MIPs	شیر خشک کودک	AMP, AMX, OXA, PEN G, PEN V, CLOX, DICLOX, NAFC
۷۰,۳-۷۸,۶	MSPE-LC-MS/MS	PENV-MAA-EGDMA	-	PEN V-MMIPs	شیر	PEN V, AMX, OXA
۷۷,۴-۹۰,۳	MSPD-HPLC-UV	penicilloic acid-MAA-EGDMA	-	penicilloic acid-SMIPs	شیر	penicilloic acid, penilloic acid

جدول ۳ بر اساس مقایسه روش نسبت سنجی فلورسانس، نسبت به روش های معمول دیگر ارائه شده است که نشان می دهد استخراج با استفاده از روش نسبت سنجی فلورسانس از دقت بسیار بالاتری ($0.025 \mu\text{g/L}^{-1}$) برای اندازه گیری میزان CLP برخوردار است:

جدول ۳: ویژگی های تحلیلی برخی از روش های گزارش شده برای کمیت سنجی CLP (برگرفته از Jalili 2020)

روش	میزان سطح تشخیص ($\mu\text{g/L}^{-1}$)	محدوده خطی ($\mu\text{g/L}^{-1}$)
ELISA	۰,۱	۰,۱ - ۰,۴
LC-MS/MS	۰,۱	۰,۴ - ۶۴
Voltammetry	۶,۵	۱۶,۱ - ۱۶۵۰
Triple-helix molecular switch	۰,۴	۱۶۱ - ۶۴۶
Photoelectrochemical apt sensor	۰,۲۶	۰,۶۵ - ۸۰,۷
Ratiometric fluorescence	۰,۰۳۵	۰,۱ - ۰,۳

در این تحقیقات از ترکیب پروب، قابلیت گزینش پذیری بسیار بالای MIP، حساسیت بالای روش نسبت سنجی و مزوپوروس سیلیکا برای بررسی میزان CLP در شیر استفاده شده است. از مزیت های این پروب می توان به زیست سازگار بودن و انتخاب پذیری بالای آن نسبت به آنتی بیوتیک ها اشاره کرد. همچنین نسبت شدت و قدرت متفاوت دو فلورسانس موجب تغییر رنگ از زرد به آبی شده که برای شناسایی سریع CLP بسیار مناسب است. همچنین این تست پایداری بسیار بالا و قابلیت تکرار پذیری را دارد. این بررسی نشان داد که این روش جدید برای تعیین میزان CLP علاوه بر موارد گفته شده، دارای مزایایی دیگر همچون استفاده راحت، هزینه کم، سریع با انتخاب پذیری بالا است (Jalili 2020).

۷- نتیجه گیری

به طور کلی MIPS به دلیل داشتن ویژگی انتخاب پذیری، می توانند به نوعی مولکول های هوشمند تلقی شوند که قابلیت شناسایی، جذب و جداسازی انتخابی دارند. علاوه بر این داشتن مزایایی همچون کم هزینه بودن، استفاده ی کمتر از حلال های آلی و در نتیجه کمتر شدن آسیب های زیست محیطی، پایداری، دقت بالا و صرفه جویی در زمان موجب شده که MIPS طیف وسیعی از کاربرد از جمله آزمایشگاهی و صنعتی تا مواد غذایی و دارویی را داشته باشد.

در این گزارش کاربرد MIPS در استخراج و جداسازی آنتی بیوتیک ها از محیط های کمپلکس نمونه های غذایی مانند شیر و روش های متفاوت ارائه شده برای جداسازی بررسی شد. یکی از روش های بررسی شده، روش نسبت سنجی فلورسانس است که یکی از دقیق ترین روش ها و با حساسیت بالاست که علاوه بر شناسایی سریع، زیست سازگار بوده و قابلیت تکرار پذیری را نیز دارد. بعد از آن به حساسیت و بالاتر بودن ظرفیت اتصال در MMIP NPs که جایگزین MIPS شده اند اشاره شده است که قابلیت استفاده حداقل تا ۶ بار دیگر آن ها را منحصر به فرد می سازد. در حالت کلی MIPS در مقایسه با مواد معمولی برای جداسازی که تنها یکبار قابل مصرف هستند، توانایی استفاده ی مجدد را دارند. همچنین با تغییر میزان نسبت های مولی اجزای تشکیل دهنده اعم از مونومر، مولکول قالب، عامل شبکه ای کننده، حلال و آغازگر می توان درصد عملکرد و بازده استخراج آن ها را وابسته به کاربرد مورد نظر کم و یا زیاد کرد و با پیدا کردن درصد بهینه و رعایت آن همواره شاهد بیشترین درصد عملکرد MIPS خواهیم بود.

امروزه به دلیل استفاده ی گسترده از MIPS این موضوع همچنان جنبه های جدید قابل تحقیق و مطالعه را دارد و در آینده ای نزدیک به سمت پلیمرهای طبیعی و کاملاً زیست سازگار پیش می رود. از جمله در زمینه ی شناسایی مواد توسط MIPS، می توان آن ها را به گونه ای ارتقا داد که مانند کاغذ pH تنها با تغییر رنگ وجود یا عدم وجود ماده ای خاص در مواد غذایی را نمایان سازد و یا مقدار حدودی آن را با احتمال بالایی تخمین بزند. همچنین می توان بسته بندی مواد غذایی را با استفاده از MIPS طوری طراحی کرد که بتوان مدت زمان طولانی تری مواد غذایی را نگهداری کرد و با جذب اکسیژن از اکسیداسیون آن ها جلوگیری کرد. کلیه موارد ذکر شده می تواند دریچه ای جدید برای پیشرفت در صنایع غذایی باز نموده و کیفیت محصولات غذایی و روش های فرآوری آن ها را بهبود بخشد.

1. Aguilar, J F, Miranda, J.M., Rodriguez, J.A., Paez-Hernandez, M.E., Ibarra, I.S. "Selective Removal of Tetracycline Residue in Milk Samples Using a Molecularly Imprinted Polymer." *Polymer Research* 26 (2020): 176.
2. Alvarez-lorenzo, C., Concheiro, A. *Handbook of Molecularly Imprinted Polymers*. Smithers Rapra Technology Ltd UK, 2013.
3. BelBruno, J.J. "Molecularly Imprinted Polymers." *Chem Rev* 119, no. 1 (2019): 94-119.
4. Bitas, D., Samanidou, V. "Molecularly Imprinted Polymers as Extracting Media for the Chromatographic Determination of Antibiotics in Milk." *Molecules* 23, no. 2 (2018): 316.
5. Cao, Y., Huang, Z., Luo, L., Li, J., Li, P., Liu, X.,. "Rapid and Selective Extraction of Norfloxacin from Milk Using Magnetic Molecular Imprinting Polymers Nanoparticles." *Food Chemistry* 353, no. 129464 (2021).
6. Cirillo, G., Iemma, F., Puoci, F., Parisi, O.I., Curcio, M., Spizzirri, U.G., Picci, N.,. "Imprinted Hydrophilic Nanospheres as Drug Delivery Systems for 5-Fluorouracil Sustained Release." *J. Drug Target* 17 (2009): 72-7.
7. Dan-Lian, H., Rong-Zhong, W., Yun-Guo, L., Guang-Ming, Z., Cui, L., Piao, X., Bing-An, L., Juan Juan, X., Cong, W., Chao, H.,. "Application of Molecularly Imprinted Polymers in Wastewater Treatment: A Review." *Environ. Sci. Pollut. Res* 22 (2015): 963-977.
8. Figueiredo, L., Erny, G. L., Santos, L., Alves, A. "Applications of Molecularly Imprinted Polymers to the Analysis and Removal of Personal Care Products: A Review." *Talanta* 146 (2016): 754-765.
9. Gharkhloo, M., Sajadi, S., Askari, F. "پژوهش و کاربردهای قالب مولکولی و پلیمرهای کوتاه بر پلیمرهای قالب مولکولی و کاربردهای آنها." *توسعه فناوری پلیمر ایران* ۲, no. 6 (2017): 67-76.
10. Hongyuan, Y., Kyung, H.R. "Characteristic and Synthetic Approach of Molecularly Imprinted Polymer." *Int. J. Mol. Sci*, 2006: 155-178.
11. Jalili, R., Khataee, A. "Application of Molecularly Imprinted Polymers and Dual-Emission Carbon Dots Hybrid for Ratiometric Determination of Chloramphenicol in Milk." *Food and Chemical Toxicology* 146, no. 111806 (2020).
12. Mattiasson, B., Ye, L. *Molecularly Imprinted Polymers in Biotechnology*. Springer International Publishing Switzerland, 2015.
13. Mosbach, K., Haupt, K. "Some New Developments and Challenges in Non-Covalent Molecular Imprinting Technology." *J Mol Recognit*. 11, no. 1-6 (1998): 62-8.
14. Poma, A., Brahmabhatt, H., Watts, J. K., Turner, N.W. "Nucleoside-Tailored Molecularly Imprinted Polymeric Nanoparticles (MIP NPs)." *Macromolecules*, 47 (2014): 6322-6330.
15. Schirhagl, R.,. "Bioapplications for Molecularly Imprinted Polymers." *Anal. Chem*. 86 (2014): 250-261.
16. Takeuchi, T., Hayashi, T., Ichikawa, S., Kaji, A., Masui, M., Matsumoto, H., Sasao, R. "Molecularly Imprinted Tailor-Made Functional Polymer Receptors for Highly Sensitive and Selective Separation and Detection of Target Molecules." *Chromatography* 37, no. 2 (2016): 43-64.
17. Villa, C.C., Sánchez, L.T., Valencia, G.A., Ahmed, S., Gutiérrez, T.J. "Molecularly Imprinted Polymers for Food Applications: A Review." *Trends in Food Science & Technology* 111 (2021): 642-669.
18. Wackerlig, J., Schirhagl, R. "Applications of Molecularly Imprinted Polymer Nanoparticles and Their Advances toward Industrial Use: A Review." *Anal Chem* 88, no. 1 (2016): 250-61.
19. Wulff, G.,. "Enzyme-Like Catalysis by Molecularly Imprinted Polymers." *Chem Rev* 102, no. 1 (2002): 1-27.
20. Wulff, G., Oberkobusch, D., Minárik, M.,. "Enzyme-Analogue Built Polymers, 18 Chiral Cavities in Polymer Layers Coated on Wide-Pore Silica." *Reactive Polymers, Ion Exchangers, Sorbents* 3, no. 4 (1985): 261-275.
21. Yoshikawa, M., Tharpa, K., Dima, Ş.O., "Molecularly Imprinted Membranes: Past, Present, and Future." *Chem. Rev*. 116 (2016): 11500-11528.

