

سنتز الکتروشیمیایی NiAILDH و کاربرد الکتروکاتالیزگری آن برای اندازه‌گیری آمینو

اسید ال - سیستئین

علی غفاری نژاد*، مهدی قائد رحمتی، راضیه صلاح اندیش

آزمایشگاه آنالیز نمونه‌های حقیقی، دانشکده شیمی، دانشگاه علم و صنعت ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۸/۰۸

تاریخ تصحیح: ۹۷/۰۳/۲۲

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۴/۱۸

چکیده

الکتروکاتالیز پلاتین اصلاح شده توسط فیلم $NiAILDH$ ($Pt/NiAILDH$) به منظور اندازه‌گیری آمینو اسید ال - سیستئین ($L-Cys$) مورد استفاده قرار گرفت. $Pt/NiAILDH$ برای اکسایش $L-Cys$ فعالیت کاتالیستی خوبی نشان داد. اکسایش $L-Cys$ در پتانسیل‌های خیلی کمتر از الکتروکاتالیز پلاتین اصلاح نشده، در حدود ۵۰۰ میلی ولت رخ می‌دهد. جریان پیک اکسایش به غلظت $L-Cys$ وابسته است، گستره‌ی خطی غلظت به دست آمده برای اندازه‌گیری $L-Cys$ توسط این حسگر برابر 1×10^{-7} تا $2/5 \times 10^{-4}$ مولار و حد تشخیص تجربی به دست آمده برابر 1×10^{-7} مولار است. الکتروکاتالیز پیشنهادی برای اندازه‌گیری $L-Cys$ در نمونه دارویی مورد استفاده قرار گرفت. این الکتروکاتالیز اصلاح شده ارزان است و به صورت سریع و آسان تهیه می‌شود.

کلمات کلیدی: $NiAILDH$ ، $Pt/NiAILDH$ ، ال - سیستئین.

۱ - مقدمه

ال - سیستئین ($L-Cys$) یک آمینو اسید گوگرددار است که نقش مهمی در سامانه‌های زیستی دارد [۱-۳]. به علاوه این ماده نقش مهمی در ارتباط بین سلول‌های سامانه ایمنی ایفا می‌کند [۴]. کمبود سیستئین در بدن موجب مشکلات و بیماری‌های زیادی در آن می‌شود. از این رو اندازه‌گیری این ترکیب با حساسیت بالا یکی از موارد مهم در مسیر مطالعات زیستی است و توسعه روش‌های تعیین مقدار آن برای اهداف بالینی و تجاری دارای اهمیت است [۵ و ۶]. تاکنون روش‌های مختلفی برای اندازه‌گیری $L-Cys$ گزارش شده، که به سه روش کلی طیف‌سنجی، کروماتوگرافی و الکتروشیمی طبقه‌بندی می‌شوند [۶-۹]. از میان این روش‌ها، روش الکتروشیمیایی به دلیل سرعت پاسخ، سادگی، ارزان بودن و حساسیت خوب مورد توجه خاصی می‌باشد [۱۰-۱۲].

در روش الکتروشیمیایی به دلیل حساسیت کم الکترودهای معمول، از الکترودهای اصلاح شده استفاده می‌کنند [۲ و ۱۶-۱۳]. در این تحقیق برای تعیین مقدار ال-سیستین، روش الکتروشیمیایی مورد استفاده قرار گرفت که به دلیل خصوصیات هیدروکسیدهای لایه‌ای دوگانه^۱ (LDH)، به منظور اصلاح الکترودها از این نوع ماده استفاده شد [۱۷-۱۹].

۲- بخش تجربی

۲-۱ مواد و تجهیزات

تمامی مواد استفاده شده در این تحقیق اعم از آلومینیوم نیترات نه آبه، نیکل نیترات شش آبه، پتاسیم نیترات، هیدروکسید سدیم، فسفریک اسید، L-Cys، آسکوربیک اسید، اوریک اسید، دی پنیسیل آمین، گلوکز، اتانول و نیتریک اسید با درجه خلوص تجزیه‌ای بوده و از شرکت مرک تهیه شدند. ضمن اینکه در طول تحقیق جهت تهیه محلول‌ها و شست‌وشو از آب بدون یون (DI) استفاده شد. برای تنظیم pH محلول‌های سدیم هیدروکسید و فسفریک اسید ۰/۱M مورد استفاده قرار گرفتند. آزمایش‌های الکتروشیمیایی با استفاده از دستگاه AutoLab کنترل شده با نرم‌افزار Nova ۱/۷ انجام گرفت که مجهز به سامانه سه الکترودی شامل الکتروده نقره/نقره کلرید (Ag/AgCl) (پر شده با محلول ۳M از KCl) به عنوان الکتروده مرجع، میله پلاتین به عنوان الکتروده کمکی و الکتروده صفحه پلاتینی اصلاح شده با قطر ۲ میلی‌متر به عنوان الکتروده کار بود. کلیه آزمایش‌ها در دمای اتاق انجام گرفتند.

۲-۲ تهیه‌ی حسگر Pt/NiAILDH

برای تهیه الکتروده Pt اصلاح شده با هیدروکسید دولایه نیکل - آلومینیوم (Pt/NiAILDH)، ابتدا سطح الکتروده از آلودگی‌ها پاک شد و سپس با استفاده از روش الکتروشیمی (کرونوآمپرومتری) فیلم NiAILDH بر روی سطح نشانده شد. در ادامه این مراحل به‌طور مفصل توضیح داده می‌شود.

۲-۲-۱ آماده‌سازی سطح الکتروده کار پلاتین

قبل از انجام عمل اصلاح، سطح الکتروده کاملاً صیقل داده و تمیز شد. برای این کار ابتدا برای حذف اثرات حافظه و ناخالصی‌ها، الکتروده کار پلاتین در دستگاه حمام فرا صوت درون محلول ۰/۱M HNO₃ به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد و توسط آب DI شسته شد. سپس سطح الکتروده با پودر آلومینا صیقل داده شد و بعد از آن در حمام فرا صوت به مدت ۵ دقیقه درون محلول ۱:۱ اتانول و آب DI قرار داده شد و قبل از استفاده در هوای اتاق خشک شد.

۲-۲-۲ سنتز الکتروشیمیایی فیلم NiAILDH بر روی سطح الکتروده پلاتین

اصلاح الکتروده با تشکیل فیلم NiAILDH بر روی سطح الکتروده پلاتین با روش کرونوآمپرومتری در سامانه سه الکترودی تک

¹Layered double hydroxides

محفظه‌ای در محلولی از نیترات‌های آلومنیوم، نیکل و پتاسیم با اعمال پتانسیل کاتدی تک پالسی ۰/۹V- نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl به مدت ۶۰s صورت گرفت [۲۰]. محلول مورد استفاده شامل ۳۰mM از نمک‌های نیترات نیکل و آلومینیوم با نسبت مولی سه به یک (2.5mM Al(NO₃)₃·9H₂O، 7.5mM Ni(NO₃)₂·6H₂O) به عنوان عناصر تشکیل دهنده فیلم LDH و ۳۰۰mM پتاسیم نیترات به عنوان الکترولیت کمکی بود. بعد از تشکیل فیلم بر روی سطح Pt، الکتروود با آب DI شستشو داده شد.

۲-۳ اندازه‌گیری الکتروشیمیایی L-Cys

برای اندازه‌گیری الکتروشیمیایی L-Cys از روش ولتامتری روبش خطی^۱ (LSV) استفاده شد. اما قبل از اندازه‌گیری با این روش، جهت تثبیت جریان زمینه که همان ولتاموگرام مربوط به LDH می‌باشد، ابتدا با سرعت روبش ۲۰۰mV.s⁻¹ و در دامنه پتانسیل ۰ تا ۰/۸ V تعدادی چرخه‌ی پتانسیل اعمال شد و بعد از ثبات پیک‌های ردوکس مربوط به الکتروود Pt/NiA/LDH در محلول الکترولیت کمکی ۰/۱ M NaOH، جریان زمینه با روش LSV و با سرعت روبش ۱۰۰mV.s⁻¹ در همان دامنه پتانسیل ثبت شد. سپس جریان مربوط به محلول L-Cys در سود ۰/۱ M اندازه‌گیری و تفاوت جریان قبل و بعد از حضور این آمینو اسید اندازه‌گیری شد.

۱-۳-۲ بررسی عوامل مؤثر بر اندازه‌گیری L-Cys

فاکتورهای مؤثر بر اندازه‌گیری L-Cys توسط روش یک متغیر در زمان بهینه شدند. در این پژوهش اثر pH محلول اندازه‌گیری، دامنه پتانسیل روبش و هم‌چنین سرعت روبش بررسی شدند.

۲-۳-۲ رسم منحنی کالیبراسیون

برای به‌دست آوردن غلظت محلول مجهول، پس از انتخاب pH بهینه، سرعت روبش پتانسیل و دامنه پتانسیل مناسب، از منحنی کالیبراسیون لگاریتم جریان بر حسب لگاریتم غلظت استفاده شد. برای رسم منحنی غلظت‌های ۱×۱۰^{-۷} تا ۲/۵×۱۰^{-۴} مولار L-Cys مورد بررسی قرار گرفت.

۳-۳-۲ بررسی اثر مزاحمت‌ها در محلول اندازه‌گیری

در بررسی مزاحمت‌ها، شدت جریان محلول‌های آسکوربیک اسید، اوریک اسید، دی‌پنسیل‌آمین و گلوکز اندازه‌گیری شد.

۴-۲ نمونه واقعی

پس از بهینه‌سازی شرایط، اندازه‌گیری نمونه واقعی در این شرایط انجام شد. برای انجام آزمایش نمونه واقعی، از قرص جوشان

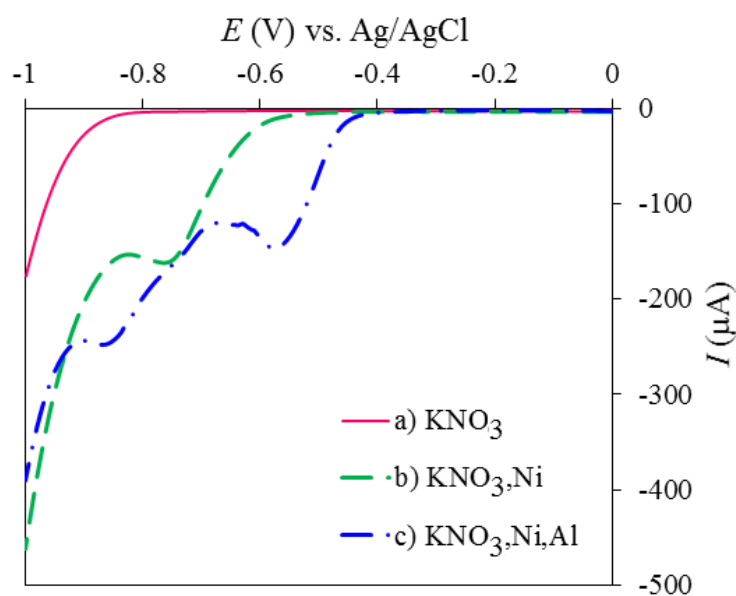
^۱ Linear sweep voltammetry

حاوی استیل سیه سنتین^۱ فلویمو سیل^۲ ۶۰۰ میلی گرم شرکت زامبون استفاده شد. برای این منظور سه عدد قرص جو شان استیلیسیستین توزین گردید. با تقسیم وزن به دست آمده بر سه، میانگین وزن یک عدد قرص به دست آمد. پس از آن قرص‌ها در هاون چینی آسیاب و کاملاً پودر شدند. پودر به دست آمده از قرص‌ها به خوبی با هم مخلوط گردید. سپس پودر لازم برای تهیه محلول 1×10^{-2} مولار از استیلیسیستین محاسبه و توزین و در ۰/۱ مولار NaOH حل گردید. از این محلول، محلول‌هایی با غلظت‌هایی که در محدوده‌ی خطی منحنی کالیبراسیون قرار داشت تهیه شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱ سنتز الکتروشیمیایی فیلم NiAILDH بر روی سطح الکتروود پلاتین

شکل ۱ ولتاموگرام LSV گرفته شده در حضور کاتیون‌های مورد استفاده (نیکل و آلومینیوم) در ساختار LDH و الکتروولیت مورد نیاز برای این الکتروسنتز (KNO_3) را در راستای تشکیل LDH نشان می‌دهد. همان‌طور که در منحنی c شکل ۱ مشاهده می‌شود پتانسیل تشکیل NiAILDH حدود ۰/۹- ولت است. تشکیل فیلم NiAILDH با اعمال پتانسیل به روش کروئوآمپرومتری بر روی الکتروود پلاتین انجام شد.



شکل ۱. LSV گرفته شده با روبش پتانسیل از ۰ تا -۱V و سرعت روبش $10 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ در محلول KNO_3 .

(a) KNO_3 ، (b) KNO_3/Ni و (c) $KNO_3/Ni,Al$

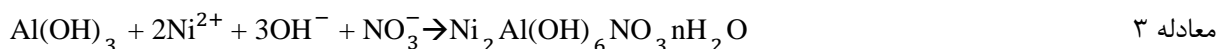
غلظت نمک‌های نیترات، پتانسیل اعمالی و مدت زمان اعمال پتانسیل بر ضخامت و کیفیت فیلم و در نتیجه هدایت مواد مؤثر است. که در این تحقیق این عوامل با توجه به شرایط بهینه انتخاب شده در مرجع [۲۰] انتخاب شده‌اند.

¹Acetylcysteine

²Fluimucil

۳-۱-۱ مکانیسم سنتز الکتروشیمیایی فیلم NiALDH

مکانیسم سنتز الکتروشیمیایی فیلم NiALDH بر روی سطح الکتروود صفحه پلاتینی را می‌توان به صورت زیر توصیف کرد:

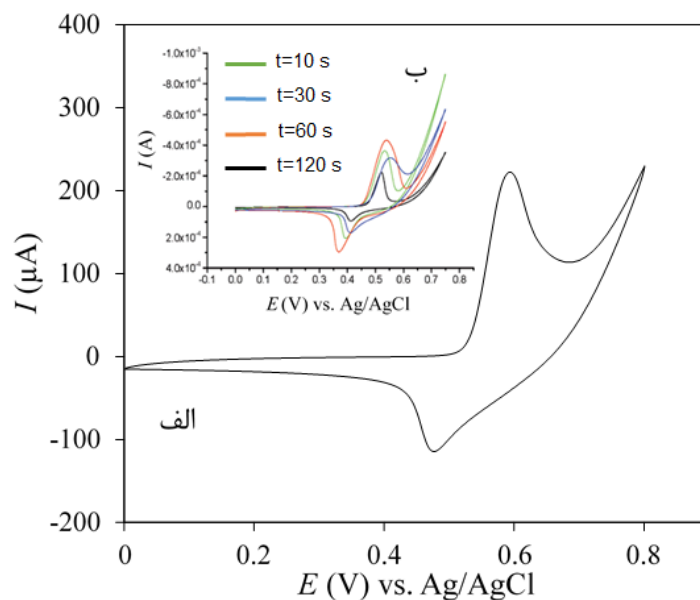


پس از مرحله‌ی اول و تولید OH^- ، افزایش pH به صورت موضعی بر روی سطح الکتروود رخ می‌دهد. در ابتدا قبل از اعمال پتانسیل pH سطح الکتروود حدود ۳٫۸ است که با اعمال پتانسیل و تولید یون هیدروکسید بر روی سطح الکتروود pH سطح الکتروود افزایش می‌یابد، OH^- موجود در محیط موجب رسوب یون آلومینیم و نیکل بر روی سطح و تشکیل لایه‌ی LDH می‌شود [۲۱ و ۲۲].

۳-۲ خصوصیات NiALDH سنتز شده

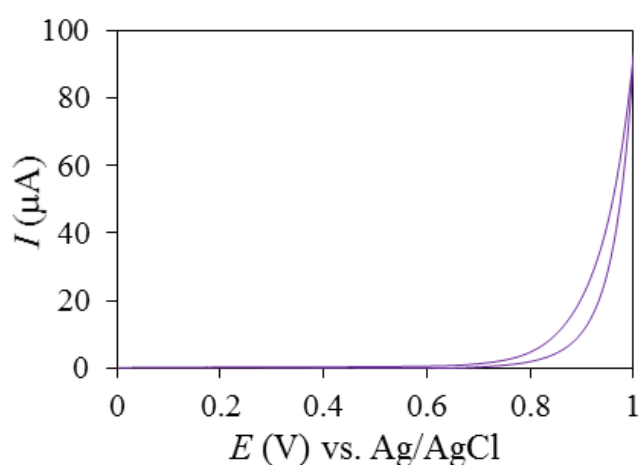
۳-۲-۱ مطالعه فرآیند اکسایش-کاهش NiALDH

پس از اصلاح الکتروود پلاتین به منظور بررسی رفتار الکتروشیمیایی الکتروود اصلاح شده، در محلول ۰٫۱ مولار NaOH توسط NiALDH، ولتامتری چرخه‌ای با روبش پتانسیل از ۰ تا ۰٫۸ ولت و سرعت روبش 100 mVs^{-1} گرفته شد و ولتاموگرام آن با مرجع [۲۰] مطابقت داده شد.



شکل ۲. الف) ولتامتری چرخه‌ای الکتروود اصلاح شده با روبش پتانسیل از ۰ تا ۰٫۸ ولت و سرعت روبش 100 mVs^{-1} در محلول ۰٫۱ مولار NaOH، ب) ولتامتری چرخه‌ای مربوط به مرجع [۲۰] در محلول ۰٫۱ مولار NaOH با روبش پتانسیل از ۰ تا ۰٫۸ ولت و سرعت روبش 20 mVs^{-1} (زمان‌های مختلف اعمال پتانسیل در کروئوآمپرومتری و تشکیل فیلم و تأثیر آن بر موقعیت پیک‌ها در ولتاموگرام CV را نشان می‌دهد).

شکل ۲ ولتاموگرام چرخه‌ای LDH را در محلول NaOH ۰٫۱ مولار نشان می‌دهد. در منحنی دو پیک اکسایش-کاهش (پیک اکسایش در محدوده ۰٫۵۹۷ V و پیک کاهش در محدوده ۰٫۴۸۷ V مشاهده می‌شود. موقعیت پیک‌ها بسته به غلظت نمک‌های نیترات، پتانسیل اعمالی و مدت زمان اعمال پتانسیل در کروئوآمپرومتری، سرعت روبش و غلظت الکترولیت در ولتامتری چرخه‌ای متغیر است. در شکل ۲ (ب) زمان‌های مختلف اعمال پتانسیل و تأثیر آن‌ها بر موقعیت پیک‌های اکسایش-کاهش مشاهده می‌شود. در شکل ۳ ولتاموگرام چرخه‌ای الکتروکاتالیز شده پلاتین نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود هیچ‌گونه پیک اکسایش یا کاهشی در این ولتاموگرام دیده نمی‌شود. که نشان دهنده عدم کارایی الکتروکاتالیز پلاتین به خودی خود و بدون اصلاح سازی می‌باشد.



شکل ۳. ولتامتری چرخه‌ای با استفاده از الکتروکاتالیز پلاتین برهنه با روبش پتانسیل از ۰ تا ۱ ولت و سرعت روبش 100 mVs^{-1} در محلول ۰٫۱ مولار NaOH.

۱-۲-۳ مکانیسم اکسایش-کاهش NiAILDH در محیط بازی

NiAILDH در محیط بازی با اعمال پتانسیل دچار واکنش‌های اکسایش و احیا می‌شود که می‌تواند به صورت زیر نشان داده شود:



وقتی که پتانسیل آندی اعمال می‌شود در طول لایه‌های LDH انتقال بار درون مواد ناشی از مکانیسم پرش-الکترون^۱ انجام می‌شود و در نتیجه‌ی آن، مهاجرت آنیون از محلول به درون لایه‌ها برای خنثی کردن بار مثبت اضافی صورت می‌گیرد [۲۰].

۳-۲-۲ مطالعه مقاومت انتقال الکترون بر روی Pt/NiAILDH

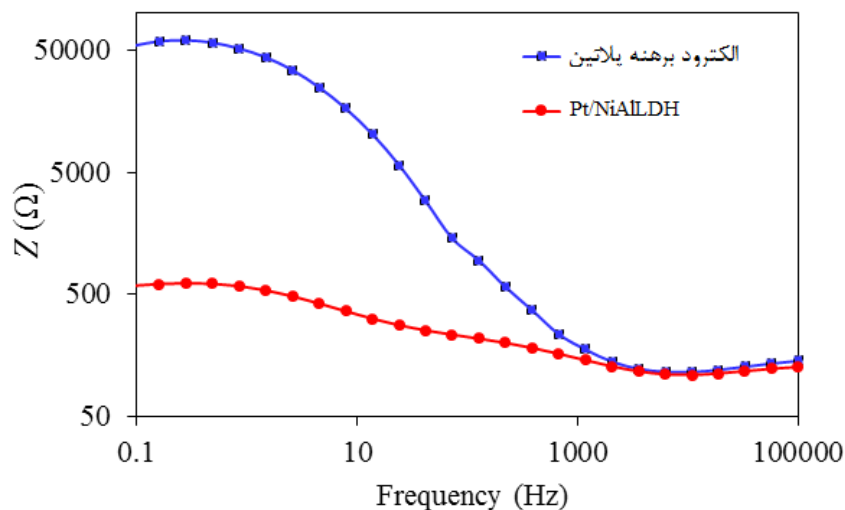
طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی^۲ (EIS) نشان‌دهنده تغییرات امپدانس سطح الکتروکاتالیز توسط فرآیند اصلاح است. در این تحقیق مقاومت انتقال الکترون بین الکتروکاتالیز پلاتین اصلاح شده و الکتروکاتالیز پلاتین برهنه، مقایسه شد. شکل ۴ نمودار بد^۳ به دست

^۱Electron hopping

^۲Electrochemical impedance spectroscopy

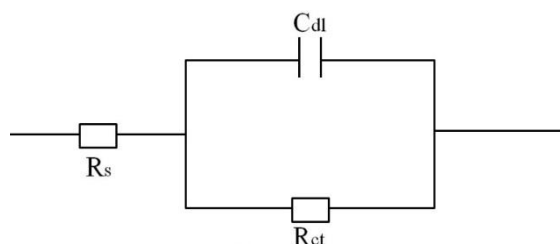
^۳Bode plot

آمده از اندازه‌گیری‌های امپدانس درون محلول ۰/۱ مولار NaOH و 1×10^{-4} مولار ال-سیستئین در حضور و عدم حضور فیلم LDH بر روی سطح الکتروود پلاتین را نشان می‌دهد. جهت اطمینان از انجام واکنش اکسایش NiAILDH در این آزمایش پتانسیل مستقیم (DC) اعمالی در ناحیه بعد از پیک اکسایش LDH انتخاب شد.^۱ R_s مقاومت محلول و R_{ct} مقاومت انتقال بار هستند.



شکل ۴. نمودار بد الکتروود برهنه پلاتین و Pt/NiAILDH (پتانسیل مستقیم اعمالی ۷۰۰ mV) درون محلول ۰/۱ مولار سود و 1×10^{-4} مولار L-Cys

همان‌طور که در شکل ۴ به وضوح دیده می‌شود، مقاومت انتقال بار در Pt/NiAILDH به‌طور قابل توجهی کمتر از الکتروود برهنه است. بنابراین امپدانس سطح الکتروود پس از اصلاح توسط LDH به مقدار بسیار زیادی کاهش و انتقال بار سریع‌تر و آسان‌تر شده است. این ویژگی Pt/NiAILDH برای حسگرها و کاتالیست‌های اکسایشی بسیار مهم و حیاتی است. الگوی مدار الکتریکی در شکل ۵ نشان داده شده است.



شکل ۵. الگوی مدار الکتریکی برای بررسی هدایت الکتریکی الکتروود پلاتین برهنه و اصلاح شده توسط LDH: C_{dl} ظرفیت لایه دوگانه

¹Solution resistant

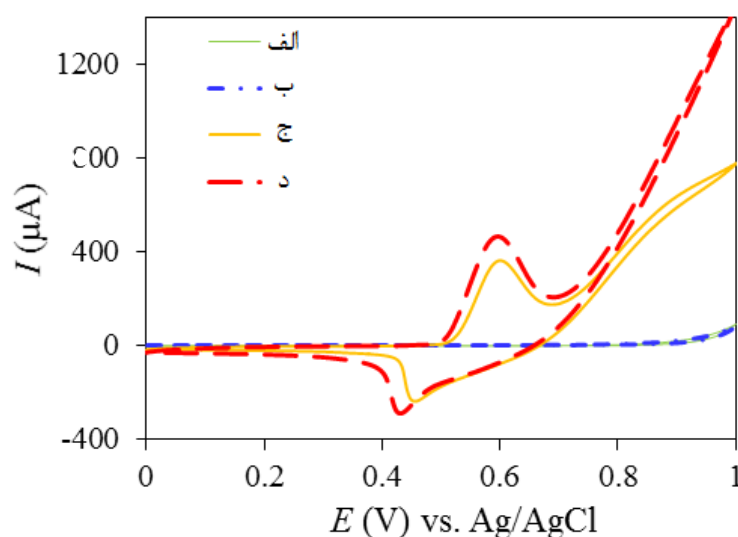
²Charge transfer resistant

۳-۳ اندازه‌گیری ال-سیستئین توسط حسگر Pt/NiAILDH

۳-۳-۱ مطالعه اکسیداسیون L-Cys به روش ولتامتری

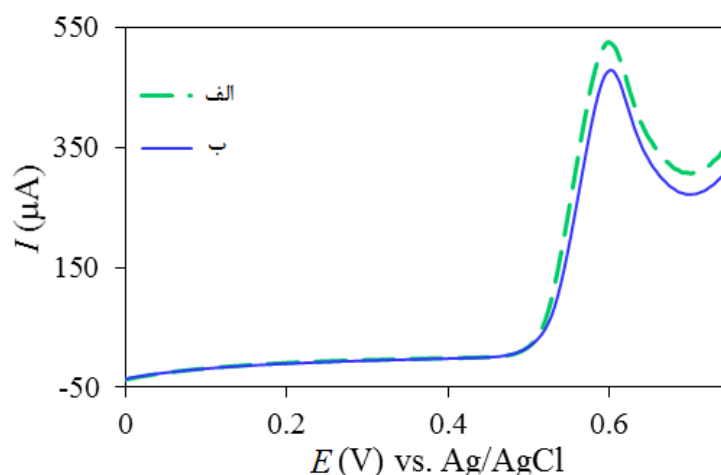
شکل ۶ ولتامتری چرخه‌ای به دست آمده از L-Cys با Pt/NiAILDH را نشان می‌دهد. منحنی ج شکل ۶ مربوط به ولتامتری چرخه‌ای به دست آمده در محلول ۰/۱ مولار NaOH است. حضور 1×10^{-4} مولار L-Cys در محلول موجب افزایش جریان در منحنی د شکل ۶ شده است. ولتامتری در محلول ۰/۱ مولار NaOH توسط روبش پتانسیل از ۰ تا ۱ ولت با سرعت روبش 100 mVs^{-1} گرفته شد.

برای مقایسه نتایج با الکتروود برهنه پلاتین، منحنی الکتروود برهنه پلاتین در حضور L-Cys (منحنی ب شکل ۶) و عدم حضور L-Cys (منحنی الف شکل ۶) آورده شده است. منحنی‌های الف و ب کاملاً بر روی هم منطبق هستند. این نتایج نشان دهنده تأثیر بسیار زیاد فیلم LDH بر انتقال الکترون و در نتیجه بر واکنش‌های اکسایش-کاهش است. در ولتاموگرام چرخه‌ای الکتروود اصلاح شده، پیک آندی در پتانسیل‌های مثبت‌تر نسبت به پیک کاتدی دیده می‌شود. با توجه به ΔE پیک اکسایش و کاهش و نامتقارن بودن جریان پیک اکسایش و کاهش و تأثیر سرعت روبش بر موقعیت پیک‌ها می‌توان نتیجه گرفت واکنش برگشت‌پذیر نیست.



شکل ۶ ولتامتری چرخه‌ای در محلول ۰/۱ مولار NaOH (محلول شاهد) در محدوده ۰ تا ۱ ولت با سرعت روبش 100 mV.s^{-1} توسط الکتروود برهنه پلاتین در محلول شاهد، ب) الکتروود برهنه پلاتین در حضور 1×10^{-4} مولار L-Cys، ج) الکتروود اصلاح‌شده در محلول شاهد و د) الکتروود اصلاح‌شده در حضور 1×10^{-4} مولار L-Cys

اکسایش L-Cys با استفاده از ولتامتری روبش خطی LSV انجام شد. در این آزمایش LSV در محلول ۰/۱ مولار NaOH در محدوده پتانسیل ۰ تا ۰/۷۵ ولت با سرعت روبش 100 mV.s^{-1} توسط Pt/NiAILDH در حضور و عدم حضور L-Cys با غلظت 1×10^{-4} مولار انجام شد. تصویر آن در شکل ۷ نشان داده شده است.



شکل ۷. LSV در محلول ۰/۱ مولار NaOH در محدوده پتانسیل از ۰ تا ۰/۷۵ ولت با سرعت روبش 100 mV.s^{-1} توسط Pt/NiAILDH در حضور

(الف) وعدم حضور (ب) 1×10^{-4} مولار L-Cys

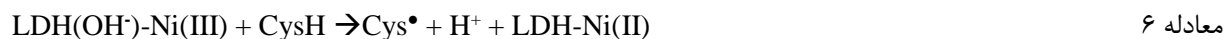
از این رو با توجه به شواهد می توان گفت Pt/NiAILDH برای اندازه گیری L-Cys حساس و مناسب است.

۳-۳-۲ مکانسیم اکسایش L-Cys

فرآیند اکسایش NiAILDH در محیط بازی (NaOH) در پتانسیل حدود ۰/۶ ولت می تواند به این صورت باشد:



جریان آندی حاصل را می توان به اکسایش گروه تیولی L-Cys با گونه فعال Ni(III) بر اساس معادله ۶ مرتبط دانست:



که در آن رادیکال L-Cys بر اساس معادله ۷ به محصول سیستین دimer می شود [۲۰]:



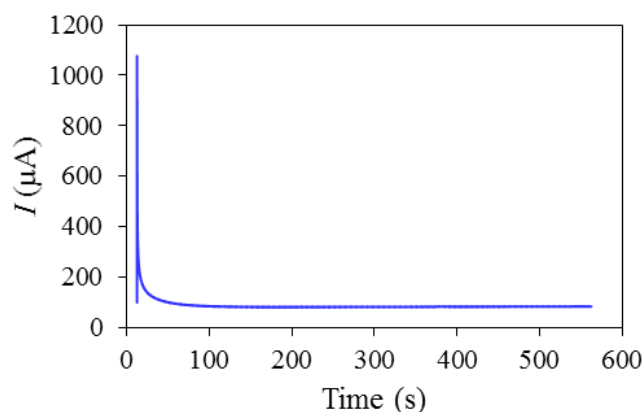
۳-۳-۳ مطالعه اکسیداسیون L-Cys به روش آمپرومتری

ویژگی جذاب الکتروکاتالیست پیشنهادی ما در پاسخ پایدار کروئوآمپرومتری به L-Cys است که در شکل ۸ پاسخ کروئوآمپرومتری

Pt/NiAILDH به 1×10^{-4} مولار L-Cys در محلول ۰/۱ مولار NaOH نشان داده شده است. اعمال پتانسیل تا مدت زمان ۵۵۰ s

ادامه داشت که جریان در این مدت ثابت و پایا بود، که نشان از پایدار بودن الکتروکاتالیست دارد. بنابراین Pt/NiAILDH می تواند به

عنوان ماده عالی الکتروکاتالیستی برای حسگر و در تعیین و اندازه گیری L-Cys استفاده شود.



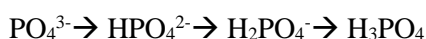
شکل ۸. کرومپروگرام ثبت شده با Pt/NiALDH با پتانسیل اعمالی برابر ۷۰۰mV و در محلول 1×10^{-4} مولار L-Cys حل شده در ۰٫۱ مولار NaOH.

۳-۴ بررسی عوامل تأثیرگذار بر اندازه‌گیری L-Cys

در این تحقیق برخی عوامل از جمله pH محلول اندازه‌گیری، دامنه پتانسیل اعمالی، سرعت روبش پتانسیل و تأثیر برخی ناخالصی‌ها، که بر اندازه‌گیری L-Cys تأثیرگذار بودند بررسی شدند. در تمام بررسی‌ها روش الکتروشیمیایی مورد استفاده برای آنالیز، روش LSV بود.

۳-۴-۱ بررسی pH محلول اندازه‌گیری

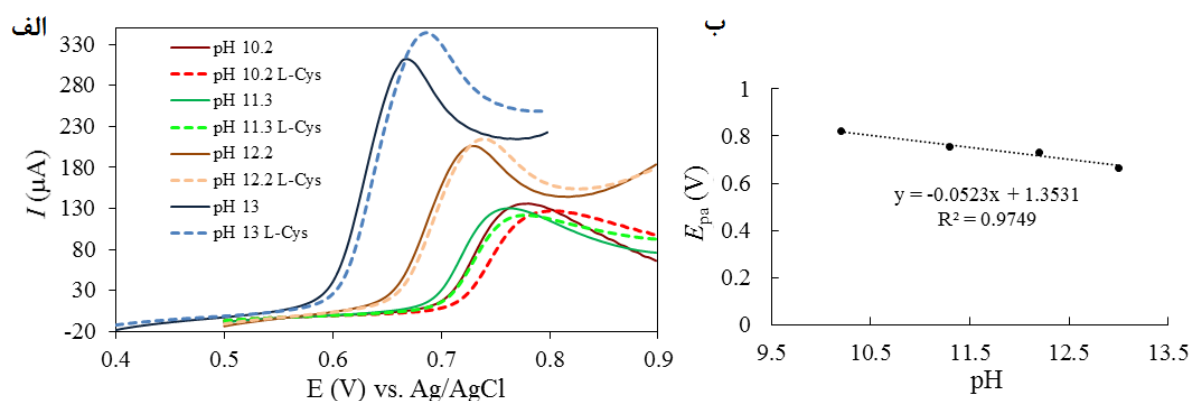
برای بررسی اثر pH بر رفتار الکتروشیمیایی Pt/NiALDH از بافر فسفات استفاده شد. همان‌طور که در معادله ۸ ملاحظه می‌شود، از آنجایی که اسید فسفریک در pHهای مختلف به صورت‌های مختلف دیده می‌شود، فعالیت‌های مختلفی دارد و از این رو بافرهای فسفات با pH متفاوت قدرت یونی مختلفی دارند. این فعالیت‌ها بر روی انتقال الکترولیت تأثیرگذار هستند.



معادله ۸

بنابراین شرایط و فعالیت الکترولیت در آزمایش‌های با pH مختلف تغییر می‌کند. که برای ثابت نگه‌داشتن این عامل و به منظور بی‌تأثیر کردن تغییرات فسفریک اسید و فعالیت گونه‌های مختلف اسید فسفریک، از KNO_3 با غلظت بالا (۰٫۵ مولار) برای تمامی بافرها استفاده شد.

از Pt/NiALDH در محلول‌هایی با pHهای مشخص (۱۰٫۲، ۱۱٫۳، ۱۲٫۲، ۱۳) و با سرعت روبش پتانسیل 100 mVs^{-1} ، در حضور و عدم حضور L-Cys، LSV گرفته شد. ولتاموگرام‌های حاصل از این بررسی در شکل ۹ نمایش داده شده است. از آنجا که مکانیسم اکسایش L-Cys در حضور OH^- پیش می‌رود و هم‌چنین ساختار LDH در pHهای اسیدی ناپایدار است، به همین دلایل از آزمایش در محیط‌هایی با pH پایین‌تر امتناع شد.



شکل ۹. الف) منحنی های LSV به دست آمده با استفاده از Pt/NiAILDH با سرعت روبش پتانسیل 100 mV.s^{-1} ، در محلول بافرهای ۱۰/۲، ۱۱/۳، ۱۲/۲، ۱۳ در حضور و عدم حضور 10^{-3} مولار L-Cys و ب) شکل نمودار موقعیت پیک اکسایش L-Cys در pH بافرهای مختلف اندازه گیری. منحنی های شکل ۹ نشان می دهد که در pH های ۱۰/۲ و ۱۱/۳ با اضافه شدن L-Cys در محیط جریان کاهش می یابد، بنابراین به هیچ عنوان pH های مناسبی برای اندازه گیری به شمار نمی آیند. اما با افزایش pH به سمت مقادیر قلیایی تر، اختلاف جریان (ΔI) پیک شاهد و L-Cys بیش تر و پتانسیل پیک به سمت مقادیر کم تر میل می کند.

نمودار شکل ۹ ب موقعیت پتانسیل پیک های اکسایش L-Cys را به وضوح نشان می دهد. با توجه به این که هرچه به سمت مقادیر قلیایی تر حرکت می کنیم پیک در موقعیت پتانسیل کم تری دیده می شود، بنابراین به پتانسیل کم تری احتیاج است و با توجه به این که در پتانسیل های کم تر مزاحمت های ناخالصی، مولکولی و یا یونی کمتری نسبت به مقادیر بیش تر پیش می آید، بنابراین pH مناسب محلول اندازه گیری ۱۳ انتخاب شد. در واقع علت جابه جایی پتانسیل به سمت مقادیر منفی تر مربوط به حضور OH^- در مکانیزم اکسایش NiAILDH می باشد طبق این مکانیسم ارتباط میان پتانسیل الکتروود و pH به صورت تئوری از رابطه زیر تبعیت می نماید:

$$E = k - (RT/2.303F) \text{ pH} = k - 0.0592 \text{ pH (at } 25^\circ \text{C)} \quad \text{معادله ۹}$$

که در این رابطه k مقداری ثابت، R ثابت گازها ($8.314 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$) و F ثابت فارادی (96485 C.mol^{-1}) می باشد.

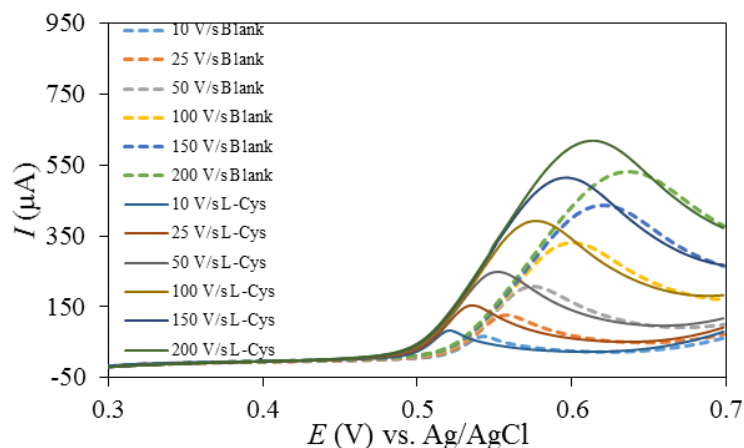
۳-۴-۲- بررسی دامنه پتانسیل اعمالی در LSV

برای بررسی اثر دامنه روبش پتانسیل در اندازه گیری L-Cys به روش LSV، اندازه گیری ها در دو دامنه ۰ تا ۰/۷ و ۰/۴ تا ۰/۷ ولت با سرعت روبش 100 mVs^{-1} انجام شد. برای این منظور یک مرتبه اندازه گیری در محلول سود ۰/۱ M و بار دیگر در محلول سود ۰/۱ M حاوی ۰/۱ mM L-Cys انجام شد که با توجه به بررسی انجام شده دامنه پتانسیل ۰ تا ۰/۷ مناسب بود.

۳-۴-۳- بررسی تأثیر سرعت روبش

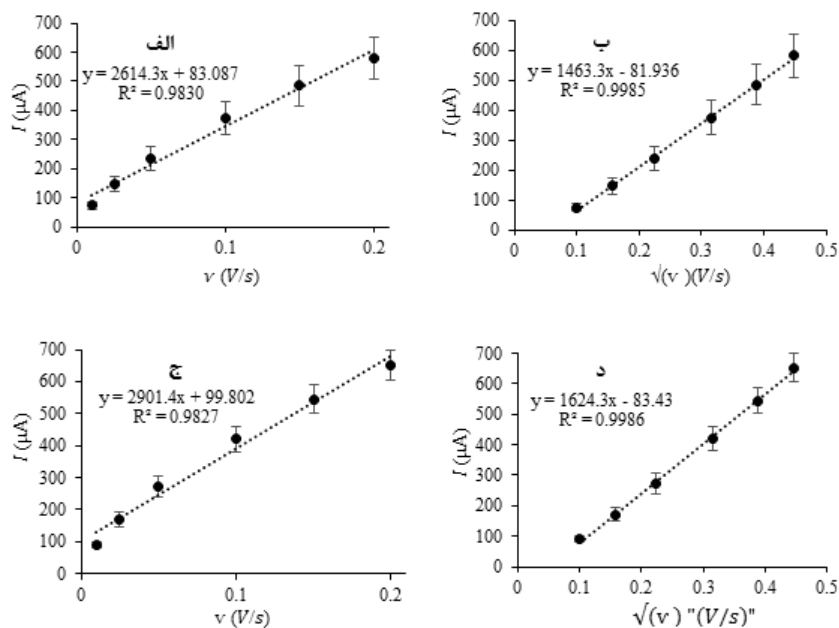
با افزایش سرعت روبش پتانسیل در LSV با استفاده از Pt/NiAILDH، علاوه بر افزایش ارتفاع پیک، موقعیت پیک نیز به

سمت مقادیر مثبت تر تغییر می کند. این تغییرات با استفاده از Pt/NiAILDH در محیط بازی و نیز حضور L-Cys در این محیط اتفاق می افتد. منحنی LSV این آزمایش، در شکل ۱۰ آورده شده است.



شکل ۱۰. LSV در محلول ۰٫۱ مولار NaOH با استفاده از Pt/NiAILDH توسط سرعت روبش پتانسیل متغیر از 10 m.Vs^{-1} تا 200 m.Vs^{-1} در حضور و عدم حضور L-Cys با غلظت 10^{-4} مولار

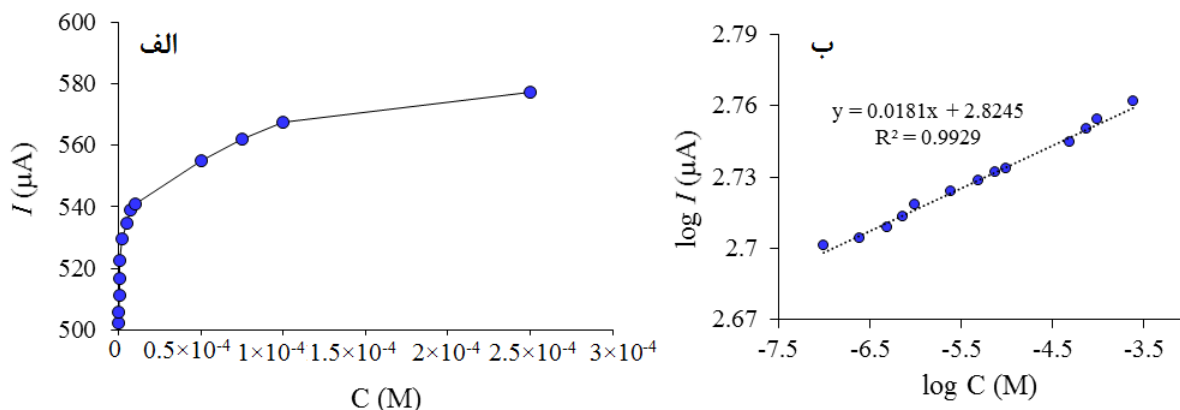
با توجه به تأثیر سرعت روبش (شکل ۱۰) بر موقعیت پیک اکسایش و با توجه به ΔE پیک اکسایش و کاهش و همچنین نامتقارن بودن جریان پیک اکسایش و کاهش در ولتاموگرام چرخه‌ای (شکل ۲) می‌توان نتیجه گرفت واکنش برگشت پذیر نیست. در این تحقیق جریان پیک آندی در محیط بازی و همچنین افزودن L-Cys به این محیط، نسبت به سرعت روبش پتانسیل و جذر سرعت روبش پتانسیل بررسی شد. نمودارهای به دست آمده در شکل ۱۱ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل دیده می‌شود، جریان در محلول NaOH با جذر سرعت روبش پتانسیل رابطه خطی دارد، که نشان از جذبی بودن مکانیسم واکنش Pt/NiAILDH در محیط بازی دارد. و با توجه به نمودار د شکل ۱۱ این رابطه در مورد واکنش‌های اکسایش L-Cys توسط Pt/NiAILDH نیز صدق می‌کند.



شکل ۱۱. جریان پیک آندی Pt/NiAILDH در محیط بازی نسبت به سرعت روبش پتانسیل (الف)، و جذر سرعت روبش پتانسیل (ب). جریان پیک آندی Pt/NiAILDH در حضور 10^{-4} مولار L-Cys در محیط بازی نسبت به سرعت روبش پتانسیل (ج)، و جذر سرعت روبش پتانسیل (د).

۳-۵ رسم منحنی کالیبراسیون

پس از بررسی عوامل مؤثر بر اندازه‌گیری L-Cys، منحنی کالیبراسیون با شرایط بهینه رسم گردید. برای این منظور محلول های استاندارد L-Cys با غلظت‌های مختلف با استفاده از محلول 0.1 M NaOH مولار تهیه شد و سپس با استفاده از الکتروود اصلاح شده پلاتین (Pt/NiAILDH) با روش LSV مورد بررسی قرار گرفت. وابستگی پیک جریان اکسیداسیون L-Cys به غلظت آن در نمودار شکل ۱۲ الف نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود با افزایش غلظت، جریان نیز افزایش می‌یابد.



شکل ۱۲. الف) نمودار جریان برحسب غلظت L-Cys در محلول سود 0.1 M با استفاده از Pt/NiAILDH و روش LSV، ب) نمودار لگاریتم جریان برحسب لگاریتم غلظت L-Cys (دامنه روبش 0.7 V تا 0.7 V و سرعت روبش $10^{-4} \text{ mV.s}^{-1}$).

با توجه به عدم رابطه خطی مناسب میان غلظت و جریان، رابطه لگاریتمی میان جریان اکسیداسیون L-Cys و غلظت L-Cys بررسی شد. با استفاده از معادله ۱۰ ارتباط خطی میان لگاریتم جریان و غلظت با ضریب همبستگی $R^2=0/9929$ مشاهده شد. این رابطه با استفاده از لگاریتم رابطه ۱۱ به دست می‌آید [۲۳]. در شکل ۱۲ نمودار خطی لگاریتم جریان بر حسب لگاریتم غلظت L-Cys نشان داده شده است.

$$I = k C^n \quad \text{معادله ۱۰}$$

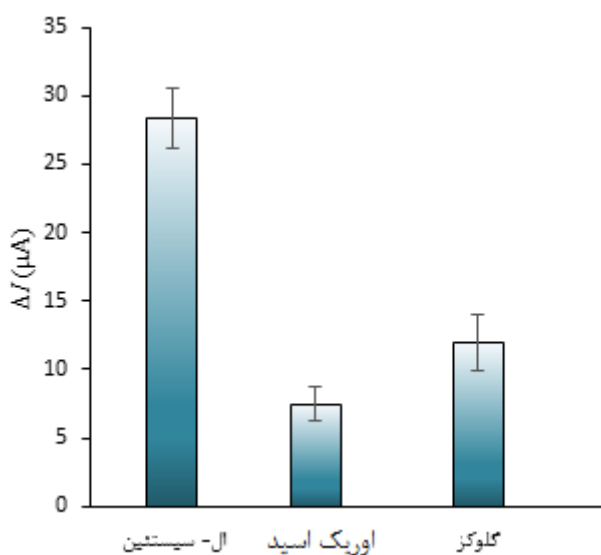
$$\log I = \log k + n \log C \quad \text{معادله ۱۱}$$

که در این معادله I پیک جریان، k ثابت سرعت واکنش، C غلظت محلول و n مرتبه واکنش است. با توجه به منحنی لگاریتمی، گستره‌ی خطی غلظت در محدوده‌ی 1×10^{-7} تا $2/5 \times 10^{-4}$ مولار قرار دارد. حد تشخیص^۱ (LOD) تجربی به دست آمده در این تحقیق برابر 1×10^{-7} مولار می‌باشد.

۳-۶ بررسی اثر ترکیبات مزاحم

ترکیباتی که دارای ساختار یا خواصی مشابه با L-Cys بودند و یا احتمال حضور آنها در محیط اندازه‌گیری این آمینو اسید وجود داشت، توسط روش پیشنهادی مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج آنها با L-Cys مقایسه شد. برای این منظور محلول استاندارد ترکیبات مورد نظر به صورت جداگانه با غلظت‌های 1×10^{-4} مولار با استفاده از محلول $0/1 \text{ NaOH}$ مولار تهیه شد، و سپس با استفاده از الکتروود اصلاح شده پلاتین (Pt/NiALDH) با روش LSV توسط روبش پتانسیل از ۰ تا $0/7$ ولت و سرعت روبش 100 mV.s^{-1} مورد اندازه‌گیری و بررسی قرار گرفت. از جمله این ترکیبات شامل گلوکز و اوریک اسید بودند، که نتایج آنها در نمودار ستونی شکل ۱۳ با L-Cys مقایسه شده است. در واقع با توجه به خصوصیات LDH و پاسخ الکتروشیمیایی این ماده به گونه‌های الکتروفعال، گزینش‌پذیری روش پیشنهادی نسبت به گونه‌های مزاحم بررسی شده نسبتاً خوب می‌باشد.

^۱Limit of detection



شکل ۱۳. نمودار ستونی اندازه‌گیری گونه‌های مختلف (گلوکز، اوریک اسید، و L-Cys) با استفاده از Pt/NiAILDH با روش LSV توسط روش پتانسیل از ۰ تا ۰/۷ ولت و سرعت روبش 100 mV.s^{-1} (نتایج میانگین ۳ مرتبه اندازه‌گیری می‌باشند)

۳-۷ اندازه‌گیری نمونه واقعی توسط Pt/NiAILDH

یکی از نمونه‌های واقعی که برای اندازه‌گیری L-Cys معمولاً استفاده می‌شود داروی استیل سیستین است که دارای فرمول $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}$ می‌باشد. برای انجام آزمایش‌های نمونه واقعی از قرص جوشان استیل سیستین تهیه شده از داروخانه استفاده و اندازه‌گیری تحت شرایط بهینه انجام شد. برای این منظور غلظت مورد نظر $2/5 \times 10^{-6}$ مولار از محلول قرص تهیه و سپس با استفاده از الکتروود اصلاح شده پلاتین (Pt/NiAILDH) با روش LSV مورد اندازه‌گیری و بررسی قرار گرفت. سپس به این محلول غلظت مشخصی از L-Cys اضافه و پس از همگن شدن محلول توسط همزن، طی شرایط قبلی نمونه اندازه‌گیری انجام شد. درصد بازیابی از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد بازیابی} = \frac{\text{غلظت بازیابی شده}}{\text{غلظت موجود}} \times 100$$

نتایج به دست آمده در جدول ۱ آورده شده است. همان گونه که نتایج نشان می‌دهد درصد بازیابی به دست آمده قابل قبول می‌باشد.

جدول ۱. نتایج اندازه‌گیری و بازیابی L-Cys

نمونه	اولیه (mol.L^{-1})	افزوده شده (mol.L^{-1})	بازیابی شده (mol.L^{-1})	درصد بازیابی (mol.L^{-1})
۱	$2/5 \times 10^{-6}$	—	$2/7 \times 10^{-6}$	۱۰۸
۲	$2/5 \times 10^{-6}$	$2/5 \times 10^{-6}$	$5/6 \times 10^{-6}$	۱۱۲

۴- نتیجه گیری

با توجه به اهمیت اندازه‌گیری L-Cys، در این تحقیق به بررسی حسگر جدیدی جهت اندازه‌گیری L-Cys با روش الکتروشیمیایی بر اساس اصلاح سطح الکتروود پلاتین توسط فیلم NiALDH پرداخته شد. از آنجایی که LDHها دارای مساحت سطح ویژه بزرگ و چگالی بار زیادی هستند، هادی الکتریکی خوبی می‌باشند، بنابراین برای اندازه‌گیری و اکسایش مواد الکتروفعال بسیار مفید بوده و برای استفاده در حسگر گزینه مناسبی هستند. گستره‌ی خطی به دست آمده‌ی این حسگر برای اندازه‌گیری L-Cys با ضریب همبستگی بالایی وسیع بوده و به دلیل ویژگی‌هایی همچون هزینه‌ی نسبتاً کم، روش آماده‌سازی و اندازه‌گیری آسان و سریع، پایداری بالا و تکرارپذیری قابل قبول، این حسگر قابلیت اندازه‌گیری گستره‌ی وسیعی از گونه‌های الکتروفعال را دارا می‌باشد.

تشکر و قدردانی

ما صمیمانه از حمایت‌های معاونت پژوهشی دانشگاه علم و صنعت ایران در اجرای این تحقیق قدردانی می‌نماییم.

۵- مراجع

- [1] S. Kazemi, H. Karimi-Maleh, R. Hosseinzadeh and F. Faraji, *Ionics*, **19** (2013) 933.
- [2] L. Pei, Z. Cai, Y. Pei, Y. Xie, C. Fan and D. Fu, *Russian Journal of Electrochemistry*, **50** (2014) 488.
- [3] MGF. Sales, A. Pille and PC. Paíga, *Analytical letters*, **36** (2003) 2925.
- [4] W. Dröge, H. Eck, H. Gmünder and S. Mihm, *The American journal of medicine*, **91** (1991) 140.
- [5] JB. Raof, R. Ojani and M. Kolbadinezhad, *Electroanalysis*, **17** (2005) 2043.
- [6] SM. Majd, H. Teymourian and A. Salimi, *Electroanalysis*, **25** (2013) 2201.
- [7] A. Abbaspour and A. Ghaffarinejad, *Electrochimica Acta*, **53** (2008) 6643.
- [8] I. Molnár-Perl, *Journal of Chromatography A*, **987** (2003) 291.
- [9] V. Concha-Herrera, J. Torres-Lapasió and M. García-Alvarez-Coque, *Journal of liquid chromatography & related technologies*, **27** (2005) 1593.
- [10] B. Uslu and SA. Özkan, *Electrochimica acta*, **49** (2004) 4321.
- [11] B. Nigović and B. Šimunić, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **31** (2003) 169.
- [12] P. Kannan and SA. John, *Biosensors and Bioelectronics*, **30** (2011) 276.

[۱۳] ستار احمدی، نغمه، مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، شماره ۱ (۱۳۹۲) ص ۳۰.

[۱۴] رحیم نژاد، مصطفی؛ زختاره، رزان؛ مقدم نیا، علی اکبر؛ اصغری، مریم، مجله شیمی کاربردی، شماره ۴۷ (۱۳۹۷) ص ۹۱.

[۱۵] توکلی، ناهید؛ سلطانی، نسرین؛ عطاران، عبدالمحمد؛ صلواتی، حسین؛ زمانی، سمیرا، مجله شیمی کاربردی، شماره ۴۶ (۱۳۹۷) ص

۲۴۹

[۱۶] عربعلی، وحید، مجله شیمی کاربردی، شماره ۴۰ (۱۳۹۵) ص ۹.

- [17] F. Li, X. Duan, Layered double hydroxides, Springer, (2006), 193.
- [18] DG. Evans and RC. Slade, Layered double hydroxides, Springer, (2006), 1.
- [19] J. He, M. Wei, B. Li, Y. Kang, DG. Evans and X. Duan, Layered double hydroxides, Springer, (2006), 89.
- [20] E. Scavetta, A. Mignani, D. Prandstraller and D. Tonelli, *Chemistry of Materials*, **19** (2007) 4523.
- [21] V. Prevot, C. Forano, A. Khenifi, B. Ballarin, E. Scavetta and C. Mousty, *Chemical Communications*, **47** (2011) 1761.
- [22] M. Li, F. Ni, Y. Wang, S. Xu, D. Zhang, S. Chen and L. Wang, *Electroanalysis*, **21** (2009) 1521.
- [23] MA. Rahim, RA. Hameed and M. Khalil, *Journal of Power Sources*, **134** (2004) 160.

