

به نام خدا



دانشکده شیمی

رساله دکتری شیمی تجزیه

طراحی و به کار گیری الکترودهای اصلاح شده شیمیایی برای اندازه گیری ولتامتری

برخی از ترکیبات دارویی

نگارنده: عطیه احمدی رسکتی

اساتید راهنما:

دکتر منصور عرب چم جنگلی

دکتر ناصر گودرزی

استاد مشاور:

دکتر قدمعلی باقریان دهقی

خرداد ۱۳۹۶

دانشکده : شیمی

گروه : تجزیه

رساله دکتری خانم عطیه احمدی رسکتی

تحت عنوان: طراحی و به کار گیری الکترودهای اصلاح شده شیمیایی برای اندازه گیری ولتامتری برخی از ترکیبات دارویی

در تاریخ ۱۳۹۶/۰۳/۰۱ توسط کمیته تخصصی زیر جهت اخذ مدرک دکتری ارزیابی گردید و با درجه بسیار خوب مورد پذیرش قرار گرفت.

امضاء	اساتید مشاور	امضاء	اساتید راهنما
	نام و نام خانوادگی: دکتر قدمعلی باقریان دهقی		نام و نام خانوادگی: دکتر منصور عرب چم جنگلی
			نام و نام خانوادگی: دکتر ناصر گودرزی

امضاء	نماینده تحصیلات تکمیلی	امضاء	اساتید داور
	نام و نام خانوادگی: دکتر مهدی میرزایی		نام و نام خانوادگی: دکتر فاطمه مصدرا لامور
			نام و نام خانوادگی: دکتر علیرضا اصغری
			نام و نام خانوادگی: دکتر سید حسن زوار موسوی

تقدیم بہ

پدر و مادر عزیزم

با سپاس صمیمانه خدمت استاد بزرگوار، جناب آقای دکتر منصور عرب چم جنگلی، که زحمت راهنمایی این رساله را برعهده داشتند و همواره از راهنمایی‌ها و نظرات ارزشمند ایشان بهره‌مند گشته‌ام.

با تشکر از استاد گرانقدر، جناب آقای دکتر ناصر گودرزی، که از راهنمایی‌های ارزنده‌شان طی انجام این رساله بهره گرفتم.

با قدردانی از استاد محترم، جناب آقای دکتر قدمعلی باقریان دهقی، که مشاوره این رساله را پذیرفتند و در مسیر پیشبرد آن بی‌دریغ مساعدت نمودند.

با سپاس فراوان و قدردانی از سرکار خانم دکتر فاطمه مصدralامور و جناب آقایان دکتر علیرضا اصغری و دکتر سید حسن زوار موسوی (اعضای محترم هیات علمی دانشگاه سمنان)، که زحمت مطالعه رساله اینجانب را با سعه صدر پذیرفته و با ارائه پیشنهادات و نظرات ارزنده جهت بهبود آن یاری رساندند.

با تشکر از جناب آقای دکتر مهدی میرزایی که در سمت نماینده تحصیلات تکمیلی زحمت مدیریت جلسه دفاع از رساله اینجانب را برعهده داشتند.

با سپاس فراوان از خانواده عزیز و مهربانم که همیشه مدیون لطف ایشان هستم.

صمیمانه‌ترین و خالصانه‌ترین مراتب سپاسگزاری خود را حضور دو گوهر ارزشمند زندگیم، پدر و مادر عزیزم، اعلام می‌دارم که لطف و حمایت بی‌دریغشان همواره حامی و مشوق من در پیمودن این مسیر بوده است. با تشکر فراوان از خواهر نازنین و برادرهای عزیزم که همیشه یاور و پشتیبان من بوده‌اند.

همچنین، از تمامی دوستان عزیزم در آزمایشگاه‌های تجزیه و سایر آزمایشگاه‌های تحقیقاتی شیمی، کلیه اساتید محترم و کارمندان زحمتکش دانشکده شیمی کمال تشکر را دارم.

تعهد نامه

اینجانب عطیه احمدی رسکتنی دانشجوی دوره دکتری رشته شیمی تجزیه دانشکده شیمی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده رساله طراحی و به کارگیری الکترودهای اصلاح شده شیمیایی برای اندازه گیری ولتامتری برخی از ترکیبات دارویی تحت راهنمایی دکتر منصور عرب چم جنگلی و دکتر ناصر گودرزی و مشاوره دکتر قدمعلی باقریان متعهد می شوم :

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است .
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است .
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است .
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است .
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .

امضای دانشجو

تاریخ

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج ، کتاب ، برنامه های رایانه ای ، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد . این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود .
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

چکیده

به کارگیری برخی از نانو مواد، مانند: نانو لوله‌های کربنی چند دیواره و نانو ذرات طلا، واسطه‌گرهای الکتروشیمیایی، نظیر متیل تیوراسیل و پلی آلیزارین قرمز S در اصلاح سطح الکترودهای کربن شیشه‌ای و خمیر کربن به منظور تهیه حسگرهای الکتروشیمیایی برای اندازه‌گیری ترکیبات دارویی مانند وراپامیل، جم فیروزیل و دوپامین بررسی شد.

در این راستا، الکتروده کربن شیشه‌ای با استفاده از نانو لوله‌های کربنی چند دیواره اصلاح و اکسایش الکتروشیمیایی و اندازه‌گیری وراپامیل در سطح این الکتروده اصلاح شده مطالعه گردید. نتایج نشان داد که اکسایش این ترکیب در سطح الکتروده اصلاح نشده یک دماغه اکسایشی ضعیف نشان می‌دهند، در حالیکه در سطح الکتروده اصلاح شده دماغه آندی تیزی با شدت جریان قابل ملاحظه مشاهده می‌شود. گستره خطی غلظتی روش در اندازه‌گیری وراپامیل با استفاده از ولتامتری چرخه‌ای و پالس تفاضلی $2/50-7000 \mu\text{mol L}^{-1}$ بدست آمد. حد تشخیص وراپامیل از طریق ولتامتری چرخه‌ای و پالس تفاضلی به ترتیب $2/00 \mu\text{mol L}^{-1}$ و $1/60 \mu\text{mol L}^{-1}$ به دست آمد. الکتروده اصلاح شده به عنوان حسگر الکتروشیمیایی برای اندازه‌گیری ولتامتری وراپامیل در نمونه‌های دارویی و نمونه‌های بیولوژیکی (مانند سرم خون) به کار گرفته شد.

الکتروده خمیر کربن با متیل تیوراسیل اصلاح شد و در اندازه‌گیری دوپامین به روش ولتامتری مورد استفاده قرار گرفت. حسگر الکتروشیمیایی تهیه شده به دلیل حضور اصلاحگر حاوی گروه عاملی نوکلئوفیل در پیکره‌ی خمیر کربن فعالیت الکتروکاتالیزوری بالایی نسبت به اکسایش دوپامین طی واکنش افزایش ۴,۱ مایکل نشان می‌دهد. رفتار الکتروشیمیایی دوپامین در سطح الکتروده خمیر کربن اصلاح شده با تیوراسیل توسط ولتامتری چرخه‌ای و کروئوکولومتری مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه، پارامترهای مهم توسط طراحی پلاکت-برمن تعیین و سپس توسط طراحی مکعب مرکز وجه پر بهینه شد. تحت شرایط بهینه گستره خطی غلظت و حد تشخیص روش به ترتیب $0/20-15/00 \mu\text{mol L}^{-1}$ و $73/00 \text{ nmol L}^{-1}$ با استفاده از ولتامتری برهنه سازی پالس تفاضلی جذب سطحی بدست آمد. توانمندی حسگر الکتروشیمیایی پیشنهادی برای اندازه‌گیری دوپامین در نمونه‌های حقیقی تایید شد.

سطح الکتروده کربن شیشه‌ای با استفاده از نانو لوله‌های کربنی چند دیواره اصلاح شد و سپس نانو ذرات طلا در سطح آن بطور الکتروشیمیایی تثبیت گردید. میکروسکوپ الکترونی روبشی، طیف بینی پراش انرژی پرتو ایکس و طیف بینی امپدانس الکتروشیمیایی برای بررسی ویژگی‌های سطح الکتروده کربن شیشه

اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی و نانو ذرات طلا مورد استفاده قرار گرفت. اندازه‌گیری جم فیبروزیل در سطح حسگر تهیه شده با استفاده از روش‌های ولتامتری برهنه سازی موج مربعی جذب سطحی و امپدیمتری مورد مطالعه قرار گرفت که گستره خطی غلظتی برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل به ترتیب $0.15-45/00 \mu\text{mol L}^{-1}$ و $0.10-45/00 \mu\text{mol L}^{-1}$ و حد تشخیص در روش ولتامتری $0.10 \mu\text{mol L}^{-1}$ و در روش امپدیمتری 0.10 nmol L^{-1} تعیین شد. در نهایت، توانمندی حسگر الکتروشیمیایی پیشنهادی برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل در نمونه‌های دارویی و بیولوژیکی مورد ارزیابی قرار گرفت.

یک حسگر الکتروشیمیایی بر پایه ترسیب فیلم پلیمری به روش الکتروشیمیایی، برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی، بر سطح الکترود کربن شیشه تهیه شد. در این روش از آلزارین قرمز S که یک رنگدانه است برای افزایش پخش شدن نانو لوله‌های کربنی در محیط‌های آبی استفاده شد. این پخش شدگی از طریق برهمکنش‌های غیرکووالانسی بین این رنگدانه‌ها با نانو لوله‌های کربنی اتفاق می‌افتد. ترکیب حاصله سپس به کمک روش ولتامتری چرخه‌ای بر سطح الکترود پلیمریزه شد. پس از تهیه الکترود اصلاح شده با فیلم پلیمری آلزارین قرمز S/ نانو لوله‌های کربنی، اندازه‌گیری جم فیبروزیل در سطح آن به روش ولتامتری پالس تفاضلی انجام شد. گستره خطی غلظتی و حد تشخیص برای اندازه‌گیری این آنالیت به ترتیب $1/00-22/00 \mu\text{mol L}^{-1}$ و $0.24 \mu\text{mol L}^{-1}$ محاسبه گردید. در نهایت، توانایی این حسگر برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل در نمونه‌های حقیقی سرم خون انسان، آب شهر و کپسول توسط روش ولتامتری پالس تفاضلی مورد بررسی قرار گرفت.

واژه‌های کلیدی:

نانو لوله‌های کربنی چند دیواره، متیل تیوراسیل، نانو ذرات طلا، فیبر کربن، افزایش ۴,۱ مایکل، امپدیمتری، پلی آلزارین قرمز، فیلم پلیمری، حسگر الکتروشیمیایی.

مقالات مستخرج از این رساله که در مجلات ISI، علمی پژوهشی و همایش ارائه شده است:

- 1- M. Arab Chamjangali, N. Goudarzi, G. Bagherian, A. Ahmadi Reskety, Development of a new electrochemical sensor for verapamil based on multi-walled carbon nanotube immobilized on glassy carbon electrode, Measurement 71 (2015) 23–30.
- 2- M. Arab Chamjangali, A. Ahmadi Reskety, N. Goudarzi, G. Bagherian, Methylthiouracil-modified carbon paste electrode as a new voltammetric sensor based on a 1,4-Michael addition reaction for detection of dopamine, Electroanalysis 27 (2015) 2708 –2717.

۳- عطیه احمدی رسکتی، منصور عرب چم جنگلی، ناصر گودرزی، قدمعلی باقریان، مجید سلامی، الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی چند دیواره و پلی آلیزارین قرمز S به‌عنوان حسگر ولتامتری جدید برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل، مجله نانو مواد-دانشگاه آزاد شاهرود- بهار ۱۳۹۶.

- 4- M. Arab Chamjangali, A. Ahmadi Reskety, N. Goudarzi, G. Bagherian, Synthesis and characterization of a novel impedimetric and voltammetric sensor for detection of gemfibrozil in pharmaceutical and serum samples. 23rd Iranian Seminar of Analytical Chemistry, August 2016, Sharif University of Technology, Tehran, Iran.

عنوان	فهرست مطالب	صفحه
فصل اول- مقدمه و تئوری.....	۱	۱
۱-۱ مقدمه.....	۲	۲
۲-۱ الکترودهای اصلاح شده شیمیایی (CMEs).....	۲	۲
۳-۱ طراحی الکترودهای اصلاح شده شیمیایی.....	۴	۴
۳-۱-۱ آماده سازی الکترودهای اصلاح شده.....	۴	۴
۳-۱-۱-۱ نوع بستر.....	۵	۵
۳-۱-۱-۲ اصلاح کردن بستر.....	۵	۵
۴-۱ مواد اصلاح کننده.....	۸	۸
۴-۱-۱ نانو لوله های کربنی و کاربرد آنها در الکتروشیمی.....	۹	۹
۴-۱-۲ نانو ذرات طلا و کاربرد آنها در الکتروشیمی.....	۱۲	۱۲
۴-۱-۳ واکنش های افزایش مایکل و کاربرد آنها در الکتروشیمی.....	۱۳	۱۳
۴-۱-۴ پلیمرهای هادی و کاربرد آنها در الکتروشیمی.....	۱۴	۱۴
۵-۱ بررسی خصوصیات الکترودهای اصلاح شده شیمیایی.....	۱۴	۱۴
۶-۱ اساس ایجاد سیگنال.....	۱۵	۱۵
۶-۱-۱ ولتامتری چرخه ای.....	۱۶	۱۶
۶-۱-۱-۱ مطالعه مکانیسم واکنش ها.....	۱۸	۱۸
۶-۱-۲ کروماتوگرافی.....	۲۰	۲۰
۶-۱-۳ طیف بینی امپدانس الکتروشیمیایی.....	۲۱	۲۱
۷-۱ طراحی آماری آزمایش.....	۲۲	۲۲
۷-۱-۱ خطوط راهنما برای طراحی آزمایش.....	۲۴	۲۴
۷-۱-۱-۱ درک و بیان مسئله.....	۲۵	۲۵
۷-۱-۱-۲ انتخاب متغیر پاسخ.....	۲۵	۲۵
۷-۱-۱-۳ انتخاب عامل ها، سطوح و دامنه ها.....	۲۵	۲۵
۷-۱-۱-۴ انتخاب طرح آزمایش.....	۲۵	۲۵
۷-۱-۱-۵ انجام آزمایش.....	۲۶	۲۶
۷-۱-۱-۶ تجزیه و تحلیل آماری داده ها.....	۲۶	۲۶
۷-۱-۱-۷ نتیجه گیری و پیشنهادات.....	۲۶	۲۶
۷-۱-۲ دسته بندی روش های طراحی آزمایش.....	۲۷	۲۷

عنوان	فهرست مطالب	صفحه
۱-۲-۷-۱ طرح غربالگری.....	۲۷	
۲-۲-۷-۱ طراحی بهینه سازی.....	۲۹	
۳-۷-۱ تابع مطلوبیت.....	۳۳	
فصل دوم- بخش تجربی.....	۳۵	
۱-۲ مواد شیمیایی.....	۳۶	
۲-۲ وسایل و تجهیزات.....	۳۷	
۳-۲ آماده سازی محلول ها.....	۳۹	
۴-۲ اندازه گیری الکتروشیمیایی وراپامیل با استفاده از الکتروود کربن شیشه ای اصلاح شده با نانو لوله های کربنی چند دیواره.....	۴۱	
۱-۴-۲ تهیه الکتروود کربن شیشه ای اصلاح شده با نانو لوله های کربنی چند دیواره.....	۴۳	
۲-۴-۲ بررسی و مشخصه یابی الکتروود اصلاح شده.....	۴۴	
۱-۲-۴-۲ ریخت شناسی سطح الکتروود.....	۴۴	
۲-۲-۴-۲ اندازه گیری مساحت سطح الکتروودهای اصلاح شده و اصلاح نشده.....	۴۵	
۳-۴-۲ معرفی سیستم الکتروشیمیایی مورد استفاده برای اندازه گیری وراپامیل.....	۴۷	
۴-۴-۲ بهینه سازی شرایط آزمایش.....	۴۸	
۱-۴-۴-۲ روش کار کلی برای بهینه سازی پارامترهای موثر بر اکسایش وراپامیل به روش ولتامتری چرخه ای.....	۴۸	
۲-۴-۴-۲ تعیین pH بهینه و نوع بافر در اکسایش وراپامیل در سطح MWCNT/GCE.....	۴۹	
۳-۴-۴-۲ بهینه سازی حجم بافر در اکسایش وراپامیل در سطح MWCNT/GCE.....	۵۱	
۴-۴-۴-۲ بهینه سازی حلال پخش کننده، غلظت و حجم قطره.....	۵۳	
۵-۴-۴-۲ اثر سرعت روبش پتانسیل بر سیگنال تجزیه ای وراپامیل در سطح MWCNT/GCE به کمک ولتامتری چرخه ای.....	۵۶	
۵-۴-۲ شرایط بهینه حاصل از مطالعات ولتامتری چرخه ای.....	۵۸	
۶-۴-۲ بهینه سازی پارامترهای موثر بر ولتاموگرام های پالس تفاضلی.....	۵۸	
۱-۶-۴-۲ بهینه سازی سرعت روبش برای اکسایش وراپامیل با تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی.....	۵۹	
۲-۶-۴-۲ بهینه سازی ارتفاع پالس در اکسایش وراپامیل با کمک ولتامتری پالس تفاضلی.....	۶۰	
۳-۶-۴-۲ بهینه سازی مدت زمان اعمال پالس برای اکسایش وراپامیل با تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی.....	۶۲	
۷-۴-۲ بررسی الکتروشیمیایی اکسایش وراپامیل.....	۶۳	
۸-۴-۲ بررسی پارامترهای تجزیه ای.....	۶۷	

عنوان	فهرست مطالب	صفحه
۱-۸-۴-۲ منحنی کالیبراسیون و تعیین ناحیه خطی روش.....	۶۷	
۲-۸-۴-۲ بررسی تکرارپذیری و تکثیرپذیری.....	۷۱	
۳-۸-۴-۲ بررسی دقت و صحت روش.....	۷۲	
۴-۸-۴-۲ بررسی پایداری MWCNT/GCE.....	۷۳	
۵-۸-۴-۲ بررسی اثر مزاحمت برخی از ترکیبات در اندازه‌گیری ولتامتری وراپامیل در سطح MWCNT/GCE.....	۷۴	
۶-۸-۴-۲ اندازه‌گیری ولتامتری وراپامیل در نمونه‌های حقیقی.....	۷۵	
۹-۴-۲ نتیجه گیری.....	۷۶	
۵-۲ الکتروود خمیرکربن اصلاح شده با متیل تیوراسیل به‌عنوان حسگر ولتامتری جدید بر اساس واکنش افزایشی ۴,۱ مایکل برای اندازه‌گیری دوپامین.....	۷۹	
۱-۵-۲ تهیه الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با متیل تیوراسیل.....	۸۲	
۲-۵-۲ معرفی سیستم الکتروشیمیایی مورد استفاده برای اندازه‌گیری دوپامین.....	۸۲	
۳-۵-۲ بررسی و بهینه سازی متغیرهای موثر بر روی حساسیت به روش طراحی آزمایش.....	۸۷	
۱-۳-۵-۲ غربال کردن پارامترهای مهم با استفاده از طرح پلاکت - برمن.....	۸۸	
۲-۳-۵-۲ تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از طرح پلاکت - برمن و تعیین عوامل مهم.....	۹۰	
۳-۳-۵-۲ بهینه سازی عوامل موثر در اندازه‌گیری دوپامین با استفاده از طراحی مرکب مرکزی.....	۹۲	
۴-۳-۵-۲ ارزیابی آماری مدل.....	۹۶	
۵-۳-۵-۲ تعیین سطوح بهینه عوامل موثر.....	۱۰۰	
۴-۵-۲ بررسی الکتروشیمیایی اکسایش دوپامین.....	۱۰۰	
۱-۴-۵-۲ بررسی تاثیر تغییر pH محیط بر اکسایش دوپامین در سطح MT/MCPE.....	۱۰۲	
۲-۴-۵-۲ بررسی تاثیر حجم بافر در اکسایش دوپامین در سطح MT/MCPE.....	۱۰۳	
۳-۴-۵-۲ بررسی تاثیر تغییر سرعت روبش پتانسیل بر اکسایش دوپامین به کمک ولتامتری چرخه‌ای.....	۱۰۴	
۵-۵-۲ مطالعات جذب سطحی.....	۱۰۸	
۶-۵-۲ مطالعات کروماتوگرافی.....	۱۰۹	
۷-۵-۲ بررسی پارامترهای تجزیه‌ای.....	۱۱۲	
۱-۷-۵-۲ منحنی کالیبراسیون و تعیین ناحیه خطی روش.....	۱۱۲	
۲-۷-۵-۲ بررسی تکرارپذیری و تکثیرپذیری.....	۱۱۵	
۳-۷-۵-۲ بررسی دقت و صحت روش.....	۱۱۵	
۴-۷-۵-۲ بررسی پایداری الکتروود MT/MCPE.....	۱۱۶	

۵-۷-۵-۲ بررسی اثر مزاحمت برخی از ترکیبات در اندازه‌گیری ولتامتری دوپامین در سطح MT/MCPE.. ۱۱۷	۱۱۷
۶-۷-۵-۲ به‌کارگیری روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری دوپامین در نمونه‌های حقیقی..... ۱۱۸	۱۱۸
۸-۵-۲ نتیجه‌گیری..... ۱۱۹	۱۱۹
۶-۲ الکتروُد کربن شیشه اصلاح شده با نانو لوله کربنی چند دیواره و نانو ذرات طلا به‌عنوان حسگر جدید امیدمتری و ولتامتری برهنه سازی برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل..... ۱۲۲	۱۲۲
۱-۶-۲ تهیه الکتروُد کربن شیشه اصلاح شده با نانو لوله کربنی چند دیواره و نانو ذرات طلا..... ۱۲۴	۱۲۴
۲-۶-۲ بررسی و مشخصه یابی الکتروُد اصلاح شده..... ۱۲۵	۱۲۵
۱-۲-۶-۲ سنتز الکتروشیمیایی نانو ذرات طلا..... ۱۲۵	۱۲۵
۲-۲-۶-۲ ریخت شناسی و تعیین ترکیب کاتالیزگر..... ۱۲۶	۱۲۶
۳-۲-۶-۲ اندازه‌گیری مساحت سطح الکتروُد های اصلاح نشده و اصلاح شده..... ۱۲۹	۱۲۹
۳-۶-۲ مطالعات طیف‌بینی امپدانس الکتروشیمیایی سطح الکتروُد های مختلف..... ۱۳۱	۱۳۱
۴-۶-۲ معرفی سیستم الکتروشیمیایی مورد استفاده برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل..... ۱۳۲	۱۳۲
۵-۶-۲ بهینه سازی شرایط آزمایش..... ۱۳۴	۱۳۴
۱-۵-۶-۲ روش کار کلی برای بهینه سازی پارامترهای موثر بر اکسایش جم فیبروزیل..... ۱۳۴	۱۳۴
۲-۵-۶-۲ تعیین pH بهینه و نوع بافر در اکسایش جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE..... ۱۳۶	۱۳۶
۳-۵-۶-۲ تعیین حجم بافر در اکسایش جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE..... ۱۳۹	۱۳۹
۴-۵-۶-۲ بهینه سازی غلظت نانو لوله‌های کربنی چند دیواره..... ۱۴۰	۱۴۰
۵-۵-۶-۲ بهینه سازی مقدار نانو ذرات طلا..... ۱۴۲	۱۴۲
۶-۵-۶-۲ بهینه سازی پتانسیل و زمان انباشت..... ۱۴۶	۱۴۶
۶-۶-۲ بهینه سازی پارامترهای دستگاهی..... ۱۴۷	۱۴۷
۱-۶-۶-۲ بهینه سازی ارتفاع پالس در بررسی اکسایش جم فیبروزیل با تکنیک ولتامتری موج مربعی..... ۱۴۷	۱۴۷
۲-۶-۶-۲ بهینه سازی فرکانس اعمالی در بررسی اکسایش جم فیبروزیل با تکنیک ولتامتری موج مربعی..... ۱۴۸	۱۴۸
۷-۶-۲ بررسی الکتروشیمیایی اکسایش جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GC..... ۱۵۰	۱۵۰
۱-۷-۶-۲ بررسی تاثیر تغییر pH محیط بر اکسایش جم فیبروزیل..... ۱۵۰	۱۵۰
۲-۷-۶-۲ بررسی تاثیر تغییر سرعت روبش بر اکسایش جم فیبروزیل به کمک ولتامتری چرخه‌ای..... ۱۵۲	۱۵۲
۸-۶-۲ مطالعات جذب سطحی..... ۱۵۵	۱۵۵
۹-۶-۲ مطالعات کروماتوگرافی..... ۱۵۶	۱۵۶
۱۰-۶-۲ بررسی پارامترهای تجزیه‌ای حسگر در اندازه‌گیری جم فیبروزیل..... ۱۵۸	۱۵۸
۱-۱۰-۶-۲ منحنی کالیبراسیون و تعیین ناحیه خطی روش به روش ولتامتری موج مربعی..... ۱۵۹	۱۵۹

۲-۱۰-۶-۲ رسم منحنی کالیبراسیون و تعیین ناحیه خطی جم فیبروزیل به روش امپدیمتری.....	۱۶۱
۲-۱۰-۶-۳ بررسی تکرارپذیری و تکثیرپذیری.....	۱۶۴
۲-۱۰-۶-۴ بررسی دقت و صحت روش.....	۱۶۵
۲-۱۰-۶-۵ بررسی پایداری الکتروود Au/MWCNT/GC.....	۱۶۶
۲-۱۰-۶-۶ بررسی اثر مزاحمت برخی از ترکیبات در اندازه‌گیری جم فیبروزیل در سطح الکتروود اصلاح شده.....	۱۶۷
۲-۱۰-۶-۷ به‌کارگیری روش ولتامتری موج مربعی و امپدیمتری برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل در نمونه‌های حقیقی.....	۱۷۰
۲-۱۱-۶-۱۱ نتیجه‌گیری.....	۱۷۳
۲-۷-۷-۲ الکتروود کربن شیشه اصلاح شده با نانو لوله کربنی چند دیواره و پلی آلیزارین قرمز S به‌عنوان حسگر ولتامتری جدید برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل.....	۱۷۵
۲-۷-۲-۱ تهیه الکتروود کربن شیشه اصلاح شده با نانو لوله کربنی چند دیواره/ پلی آلیزارین قرمز S.....	۱۷۷
۲-۷-۲-۲ بررسی و مشخصه یابی الکتروود اصلاح شده.....	۱۷۸
۲-۷-۲-۱ پلیمریزاسیون الکتروشیمیایی ARS در سطح GCE.....	۱۷۸
۲-۷-۲-۲ ریخت شناسی سطح الکتروود.....	۱۷۹
۲-۷-۲-۳ اندازه‌گیری مساحت سطح الکتروودهای اصلاح شده.....	۱۷۹
۲-۷-۳ مطالعات طیف‌بینی امپدانس الکتروشیمیایی در سطح الکتروودهای مختلف.....	۱۸۰
۲-۷-۴ بررسی رفتار الکتروشیمیایی فیلم MWCNT-PARS در سطح الکتروود کربن شیشه.....	۱۸۲
۲-۷-۵ معرفی سیستم الکتروشیمیایی مورد استفاده برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل.....	۱۸۴
۲-۷-۶ بهینه سازی شرایط آزمایش.....	۱۸۶
۲-۷-۶-۱ روش کار کلی برای بهینه سازی پارامترهای موثر بر اکسایش جم فیبروزیل.....	۱۸۶
۲-۷-۶-۲ تعیین pH بهینه و نوع بافر در اکسایش جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE.....	۱۸۷
۲-۷-۶-۳ تعیین حجم بافر در اکسایش جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE.....	۱۹۱
۲-۷-۶-۴ بهینه سازی مقدار نانو لوله‌های کربنی چند دیواره.....	۱۹۲
۲-۷-۶-۵ بهینه سازی مقدار ARS.....	۱۹۴
۲-۷-۶-۶ بهینه سازی تعداد چرخه‌های تشکیل پلیمر.....	۱۹۵
۲-۷-۶-۷ بهینه سازی سرعت روبش پتانسیل به کار گرفته شده در ولتامتری پالس تفاضلی برای اکسایش جم فیبروزیل.....	۱۹۷
۲-۷-۶-۸ بهینه سازی ارتفاع پالس به کار گرفته شده در ولتامتری پالس تفاضلی برای اکسایش جم فیبروزیل.....	۱۹۸

عنوان	فهرست مطالب	صفحه
۹-۶-۷-۲ بهینه سازی مدت زمان اعمال پالس به کار گرفته شده در ولتامتری پالس تفاضلی برای اکسایش جم فیبروزیل.....		۱۹۹
۷-۷-۲ بررسی الکتروشیمیایی اکسایش جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE.....		۲۰۱
۱-۷-۷-۲ بررسی تاثیر تغییر pH محیط بر اکسایش جم فیبروزیل.....		۲۰۱
۲-۷-۷-۲ بررسی تاثیر تغییر سرعت روبش بر اکسایش جم فیبروزیل به کمک ولتامتری چرخه‌ای.....		۲۰۲
۸-۷-۲ مطالعات کروئوآمپرومتری.....		۲۰۵
۹-۷-۲ بررسی پارامترهای تجزیه‌ای حسگر در اندازه‌گیری جم فیبروزیل.....		۲۰۶
۱-۹-۷-۲ منحنی کالیبراسیون و تعیین ناحیه خطی روش.....		۲۰۶
۲-۹-۷-۲ بررسی تکرارپذیری و تکثیرپذیری.....		۲۰۹
۳-۹-۷-۲ بررسی دقت و صحت روش.....		۲۱۰
۴-۹-۷-۲ بررسی پایداری الکتروود MWCNT-PARS/GCE.....		۲۱۱
۵-۹-۷-۲ بررسی اثر مزاحمت برخی از ترکیبات در اندازه‌گیری ولتامتری جم فیبروزیل در سطح الکتروود اصلاح شده با فیلم MWCNT-PARS.....		۲۱۲
۶-۹-۷-۲ به کارگیری روش ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل در نمونه‌های حقیقی.....		۲۱۳
۱۰-۷-۲ نتیجه گیری.....		۲۱۵
فصل سوم-نتیجه گیری.....		۲۱۷
نتیجه‌گیری کلی.....		۲۱۸
آینده‌نگری.....		۲۲۱
پیوست.....		۲۲۳
مراجع.....		۲۴۲

جدول (۱-۱) آزمون‌های تشخیصی برای واکنش‌های ECE	۲۰
جدول (۱-۲) مشخصات مواد شیمیایی استفاده شده در این کار تحقیقاتی	۳۶
جدول (۲-۲) نتایج به دست آمده از شدت جریان دماغه اکسایش ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل آمده با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای در محلول حاوی بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH های مختلف، سرعت روبش 100 mV s^{-1} ۱۰۰s، حجم قطره گذاری ۱۰/۰ μL از تعلیق MWCNT:DMF با نسبت ۱/۰ mg/mL	۵۰
جدول (۳-۲) نتایج به دست آمده از شدت جریان دماغه اکسایش ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل آمده با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای در محلول حاوی بافرهای مختلف با pH = ۵/۰، سرعت روبش 100 mV s^{-1} ، حجم قطره گذاری ۱۰/۰ μL از تعلیق MWCNT:DMF با نسبت ۱/۰ mg/mL	۵۱
جدول (۴-۲) نتایج حاصل از بررسی حجم‌های متفاوت بافر فسفاتی در pH=۵/۰ بر روی شدت جریان دماغه اکسایش وراپامیل ۵۰/۰ میکرومولار با روش ولتامتری چرخه‌ای، سرعت روبش 100 mV s^{-1} ، حجم قطره گذاری ۱۰/۰ μL از تعلیق MWCNT:DMF با نسبت ۱/۰ mg/mL	۵۲
جدول (۵-۲) نتایج به دست آمده از شدت جریان دماغه اکسایش ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار pH=۵/۰، در حضور الکتروود اصلاح شده با ۱۰/۰ μL از حلال‌های پخش کننده متفاوت با نسبت ۱/۰ mg/mL با استفاده از ولتامتری چرخه‌ای با سرعت روبش 100 mV s^{-1}	۵۴
جدول (۶-۲) نتایج به دست آمده از شدت جریان دماغه اکسایش ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار pH=۵/۰، با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای با سرعت روبش 100 mV s^{-1} ، در نسبت‌های غلظتی متفاوت MWCNT:DMF	۵۴
جدول (۷-۲) نتایج به دست آمده از شدت جریان دماغه اکسایش ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار pH=۵/۰، با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای با سرعت روبش 100 mV s^{-1} ، در حضور الکتروود اصلاح شده با حجم‌های قطره گذاری متفاوت از تعلیق MWCNT:DMF با ۰/۱۰ mg/mL	۵۶
جدول (۸-۲) نتایج حاصل از بررسی سرعت روبش بر شدت جریان دماغه اکسایش ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار pH=۵/۰، با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای، با حجم قطره گذاری ۱۰/۰ μL از تعلیق MWCNT:DMF با ۰/۱۰ mg/mL	۵۶
جدول (۹-۲) نتایج به دست آمده از بهینه سازی پارامترهای موثر بر سیگنال تجزیه‌ای اکسایش وراپامیل با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای در سطح MWCNT/GCE	۵۸
جدول (۱۰-۲) اطلاعات مربوط به منحنی‌های کالبراسیون در ناحیه خطی ۲/۵۰ تا ۷۰/۰۰ میکرومولار وراپامیل در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۵/۰ در سطح MWCNT/GCE	۶۹
جدول (۱۱-۲) نتایج تکرارپذیری الکترودهای MWCNT/GC برای اندازه‌گیری سیگنال تجزیه‌ای محلول ۵۰/۰ میکرو مولار وراپامیل در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۵/۰ به روش ولتامتری چرخه‌ای در سرعت روبش 150 mVs^{-1}	۷۱

جدول (۲-۱۲) تحلیل واریانس داده‌های مربوط به اندازه‌گیری سیگنال تجزیه‌ای محلول ۵۰/۰ میکرو مولار وراپامیل در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۵/۰ توسط الکترودهای MWCNT/GC مختلف در روزهای مختلف به روش ولتامتری چرخه‌ای با سرعت روبش 150 mVs^{-1}	۷۲
جدول (۲-۱۳) نتایج دقت و صحت روش برای اندازه‌گیری محلول‌های استاندارد وراپامیل به روش ولتامتری چرخه‌ای در سطح MWCNT/GCE در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۵/۰ با سرعت روبش 150 mVs^{-1}	۷۳
جدول (۲-۱۴) بررسی تاثیر حضور گونه‌های آزمایشی مختلف بر شدت جریان دماغه آندی وراپامیل ($\mu\text{g/mL}$) ۱۰/۰ در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۵/۰ در سطح MWCNT/GCE به روش ولتامتری چرخه‌ای با سرعت روبش 150 mVs^{-1}	۷۵
جدول (۲-۱۵) نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری وراپامیل در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۵/۰ در سطح الکترودهای MWCNT/GC به روش ولتامتری چرخه‌ای در نمونه‌های آب شهر، سرم و قرص (n=۳).....	۷۷
جدول (۲-۱۶) الکترودهای اصلاح شده مختلف برای اندازه‌گیری وراپامیل.....	۷۸
جدول (۲-۱۷) مقادیر بهینه به دست آمده برای اکسایش محلول ۱۰/۰ میکرو مولار دوپامین در سطح MT/MCPE از طریق روش تک متغیره با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی.....	۸۸
جدول (۲-۱۸) فاکتورها و سطوح به کار گرفته شده در طراحی پلاکت-برمن برای اندازه‌گیری دوپامین ۱۰/۰ میکرو مولار در سطح MT/MCPE با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی.....	۸۹
جدول (۲-۱۹) ضرایب حاصل از طرح PB برای اندازه‌گیری دوپامین ۱۰/۰ میکرو مولار در سطح MT/MCPE با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی.....	۹۰
جدول (۲-۲۰) فاکتورها و سطوح به کار گرفته شده در طراحی مرکب مرکزی برای اندازه‌گیری دوپامین ۱۰/۰ میکرو مولار در سطح MT/MCPE با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی.....	۹۳
جدول (۲-۲۱) تحلیل واریانس و پارامترهای آماری برای مدل پیشنهادی مربوط به دوپامین ۱۰/۰ میکرو مولار در سطح MT/MCPE با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی.....	۹۷
جدول (۲-۲۲) شدت جریان‌های آندی و کاتدی در سرعت روبشهای پتانسیل متفاوت در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۷/۰ حاوی ۰/۱۰ میلی مولار دوپامین در سطح MT/MCPE به وسیله ولتامتری چرخه‌ای.....	۱۰۵
جدول (۲-۲۳) مقادیر Γ^0 محاسبه شده برای MT/MCPE و CPE اصلاح نشده در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۷/۰ حاوی غلظت‌های مختلف دوپامین.....	۱۱۱
جدول (۲-۲۴) اطلاعات مربوط به منحنی‌های کالبراسیون در ناحیه خطی ۰/۲۰ تا ۱۵/۰۰ میکرومولار دوپامین در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۷/۰ در سطح MT/MCPE با روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی.....	۱۱۳

- جدول (۲-۲۵) نتایج تکرارپذیری الکترودهای MT/MCPE برای اندازه‌گیری سیگنال تجزیه‌ای محلول ۱۰/۰ میکرومولار دوپامین در محلول بافر فسفاتی ۷/۰ pH توسط روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی..... ۱۱۵
- جدول (۲-۲۶) تحلیل واریانس داده‌های مربوط به اندازه‌گیری محلول ۱۰/۰ میکرومولار دوپامین در محلول بافر فسفاتی ۷/۰ pH توسط الکترودهای MT/MCPE در روزهای مختلف توسط روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی..... ۱۱۵
- جدول (۲-۲۷) نتایج دقت و صحت روش برای اندازه‌گیری ولتامتری محلول استاندارد دوپامین در غلظت‌های مختلف توسط MT/MCPE در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با ۷/۰ pH..... ۱۱۶
- جدول (۲-۲۸) بررسی تاثیر حضور گونه‌های آزمایشی مختلف بر شدت جریان دماغه آندی دوپامین ($\mu\text{g/mL}$) ۲/۰ در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با ۷/۰ pH در سطح MT/MCPE با روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی..... ۱۱۸
- جدول (۲-۲۹) نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری دوپامین در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با ۷/۰ pH در سطح MT/MCPE با روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی در نمونه‌های آب شهر، سرم و آمپول (n=۳) ۱۲۰..... ۱۲۱
- جدول (۲-۳۰) الکترودهای خمیر کربن اصلاح شده مختلف برای اندازه‌گیری دوپامین..... ۱۲۱
- جدول (۲-۳۱) جدول انرژی آنالیز EDX..... ۱۲۷
- جدول (۲-۳۲) داده‌های حاصل از آزمایش EDX بر روی الکترودها Au/MWCNT/GC..... ۱۲۹
- جدول (۲-۳۳) نتایج به‌دست آمده از شدت جریان دماغه اکسایش ۳۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH های مختلف در سطح Au/MWCNT/GCE به کمک روش ولتامتری موج مربعی جذب سطحی..... ۱۳۷
- جدول (۲-۳۴): نتایج حاصل از شدت جریان دماغه اکسایش ۳۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در الکترولیت‌های حامل متفاوت با ۳/۰ pH در سطح Au/MWCNT/GCE به کمک روش ولتامتری موج مربعی جذب سطحی..... ۱۳۹
- جدول (۲-۳۵): نتایج حاصل از بررسی حجم‌های متفاوت بافر فسفاتی در ۳/۰ pH بر شدت جریان دماغه اکسایش ۳۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE به کمک روش ولتامتری موج مربعی..... ۱۴۰
- جدول (۲-۳۶) نتایج حاصل از بررسی مقدار MWCNT با کمک روش ولتامتری موج مربعی در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با ۳/۰ pH حاوی ۳۰/۰ میکرو مولار جم فیبروزیل..... ۱۴۲
- جدول (۲-۳۷) نتایج حاصل از بررسی غلظت HAuCl_4 با کمک روش ولتامتری موج مربعی در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با ۳/۰ pH حاوی ۳۰/۰ میکرو مولار جم فیبروزیل..... ۱۴۳
- جدول (۲-۳۸) نتایج حاصل از بررسی تعداد چرخه‌های لازم برای ترسیب HAuCl_4 با کمک روش ولتامتری موج مربعی در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با ۳/۰ pH حاوی ۳۰/۰ میکرو مولار جم فیبروزیل..... ۱۴۵

جدول (۲-۳۹) نتایج به‌دست آمده از بهینه سازی پارامترهای موثر بر سیگنال تجزیه‌ای اکسایش جم فیروزیل ۳۰/۰ میکرو مولار در سطح Au/MWCNT/GCE.....	۱۵۰
جدول (۲-۴۰) مقادیر Γ^0 محاسبه شده برای Au/MWCNT/GCE، MWCNT/GCE و GCE اصلاح نشده در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH}=3/0$ حاوی غلظت‌های مختلف جم فیروزیل.....	۱۵۸
جدول (۲-۴۱) اطلاعات مربوط به منحنی‌های کالیبراسیون در ناحیه خطی ۰/۱۵۰ تا ۴۵/۰ میکرومولار جم فیروزیل در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH}=3/0$ در سطح Au/MWCNT/GCE با روش ولتامتری موج مربعی.....	۱۶۰
جدول (۲-۴۲) اطلاعات مربوط به منحنی‌های کالیبراسیون در ناحیه خطی ۰/۱۰ تا ۴۵/۰ میکرومولار جم فیروزیل در محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=3/0$ با استفاده از روش طیف بینی امپدانس الکتروشیمیایی در سطح Au/MWCNT/GCE.....	۱۶۳
جدول (۲-۴۳) نتایج تکرارپذیری الکترودهای Au/MWCNT/GC مختلف برای اندازه‌گیری ۱۲/۰ میکرومولار جم فیروزیل در بافر فسفاتی $\text{pH}=3/0$ توسط تکنیک ولتامتری موج مربعی.....	۱۶۴
جدول (۲-۴۴) نتایج تکرارپذیری الکترودهای Au/MWCNT/GC مختلف برای اندازه‌گیری ۲۵/۰ میکرومولار جم فیروزیل در بافر فسفاتی $\text{pH}=3/0$ توسط تکنیک امپدیمتری.....	۱۶۴
جدول (۲-۴۵) تحلیل واریانس داده‌های مربوط به اندازه‌گیری جم فیروزیل توسط الکترودهای Au/MWCNT/GC مختلف در روزهای مختلف توسط روش ولتامتری موج مربعی.....	۱۶۵
جدول (۲-۴۶) تحلیل واریانس داده‌های مربوط به اندازه‌گیری جم فیروزیل توسط الکترودهای Au/MWCNT/GC مختلف در روزهای مختلف توسط روش امپدیمتری.....	۱۶۵
جدول (۲-۴۷) نتایج دقت و صحت روش برای اندازه‌گیری ولتامتری موج مربعی محلول استاندارد جم فیروزیل توسط Au/MWCNT/GCE در محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=3/0$	۱۶۶
جدول (۲-۴۸) نتایج دقت و صحت روش برای اندازه‌گیری محلول استاندارد جم فیروزیل به کمک روش امپدیمتری توسط Au/MWCNT/GCE در محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=3/0$	۱۶۶
جدول (۲-۴۹) بررسی تاثیر حضور گونه‌های آزمایشی مختلف بر شدت جریان دماغه آندی جم فیروزیل ($2/0 \mu\text{g/mL}$) در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH}=3/0$ در سطح Au/MWCNT/GC توسط تکنیک ولتامتری موج مربعی جذب سطحی.....	۱۶۹
جدول (۲-۵۰) بررسی تاثیر حضور گونه‌های آزمایشی مختلف بر شدت جریان دماغه آندی جم فیروزیل ($2/0 \mu\text{g/mL}$) در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH}=3/0$ در سطح Au/MWCNT/GC توسط تکنیک امپدیمتری.....	۱۷۰
جدول (۲-۵۱) نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری موج مربعی جذب سطحی جم فیروزیل در نمونه‌های آب شهر، سرم و کیسول ($n=3$) در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH}=3/0$ در سطح Au/MWCNT/GCE.....	۱۷۲

جدول (۲-۵۲) نتایج حاصل از اندازه‌گیری امپدیمتری جم فیبروزیل در نمونه‌های آب شهر، سرم و کپسول (n=۳) در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۳/۰ در سطح Au/MWCNT/GCE.....	۱۷۳
جدول (۲-۵۳) الکترودهای کربن شیشه اصلاح شده مختلف برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل.....	۱۷۴
جدول (۲-۵۴) داده‌های حاصل از بررسی پاسخ الکتروده MWCNT-PARS/GC در محلول ۰/۵۰ مولار H ₂ SO ₄ در سرعت‌های روبش مختلف.....	۱۸۳
جدول (۲-۵۵) نتایج به‌دست آمده از شدت جریان دماغه اکسایش ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در محلول حاوی بافر فسفاتی با pH های مختلف با روش ولتامتری پالس تفاضلی در سطح الکتروده MWCNT- /GC.....	۱۸۹
جدول (۲-۵۶): نتایج حاصل از بررسی الکترولیت‌های حامل متفاوت در pH=۴/۵ برای محلول ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی.....	۱۹۰
جدول (۲-۵۷): نتایج حاصل از بررسی حجم‌های متفاوت بافر استاتی در pH=۴/۵ برای محلول ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی.....	۱۹۲
جدول (۲-۵۸) نتایج حاصل از بررسی مقدار MWCNT برای محلول ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در بافر استاتی ۰/۱۰ مولار pH=۴/۵ در سطح MWCNT-PARS/GCE به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی.....	۱۹۳
جدول (۲-۵۹) نتایج حاصل از بررسی مقدار ARS برای محلول ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در بافر استاتی ۰/۱۰ مولار pH=۴/۵ در سطح MWCNT-PARS/GCE به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی.....	۱۹۴
جدول (۲-۶۰) نتایج حاصل از بررسی تعداد چرخه‌های لازم برای تشکیل پلیمر برای محلول ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در بافر استاتی ۰/۱۰ مولار pH=۴/۵ در سطح MWCNT-PARS/GCE به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی.....	۱۹۶
جدول (۲-۶۱) نتایج حاصل از بررسی سرعت روبش در ولتامتری پالس تفاضلی برای محلول ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در بافر استاتی ۰/۱۰ مولار pH=۴/۵ در سطح MWCNT-PARS/GCE.....	۱۹۷
جدول (۲-۶۲) نتایج به‌دست آمده از بهینه سازی پارامترهای موثر بر سیگنال تجزیه‌ای اکسایش جم فیبروزیل ۱۰/۰ میکرو مولار در سطح MWCNT-PARS/GCE.....	۲۰۰
جدول (۲-۶۳) اطلاعات مربوط به منحنی‌های کالبراسیون در ناحیه خطی ۱/۰۰ تا ۲۲/۰۰ میکرومولار جم فیبروزیل در بافر استاتی ۰/۱۰ مولار pH=۴/۵ در سطح MWCNT-PARS/GCE با روش ولتامتری پالس تفاضلی.....	۲۰۷
جدول (۲-۶۴) نتایج تکرارپذیری الکترودهای MWCNT-PARS/GC مختلف برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل ۱۰/۰ میکرومولار در بافر استاتی pH=۴/۵ توسط تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی.....	۲۰۹
جدول (۲-۶۵) تحلیل واریانس داده‌های مربوط به اندازه‌گیری جم فیبروزیل توسط الکترودهای مختلف در روزهای مختلف توسط روش ولتامتری پالس تفاضلی.....	۲۱۰
جدول (۲-۶۶) نتایج دقت و صحت روش برای اندازه‌گیری ولتامتری پالس تفاضلی محلول استاندارد جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE در محلول بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با pH=۴/۵.....	۲۱۱

- جدول (۶۷-۲) بررسی تاثیر حضور گونه‌های آزمایشی مختلف بر شدت جریان دماغه آندی جم فیبروزیل (۲/۵۰ $\mu\text{g/mL}$) در سطح الکتروود MWCNT-PARS/GC در بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با pH=۴/۵ ۲۱۳
- جدول (۶۸-۲) نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری جم فیبروزیل در سطح الکتروود MWCNT-PARS/GC در نمونه‌های آب شهر، سرم و کپسول (n=۳) با روش ولتامتری پالس تفاضلی ۲۱۴
- جدول (۶۹-۲) الکترودهای کربن شیشه اصلاح شده مختلف برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل ۲۱۶

عنوان	فهرست شکل‌ها	صفحه
شکل (۱-۱): انواع نانو لوله‌های کربنی: (الف) تک دیواره و (ب) چند دیواره.....	۱۰	۱۰
شکل (۲-۱): طرح واکنش افزایش مایکل.....	۱۳	۱۳
شکل (۳-۱): نمایی از طرح مرکب مرکزی مرکز وجوه پر.....	۳۳	۳۳
شکل (۱-۲): فرمول ساختاری وراپامیل.....	۴۱	۴۱
شکل (۲-۲): (الف) تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح نشده و (ب) الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره.....	۴۵	۴۵
شکل (۳-۲): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای MWCNT/GCE در محلول ۱/۰ mM $K_4Fe(CN)_6$ حاوی MCl در سرعت روبش‌های مختلف: (الف تا ج) مربوط به سرعت‌های روبش ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و 150 mV s^{-1} میباشند. (ب) نمودار تغییرات شدت جریان دماغه آندی بر حسب جذر سرعت روبش.....	۴۶	۴۶
شکل (۴-۲): ولتاموگرام‌های چرخه‌ای وراپامیل ($50\text{ }\mu\text{M}$) در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH}=5.0$ در سطح الکترودهای کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره (الف) و کربن شیشه‌ای اصلاح نشده (ب)، (پ) و (ت) به ترتیب ولتاموگرام‌های زمینه الکترودهای اصلاح شده و اصلاح نشده می‌باشند، سرعت روبش 150 mV s^{-1}	۴۸	۴۸
شکل (۵-۲): نمودار تغییرات جریان آندی بر حسب pH (بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار) برای محلول ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل به دست آمده از روش ولتامتری چرخه‌ای در سطح MWCNT/GCE با سرعت روبش 100 mV s^{-1} انجام شده است. حجم قطره گذاری ۱۰/۰ μL ز تعلیق MWCNT:DMF با نسبت ۱/۰ mL/mg.....	۵۰	۵۰
شکل (۶-۲): نمودار تغییرات شدت جریان آندی محلول ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل بر حسب نوع بافر در $\text{pH}=5.0$ در سطح MWCNT/GCE با روش ولتامتری چرخه‌ای، سرعت روبش 100 mV s^{-1} . حجم قطره گذاری ۱۰/۰ μL ز تعلیق MWCNT:DMF با نسبت ۱/۰ mL/mg.....	۵۱	۵۱
شکل (۷-۲): نمودار تغییرات شدت جریان آندی وراپامیل ۵۰/۰ میکرومولار بر حسب حجم بافر فسفاتی در $\text{pH}=5.0$ در سطح MWCNT/GCE با روش ولتامتری چرخه‌ای، سرعت روبش 100 mV s^{-1} . حجم قطره گذاری ۱۰/۰ μL از تعلیق MWCNT:DMF با نسبت ۱/۰ mg/mL.....	۵۲	۵۲
شکل (۸-۲): نمودار تغییرات شدت جریان دماغه اکسایش ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار $\text{pH}=5.0$ در سطح MWCNT/GCE، بر حسب جذر سرعت روبش پتانسیل در محدوده ۲۵ تا ۲۰۰ میلی ولت بر ثانیه.....	۵۷	۵۷
شکل (۹-۲): ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی با سرعت روبش 100 mVs^{-1} (ارتفاع پالس ۸۰ mV و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه) در سطح MWCNT/GCE در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH}=5.0$ (الف) در غیاب وراپامیل و (ب) در حضور ۲۵/۰ میکرو مولار وراپامیل.....	۵۹	۵۹

- شکل (۲-۱۰): نمودار تغییرات شدت جریان آندی وراپامیل ۵۰/۰ میکرومولار در بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار pH=۵/۰ در سطح MWCNT/GCE، بر حسب سرعت روبش به‌کار گرفته شده در تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی. ارتفاع پالس: ۶۰ میلی‌ولت و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی‌ثانیه. ۶۰
- شکل (۲-۱۱): نمودار حاصل از بررسی ارتفاع پالس در روش ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه‌گیری ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل در محلول بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با pH=۵/۰ در سطح MWCNT/GCE. سرعت روبش 100 mV s^{-1} ، مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی‌ثانیه. ۶۱
- شکل (۲-۱۲): نمودار حاصل از بررسی مدت زمان اعمال پالس در روش ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه‌گیری ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل در محلول بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با pH=۵/۰ در سطح MWCNT/GCE. سرعت روبش 100 mV s^{-1} ، ارتفاع پالس ۸۰ میلی‌ولت. ۶۲
- شکل (۲-۱۳): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای محلول ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل در بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با pH های مختلف در سطح MWCNT/GCE با سرعت روبش 100 mV s^{-1} (الف) تا (چ) به‌ترتیب: ۳/۰، ۴/۰، ۵/۰، ۶/۰، ۷/۰، ۸/۰ و ۹/۰. (ب) نمودار تغییرات پتانسیل دماغه آندی وراپامیل بر حسب pH. ۶۳
- شکل (۲-۱۴): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای وراپامیل با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار در محلول بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با pH=۵/۰ در سطح MWCNT/GCE در سرعت روبش‌های مختلف: (الف تا ث) مربوط به سرعت‌های روبش ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه می‌باشد. (ب) نمودار تغییرات پتانسیل دماغه اکسایش وراپامیل بر حسب لگاریتم طبیعی سرعت روبش پتانسیل. ۶۶
- شکل (۲-۱۵): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای با سرعت روبش 150 mVs^{-1} و (ب) ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی با سرعت روبش 100 mVs^{-1} (ارتفاع پالس ۸۰ mV و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی‌ثانیه) در سطح MWCNT/GCE در محلول بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با pH=۵/۰ و غلظت‌های مختلف وراپامیل: (الف) تا (ج) به‌ترتیب: ۷۰/۰، ۵۰/۰، ۲۵/۰، ۱۰/۰، ۲/۵ میکرومولار و در غیاب وراپامیل. ۷۰
- شکل (۲-۱۶): (الف): نمودار تغییرات شدت جریان اکسایش بر حسب غلظت وراپامیل در محدوده ۷۰/۰-۲/۵ میکرومولار به‌کمک ولتامتری چرخه‌ای با سرعت روبش 150 mVs^{-1} . (ب): نمودار تغییرات شدت جریان اکسایش بر حسب غلظت وراپامیل در محدوده‌ی ذکر شده به‌کمک ولتامتری پالس تفاضلی با سرعت روبش 100 mVs^{-1} (ارتفاع پالس ۸۰ mV) در سطح MWCNT/GCE در محلول بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با pH=۵/۰. ۷۰
- شکل (۲-۱۷): فرمول ساختاری دوپامین. ۷۹
- شکل (۲-۱۸): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای مربوط به MT/MCPE در غیاب دوپامین در بافر فسفات با pH=۷/۰ در بازه ۰/۲- تا ۰/۵+ ولت (۱)، ۰/۱۰ mM، دوپامین روی سطح CPE (۲) و MT/MCPE (۳). (ب) ولتاموگرام‌های مربوط به CPE در محلول ۰/۱۰ mM متیل تیوراسیل (۱)، ۰/۱۰ mM دوپامین (۲) و محلول حاوی ۰/۱۰ mM متیل تیوراسیل و ۰/۱۰ mM دوپامین (۳) در بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با pH=۷/۰. سرعت روبش 100 mVs^{-1} ؛ پتانسیل انباشت، ۰/۲- ولت؛ زمان انباشت ۱۶۰ ثانیه؛ زمان استراحت ۲۰ ثانیه. ۸۳

- شکل (۲-۱۹): (الف) ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی مربوط به MT/MCPE در غیاب دوپامین در بافر فسفات با $\text{pH}=7.0$ ، 0.10 mM دوپامین روی سطح CPE (۲) و MT/MCPE (۳). (ب) ولتاموگرام‌های مربوط به CPE در محلول 0.10 mM متیل تیوراسیل (۱)، 0.10 mM دوپامین (۲) و محلول حاوی 0.10 mM متیل تیوراسیل و 0.10 mM دوپامین (۳) در بافر فسفاتی 0.27 M با $\text{pH}=7.0$ سرعت روبش 60 mVs^{-1} ، ارتفاع پالس 80 mV ۸۶
- شکل (۲-۲۰): نمودار پارتوی اثرات استاندارد در طراحی پلاکت-برمن برای اندازه‌گیری دوپامین..... ۹۲
- شکل (۲-۲۱): نمودار احتمال نرمال در طراحی پلاکت-برمن برای اندازه‌گیری دوپامین..... ۹۲
- شکل (۲-۲۲): نمودار احتمال نرمال باقیمانده‌ها برای اندازه‌گیری دوپامین..... ۹۸
- شکل (۲-۲۳): نمودار باقیمانده‌ها بر حسب مقادیر پیش‌بینی شده برای اندازه‌گیری دوپامین..... ۹۹
- شکل (۲-۲۴): ولتاموگرام چرخه‌ای محلول $5.0/0$ میکرومولار دوپامین در سطح MT/MCPE در محلول بافر فسفاتی 0.27 M با pH های مختلف از 4.0 تا 9.0 سرعت روبش 100 mVs^{-1} ، پتانسیل انباشت: -0.2 ولت، زمان انباشت: 160 ثانیه و زمان استراحت: 20 ثانیه. ضمیمه: تغییرات دماغه پتانسیل اکسایش دوپامین را بر حسب pH نشان می‌دهد..... ۱۰۳
- شکل (۲-۲۵): نمودار تغییرات میزان شدت جریان آندی دوپامین بر حسب حجم بافر فسفاتی در $\text{pH}=7.0$ در محلول $1.0/0$ میکرومولار دوپامین در سطح MT/MCPE به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی، سرعت روبش 50 mVs^{-1} ، پتانسیل انباشت: -0.1 ولت، زمان انباشت: 120 ثانیه و زمان استراحت: 20 ثانیه..... ۱۰۴
- شکل (۲-۲۶): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای MT/MCPE در محلول بافر فسفاتی 0.27 M با $\text{pH}=7.0$ حاوی 0.10 میلی مولار دوپامین در سرعت روبش‌های مختلف. به ترتیب از پایین به بالا سرعت‌های روبش (الف) تا (ج): 40 ، 80 ، 100 ، 150 ، 250 و 300 میلی ولت بر ثانیه می‌باشند. ضمیمه الف: نمودار تغییرات بر حسب سرعت روبش پتانسیل. (ب) نمودار تغییرات شدت جریان دماغه اکسایش دوپامین بر حسب جذر سرعت روبش پتانسیل. (ج) نمودار تغییرات شدت جریان دماغه احیای ترکیب افزایشی (V) بر حسب سرعت روبش پتانسیل. پتانسیل انباشت: -0.2 ولت، زمان انباشت: 160 ثانیه و زمان استراحت: 20 ثانیه..... ۱۰۶
- شکل (۲-۲۷): نمودار تافل به دست آمده از رسم لگاریتم شدت جریان اکسایش دوپامین 0.10 میلی مولار بر حسب تغییرات پتانسیل در محلول بافر فسفاتی 0.27 M با $\text{pH}=7.0$ ، حاصل از ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در سرعت‌های روبش 40 ، 100 ، 150 ، 250 و 300 میلی ولت بر ثانیه..... ۱۰۷
- شکل (۲-۲۸): ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی MT/MCPE، در محلول بافر فسفاتی 0.27 M با $\text{pH}=7.0$ حاوی دوپامین $1.0/0$ میکرومولار در زمان‌های انباشت (الف) 0 ، (ب) 40 ، (پ) 80 ، (ت) 160 و (ث) 200 ثانیه پتانسیل انباشت -0.20 ولت؛ زمان استراحت 20 ثانیه و سرعت روبش 50 mVs^{-1} ۱۰۹
- شکل (۲-۲۹): (الف) کروئولوگرام‌های MT/MCPE در محلول بافر فسفاتی 0.27 M با $\text{pH}=7.0$ حاوی غلظت‌های متفاوت دوپامین (الف) غیاب، (ب) $1.0/0$ ، (پ) $15.0/0$ ، (ت) $20.0/0$ و (ث) $25.0/0$ میکرو مولار. پله پتانسیل آندی در 40 ولت نسبت به الکتروود شاهد می‌باشد. پتانسیل انباشت: -0.20 ولت، زمان انباشت: 160 ثانیه و زمان استراحت: 20 ثانیه. (ب) نمودار تغییرات $Q-t^{1/2}$ به دست آمده از کروئولوگرام‌های (ب-ث) بعد از کم کردن نقطه به نقطه از زمینه است. (ج) نمودار شیب خطوط $Q-t^{1/2}$ بر حسب غلظت دوپامین..... ۱۱۱

- شکل (۳۰-۲): ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH}=7.0$ شامل غلظت‌های مختلف دوپامین در منحنی‌های (الف) تا (خ): ۰/۰، ۰/۲، ۰/۵، ۱/۰، ۴/۰، ۸/۰، ۱۰/۰، ۱۲/۰ و ۱۵/۰ میکرومولار در سطح MT/MCPE. پتانسیل انباشت: ۰/۲- ولت، سرعت روبش 60 mV s^{-1} ، دامنه پالس اعمالی ۸۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۴۰ ثانیه می‌باشد. ۱۱۴
- شکل (۳۱-۲): نمودار تغییرات شدت جریان اکسایش بر حسب غلظت دوپامین در محدوده‌ی ۰/۲۰ تا ۱۵/۰ میکرومولار به کمک ولتامتری پالس تفاضلی. پتانسیل انباشت: ۰/۲- ولت، زمان انباشت: ۱۶۰ ثانیه و زمان استراحت: ۲۰ ثانیه و سرعت روبش 60 mV s^{-1} ، دامنه پالس اعمالی ۸۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۴۰ ثانیه می‌باشد. ۱۱۴
- شکل (۳۲-۲): فرمول ساختاری جم فیبروزیل. ۱۲۳
- شکل (۳۳-۲): ولتاموگرام‌های چرخه‌ای (۱۲ چرخه) در محلول $100/0 \text{ } \mu\text{g/mL}$ تتراکلروآئوریک اسید در بافر فسفاتی $\text{pH}=7.0$ ، سرعت روبش 50 mV s^{-1} ۱۲۶
- شکل (۳۴-۲): تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی الکتروکود (الف) کربن شیشه‌ای اصلاح نشده (ب) کربن شیشه اصلاح شده با نانو لوله کربنی چند دیواره و (پ) الکتروکود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره/نانو ذرات طلا. ۱۲۶
- شکل (۳۵-۲): طیف EDX، مربوط به Au/MWCNT/GCE. ۱۲۹
- شکل (۳۶-۲): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای Au/MWCNT/GCE در محلول $1/0 \text{ mM}$ $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ حاوی $0.1/0 \text{ M}$ KCl در سرعت روبش‌های مختلف: (الف تا ج) مربوط به سرعت‌های روبش ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۵۰، ۲۵۰، و ۳۰۰ میلی ولت بر ثانیه می‌باشند. (ب) نمودار تغییرات شدت جریان دماغه آندی بر حسب جذر سرعت روبش. ۱۳۰
- شکل (۳۷-۲): (الف) نمودار نایکوئیست در سطح الکترودهای GC اصلاح نشده، MWCNT/GC و Au/MWCNT/GC در محلول ۵/۰ میلی مولار پتاسیم هگزاسیانو فرات/پتاسیم هگزاسیانو فریت حاوی ۰/۵۰ مولار پتاسیم کلرید، محدوده فرکانس ۰/۱ Hz تا ۱۰۰۰۰۰ Hz. (ب) نمایش طرح نموداری مدار معادل شده. ۱۳۲
- شکل (۳۸-۲): ولتاموگرام‌های (الف) چرخه‌ای و (ب) موج مربعی ۳۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH}=3.0$ در سطح الکترودهای کربن شیشه‌ای اصلاح نشده (۲)، اصلاح‌شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره (۳) و اصلاح‌شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره/نانو ذرات طلا (۴). منحنی (۱) در (الف و ب)، به ترتیب ولتاموگرام چرخه‌ای و موج مربعی الکتروکود کربن شیشه‌ای اصلاح‌شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره/نانو ذرات طلا را در غیاب جم فیبروزیل نشان می‌دهد. ۱۳۴
- شکل (۳۹-۲): نمودار تغییرات جریان آندی بر حسب pH بافر فسفاتی برای محلول ۳۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در سطح الکتروکود Au/MWCNT/GC با روش ولتامتری موج مربعی جذب سطحی. خط چین: پس از اعمال زمان انباشت: ۷۰ ثانیه، خط پر: بدون اعمال زمان انباشت، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و فرکانس ۵۰ هرتر. ۱۳۸

- شکل (۲-۴۰): نمودار تغییرات میزان شدت جریان آندی بر حسب نوع الکترولیت حامل در $\text{pH} = 3/0$ حاوی $30/0$ میکرومولار جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE با روش ولتامتری موج مربعی. زمان انباشت: 70 ثانیه، ارتفاع پالس 50 میلی ولت و فرکانس 50 هرتز. ۱۳۹
- شکل (۲-۴۱): نمودار تغییرات میزان شدت جریان آندی جم فیبروزیل بر حسب حجم بافر فسفات $0.27/0$ مولار در $\text{pH} = 3/0$ حاوی $30/0$ میکرومولار جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE با روش ولتامتری موج مربعی. زمان انباشت: 70 ثانیه، ارتفاع پالس 50 میلی ولت و فرکانس 50 هرتز. ۱۴۰
- شکل (۲-۴۲): تاثیر مقدار MWCNT در سطح الکترواد اصلاح شده روی شدت جریان دماغه جم فیبروزیل با غلظت $30/0$ میکرومولار در محلول بافر فسفات $0.27/0$ مولار با $\text{pH} = 3/0$. زمان انباشت: 70 ثانیه، ارتفاع پالس 50 میلی ولت و فرکانس 50 هرتز. ۱۴۲
- شکل (۲-۴۳): تاثیر غلظت HAuCl_4 مورد استفاده برای اصلاح الکترواد روی شدت جریان دماغه جم فیبروزیل با غلظت $30/0$ میکرومولار در محلول بافر فسفات $0.27/0$ مولار با $\text{pH} = 3/0$ با روش ولتامتری موج مربعی. زمان انباشت: 70 ثانیه، ارتفاع پالس 50 میلی ولت و فرکانس 50 هرتز. ۱۴۴
- شکل (۲-۴۴): تاثیر تعداد چرخه‌های ترسیب نانو ذرات طلا بر روی شدت جریان دماغه جم فیبروزیل با غلظت $30/0$ میکرومولار در محلول بافر فسفات $0.27/0$ مولار با $\text{pH} = 3/0$ با روش ولتامتری موج مربعی. زمان انباشت: 70 ثانیه، ارتفاع پالس 50 میلی ولت و فرکانس 50 هرتز. ۱۴۵
- شکل (۲-۴۵): تاثیر (الف) پتانسیل و (ب) زمان انباشت بر روی شدت جریان دماغه جم فیبروزیل با غلظت $30/0$ میکرومولار در محلول بافر فسفات $0.27/0$ مولار با $\text{pH} = 3/0$ با روش ولتامتری موج مربعی جذب سطحی در سطح Au/MWCNT/GCE . ارتفاع پالس 50 میلی ولت و فرکانس 50 هرتز. ۱۴۶
- شکل (۲-۴۶): نمودار حاصل از بررسی ارتفاع پالس در روش ولتامتری موج مربعی جذب سطحی برای اندازه گیری $30/0$ میکرومولار جم فیبروزیل در محلول بافر فسفات $0.27/0$ مولار با $\text{pH} = 3/0$ در سطح Au/MWCNT/GCE . زمان انباشت: 50 ثانیه و فرکانس 50 هرتز. ۱۴۸
- شکل (۲-۴۷): (الف) نمودار حاصل از بررسی فرکانس موج مربع در روش ولتامتری موج مربعی جذب سطحی (ب) ولتاموگرام‌های موج مربعی برای اندازه گیری $30/0$ میکرومولار جم فیبروزیل در محلول بافر فسفات $0.27/0$ مولار با $\text{pH} = 3/0$ در سطح Au/MWCNT/GCE . زمان انباشت: 50 ثانیه و ارتفاع پالس 50 میلی ولت. ۱۴۹
- شکل (۲-۴۸): (الف) ولتاموگرام موج مربعی برهنه سازی جذب سطحی محلول $30/0$ میکرومولار جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE در محلول بافر فسفات با pH های مختلف از $2/0$ تا $6/0$. زمان انباشت: 70 ثانیه، ارتفاع پالس 50 میلیولت و فرکانس 50 هرتز. (ب) تغییرات پتانسیل دماغه اکسایش جم فیبروزیل را بر حسب pH نشان می‌دهد. ۱۵۱
- شکل (۲-۴۹): نمودار تغییرات شدت جریان دماغه اکسایش $30/0$ میکرومولار جم فیبروزیل در محلول بافر فسفات $0.27/0$ مولار با $\text{pH} = 3/0$ بر حسب جذر سرعت رویش پتانسیل در محدوده 40 تا 200 میلی ولت بر ثانیه به کمک روش ولتامتری چرخه‌ای در سطح الکترواد Au/MWCNT/GC ۱۵۳

- شکل (۵۰-۲): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در سطح Au/MWCNT/GCE در محلول بافر فسفات 0.027 M با $\text{pH}=3.0$ دارای $300\text{ }\mu\text{M}$ میکرومولار جم فیبروزیل در سرعت روبش‌های مختلف: (الف تا ج) مربوط به سرعت‌های روبش 40 ، 50 ، 80 ، 100 ، 125 ، 160 و 200 میلی ولت بر ثانیه میباشند. (ب) نمودار تغییرات پتانسیل دماغه اکسایش جم فیبروزیل بر حسب لگاریتم طبیعی سرعت روبش پتانسیل..... 154
- شکل (۵۱-۲): ولتاموگرام‌های موج مربعی در سطح Au/MWCNT/GCE، در محلول بافر فسفات 0.027 M مولار با $\text{pH}=3.0$ حاوی جم فیبروزیل $300\text{ }\mu\text{M}$ میکرومولار در زمانهای انباشت (الف-ج) 0.0 ، 0.15 ، 0.25 ، 0.35 ، 0.50 و 0.75 ثانیه بدون اعمال پتانسیل انباشت، ارتفاع پالس 50 میلی ولت، فرکانس 50 هرتز..... 155
- شکل (۵۲-۲): (الف) کروئولوگرام‌های Au/MWCNT/GCE در محلول بافر فسفات 0.027 M با $\text{pH}=3.0$ حاوی غلظت‌های متفاوت جم فیبروزیل (الف) غیاب، (ب) $100\text{ }\mu\text{M}$ ، (پ) $200\text{ }\mu\text{M}$ ، (ت) $450\text{ }\mu\text{M}$ و (ث) $600\text{ }\mu\text{M}$ میکرو مولار. پله پتانسیل آندی در $1/45$ ولت نسبت به الکترود شاهد میباشد. زمان انباشت: 50 ثانیه و زمان استراحت: 10 ثانیه. (ب) نمودار تغییرات $Q-t^{1/2}$ به دست آمده از کروئولوگرام‌های (ب-ث) بعد از کم کردن نقطه به نقطه از زمینه است. (ج) نمودار شیب خطوط $Q-t^{1/2}$ بر حسب غلظت جم فیبروزیل..... 157
- شکل (۵۳-۲): ولتاموگرام‌های موج مربعی جذب سطحی در سطح Au/MWCNT/GCE در محلول بافر فسفات 0.027 M مولار با $\text{pH}=3.0$ دارای غلظت‌های مختلف جم فیبروزیل از 0.15 تا $450\text{ }\mu\text{M}$ میکرو مولار. زمان انباشت: 50 ثانیه، زمان استراحت: 10 ثانیه، ارتفاع پالس 50 میلی ولت و فرکانس 40 هرتز..... 160
- شکل (۵۴-۲): نمودار تغییرات شدت جریان اکسایش بر حسب غلظت جم فیبروزیل در محدوده 0.15 تا $450\text{ }\mu\text{M}$ میکرومولار در بافر فسفات 0.027 M مولار با $\text{pH}=3.0$ به کمک ولتامتری موج مربعی جذب سطحی در سطح Au/MWCNT/GCE. زمان انباشت: 50 ثانیه و زمان استراحت: 10 ثانیه، ارتفاع پالس 50 میلی ولت و فرکانس 40 هرتز..... 161
- شکل (۵۵-۲): (الف) نمودار نایکوئیست در سطح الکترود Au/MWCNT/GC در غیاب و حضور غلظت‌های فزاینده جم فیبروزیل از 0.10 تا $450\text{ }\mu\text{M}$ میکرو مولار در محلول بافر فسفات 0.027 M با $\text{pH}=3.0$ ، $E_{dc}=1/34$ ولت و فرکانس 10000 تا 0.1 هرتز. زمان انباشت 50 ثانیه و زمان استراحت 10 ثانیه. (ب) نمایش طرح نموداری مدار معادل شده..... 162
- شکل (۵۶-۲): نمودار تغییرات معکوس مقاومت در برابر انتقال بار بر حسب غلظت جم فیبروزیل در محدوده 0.10 تا $450\text{ }\mu\text{M}$ میکرو مولار در بافر فسفات 0.027 M مولار با $\text{pH}=3.0$ در سطح الکترود Au/MWCNT/GC با روش امپدیمتری..... 163
- شکل (۵۷-۲): فرمول ساختاری آلزارین قرمز S..... 176
- شکل (۵۸-۲): الکتروپلیمریزاسیون MWCNT-ARS در سطح الکترود کربن شیشه در $100\text{ }\mu\text{L}$ میلی لیتر بافر فسفات 0.067 M با $\text{pH}=7.0$ مولار حاوی $60\text{ }\mu\text{M}$ میلی گرم ARS و $80\text{ }\mu\text{M}$ میلی گرم MWCNT، سرعت روبش 100 میلی ولت بر ثانیه..... 178
- شکل (۵۹-۲): تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با (الف) PARS (ب) MWCNT-PARS..... 179

شکل (۶۰-۲): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای MWCNT-PARS /GCE در محلول $1/0 \text{ mM K}_4\text{Fe(CN)}_6$ حاوی $0/10 \text{ M KCl}$ در سرعت روبش‌های مختلف: (الف تا ج) مربوط به سرعت‌های روبش ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی ولت بر ثانیه میباشند. (ب) نمودار تغییرات شدت جریان دماغه آندی بر حسب جذر سرعت روبش. ۱۸۰

شکل (۶۱-۲): (الف) نمودار نایکوئیست در سطح الکترودهای GC اصلاح نشده، PARS/GC و MWCNT-PARS/GC در محلول $5/0$ میلی مولار پتاسیم هگزاسیانو فرات / پتاسیم هگزاسیانو فریت حاوی $0/5$ مولار پتاسیم کلرید، محدوده فرکانس $0/1$ تا 100000 Hz . (ب) نمایش طرح نموداری مدار معادل شده. ۱۸۱

شکل (۶۲-۲): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای MWCNT-PARS/GCE در محلول $0/50$ مولار H_2SO_4 در سرعت روبش‌های مختلف: (الف تا ث) مربوط به سرعت‌های روبش ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی ولت بر ثانیه میباشند. (ب) نمودار تغییرات شدت جریان آندی بر حسب سرعت اسکن. ۱۸۳

شکل (۶۳-۲): ولتاموگرام‌های (الف) چرخه‌ای و (ب) پالس تفاضلی $20/0$ میکرومولار جم فیروزیل در محلول بافر استاتی $0/10$ مولار با $\text{pH} = 4/5$ در سطح الکترودهای کربن شیشه‌ای اصلاح نشده (۲)، اصلاح شده با PARS (۳) و اصلاح شده با فیلم MWCNT-PARS (۴). ولتاموگرام (۱) در (الف و ب) به ترتیب، مربوط به ولتاموگرام چرخه‌ای و پالس تفاضلی الکترودهای کربن شیشه‌ای اصلاح شده با فیلم MWCNT-PARS در غیاب جم فیروزیل میباشند. سرعت روبش در ولتامتری چرخه‌ای 100 میلی ولت بر ثانیه. برای ولتاموگرام پالس تفاضلی ارتفاع پالس 70 میلی ولت، مدت زمان اعمال پالس 20 میلی ثانیه و سرعت روبش 50 میلی ولت بر ثانیه. ۱۸۶

شکل (۶۴-۲): نمودار تغییرات جریان آندی بر حسب pH برای محلول $10/0$ میکرومولار جم فیروزیل. تمامی اندازه گیری‌ها در محلول $0/027$ مولار بافر فسفاتی و در سطح الکترودهای کربن شیشه‌ای اصلاح شده با MWCNT-PARS. ارتفاع پالس 50 میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس 50 میلی ثانیه و سرعت روبش 50 میلی ولت بر ثانیه. ۱۸۹

شکل (۶۵-۲): نمودار تغییرات میزان شدت جریان آندی بر حسب نوع بافر در $\text{pH} = 4/5$ ، در محلول $10/0$ میکرومولار جم فیروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE. ارتفاع پالس 50 میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس 50 میلی ثانیه و سرعت روبش 50 میلی ولت بر ثانیه. ۱۹۱

شکل (۶۶-۲): نمودار تغییرات میزان شدت جریان آندی جم فیروزیل بر حسب حجم بافر استاتی $0/10$ مولار در $\text{pH} = 4/5$ ، در محلول $10/0$ میکرومولار جم فیروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE به روش ولتامتری پالس تفاضلی. ارتفاع پالس 50 میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس 50 میلی ثانیه و سرعت روبش 50 میلی ولت بر ثانیه. ۱۹۲

شکل (۶۷-۲): تاثیر مقدار MWCNT مورد استفاده در اصلاح الکترودهای روی شدت جریان دماغه جم فیروزیل با غلظت $10/0$ میکرومولار در محلول بافر استاتی با $\text{pH} = 4/5$ با روش ولتامتری پالس تفاضلی. ارتفاع پالس 50 میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس 50 میلی ثانیه و سرعت روبش 50 میلی ولت بر ثانیه. ۱۹۴

شکل (۶۸-۲): تاثیر مقدار ARS مورد استفاده در اصلاح الکترودهای روی شدت جریان دماغه جم فیروزیل با غلظت $10/0$ میکرومولار در محلول بافر استاتی $0/10$ مولار با $\text{pH} = 4/5$ با روش ولتامتری پالس تفاضلی. ارتفاع پالس 50 میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس 50 میلی ثانیه و سرعت روبش 50 میلی ولت بر ثانیه. ۱۹۵

- شکل (۶۹-۲): تاثیر تعداد چرخه‌های تشکیل پلیمر بر روی شدت جریان دماغه جم فیبروزیل با غلظت ۱۰/۰ میکرومولار در محلول بافر استات ۰/۱۰ مولار با $\text{pH}=4/5$ با روش ولتامتری پالس تفاضلی. ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه و سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه..... ۱۹۶
- شکل (۷۰-۲): تاثیر سرعت روبش بر روی شدت جریان دماغه جم فیبروزیل با غلظت ۱۰/۰ میکرومولار در محلول بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با $\text{pH}=4/5$ با روش ولتامتری پالس تفاضلی در سطح MWCNT-PARS/GCE. ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه..... ۱۹۸
- شکل (۷۱-۲): نمودار حاصل از بررسی ارتفاع پالس در روش ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه گیری ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در محلول بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با $\text{pH}=4/5$ در سطح MWCNT-PARS/GCE. سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه، مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه..... ۱۹۹
- شکل (۷۲-۲): نمودار حاصل از بررسی مدت زمان اعمال پالس در روش ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه گیری ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در محلول بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با $\text{pH}=4/5$ در سطح MWCNT-PARS/GCE. سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۷۰ میلی ولت..... ۲۰۰
- شکل (۷۳-۲): (الف) ولتاموگرام پالس تفاضلی محلول ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE در محلول بافر استاتی با pH های مختلف از ۳/۵ تا ۵/۵. سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۷۰ میلی ولت، مدت زمان اعمال پالس ۲۰ میلی ثانیه. (ب) تغییرات پتانسیل دماغه اکسایش جم فیبروزیل را بر حسب pH نشان می‌دهد..... ۲۰۲
- شکل (۷۴-۲): نمودار تغییرات شدت جریان دماغه اکسایش ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در محلول بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با $\text{pH}=4/5$ بر حسب جذر سرعت روبش پتانسیل در محدوده ۲۰ تا ۲۰۰ میلی ولت بر ثانیه به روش ولتامتری چرخه‌ای در سطح MWCNT-PARS/GCE..... ۲۰۳
- شکل (۷۵-۲): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در سطح MWCNT-PARS/GCE در محلول بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با $\text{pH}=4/5$ دارای ۲۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در سرعت روبش‌های مختلف: (الف تا ج) مربوط به سرعت‌های روبش ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۱۰۰، ۱۲۰، ۱۶۰ و ۲۰۰ میلی ولت بر ثانیه می‌باشند. (ب) نمودار تغییرات پتانسیل دماغه اکسایش جم فیبروزیل بر حسب لگاریتم طبیعی سرعت روبش پتانسیل..... ۲۰۴
- شکل (۷۶-۲): (الف) کروئوآمپروگرام‌های MWCNT-PARS/GCE در محلول بافر استات با $\text{pH}=4/5$ حاوی غلظت‌های متفاوتی از جم فیبروزیل: (الف) غیاب، (ب) ۲/۰، (پ) ۵/۰، (ت) ۱۰/۰ و (ث) ۲۰/۰ میکرو مولار. پله پتانسیل آندی برابر با ۱/۴۰ ولت نسبت به الکتروود شاهد می‌باشد. (ب) نمودار تغییرات $I - t^{-1/2}$ ، مربوط به کروئوآمپروگرام‌های (ب-ث) قسمت (الف) است. (ج) نمودار شیب خطوط $I - t^{-1/2}$ بر حسب غلظت جم فیبروزیل..... ۲۰۵
- شکل (۷۷-۲): ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی جم فیبروزیل در محلول بافر استات با $\text{pH}=4/5$ در سطح الکتروود MWCNT-PARS/GC در غلظت‌های مختلف. سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۷۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۲۰ میلی ثانیه..... ۲۰۸

شکل (۷۸-۲): نمودار تغییرات شدت جریان اکسایش بر حسب غلظت جم فیبروزیل در محدوده‌ی ۱/۰ تا ۲۲/۰ میکرومولار در بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با $pH = 4/5$ به کمک ولتامتری پالس تفاضلی. سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۷۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۲۰ میلی ثانیه. ۲۰۹		
---	--	--

طرح (۱-۲): فرایند الکترودی پیشنهادی وراپامیل در سطح MWCNT/GCE.....	۶۴
طرح (۲-۲): مکانیسم اکسایش دوپامین در سطح CPE	۸۶
طرح (۳-۲): مکانیسم پیشنهادی برای واکنش کلی دوپامین در سطح MT/MCPE.....	۸۶
طرح (۴-۲): مکانیسم پیشنهادی برای واکنش الکترودی روی سطح MT/MCPE.....	۱۰۱
طرح (۵-۲): فرآیند الکتروشیمیایی پیشنهادی برای اکسایش جم فیبروزیل.....	۱۵۲

فهرست علائم و اختصارات

معادل فارسی	معادل انگلیسی	علامت یا اختصارات
انحراف استاندارد.....	(Standard deviation).....	SD.....
الکترو د خمیر کربن.....	(Carbon paste electrode).....	CPE.....
الکترو د کربن شیشه.....	(Glassy carbon electrode).....	GCE.....
الکترو د کربن شیشه اصلاح شده با شده با نانولوله های کربنی چند دیواره		
.....	(Glassy carbon modified with multiwalled carbon nanotube).....	MWCNT/GCE.....
الکترو د کربن شیشه اصلاح شده با شده با نانولوله های کربنی چند دیواره و نانوذرات طلا.....		
.....	(Glassy carbon modified with multiwalled carbon nanotube and gold nano particles).....	Au/MWCNT/GCE.....
الکترو د کربن شیشه اصلاح شده با نانولوله های کربنی چند دیواره و پلی آلیزارین قرمز.....		
.....	(Glassy carbon modified with multi-walled carbon nanotube and poly alizarin red S).....	MWCNT-PARS/GCE.....
الکترو د خمیر کربن اصلاح شده با متیل تیوراسیل.....		
.....	(Carbon paste electrode modified with methylthiouracil).....	MT/MCPE.....
امپدانس واربورگ.....	(Warburg impedance).....	Z_W
پتانسیل فرمال	(Formal potential).....	E'_0
پتانسیل دماغه.....	(Peak potential).....	E_p
پتانسیل جبران کننده مستقیم.....	(DC offset potential).....	E_{dc}
تابع مطلوبیت.....	(Desirability function).....	D.....
ثابت سرعت انتقال بار ناهمگن.....	(Heterogeneous electron transfer rate constant).....	k_0
جریان دماغه.....	(Peak current).....	i_p
حد تشخیص.....	(Limit of detection).....	LOD.....
سرعت روبش پتانسیل.....	(Potential scan rate).....	v
مساحت سطح.....	(Surface area).....	A.....
ضریب نفوذ.....	(Diffusion coefficient).....	D.....
طراحی پلاکت-برمن.....	(Plackett – Burman design).....	PB design.....
طراحی مکعب مرکزی مرکز وجوه پر.....	(Central composite face- centered design).....	CCF.....
طیف بینی امپدانس الکتروشیمیایی.....	(Electrochemical impedance spectroscopy).....	EIS.....
طیف سنجی پراش انرژی اشعه ایکس.....	(Energy dispersive x-ray spectroscopy).....	EDX.....
عنصر فاز ثابت.....	(Constant phase element).....	CPE.....
غلظت.....	(Concentration).....	C.....
غلظت سطح گونه های الکترو فعال.....	(Surface concentration of electro active species).....	Γ
کولن.....	(Coulomb).....	C.....
مقاومت انتقال بار.....	(Resistance to charge transfer).....	R_{ct}
مقاومت محلول.....	(Solution resistance).....	R_s

فهرست علائم و اختصارات

علامت یا اختصارات	معادل انگلیسی	معادل فارسی
SEM.....	(Scanning electron microscopy).....	میکروسکوپ الکترونی روبشی.....
LDR.....	(Linear dynamic range).....	ناحیه خطی.....
CV.....	(Cyclic voltammetry)	ولتامتری چرخه‌ای.....
Ads-DPV.....	(Adsorptive stripping differential pulse voltammetry) ...	ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی... (Adsorptive stripping differential pulse voltammetry)
Ads-SWV.....	(Adsorptive stripping square wave voltammetry).....	ولتامتری موج مربعی جذب سطحی..... (Adsorptive stripping square wave voltammetry)

فصل اول - مقدمه و تئوری

۱-۱ مقدمه

نظر به اهمیت و نقش موثر بسیاری از ترکیبات بیولوژیکی و دارویی در فرایندهای متابولیتی و مصارف درمانی گسترده آنها، ارائه روش‌های سریع، ساده و دقیق برای اندازه‌گیری این ترکیبات از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است. الکتروشیمی یکی از مهمترین شاخه‌های شیمی تجزیه است که کاربردهای عملی فراوانی در زمینه‌های مختلف پزشکی، همچون: تشخیص عوامل بیماریزا، اندازه‌گیری داروها و متابولیت‌های آنها، ارزیابی و اندازه‌گیری گونه‌های آزمایشی هدف موجود در نمونه‌های بیولوژیکی را دارد. به دلیل مزایایی، از قبیل: حساسیت، گزینش‌پذیری بالا، استفاده آسان، آماده‌سازی سریع، مقرون به صرفه بودن و قابلیت کوچک‌سازی، توجه زیادی به سمت ساخت و طراحی حسگرها و زیست حسگرهای الکتروشیمیایی^۱ به منظور اندازه‌گیری ترکیبات مهم بیولوژیکی و دارویی با استفاده از فنون الکتروشیمیایی معطوف شده است [۱-۵].

۱-۲ الکترودهای اصلاح شده شیمیایی^۲ (CMEs)

حسگرهای شیمیایی، متشکل از یک عنصر انتقال دهنده علائم پوشیده از یک لایه شناساگر شیمیایی یا زیستی می‌باشند و در اثر برهم‌کنش گونه آزمایشی هدف با این لایه، تغییرات شیمیایی بوجود آمده به علامت الکتریکی تبدیل می‌گردد. حسگرهای الکتروشیمیایی، زیر شاخه مهمی از حسگرهای شیمیایی می‌باشند که در آنها، از یک الکتروده به عنوان عنصر انتقال دهنده علائم استفاده می‌شود که علامت تجزیه‌ای^۳ را به صورت پتانسیل الکتریکی یا شدت جریان ظاهر می‌نماید [۶]. برای توسعه موفق حسگرهای الکتروشیمیایی، تقویت علامت تجزیه‌ای و کاهش نوفه^۴ برای تعیین و اندازه‌گیری گونه آزمایشی هدف در تجزیه بیوشیمیایی بسیار

^۱ Electrochemical biosensors

^۲ Chemically modified electrodes

^۳ Signal

^۴ Noise

حائز اهمیت است. از آنجایی که سینتیک مبادله الکترون برخی از گونه‌های آزمایشی مهم بیولوژیکی و دارویی در سطح الکترودهای معمولی بسیار کند است، انجام این فرآیندها ملزم به اعمال اضافه ولتاژ زیادی می‌باشد. از اینرو، بهبود خواص سطح الکترودهای معمولی در نتیجه تثبیت و یا وارد کردن سنجیده اصلاحگرهای مناسب، به‌عنوان راهکاری مناسب برای کاهش اضافه ولتاژ و غلبه بر سینتیک کند بسیاری از فرایندهای الکترودی انجام می‌پذیرد [۷].

هم‌چنین، می‌توان از این الکترودهای اصلاح شده برای جدا کردن علامت‌های الکتروتجزیه‌ای گونه‌های آزمایشی هدف متعدد موجود در یک نمونه بیولوژیکی واحد که در سطح الکترودهای اصلاح نشده، در پتانسیل‌های نزدیک به یکدیگر بوقوع می‌پیوندند، بهره جست و بدین ترتیب به اندازه‌گیری همزمان چندین گونه آزمایشی در یک محلول واحد دست یافت [۸]. در واقع، اصلاحگرها و یا حدواسط‌ها، انتقال الکترون بین سطح الکتروود و گونه‌های آزمایشی مورد نظر را تسهیل کرده و باعث افزایش حساسیت و بهبود میزان حد تشخیص^۱ در اندازه‌گیری‌های الکتروشیمیایی آن‌ها می‌شوند [۷].

یک الکتروود اصلاح شده شیمیایی ایده آل دارای ویژگی‌های زیر است [۹]:

- ۱- سادگی و سهولت تهیه: مواد خامی که برای اصلاح الکتروود مورد استفاده قرار می‌گیرند باید ارزان بوده و مراحل آماده سازی سریع باشد.
- ۲- پایداری مکانیکی و شیمیایی: الکتروودها باید در مراحل مختلف آماده سازی و نگهداری مقاوم باشند.
- ۳- بی اثر بودن الکتروشیمیایی: گستره پتانسیل الکتروشیمیایی باید برای آزمایش تجزیه ای مورد نظر مناسب باشد.

^۱ Limit of detection (LOD)

۴- توانایی تمایز قائل شدن بین اجزای بافت: اجزای بافت نباید تولید سیگنال تجزیه‌ای کنند، هم‌چنین نباید با سیگنال گونه هدف تداخل داشته باشند.

۵- حساسیت بالا: امکان رسیدن به حساسیت بالا از طریق پیش تغلیظ و یا الکتروکاتالیز وجود دارد.

۶- قابلیت استفاده مجدد: باید قابلیت انجام تعداد محدودی آنالیز، قبل از پاک کردن و تجدید سطح CME وجود داشته باشد.

۷- پاک‌سازی و تولید مجدد: این امر باید به راحتی و با تکرارپذیری خوب صورت پذیرد.

به‌طور کلی، فرایندهای الکترودی روی سطح الکترودهای اصلاح شده شامل چیزی بیش از انتقال الکترون در یک محدوده و مرز کاملاً شناخته شده است. برای درک محدودیت‌های الکترودهای اصلاح شده و به حداکثر رساندن مزایای آن‌ها، مکانیسم عملکردشان باید به خوبی شناخته شده باشد.

۳-۱ طراحی الکترودهای اصلاح شده شیمیایی

هنگام طراحی الکترودهای اصلاح شده برای یک هدف خاص، باید به هر دو جنبه شیمیایی و انتقال الکترون توجه شود. CME ها در حالت کلی مسئول القای تاثیرات شیمیایی و الکتروشیمیایی موردنظر در حین انجام تجزیه می‌باشند.

۱-۳-۱ آماده سازی الکترودهای اصلاح شده

بسته به اینکه حسگر بر اساس کدامیک از فرایندهای فیزیکی یا شیمیایی عمل خواهد کرد، مراحل و شرایط آماده سازی الکترودها باید تعریف شود. بنابراین، نوع بستر، روش اصلاح بستر و خواص الکترودها در این مرحله حائز اهمیت است.

۱-۱-۳-۱ نوع بستر

بستر الکترودی به سطح صاف و همواری اطلاق می‌گردد که اصلاحگر بر روی آن قرار می‌گیرد و در حالت اصلاح نشده به عنوان الکتروُد به کار می‌رود.

در سال‌های گذشته الکترودهای قطره جیوه به عنوان بستر مورد استفاده قرار می‌گرفتند، اما این الکترودها دارای معایبی نظیر محدودیت‌های مکانیکی و همچنین محدود بودن پهنای آندی می‌باشند. سایر الکترودهای جامد، مانند: طلا، پلاتین و کربن (به ویژه پیرولیتیک گرافیت) امروزه کاربرد بیشتری دارند. علاوه بر الکترودهای ذکر شده، الکترودهای کربنی (مانند کربن شیشه مشبک^۱، کربن شیشه^۲، فیبر کربن، پارچه کربن^۳) امروزه در تهیه بسیاری از الکترودهای اصلاح شده به کار می‌روند.

۱-۱-۳-۲ اصلاح کردن بستر

این مسئله بدون شک، در مورد الکترودهای اصلاح شده شیمیایی، بیشترین توجه را به خود جلب کرده است. بدون توسعه روش‌های آماده سازی ساده و تکرارپذیر، مطالعه CME در حد مطالعه دانشگاهی باقی می‌ماند. اما خوشبختانه شیوه تهیه آسان و عملی این الکترودها به وفور در مقالات ارائه شده است. همان‌طور که قبلاً اشاره شد، الکترودها باید به سادگی تهیه شوند و ارزان هم باشند، همچنین باید خواص فیزیکی و شیمیایی دلخواه را نشان دهند و از ثابت سرعت انتقال الکترون مناسبی برای فرآیند الکترودی گونه هدف برخوردار باشند.

روش‌های آماده سازی CME ها به‌طور کلی در چهار دسته اصلی قرار می‌گیرند که همه این موارد شامل افزودن یک اصلاحگر، یا یک جزء فعال شیمیایی به بستری است که در حالت عادی از نظر شیمیایی غیرفعال است [۹]. این چهار دسته عبارتند از:

^۱ Reticulated vitreous carbon

^۲ Glassy carbon electrode (GCE)

^۳ Carbon clothes

۱- آماده سازی الکترودهای مرکب^۱

CME هایی که در آنها اصلاحگر به طور فیزیکی با مواد الکترودی مخلوط می شود در این دسته قرار می گیرند، در واقع در این روش اصلاح از طریق توده الکترود انجام می پذیرد.

متداول ترین مثال این دسته شامل الکترودهای خمیر کربن است که معمولاً در آنها اصلاحگر در حین مرحله آماده سازی الکترود با درصد وزنی/ وزنی مشخص به مخلوط گرافیت/روغن خمیر کننده، افزوده می شود [۱۰-۱۲]. تهیه این الکترودها بسیار ساده و ارزان است. سطح این الکترودها به راحتی قابل تجدید می باشد و در نتیجه مشکلات ناشی از اثرات حافظه به جا مانده از جذب سطحی برگشت ناپذیر آنالیت را که در دیگر الکترودهای اصلاح شده می توان با آن مواجه بود در این الکترودها وجود ندارد. بزرگترین مشکل الکترودهای شیمیایی اصلاح شده مرکب از این نوع مربوط به شسته شدن اصلاحگر از سطح الکترود می باشد چراکه نمی توان انتظار داشت اصلاحگرهای مورد استفاده کاملاً در حلال های متداول غیرمحلول باشند.

۲- جذب سطحی شیمیایی^۲

جذب سطحی شیمیایی بیشترین کاربرد را در مورد اصلاحگرهایی دارد که قابلیت حل شدن در حلال گونه هدف را نداشته باشند. این نوع اصلاحگرها معمولاً در حلال های فرار قابل حل هستند و به کمک پیپت روی سطح الکترود قرار داده می شوند. سپس حلال تبخیر شده و اصلاحگر روی سطح باقی می ماند. در این حالت توجه به این نکته ضروری است که اصلاحگر باید همه سطح را به منظور ایجاد یک پوشش یکنواخت در بر گیرد [۹].

روش جذب سطحی شیمیایی، به طور گسترده برای پوشاندن سطح الکترود با پلیمر [۱۳-۱۵]

^۱ Composite electrodes

^۲ Chemisorption

و بسیاری از مواد آلی [۱۶] و معدنی [۱۸،۱۷] مورد استفاده قرار گرفته شده است. الکترودهایی که به این ترتیب تهیه می‌شوند اگر به تدریج در دمای اتاق خشک شوند پایداری مکانیکی بالاتری از خود نشان می‌دهند. الکترودهای تهیه شده به این روش نیز از مشکلی مشابه با الکترودهای مرکب رنج می‌برند و در این حالت نیز اصلاحگر ممکن است بتدریج از سطح الکتروود شسته و پاک شود [۱۳]. البته پایداری در این نوع الکترودهای اصلاح شده بستگی به نوع اصلاحگر و بستر به کار برده شده دارد.

نقص دیگر هر دو روش آماده سازی الکتروود مرکب و جذب سطحی شیمیایی شرح داده شده برای اصلاح الکتروود، این است که پوشاندن سطح به طور یکنواخت به راحتی امکان پذیر نیست و بنابراین تهیه الکترودهای تکرارپذیر با استفاده از این روش‌ها با مشکل مواجه خواهد بود.

۳- پیوندهای کووالانسی

اصلاح الکتروود از طریق ایجاد پیوندهای کووالانسی راه حلی برای رفع این مشکلات است. با استفاده از این فرآیند، اصلاحگر از طریق برقراری پیوندهای کووالانسی به طور مستقیم [۱۹] یا به کمک حدواسط [۲۱،۲۰] به بستر متصل می‌شود.

۴- پلیمریزاسیون در محل^۱

روش دیگر برای آماده سازی الکترودهای اصلاح شده شیمیایی تشکیل فیلم‌های پلیمری است. به طور کلی، منومر در محلول متحمل واکنش شده و پوشش پلیمری روی سطح الکتروود ایجاد می‌کند. از میان روش‌های متفاوت ایجاد پوشش پلیمری روش‌های الکتروشیمیایی به دلیل امکان کنترل ضخامت فیلم پلیمری، کوتاه بودن زمان تشکیل پلیمر و سادگی بیشتر از اهمیت به سزایی برخوردار است [۲۲-۲۶].

^۱ In-situ polymerization

۴-۱ مواد اصلاح کننده

ترکیبات تثبیت شده به عنوان اصلاحگر بر سطح الکترودها معمولاً خواص متفاوتی دارند که مهمترین آنها عبارتند از [۲۶-۲۲]:

- ۱- مبادله کنندگی سریع الکترون در لایه خارجی
 - ۲- خواص کاتالیزوری جهت تسریع واکنشهای مبادله الکترون مربوط به بسترهای مختلف
 - ۳- خواص کمپلکس کنندگی برای جمع آوری مقادیر اندک^۱ مولکولها و یونها از محلولها جهت اندازه گیری آنها
 - ۴- خواص مهار کنندگی خوردگی
- از ترکیبات شیمیایی آلی و معدنی می توان جهت اصلاح سطوح الکترودها استفاده کرد. در اغلب موارد این ترکیبات الکتروفعال می باشند. البته الکتروفعال بودن شرط لازم برای انتخاب یک معرف اصلاح کننده نبوده و در مواردی می توان از ترکیبات غیر الکتروفعال نظیر نافین که یک پلی آنیون است به عنوان اصلاح کننده بهره گرفت. در این حالت گونه آزمایشی مورد نظر همانند ۵و۵- دی فنیل هیدانتوین^۲ با بار مثبت بر اساس نفوذ انتخابی^۳ می تواند خود را به سطح الکترودها رسانده و در مبادله الکترون در سطح الکترودها شرکت نماید [۲۷].

خواص ساختاری و الکترونیکی بی نظیر نانو مواد، کاربرد و دامنه کارایی آنها را در سیستمهای الکتروشیمیایی به صورت قابل ملاحظه ای افزایش داده است، به گونه ای که به کارگیری نانومواد در تهیه الکترودهای اصلاح شده جهت ساخت حسگرها و زیست حسگرها می تواند منجر به کاهش اضافه ولتاژ لازم برای اکسایش و یا کاهش الکتروشیمیایی برخی از

^۱ Trace

^۲ 5,5-Diphenylhydantoin

^۳ Permselectivity

ترکیبات مهم بیولوژیکی و دارویی با رفتار سینتیکی کند گردد [۲۹،۲۸]. به عبارت دیگر، با کاهش اندازه مواد تا ابعاد نانومتری، خواص الکتریکی آن‌ها بهبود قابل توجهی پیدا می‌کند [۳۱،۳۰] و این تغییر در خواص الکتریکی و بهبود در انتقال الکترون، باعث افزایش کارایی این دسته از مواد در اصلاح سطوح الکترودها برای آنالیز ترکیبات بیولوژیکی می‌گردد [۳۳،۳۲]. استفاده از نانومواد، نظیر: نانو لوله‌های کربنی^۱ و نانو ذرات فلزی^۲، به عنوان حدواسط در مبادله مبادله الکترون بین سطح الکتروود و گونه فعال الکتروشیمیایی با رفتار سینتیکی کند، به دلیل خواص بی‌نظیری که در ادامه به آن‌ها اشاره خواهد شد، توجه بسیاری از الکتروشیمیدان‌ها را به خود جلب کرده است [۳۵،۳۴]. در این رساله، با بهره‌برداری از خواص منحصر به فرد نانو لوله‌های کربنی، نانو ذرات طلا، ترکیب نوکلئوفیلی نظیر متیل تیوراسیل و همچنین فیلم پلیمری آلزارین قرمز S، به ساخت انواع حسگرهای الکتروشیمیایی به روش‌های مختلف نظیر قطره گذاری روی سطح الکتروود، آماده‌سازی الکتروود مرکب و پلیمریزاسیون در محل پرداخته شده است. اندازه‌گیری ترکیبات بیولوژیکی و دارویی و مطالعه رفتار الکتروشیمیایی آن‌ها از اهمیت به‌سزایی برخوردار است اما بروز رفتار الکتروشیمیایی آن‌ها در سطح الکترودهای متداول با اضافه ولتاژ بالایی همراه است. در این رساله تلاش شده است تا با استفاده از حسگرهای الکتروشیمیایی تهیه شده، اندازه‌گیری ترکیبات دارویی نظیر وراپامیل، دوپامین و جم فیبروزیل به روش‌های الکتروشیمیایی مورد بررسی قرار گیرد. بنابراین در ادامه این فصل به توضیح مختصری از ویژگی‌های هر یک از موارد نامبرده برای ساخت حسگرهای الکتروشیمیایی مورد نظر می‌پردازیم.

۱-۴-۱ نانو لوله‌های کربنی و کاربرد آن‌ها در الکتروشیمی

طی آزمایش‌های انجام شده در سال ۱۹۸۵ میلادی که منجر به کشف فولرن‌ها^۳ گردید

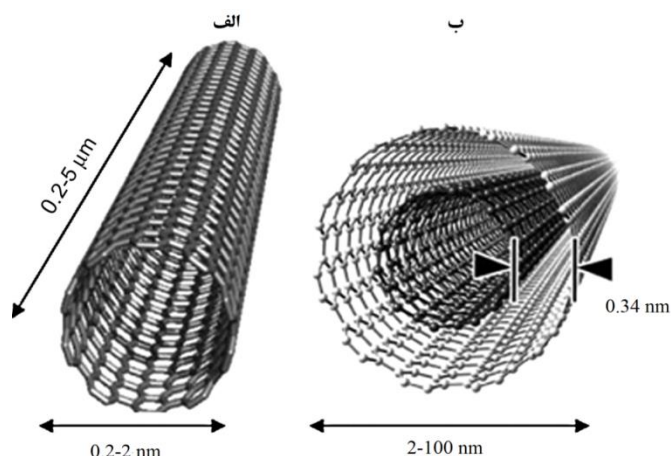
^۱ Carbon nanotubes

^۲ Metallic nanoparticles

^۳ Fullerenes

[۳۶]، نگرش نوینی نسبت به نانو ساختارهای کربنی به وجود آمد. این کشف نشان داد که چگونه مولکول‌های ایجاد شده از کربن sp^2 که بر مبنای اصول هندسی ساده قابل بیان هستند، می‌توانند ساختارهای متقارن جدیدی با ویژگی‌های بسیار جالب و مفید ایجاد کنند. نانو لوله‌های کربنی، نمونه مهمی از این ساختارهای متقارن هستند که توسط ایجیما^۱ (۱۹۹۱) کشف گردید [۳۷].

نانو لوله‌های کربنی، نتیجه نوآرایی کربن‌های sp^2 در صفحه گرافیتی بوده که برای تشکیل لوله خالی یکنواخت، به صورت استوانه در آمده‌اند. نانو لوله‌های کربنی به دو گروه کلی نانو لوله‌های کربنی تک‌دیواره (SWCNTs)^۲ و نانو لوله‌های کربنی چنددیواره (MWCNTs)^۳ تقسیم بندی می‌شوند [۳۷]. نانو لوله‌های کربنی تک‌دیواره (شکل ۱-۱-الف)، دارای یک دیواره استوانه‌ای شکل گرافیتی با قطر بین ۰/۲-۲ nm می‌باشند. نانو لوله‌های کربنی چنددیواره (شکل ۱-۱-ب)، از چندین دیواره استوانه‌ای گرافیتی هم مرکز با قطر ۲-۱۰۰ nm تشکیل می‌شوند که فاصله دیواره‌ها از همدیگر ۰/۳۴ nm است. طول نانو لوله‌ها در هر دو نوع از چند صد نانومتر تا چند میکرومتر متغیر است [۳۹،۳۸].



شکل (۱-۱): انواع نانو لوله‌های کربنی: (الف) تک دیواره و (ب) چند دیواره [۳۹،۳۸].

^۱ Iijima

^۲ Single-walled carbon nanotubes

^۳ Multi-walled carbon nanotubes

هدایت الکتریکی نانو لوله‌های کربنی و خواص الکترونیکی آن‌ها سبب شده تا در فرایندهای الکتروشیمیایی، تاثیر به‌سزایی در تقویت انتقال الکترون واکنش‌های اکسایش-کاهش از خود نشان دهند [۲۹]. این تاثیرات و خواص ویژه نانو لوله‌های کربنی، با داشتن نقص در ساختار آن‌ها که سرعت انتقال الکترون را تا حد قابل ملاحظه‌ای تقویت می‌کند، توجیه می‌شود. برای این اساس، نانو لوله‌های کربنی امروزه به‌صورت گسترده‌ای در ساخت حسگرها و زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی، باتری‌ها و پیل‌های سوختی به‌کار گرفته می‌شوند [۴۱،۴۰،۲].

یکی از کاربردهای ویژه نانو لوله‌های کربنی، استفاده از آن‌ها در ساخت حسگرهای الکتروشیمیایی می‌باشد. توانایی ویژه نانو لوله‌های کربنی در کاهش میزان اضافه ولتاژ الکتروشیمیایی و افزایش سرعت انتقال الکترون برخی از فرایندهای الکترودی با رفتار سینتیکی کند در سطح الکترودهای اصلاح شده با آن‌ها باعث افزایش روزافزون استفاده از این دسته از مواد در اصلاح سطح الکترودها شده است. گروه بریتو^۱ در سال ۱۹۹۹ گزارشی را ارائه کرده‌اند که در آن، تاثیر نانو لوله‌های کربنی بر فرایند انتقال الکترون در سیستم‌های الکتروشیمیایی به‌وضوح نشان داده شد [۴۲]. بررسی‌ها نشان داده‌اند که حضور لبه‌های بسیار تیز در انتهای دیواره و یا در محل نواقص سطحی موجود بر روی آن‌ها، عامل اصلی در افزایش سینتیک انتقال الکترون و در نتیجه کاهش میزان اضافه ولتاژ الکتروشیمیایی مورد نیاز برای واکنش گونه‌های آزمایشی الکتروفعال مورد نظر (یعنی انجام فرایند الکتروکاتالیز^۲) می‌باشد. به‌طورکلی ریخت‌شناسی سطح مشترک الکترودهای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی و محلول آزمایشی دارای گونه‌های آزمایشی الکتروفعال، نقش قابل ملاحظه‌ای را در سینتیک انتقال الکترون و کاهش اضافه ولتاژ آن‌ها ایفا می‌کند [۴۲].

^۱ Britto

^۲ Electrocatalysis

۱-۴-۲ نانو ذرات طلا و کاربرد آن‌ها در الکتروشیمی

به‌طور کلی استفاده از نانو ذرات فلزی از فلزات نجیب تا فلزات واسطه در حسگرها [۴۴,۴۳] و اپتیک [۴۵] مورد توجه زیادی قرار گرفته است. در این میان نانو ذرات فلزات نجیب، به‌دلیل دارا بودن ابعاد ویژه و خواص الکتریکی و کاتالیتیکی به‌عنوان الکتروکاتالیزور مورد توجه بوده‌اند. این مواد، به‌دلیل دارا بودن خواص بی‌همتا مانند: سطح مقطع بالا و فعالیت کاتالیتیکی فوق‌العاده‌ای که برای هر دو نوع واکنش‌های اکسایشی و کاهش‌ی دارند در سال‌های اخیر به‌عنوان کاتالیزور بسیار مورد استفاده بوده‌اند [۴۷,۴۶]. از میان نانو ذرات فلزات نجیب، نانو ذرات طلا، به‌دلیل قابلیت افزایش رسانایی الکتروود و سهولت انتقال الکترون در بسیاری از کاربردهای الکتروشیمیایی و ساخت حسگر و زیست حسگر مورد استفاده قرار گرفته است. نانو ذرات طلا را می‌توان به روش‌های شیمیایی [۴۸]، نور UV یا پرتوافکنی با پرتو الکترونی [۴۹] و یا روش‌های الکتروشیمیایی [۵۱,۵۰] تهیه کرد. دو روش اول معمولاً زمان‌بر و پرهزینه می‌باشند. برعکس، ترسیب الکتروشیمیایی می‌تواند جایگزین مناسبی برای تهیه نانو ذرات طلا در مدت زمان مناسب باشد. علاوه بر این، در روش‌های الکتروشیمیایی شکل و اندازه نانو ذرات از طریق تغییر محیط و شرایط سنتز به‌راحتی قابل کنترل است [۵۲].

از جمله کاربردهای الکتروشیمیایی نانو ذرات طلا می‌توان به انتقال الکترون مستقیم^۱ پروتئین‌های ردوکس [۵۳]، کاربرد به‌عنوان حسگرهای ژن^۲ [۵۴]، استفاده در حسگرهای ایمنی [۵۵]، بستری برای افزایش قابلیت الکتروکاتالیز و استفاده به‌عنوان حسگر الکتروشیمیایی نام برد. استفاده از نانو ذرات طلا به‌عنوان الکتروکاتالیزور برای بهبود فعالیت کاتالیتیکی و گزینش‌پذیری در حال افزایش است. نسبت بالای سطح به حجم و مکان‌های

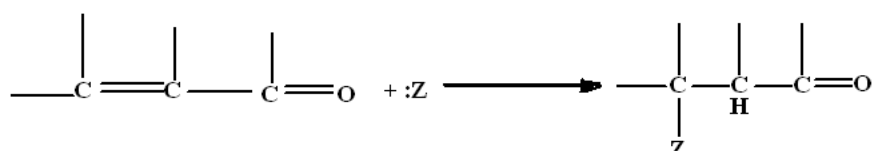
^۱ Direct electron transfer

^۲ Genosensor

فعال^۱ موجود در این نانو ذرات نیروی محرکه لازم برای توسعه الکتروکاتالیزورهایی با ابعاد نانو را فراهم می‌کند.

۱-۴-۳ واکنش‌های افزایش مایکل^۲ و کاربرد آن‌ها در الکتروشیمی

واکنش افزایش مایکل گونه‌ای از واکنش افزایشی هسته‌دوستی است که طی آن یک کربانیون یا گونه‌ای دیگر از هسته‌دوست‌ها، با یک ترکیب آلفا، بتا کربونیل غیر اشباع واکنش می‌دهد (شکل ۱-۲). این روش، روشی مفید در تشکیل یک پیوند کربن-کربن است که نخستین بار توسط شیمیدان آلی آمریکایی، آرتور مایکل معرفی گردید [۵۶].



شکل (۱-۲): طرح واکنش افزایش مایکل [۵۶].

طی واکنش افزایش مایکل، مشتقات کتکول به‌عنوان سوبسترا مورد استفاده قرار می‌گیرند و اکسایش این ترکیبات منجر به تولید اورتو بنزوکینون‌های مربوطه می‌شود. از آنجایی که این اورتو بنزوکینون‌ها، حد واسط‌های الکتروفعالی به‌حساب می‌آیند با نوکلئوفیل مناسب وارد واکنش افزایش مایکل می‌شوند [۵۷]. از طرف دیگر، گروهی از مولکول‌های آلی با خاصیت نوکلئوفیلی نظیر ۴-آمینو بنزوئیک اسید [۵۸]، ۴-آمینو بنزو سولفونات [۵۹] و پارا فنیل دی آمین [۶۰]، با شرکت در واکنش‌های افزایشی مایکل قادر به اندازه‌گیری سوبستراهایی نظیر دوپامین هستند. گزارش‌هایی برای به‌کار گیری الکتروشیمیایی واکنش افزایش ۴،۱ مایکل، که یک فرآیند شناخته شده برای سنتز الکتروشیمیایی ترکیبات مختلف آلی می‌باشد [۶۱، ۶۲]، در اندازه‌گیری برخی ترکیبات زیستی مانند سیستئین، هموسیستئین و گلوٲاتایون به‌عنوان

^۱ Electroactive sites

^۲ Michael addition

گونه‌های نوکلئوفیل ارائه شده است [۶۳-۶۶].

۴-۴-۱ پلیمرهای هادی و کاربرد آن‌ها در الکتروشیمی

پلیمرهای هادی در سال‌های اخیر برای توسعه زیست حسگرها بسیار مورد توجه بوده‌اند. پلیمرهای هادی در زنجیره الکترونی خود دارای الکترون‌های π هستند که مسئول خواص ویژه آن‌ها نظیر هدایت الکتریکی، پتانسیل یونش پایین و الکترون‌خواهی بالا می‌باشد [۶۷].

راه‌های گوناگونی برای سنتز پلیمرهای هادی وجود دارد که از بین آن‌ها سنتز الکتروشیمیایی همانطور که قبلاً اشاره شد، به دلیل سادگی روش و تکرارپذیری به یکی از پرکاربردترین روش‌ها تبدیل شده است. مزیت پلیمریزاسیون الکتروشیمیایی این است که واکنش می‌تواند در دمای اتاق انجام شود و از سوی دیگر با تغییر پتانسیل یا جریان می‌توان ضخامت فیلم را کنترل نمود [۶۷].

الکترودهای اصلاح شده پلیمری کاربردهای فراوانی همچون محافظت در برابر خوردگی، باتریهای قابل شارژ، انواع حسگرهای شیمیایی و الکتروشیمیایی، الکتروکاتالیز فرآیندهای الکترودی و اندازه‌گیری‌های الکتروشیمیایی دارند [۶۷]. الکتروکاتالیز فرآیندهای الکترودی کند، یکی از کاربردهای مهم الکترودهای اصلاح شده پلیمری است [۶۷]. بطوریکه پلیمر تثبیت شده در سطح الکتروود می‌تواند بعنوان حد واسط در واکنش الکتروودی بین الکتروود و سوبسترا دخالت نموده و واکنش مبادله الکترون را تسریع نماید [۶۷].

۵-۱ بررسی خصوصیات الکتروود اصلاح شده شیمیایی

بعد از اصلاح بسترهای الکتروودی به کمک اصلاحگرهای مورد نظر، از تکنیک‌های مختلفی برای آنالیز و بررسی خصوصیات الکترودهای اصلاح شده استفاده می‌شود. در واقع در مرحله توسعه الکترودهای اصلاح شده، اطلاعاتی که از طریق روش‌های

تجزیه‌ای می‌توان در مورد ضخامت، یکنواختی، تراوایی، ضریب نفوذ و ترکیب شیمیایی یک الکتروود اصلاح شده شیمیایی به‌دست آورد، بسیار ارزشمند است [۹]. از میان روش‌های الکتروشیمیایی تجزیه‌ای می‌توان به ولتامتری چرخه‌ای اشاره کرد که می‌تواند برای بررسی فعالیت الکتروشیمیایی الکتروودهای اصلاح شده مورد استفاده قرار گیرد. همچنین با استفاده از کروئوآمپرومتری و کروئوکولومتری می‌توان اطلاعات مفیدی در مورد ضریب انتشار گونه هدف در فرآیندهای الکتروودی مورد نظر به‌دست آورد. از دیگر روش‌های الکتروشیمیایی که معمولاً برای بررسی خصوصیات الکتروودهای اصلاح شده مورد استفاده قرار می‌گیرد می‌توان به اسپکتروسکوپی امپدانس الکتروشیمیایی^۱، اشاره کرد. این روش نیز اطلاعات مفیدی درباره خواص مواد نظیر هدایت و غلظت گونه‌های باردار در حالت تعادل ارائه می‌دهد. از میان سایر روش‌های موجود نیز می‌توان به استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی^۲، اشاره کرد که قادر است با تصویر برداری مستقیم از سطح الکتروود، اطلاعات مفیدی درباره ریخت شناسی و اندازه ذرات ارائه دهد. همچنین، روش‌های دیگری نیز می‌توانند برای درک ترکیب شیمیایی الکتروود اصلاح شده مورد استفاده قرار گیرند. برای مثال، طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (EDX)^۳، می‌تواند برای مطالعه‌ی لایه نازک روی بستر مورد استفاده قرار گیرد. EDX، قادر است اطلاعات کیفی و کمی مناسبی از عناصر موجود در اصلاح‌گر در اختیار قرار دهد.

۱-۶ اساس ایجاد سیگنال

برای به‌کارگیری الکتروودهای اصلاح شده شیمیایی به‌عنوان یک حسگر، آن‌ها باید قادر به تولید سیگنال الکتریکی وابسته به غلظت گونه هدف باشند. سیگنال می‌تواند به‌صورت تغییر مقاومت CME (امپدیمتری^۴)، تغییر اختلاف پتانسیل در CME (پتانسیومتری) و یا تولید

^۱ Electrochemical impedance spectroscopy

^۲ Scanning electron microscopy

^۳ Energy dispersive x-ray spectroscopy

^۴ Impedimetry

جریان ناشی از اکسایش و یا احیای گونه هدف (روش‌های ولتامتری و آمپرومتری) اندازه‌گیری گردد [۹]. روش‌های ولتامتری منجر به ایجاد تکنیک‌های حساس با زمان پاسخ سریع می‌شوند، و بنابراین امروزه کاربردهای بسیار زیادی دارند. در ادامه به توضیح مختصری در رابطه با روش‌های الکتروشیمیایی به کار گرفته شده در این رساله پرداخته می‌شود.

۱-۶-۱ ولتامتری چرخه‌ای

روش ولتامتری چرخه‌ای^۱ (CV)، یکی از بهترین شیوه‌ها در زمینه بررسی مکانیسم واکنش‌ها بر پایه روبش پتانسیل^۲ است. ولتامتری چرخه‌ای، تقریباً همیشه به عنوان یک روش مفید برای سیستم‌هایی که برای بار اول مورد مطالعه قرار می‌گیرند، به کار برده می‌شود. در آزمایش‌های ولتامتری چرخه‌ای، پتانسیل الکتروود کار به صورت خطی از پتانسیل اولیه، که در آن واکنش فارادایی مربوط به گونه‌ی هدف اتفاق نمی‌افتد، به پتانسیل نهایی که در آن اکسایش و یا کاهش گونه هدف اتفاق می‌افتد تغییر می‌کند. پس از عبور از قله‌ی پتانسیلی^۳ (E_p)، که در آن امکان انجام یک یا چند واکنش الکتروودی وجود دارد و حداکثر جریان^۴ (I_p)، نیز در این نقطه قابل دسترسی است، جهت روبش خطی معکوس می‌شود و واکنش الکتروودی گونه‌های حدواسط و یا محصولات، تولید شده طی روبش رفت، قابل رویت خواهند بود. سرعت تغییر پتانسیل در واقع سرعت روبش^۵، $V s^{-1}$ ، است و گستره پتانسیل بین پتانسیل شروع و خاتمه را پنجره پتانسیل^۶ می‌نامند که به خواص الکتروشیمیایی گونه هدف، الکتروود و الکتrolیت بستگی دارد. در یک ولتاموگرام چرخه‌ای، جریان ناشی از واکنش اکسایش/کاهش گونه هدف به تدریج افزایش پیدا می‌کند تا اینکه در E_p به بیشترین مقدار خود یعنی I_p می‌رسد. مقدار I_p به عوامل

^۱ Potential sweep

^۲ Peak potential

^۳ Peak current

^۴ Scan rate

^۵ Potential window

مختلفی از جمله غلظت گونه هدف، سینتیک انتقال الکترون و انتقال جرم گونه هدف بستگی دارد. در حالیکه تنها راه انتقال جرم نفوذ باشد (کنترل شده با انتشار) و سینتیک انتقال الکترون سریع باشد (واکنش برگشت پذیر)، جریان تئوری متناظر با E_p از رابطه راندلس-سویک^۱، پیروی می کند که در زیر آورده شده است [۶۸]:

$$I_p = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} ACD^{1/2} v^{1/2} \quad (1-1)$$

که در آن I_p بر حسب آمپر، n تعداد الکترون ها، A مساحت الکتروود بر حسب سانتی متر مربع، C غلظت بر حسب مول بر سانتی مترمکعب، D ضریب انتشار بر حسب سانتی مترمربع بر ثانیه، v سرعت روبش پتانسیل بر حسب ولت بر ثانیه و n تعداد الکترون های شرکت کننده در مرحله تعیین کننده سرعت می باشد.

ولتامتری چرخه ای برای مشخص کردن نوع فرآیند انتقال ماده در یک سیستم الکتروشیمیایی مفید است. طراحی سیستم به نحوی است که امکان دو نوع انتقال ماده وجود دارد: (الف) نفوذ و (ب) جذب سطحی.

سیستم الکتروشیمیایی ممکن است یک یا ترکیبی از هر دو راه انتقال ماده را در بر گیرد. در واکنش های کنترل شده با جذب سطحی، گونه هدف نیاز به حرکت به سمت سطح الکتروود را ندارد. بنابراین، وقتی پتانسیل به حد مورد نظر برای انجام فرآیند الکتروشیمیایی گونه هدف رسید، افزایش یا کاهش جریان با سرعت بیشتری انجام می شود. نتیجه این امر دماغه تیز با شدت جریان بالا خواهد بود (چرا که همه گونه هدف به یکباره واکنش می دهد).

یکی از راه های تشخیص نوع فرآیند انتقال ماده، تغییر سرعت روبش پتانسیل است (V). همانطور که در رابطه (۱-۱) اشاره شد در واکنش های کنترل شده با انتشار، I_p با مجذور سرعت

^۱ Randles-Sevcik equation

رویش ارتباط دارد. در حالیکه برای واکنش‌های کنترل شده با جذب سطحی، جریان دماغه در یک واکنش برگشت‌پذیر طبق (۲-۱) با سرعت رویش مرتبط است [۶۸].

$$I_p = \frac{n^2 F^2 A \nu \Gamma}{4 RT} \quad (2-1)$$

که در آن Γ میزان پوشش سطح بر حسب مول بر سانتی‌متر مربع، F ثابت فارادی بر حسب کولن، R ثابت جهانی گاز بر حسب ژول بر مول کلوین و T دما بر حسب کلوین می‌باشد، سایر متغیرها مشابه شرایط کنترل شده با انتشار می‌باشد.

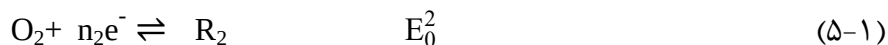
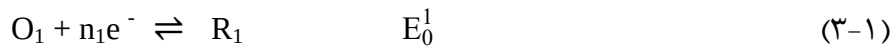
۱-۱-۶-۱ مطالعه مکانیسم واکنش‌ها

یکی از کاربردهای مهم ولتامتری چرخه‌ای، تشخیص کیفی واکنش‌های شیمیایی است که بر فرآیند ردوکس پیشی گرفته، یا به دنبال آن ظاهر می‌شوند [۶۹]. تحقیقات اولیه در مورد واکنش‌های شیمیایی همراه^۱ توسط بردیکا^۲ و همکاران، در دهه ۱۹۴۰ در مدرسه پلاروگرافی چک صورت پذیرفت [۶۸]. مکانیسم این گونه واکنش‌های الکتروشیمیایی، با استفاده از حروف E و C تعیین می‌شود که به ترتیب نشانگر مرحله انتقال الکترون در سطح الکتروود و مرحله واکنش شیمیایی همگن است [۷۰]. برای مثال، مکانیسم واکنشی که در آن ترتیب این مراحل شامل انجام واکنش شیمیایی پس از انجام واکنش انتقال الکترون باشد به صورت EC نمایش داده می‌شود. وقوع این گونه واکنش‌های شیمیایی، که غلظت سطحی در دسترس گونه الکتروفعال را به طور مستقیم تحت تاثیر قرار می‌دهد، در بسیاری از فرایندهای ردوکس ترکیبات آلی و معدنی دیده می‌شود. تغییر شکل ولتاموگرام چرخه‌ای، که نتیجه رقابت شیمیایی بین واکنش‌گر و محصول واکنش الکتروشیمیایی است، می‌تواند برای آشکارسازی مسیرهای این واکنش و فراهم ساختن اطلاعات شیمیایی قابل اعتماد درباره حد واسطه‌های فعال بسیار مفید باشد [۶]. از دیگر مکانیسم‌های تاثیرگذار در واکنش‌های الکتروشیمیایی،

^۱ Coupled chemical reactions

^۲ Brdicka

می‌توان به آن دسته از واکنش‌هایی اشاره کرد که شامل دو یا تعداد بیشتری از مراحل انتقال الکترون می‌باشند [۶۸]. برای مثال فرایندهای ECE، با یک مرحله شیمیایی قرار گرفته در میان مراحل انتقال الکترون:



در این مکانیسم، محصول واکنش اول به‌صورت شیمیایی عمل می‌کند و گونه O_2 را تولید می‌نماید که آن نیز به آسانی (حداقل مانند O_1) احیا می‌شود.

در این حالت دو پتانسیل وجود دارد، یکی مربوط به واکنش الکترودی اول و دیگری مربوط به واکنش الکترودی دوم می‌باشد که با توجه به مقدار این پتانسیل‌ها و نوع واکنش شیمیایی ولتاموگرام‌های چرخه‌ای شکل‌های مختلفی خواهند داشت. در یک دسته از این واکنش‌ها، واکنش الکترودی اول راحت‌تر از واکنش الکترودی دوم انجام می‌شود. در این شرایط شکل ولتاموگرام چرخه‌ای هیچ تفاوتی با مکانیسم EC ندارد فقط یک گونه الکترواکتیو دیگر تولید می‌شود که شکل آن وابسته به نوع واکنش الکترودی می‌باشد. در واقع در این حالت یک مکانیسم EC یا EC همراه با یک مکانیسم E ایجاد می‌گردد. دسته دیگر از این واکنش‌ها، آن‌هایی هستند که واکنش الکترودی دوم راحت‌تر از واکنش الکترودی اول انجام می‌شود. در این حالت نسبت به حالت قبلی تفاوت‌هایی وجود دارد. در حالت رفت مربوط به چرخه اول یک دماغه مشاهده می‌شود اما در حالت برگشت دو دماغه مشاهده می‌شود، که دماغه رفت در چرخه اول و دماغه برگشتی که دارای پتانسیلی نزدیک به پتانسیل دماغه رفت در چرخه اول می‌باشد مربوط به گونه‌های درگیر در واکنش الکترودی اول می‌باشد. حال اگر چرخه دوم به‌صورت متوالی با چرخه اول روبش را انجام دهد، در حالت رفت یک دماغه دیگر ظاهر خواهد

شد که این دماغه با دماغه برگشت نزدیک به آن مربوط به گونه‌های درگیر در واکنش الکترودی دوم می‌باشد. در این مکانیسم با کاهش سرعت روبش پتانسیل، جریان دماغه آندی اول در واکنش الکترودی اول کاهش پیدا می‌کند ولی جریان دماغه آندی دوم در واکنش الکترودی دوم افزایش پیدا می‌کند. هر چقدر سرعت روبش کاهش یابد این اختلاف بیشتر می‌شود تا این که جریان دماغه واکنش اول کاملاً حذف می‌شود یعنی با کاهش سرعت، ورود به ناحیه سینتیکی اتفاق می‌افتد [۶۸]. آزمون‌های تشخیصی برای واکنش‌های ECE در جدول (۱-۱) آورده شده است.

جدول (۱-۱) آزمون‌های تشخیصی برای واکنش‌های ECE [۷۱].

۱	$ I_P^C / v^{1/2} $ با سرعت روبش تغییر می‌کند اما ممکن است در سرعت‌های روبش زیاد یا کم به مقادیر حد برسد.
۲	$ I_P^C / v^{1/2} > (v \text{ کم})$ (زیاد) $ I_P^A / I_P^C $ با سرعت روبش زیاد می‌شود و در سرعت‌های روبش زیاد به یک میل می‌کند.

۲-۶-۱ کروئوآمپرومتری

اساس این روش همانند همه روش‌های کنترل شده با پتانسیل، اندازه‌گیری جریان حاصل از اعمال پتانسیل است. در روش کروئوآمپرومتری، پتانسیل الکتروود کار به‌طور لحظه‌ای، از پتانسیلی که در آن واکنش الکتروشیمیایی رخ نمی‌دهد به پتانسیلی که در آن غلظت سطحی گونه الکتروفعال به‌طور موثر برابر صفر می‌گردد تغییر می‌کند. وابستگی جریان حاصل نسبت به زمان پیگیری می‌شود و ارتباط بین جریان و زمان در ناحیه کنترل شده با انتشار طبق معادله کاترل بیان می‌شود (رابطه (۶-۱)) [۶۸]:

$$I = \frac{nFACD^{1/2}}{\pi^{1/2}t^{1/2}} \quad (۶-۱)$$

که در آن n , F , A , C , D و t به ترتیب تعداد الکترون‌ها، ثابت فارادی، مساحت سطح، غلظت، ضریب انتشار و زمان می‌باشند.

کروئوآمپرومتری اغلب برای اندازه‌گیری ضرایب انتشار گونه‌های الکتروفعال یا مساحت سطح الکتروکاتود کار مورد استفاده قرار می‌گیرد.

اگرچه در روش‌های کنترل شده با پتانسیل معمولاً این جریان است که به عنوان تابعی از زمان یا پتانسیل مشاهده می‌شود، اما در برخی آزمایش‌ها نیز ثبت انتگرال جریان بر حسب زمان می‌تواند مفید باشد. از آنجایی که انتگرال جریان برابر با میزان بار عبور کرده است (Q)، این شیوه‌ها کروئوکولومتری نام دارند. این روش به‌ویژه برای اندازه‌گیری مقدار واکنش‌های جذب سطحی شده مفید است (معادله ۷-۱). چرا که این روش قادر است بارهای تولید شده از واکنش گونه‌های جذب سطحی شده را از بار مربوط به گونه‌های محلول جدا کند [۶۸].

$$Q = \frac{2nFAD^{1/2}Ct^{1/2}}{\pi^{1/2}} + nFA\Gamma^0 + Q_{dl} \quad (7-1)$$

که Q_{dl} و $nFA\Gamma^0$ به ترتیب بار حاصل از بارداری لایه دوگانه و جزء فارادایی حاصل از گونه‌های جذب سطحی می‌باشد. همان‌طور که در معادله بالا مشخص است با استفاده از عرض از مبدا منحنی Q بر حسب $t^{1/2}$ می‌توان مقدار مازاد سطحی گونه الکتروفعال (Γ^0) را محاسبه نمود.

۱-۶-۳ طیف بینی امپدانس الکتروشیمیایی

طیف بینی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS)، تکنیک مفیدی برای مطالعه واکنش‌های الکتروکاتودی به منظور بررسی تغییرات ایجاد شده هنگام اعمال اغتشاش کوچک به سیستم آزمایشی است. مطالعات زیادی برای درک کارایی این تکنیک و تایید قابلیت استفاده از آن در عملکرد تجزیه‌ای الکترودهای اصلاح شده مختلف صورت گرفته است [۷۲-۷۴]. EIS

کاربردهای گسترده‌ای در زمینه بررسی سینتیک واکنش‌های صورت گرفته در سطح الکتروود دارد [۷۵-۷۸]. علاوه بر این، EIS می‌تواند در زیست حسگرها به دلیل عملکرد ساده و حساسیت بالا مورد استفاده قرار گیرد [۷۹-۸۱]. این حسگرها که با نام حسگرهای امپدیمتری شناخته می‌شوند علاوه بر مزایای ذکر شده، به دلیل ولتاژ اعمالی پایین مخرب محسوب نمی‌شوند و از اینرو برای اندازه‌گیری ترکیبات مهم زیستی نظیر آنزیم‌ها و DNA با حد تشخیص‌های بسیار پایین به کار گرفته می‌شوند [۸۲].

به منظور طراحی یک حسگر امپدیمتری، باید بتوان رابطه مناسبی بین پاسخ الکتریکی سطح الکتروود و الکتروولیت در حضور و غیاب گونه هدف تعریف نمود [۸۳]. در واقع رابطه بین مقاومت در برابر انتقال بار (R_{ct}) و غلظت گونه هدف به کمک رابطه (۸-۱) قابل تعریف است [۶۸]:

$$R_{ct} = \frac{RT}{nFi_0} \quad (۸-۱)$$

که در آن $i_0 = nFAK_{ct}C$ و در نتیجه معادله (۸-۱) به شکل زیر در می‌آید:

$$R_{ct} = \frac{RT}{n^2F^2AK_{ct}C} \quad (۹-۱)$$

در معادله بالا K_{ct} ، ثابت سرعت انتقال بار مستقل از پتانسیل و C غلظت گونه الکتروفعال است. بر اساس معادله (۹-۱)، R_{ct} رابطه معکوس با غلظت گونه الکتروفعال دارد.

۷-۱ طراحی آماری آزمایش

در روش بهینه سازی تک متغیره^۱، برای بهینه سازی یک متغیر، سایر متغیرها ثابت نگه داشته شده و متغیر مورد نظر تغییر داده می‌شود تا حداکثر پاسخ ایجاد شود. سایر متغیرها نیز به همین روش بهینه می‌شوند [۸۴]. بعد از انجام کلیه آزمایش‌ها، معمولاً مجموعه‌ای از

^۱ One-at-a time

نمودارها تهیه می‌شود که این نمودارها نحوه تأثیرپذیری متغیر پاسخ از تغییر ایجاد شده در یکی از عامل‌ها، زمانی که سایر عوامل ثابت نگاه داشته شده‌اند را نشان می‌دهد [۸۵]. این روش ساده است ولی اصلی‌ترین عیب این روش آن است که اثرات ترکیبی بین همه متغیرها را نشان نمی‌دهد. همچنین این روش طولانی است و نیاز به تعداد آزمایش‌های زیادی برای تعیین سطوح بهینه دارد و بهینه واقعی به دست نمی‌آید. این محدودیت‌های روش‌های کلاسیک تک متغیره، می‌تواند توسط بهینه سازی فاکتورهای مؤثر به روش طراحی آزمایش^۱ کاهش یابد [۸۶]. طراحی آزمایش در سال ۱۹۲۰، توسط یک دانشمند انگلیسی به نام سر رونالد فیشر^۲ ایجاد شد [۸۴]. طراحی آزمایش به طور متعدد، برای بهینه سازی شرایط عملیاتی فرایندهای مختلف استفاده می‌شود. استفاده از طراحی آزمایش مؤثرترین راه برای شناسایی و بهینه سازی متغیرهای مهم و دستیابی به نتایج مناسب با استفاده از چند آزمایش می‌باشد [۸۵].

طراحی آزمایش و تجزیه و تحلیل داده‌ها دو جنبه مهم هر آزمایش است. رابطه تنگاتنگی بین این دو موضوع وجود دارد زیرا روش تجزیه و تحلیل داده‌ها به طور مستقیم بستگی به طرح انتخاب شده دارد. طراحی آماری آزمایش‌ها، به فرآیند انجام یک آزمایش با هدف جمع آوری داده‌های مناسب و تحلیل آن‌ها با استفاده از روش‌های آماری جهت کسب نتایج معتبر اشاره می‌کند. اگر علاقه مند به کسب نتایج معقول در مورد داده‌ها باشیم، آنگاه استفاده از رویکرد آماری در زمینه‌ی طراحی آزمایش‌ها امری غیرقابل اجتناب خواهد بود [۸۵].

سه اصل اساسی در طراحی آزمایش‌ها عبارتند از: تصادفی سازی^۳، تکرار^۴ و بلوک بندی^۵. تصادفی سازی، یکی از فعالیت‌های اساسی در زمینه استفاده از روش‌های آماری در طراحی

^۱ Exprimental Design

^۲ Sir Ronald A. Fisher

^۳ Randomization

^۴ Replication

^۵ Blocking

آزمایش‌ها محسوب می‌شود. تصادفی سازی بدین معناست که ترتیب هریک از آزمایش‌ها، به‌طور تصادفی انجام می‌شود. در روش‌های آماری نیاز است که مشاهدات (یا خطاها) به‌صورت تصادفی و از یکدیگر مستقل باشند. تصادفی سازی باعث برقراری این فرض می‌شود. وجود نرم افزارهای متعدد در زمینه طراحی آزمایش‌ها، باعث شده تا آزمایشگر بتواند به سهولت طرح‌های مورد نیاز را انتخاب و نتایج حاصل را تجزیه و تحلیل کند. در این نرم افزارها معمولاً ترتیب انجام آزمایش‌ها به‌صورت تصادفی در نظر گرفته می‌شود.

منظور از تکرار، انجام مجدد طرح اولیه است. تکرار آزمایش دو دلیل مهم دارد. ابتدا اینکه آزمایشگر این فرصت را به‌دست خواهد آورد تا خطای آزمایش را برآورد کند. دوم این که اگر از میانگین نمونه جهت برآورد اثر یک عامل استفاده شود، آنگاه تکرار آزمایش این امکان را برای آزمایش‌گر فراهم خواهد ساخت تا بتواند برآورد بهتری از اثر مورد نظر به‌دست آورد.

بلوک بندی یکی از فنون طراحی است که می‌توان از آن جهت افزایش دقت مقایسه‌های انجام شده بین عامل‌های مورد نظر، استفاده نمود. تکنیک بلوک بندی، غالباً به‌منظور کاهش تغییرات ناشی از عوامل اغتشاش^۱ مورد استفاده قرار می‌گیرد. عامل‌های اغتشاش، عامل‌هایی هستند که احیاناً بر متغیر خروجی آزمایش تأثیر می‌گذارد ولی ارزیابی مستقیم آن‌ها مورد نظر آزمایشگر نیست [۸۵].

۱-۷-۱ خطوط راهنما برای طراحی آزمایش

به‌منظور استفاده از روش‌های آماری جهت طراحی و تحلیل یک آزمایش، لازم است که آزمایشگر قبل از انجام آزمایش درک واضحی از هدف آزمایش، نحوه ی جمع آوری داده ها و هم چنین یک شناخت اولیه از چگونگی انجام تجزیه و تحلیل داده‌ها داشته باشد.

^۱ Noise Factors

۱-۱-۷-۱ درک و بیان مسئله

در عمل، غالباً تشخیص این که یک مسئله را می‌توان از طریق طراحی آزمایش‌ها حل کرد، بسیار دشوار است. بنابراین شاید نتوان به‌طور واضح مسئله را بیان کرد. با این حال باید بدانیم که تهیه و ارائه کلیه نظرات در مورد اهداف یک آزمایش امری ضروری محسوب می‌شود. غالباً بیان صریح و واضح مسئله و اهداف آزمایش در درک بهتر فرایند و حل مسئله کمک به‌سزایی خواهد داشت [۸۵].

۱-۱-۷-۲ انتخاب متغیر پاسخ

در زمان انتخاب متغیر پاسخ، شخص آزمایشگر باید اطمینان داشته باشد که متغیر انتخاب شده اطلاعات مفیدی در رابطه با فرایند مورد مطالعه فراهم می‌کند. در اغلب موارد میانگین یا انحراف استاندارد (یا هر دو) مشخصه اندازه‌گیری شده، به‌عنوان متغیر پاسخ انتخاب می‌شود [۸۵].

۱-۱-۷-۳ انتخاب عامل‌ها، سطوح و دامنه‌ها

شخص آزمایشگر باید عامل‌هایی که در آزمایش تغییر داده می‌شوند، دامنه‌های مربوط به تغییرات عامل‌ها و سطوح خاص عوامل برای انجام آن آزمایش را انتخاب کند. معمولاً این کار به کمک ترکیبی از تجارب عملی و درک تئوری صورت می‌گیرد [۸۵].

۱-۱-۷-۴ انتخاب طرح آزمایش

اگر مرحله برنامه‌ریزی قبل از انجام آزمایش به نحوه‌ی صحیح انجام شود، آنگاه انتخاب طرح آزمایش کار نسبتاً ساده‌ای خواهد بود. انتخاب طرح آزمایش، شامل تعیین اندازه نمونه (تعداد تکرار)، ترتیب انجام آزمایش‌ها و تعیین محدودیت‌های بلوک بندی یا تصادفی سازی است. نرم افزارهای متعددی نیز وجود دارد که می‌توان از آن‌ها جهت انجام این مرحله استفاده نمود. در زمان انتخاب طرح حتماً باید اهداف آزمایش را در نظر گرفت [۸۵].

۵-۱-۷-۱ انجام آزمایش

در زمان آزمایش لازم است نظارت دقیقی بر مراحل انجام آزمایش به عمل آید تا اطمینان حاصل شود که تمام مراحل آزمایش طبق برنامه پیش رود. وجود خطا در این مرحله باعث بی اعتبار شدن نتایج آزمایش خواهد شد. بنابراین برنامه ریزی یک اصل ضروری برای موفقیت محسوب می شود [۸۵].

۶-۱-۷-۱ تجزیه و تحلیل آماری داده ها

داده های حاصل از آزمایش باید به وسیله روش های آماری، مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرد تا اعتبار نتایج از لحاظ علمی تایید شود و تصمیم گیری بر اساس قضاوت شخصی انجام نشود. اغلب برنامه هایی که در مرحله چهار جهت تعیین طرح، مورد استفاده قرار می گیرند قادر به انجام تجزیه و تحلیل آماری هستند. همچنین باید توجه داشت که روش های نموداری ساده نیز نقش مهمی در تعبیر و تفسیر داده ها ایفا می کنند. ارائه نتایج حاصل از اغلب آزمایش ها به صورت یک مدل تجربی^۱ و یا به عبارت دیگر مدلی که رابطه بین متغیر پاسخ و عامل های مهم طراحی را براساس داده های حاصل بیان کند می تواند مفید باشد. تجزیه و تحلیل باقیمانده ها و ارزیابی کفایت مدل نیز از جمله فنون تجزیه و تحلیلی مهم محسوب می شود. برای تجزیه و تحلیل می توان از روش های آماری هم استفاده کرد ولی این روش ها نمی توانند وجود اثر خاصی را برای عامل (یا عامل ها) اثبات کنند [۸۵].

۷-۱-۷-۱ نتیجه گیری و پیشنهادات

وقتی داده ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند، آنگاه شخص آزمایشگر باید براساس نتایج حاصل، نتیجه گیری عملی و پیشنهادات مورد نیاز برای انجام اقدامات بعدی را ارائه کند. در این مرحله روش های نموداری، مخصوصا اگر قرار باشد که نتایج برای افراد دیگر ارائه شود، مفید خواهد بود [۸۵].

^۱ Empirical Model

۲-۷-۱ دسته بندی روش های طراحی آزمایش

براساس اهداف یک آزمایش، همه طرح ها می توانند در دو طبقه بزرگ دسته بندی شوند

که عبارتند از: طرح غربالگری^۱ و طرح بهینه سازی^۲ [۸۶].

۱-۲-۷-۱ طرح غربالگری

این طرح، برای تعیین عوامل مهم و اثر متقابل آن ها از تمام عوامل بالقوه استفاده می شود. این نوع طرح ها، عوامل کیفی، کمی و ترکیب آن ها را به طور همزمان بررسی می کنند [۸۵]. در واقع در یک آزمایش غربالگری، معمولاً علاقه مند هستیم متغیرهای تأثیرگذار بر پاسخ فرایند را شناسایی کنیم [۸۵]. به وسیله طرح مذکور می توان عامل های غیر مهم را حذف کرده و بنابراین تعداد آزمایش های لازم برای بهینه سازی روش را کاهش داد [۸۶]. اغلب برای مرحله ی غربالگری، از روش های فاکتوریال کامل دو سطحی^۳، فاکتوریال کسری دو سطحی^۴ و پلاکت - برمن^۵ استفاده می شود [۸۵].

طرح پلاکت - برمن

این طرح که به طور گسترده برای غربالگری پارامترهای مهم یک فرایند به کار می رود، توسط پلاکت و برمن ابداع شد. در این طرح، تعداد زیادی از متغیرها می توانند با تعداد کمی آزمایش بررسی شوند اما برهم کنش های بین متغیرها در نظر گرفته نمی شود. ماکزیمم عامل هایی (f) را که در این طرح می توان بررسی کرد برابر است با $f = N - 1$ که در آن N تعداد آزمایش های تعریف شده است و مضربی از ۴ می باشد [۸۵]. هنگامی که در یک طرح پلاکت - برمن نقاط مرکزی و تکرار وجود داشته باشد، تعداد آزمایش از معادله (۱-۱۰) به دست می آید:

^۱ Screening Design

^۲ Optimization Design

^۳ Two Level Full Factorial Design

^۴ Two Level Fractional Factorial Design

^۵ Plackett - Burman Design

$$(۱۰-۱) \quad \text{تعداد کل آزمایش} = (N+Cp) \times r$$

در این معادله، Cp تعداد نقاط مرکزی و r تعداد تکرارهاست [۸۵].

همیشه یک مدل چند جمله‌ای درجه اول، در طراحی پلاکت - برمن برای تخمین اثرات فاکتورهای مختلف به کار برده می‌شود [۸۵]. در این طراحی با استفاده از نرم افزار ضرایب رگرسیونی برای هر عامل محاسبه می‌شود که در ادامه به تفسیر این ضرایب پرداخته شده است.

اثر: بعد از اجرای آزمایش‌های طراحی شده، اثر هر فاکتور از رابطه (۱۱-۱) محاسبه می‌شود:

$$(۱۱-۱) \quad E_x = \frac{\sum Y(+1) - \sum Y(-1)}{\frac{N}{2}}$$

در این رابطه E_x اثر فاکتور x و Y پاسخ اندازه‌گیری شده است. $\sum Y(+1)$ و $\sum Y(-1)$ به ترتیب مجموع پاسخ‌های فاکتور x در سطح +۱ یا سطح -۱ هستند و N تعداد آزمایش‌های طراحی شده است [۸۵]. مقدار مثبت هر اثر نشان می‌دهد که با افزایش سطح یک متغیر از پایین به بالا مقدار پاسخ افزایش می‌یابد و مقدار منفی یک اثر نشان دهنده آن است که با افزایش سطح یک متغیر از پایین به بالا مقدار پاسخ کاهش می‌یابد [۸۴].

ضریب: مقدار ضریب هر متغیر از تقسیم اثر آن بر دو به دست می‌آید:

$$(۱۲-۱) \quad \text{coefficient} = \text{effect}/2$$

بزرگی ضرایب، وابستگی اثرات متغیرها را با تابع پاسخ نشان می‌دهد.

ضریب خطای استاندارد: برای هر ضریب رگرسیون برآورد شده، انحراف استاندارد اندازه‌گیری می‌شود که با استفاده از آن می‌توان دقت مدل را در تخمین ضریب سنجید. خطای

استاندارد کوچک‌تر نشانه دقت تخمین بالاتر است. خطای استاندارد ضریب همیشه مقداری مثبت است.

آماره T: مقدار T با تقسیم ضریب بر خطای استاندارد محاسبه می‌شود که نشان می‌دهد ضریب در مقابل خطای استاندارد چه مقدار بزرگ است.

ارزش P: یک فرض آماری، یک جمله یا نظریه ای را در مورد پارامترهای یک توزیع احتمال یا پارامترهای یک مدل بیان می‌کند. آزمون‌های فرض شامل دو نوع فرضیه می‌باشند: فرضیه صفر که با H_0 نشان داده می‌شود، بیان می‌کند اختلاف بین کمیت‌های مورد مقایسه وجود ندارد که معمولاً در آزمون‌های درستی فرضیه صفر بررسی می‌شود. فرضیه متقابل که با H_1 نشان داده می‌شود، فرضیه ای است که بیان می‌کند دو کمیت یکسان نیستند. به‌منظور آزمون یک فرض نیاز است آماره مناسبی محاسبه و در نهایت فرض H_0 پذیرش و یا رد شود. در بخشی از این روش، مجموعه ای از مقادیر آماره آزمون که منجر به رد H_0 می‌شود را تعیین می‌کنیم. این مجموعه از مقادیر را ناحیه بحرانی یا ناحیه رد آزمون می‌نامند. معمولاً آماره آزمون، زمانی که فرض H_0 رد می‌شود معنادار تلقی می‌شود. کلیه نرم افزارهای آماری از جمله نرم افزار Minitab ارزیابی آزمون فرض را بر مبنای معیاری تحت عنوان P-value قرار داده‌اند. مقدار P را می‌توان به‌عنوان کوچک‌ترین سطح معنادار که منجر به رد فرض H_0 می‌شود، تعریف نمود. اگر مقدار P از احتمال خطای نوع اول (α) بزرگتر یا با آن مساوی باشد فرض H_0 را می‌پذیریم. در غیر این‌صورت فرض H_0 را رد می‌کنیم. در صورت معلوم بودن مقدار P تصمیم گیرنده قادر خواهد بود تا میزان معنادار بودن داده را تعیین کند.

۱-۷-۲-۲ طراحی بهینه سازی

بعد از انجام آزمایش غربالگری، مرحله‌ی معقول بعدی بهینه سازی فرایند خواهد بود و یا به‌عبارت دیگر، شناسایی ناحیه ای که متغیرهای مهم در آن واقع شده‌اند و باعث می‌شوند

پاسخ بهینه به دست آید [۸۵]. روش بهینه سازی همیشه با یک طراحی غربالگری برای انتخاب فاکتورهای مهم آغاز شده و با یک طراحی بهینه سازی پیش برده می شود. برای بهبود کارایی روش و تعیین شرایط بهینه (مقدار بهینه عامل های مهم)، استفاده از مدل های درجه دوم (طرح های سطح پاسخ)^۱، که در آن ها بیش از دو سطح برای عامل ها در نظر گرفته می شود، متداول است [۸۵].

RSM، ابزارهای قدرتمند برای بهینه سازی واکنش های شیمیایی و یا فرایندهای صنعتی است [۸۷]. RSM، مجموعه ای از روش های آماری و ریاضی است که برای توسعه، بهبود و بهینه سازی فرایندها مفید است. در این تکنیک، هدف اصلی بهینه کردن سطح پاسخ است که به وسیله پارامترهای مختلفی تحت تأثیر قرار می گیرد [۸۷].

فواید اصلی این روش عبارتند از:

- درک این که چگونه متغیرهای فرایند روی پاسخ فرایند انتخاب شده اثر می گذارند.
- تعیین هرگونه رابطه ای بین متغیرها
- تشخیص اثرات ترکیبی که همه ی متغیرها ممکن است روی پاسخ فرایند داشته باشند [۸۷].

RSM شامل مراحل اصلی زیر می باشد:

- طراحی آماری مجموعه ای از آزمایش ها برای اندازه گیری مناسب و قابل اطمینان پاسخ مورد نظر به گونه ای که متغیرها به طور همزمان در طول آزمایش ها تغییر می کنند.
- ایجاد یک مدل ریاضی درجه دوم برای سطح پاسخ با بهترین تطبیق

^۱ Response Surface Methodology (RSM)

- تخمین ضرایب در این مدل ریاضی براساس طراحی آزمایش
- پیش بینی پاسخ و یافتن مقدار بهینه پارامترهای آزمایشگاهی با استفاده از مدلی معتبر، به گونه‌ای که مقداری ماکزیمم یا مینیمم برای پاسخ فراهم شود.
- نمایش اثرات مستقیم و برهم‌کنش‌های پارامترهای فرایند از طریق نمودارهای دو بعدی و سه بعدی

- بررسی شایستگی مدل توسعه یافته

اگر فرض کنیم همه متغیرها قابل اندازه‌گیری هستند، سطح پاسخ می‌تواند به صورت رابطه (۱۳-۱) بیان شود:

$$y=f(x_1, x_2, x_3, \dots, x_k) \quad (13-1)$$

که در این معادله y پاسخ سیستم است و x_i متغیرهای فعال هستند که به آن‌ها فاکتور گفته می‌شود. هدف بهینه سازی متغیر پاسخ y است. فرض می‌شود که متغیرها مستقل، پیوسته و قابل کنترل هستند و خطاهای محدود دارند.

لازم است یک تقریب مناسب برای تابع رابطه بین متغیرهای مستقل و سطح پاسخ پیدا کنیم. معمولاً یک مدل درجه دوم در این روش به کار برده می‌شود که می‌توان آن را به صورت رابطه (۱۴-۱) نشان داد:

$$y=\beta_0+\sum_{i=1}^k \beta_i x_i+\sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2+\sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=2}^k \beta_{ij} x_i x_j +\varepsilon \quad (14-1)$$

در این معادله، $x_1, x_2, \dots, x_k$ فاکتورهای ورودی هستند که پاسخ y را تحت تأثیر قرار می‌دهند. $\beta_0, \beta_{ii} (i=1, 2, \dots, k)$ و $\beta_{ij} (i=1, 2, \dots, k) (j=1, 2, \dots, k)$ پارامترهای مجهول هستند و ε خطای تصادفی است. ضرایب β که باید در مدل درجه دوم تعیین شوند، به وسیله روش حداقل مربعات به دست می‌آیند.

در این پروژه از نرم افزار مینی تب^۱ ۱۶ برای مراحل غربالگری و بهینه سازی پارامترهای مهم استفاده شده است. این نرم افزار دو نوع طراحی سطح پاسخ مرکب مرکزی^۲ را فراهم می کند. بنابراین در ادامه به توضیح آن پرداخته می شود.

طرح مرکب مرکزی

باکس و ویلسون^۳ در سال ۱۹۵۱، طرح مرکب مرکزی (CCD) را ارائه کردند. این طرح، جایگزینی مناسب برای طراحی فاکتوریال سه سطحی است، به گونه ای که نتایج قابل مقایسه ای با تعداد آزمایش های کمتر فراهم می کند. معمولاً CCD ترکیبی از طراحی فاکتوریال کامل یا طراحی فاکتوریال کسری با دو سطح است که نقاط محوری (یا نقاط ستاره ای^۴) و حداقل یک نقطه مرکزی آزمایش به آن اضافه شده است. تعداد آزمایش های CCD طبق رابطه (۱-۱۵) محاسبه می گردد:

$$N=(2^{k-p}+2k+C_p) \times r \quad (1-15)$$

که در این رابطه، C_p تعداد تکرار نقطه مرکزی، k تعداد فاکتورها، p تعداد کاهش از طراحی کامل و r تعداد تکرارهاست [۸۵].

طرح مرکب مرکزی به سه دسته تقسیم می شوند که عبارتند از طرح مرکب مرکزی محدود شده^۵ (CCC)، طرح مرکب مرکزی مرکز وجوه پر^۶ (CCF) و طرح مرکب مرکزی محاط شده^۷ (CCI). این تقسیم بندی براساس فاصله نقاط محوری از نقطه مرکزی طرح است که با پارامتر α نشان داده می شود. در طرح CCF مقدار این پارامتر برابر یک بوده در حالی که در

^۱ Minitab

^۲ Central Composite Design

^۳ Box and Wilson

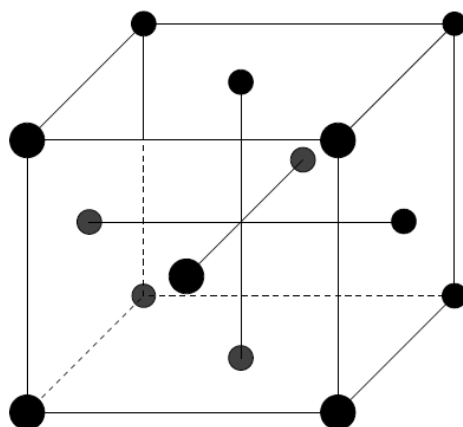
^۴ Axial or Star Points

^۵ Central composite circumscribed

^۶ Central composite face- centered

^۷ Central composite inscribed

طرح‌های CCC و CCI به ترتیب بزرگتر و کوچکتر از یک می باشد [۸۴]. در شکل (۳-۱) طرح CCF نشان داده شده است.



شکل (۳-۱): نمایشی از طرح مرکب مرکزی مرکز وجوه پر.

۳-۷-۱ تابع مطلوبیت^۱

به منظور درک چگونگی رسیدن به پاسخ مطلوب از طریق تغییر پارامترهای موثر در یک آزمایش، باید مطلوبیت ویژه^۲ (d) و مرکب^۳ (D) را تعیین نمود.

مطلوبیت ویژه که معیاری است از نزدیکی مقادیر برآزش شده^۴ (در شرایط بهینه پارامترها) به مقدار مطلوب، مشخص می‌کند که چگونه تغییر شرایط موجب بهینه سازی یک پاسخ می‌شود [۸۸]. در حالیکه، به کمک مطلوبیت مرکب می‌توان تشخیص داد که چگونه تغییرات اعمال شده منجر به بهینه سازی چند پاسخ می‌شود. تابع مطلوبیت گستره‌ای بین صفر تا یک دارد. یک، نشانگر حالت ایده‌آل است؛ صفر نشانگر این نکته است که یک یا تعداد بیشتری از پاسخ‌ها در محدوده پذیرفته شده قرار ندارند [۸۸].

^۱ Desirability Function

^۲ Individual desirability

^۳ Composite desirability

^۴ Fitted value

درینگر^۱ و سویخ^۲ به منظور تعیین تابع مطلوبیت برای k پاسخ با استفاده از مقادیر مطلوبیت ویژه معادلات زیر را ارائه کردند [۸۹]. به این منظور مقادیر پاسخ بدست آمده (u)، در معادله (۱۶-۱) قرار می گیرد تا مقدار مطلوبیت ویژه محاسبه گردد.

$$d = \left(\frac{u - \alpha}{\beta - \alpha} \right)^{w_i} \quad \alpha \leq u \leq \beta \quad (16-1)$$

$$d = 1 \quad u > \beta$$

$$d = 0 \quad u < \alpha$$

در این معادله α و β بالاترین و پایین ترین مقدار به دست آمده برای پاسخ i هستند. w_i وزن هر پاسخ می باشد. درجات مطلوبیت ویژه پاسخ ها با هم ترکیب می شوند تا مقدار D، مطابق معادله (۱۷-۱) محاسبه گردد [۸۸]:

$$D = (d_1 \times d_2 \times d_3 \times \dots \times d_k)^{1/k} \quad (17-1)$$

بر اساس تابع مطلوبیت می توان تاثیر هر پارامتر و سطح بهینه برای هر متغیر را محاسبه نمود.

در این رساله با به کار گیری اصلاحگرهای متفاوت، به طراحی و ساخت انواع الکترودهای اصلاح شده برای اندازه گیری برخی از ترکیبات بیولوژیکی و دارویی نظیر وراپامیل، دوپامین و جم فیبروزیل پرداخته شده است. از آنجاییکه اکسایش این ترکیبات دارویی در سطح الکترودهای اصلاح نشده معمولاً با پتانسیل اضافی بالا همراه است و یا از شدت جریان پایینی برخوردار است، هدف از اصلاح سطح الکتروود ایجاد شرایطی برای رفع این نواقص و اندازه گیری این ترکیبات دارویی با حساسیت و گزینش پذیری بالاتری می باشد.

^۱ Derringer

^۲ Suich

فصل دوم- بخش تجربی

۱-۲ مواد شیمیایی

مشخصات مواد شیمیایی مورد استفاده برای انجام کارهای آزمایشگاهی مرتبط با موضوع این رساله در جدول (۱-۲) ارائه شده است. در این رساله، از اصلاحگرهای نانو لوله‌های کربنی چنددیواره، نانو ذرات طلا و مخلوط پلی آلizarin قرمز (S) و نانو لوله‌های کربنی برای ساخت حسگرهای الکتروشیمیایی در سطح الکترودهای کربن شیشه‌ای استفاده شد. ازسوی دیگر، متیل تیوراسیل به عنوان اصلاحگر برای اصلاح خمیر کربن به منظور تهیه حسگر الکتروشیمیایی استفاده گردید. سایر مواد شیمیایی استفاده شده در این پروژه تحقیقاتی، در جدول (۱-۲) مشاهده می‌گردد.

جدول (۱-۲) مشخصات مواد شیمیایی استفاده شده در این کار تحقیقاتی

شماره ردیف	نام ترکیب شیمیایی	فرمول شیمیایی	درصد خلوص	نام شرکت سازنده
۱	وراپامیل ^۱	C ₂₇ H ₃₈ N ₂ O ₄	>۹۸	دیفارما ^{الف}
۲	دوپامین ^۲	C ₈ H ₁₁ NO ₂	>۹۸	مرک ^ب
۳	جم فیبروزیل ^۳	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	>۹۹	دیفارما
۴	نانو لوله‌های کربنی چنددیواره عاملدار ^۴	-	>۹۵	موسسه تحقیقات آمریکا ^پ
۵	نانو لوله‌های کربنی چنددیواره بدون عامل	-		نوترینو ^ت
۶	پودر گرافیت	C	۹۹/۵	مرک
۷	متیل تیوراسیل ^۵	C ₅ H ₆ N ₂ OS	۹۹	مرک
۸	تتراکلروآئوریک اسید سه آبه ^۶	HAuCl ₄ , 3 H ₂ O	۹۹/۵	مرک
۹	آلیزارین قرمز ^۷ S	C ₁₄ H ₈ O ₄	۹۹	سیگما ^ث
۱۰	دی پتاسیم هیدروژن فسفات ^۸	K ₂ HPO ₄	۹۹	مرک

^۱ Verapamil

^۲ Dopamine

^۳ Gemfibrozil

^۴ Functionalized multi-walled carbon nanotube

^۵ Methyl thiouracil

^۶ Tetrachloroauric(III) acid trihydrate

^۷ Alizarin red S

^۸ Dipotassium hydrogen phosphate

ادامه جدول (۱-۲)				
۱۱	پتاسیم دی هیدروژن فسفات	KH_2PO_4	۹۹	مرک
۱۲	فسفریک اسید	H_3PO_4	۷۵	مرک
۱۳	سدیم هیدروکسید	NaOH	۹۸	سیگما
۱۴	دی متیل فرمامید	$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$	>۹۹	سیگما
۱۵	اتانول	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	۹۹	مرک
۱۶	متانول	CH_3OH	۹۹	مرک
۱۷	استونیتیل	$\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$	۹۹	مرک
۱۸	نیتریک اسید	HNO_3	۷۰	مرک
۱۹	هیدروکلریک اسید	HCl	۳۷	مرک
۲۰	استیک اسید	CH_3COOH	۹۹	مرک
۲۱	پتاسیم کلرید	KCl	۹۹	فلوکا ^۴
۲۲	پتاسیم هگزاسیانو فرات	$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$	>۹۹	مرک
۲۳	پتاسیم هگزاسیانوفریت	$\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$	>۹۹	مرک
۲۴	پتاسیم هیدروژن فتالات	$\text{C}_8\text{H}_5\text{K}_4\text{O}$	>۹۹	مرک
۲۵	نالدکسیک اسید	$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$	>۹۸	دیفارما
۲۶	گلوکز	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	>۹۹	مرک
۲۷	لاکتوز	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	>۹۹	مرک
۲۸	اوریک اسید	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$	>۹۹	مرک
۲۹	اوره	$\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$	>۹۹	مرک
۳۰	تیواوره	$\text{CH}_4\text{N}_2\text{S}$	>۹۹	مرک
۳۱	آسکوربیک اسید	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$	>۹۸	مرک
۳۲	استامینوفن	$\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$	>۹۸	مرک
۳۳	متیونین	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{S}$	>۹۸	مرک
۳۴	سیستئین	$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$	>۹۸	مرک
۳۵	آترواستاتین	$\text{C}_{33}\text{H}_{35}\text{FN}_2\text{O}_5$	>۹۸	دیفارما
۳۶	لوزارتان	$\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{ClN}_6\text{O}$	>۹۸	دیفارما
۳۷	سیتریک اسید	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	>۹۹	مرک
۳۸	تارتاریک اسید	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$	>۹۹	مرک

^{الف} Dipharma, ^ب Merck, ^ج US Research, ^د Neutrino, ^ه Sigma, ^و Fluka

۲-۲ وسایل و تجهیزات

برای اجرای تحقیقات این رساله، از وسایل و تجهیزات زیر استفاده شد:

(۱) پتانسیواستات-گالوانواستات ایویوم^۱ (مدل Compactstat)، جهت ثبت

^۱ Ivium

ولتاموگرام‌های چرخه‌ای، پالس تفاضلی و موج مربعی، کروماتوگرافی و طیف بینی
امپدانس الکتروشیمیایی.

(۲) سل سه الکترودی.

(۳) الکترودهای کربن شیشه‌ای (با قطر ۲/۰ میلی‌متر) و خمیر کربن (با قطر ۶/۰ میلی‌متر) ساخت شرکت آذر الکترو به عنوان الکترو کاز.

(۴) الکترو مرجع (۳/۰ مولار) Ag/AgCl/KCl ساخت شرکت آذر الکترو.

(۵) الکترو سیم پلاتین به عنوان الکترو کمکی، ساخت شرکت متروهم^۱.

(۶) دستگاه فراصوت باندلین- سونورکس دیجیتک^۲ مدل DT510H، به منظور پخش کردن نانو لوله‌های کربن چند دیواره در محلول دی متیل فرمامید.

(۷) pH متر، مدل ۷۴۴ ساخت شرکت متروهم.

(۸) ترازوی تجزیه‌ای با دقت ۰/۱ میلی گرم سارتریوس^۳ مدل A200S.

(۹) میکروسکوپ‌های الکترونی روبشی تسکن^۴ مدل VEGA II و هیتاچی مدل S4160.

(۱۰) دستگاه طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (EDX) تسکن مدل XMU-

VEGA.

(۱۱) میکروپیت ساخت شرکت اپندورف^۵.

^۱ Metrohm

^۲ Bandelin- Sonorex Digitec

^۳ Sartorius

^۴ Tescan

^۵ Eppendorf

۲-۳ آماده سازی محلول‌ها

از محلول‌های پتاسیم دی هیدروژن فسفات و دی پتاسیم هیدروژن فسفات برای تهیه بافرهای فسفاتی (هر کدام با غلظت ۰/۰۶۷ مولار) در pH های مختلف (گستره ۴/۰-۹/۰) استفاده شد و سپس pH محلول‌های بافر تهیه شده توسط دستگاه pH متر تنظیم شد. برای تهیه محلول‌های بافر با pH های کمتر از ۴/۰، از محلول فسفریک اسید و سدیم دی هیدروژن فسفات (هر کدام با غلظت ۰/۰۶۷ مولار) استفاده گردید.

محلول بافر استاتی $pH=4/5$ از مخلوط کردن محلول استیک اسید ۱/۰ مولار و محلول سدیم هیدروکسید با غلظت ۱/۰ مولار تهیه گردید.

محلول بافر سیتراتی $pH=5/0$ از مخلوط کردن سدیم سیترات ۰/۱۰ مولار و محلول سدیم هیدروکسید با غلظت ۰/۱۰ مولار تهیه گردید.

محلول بافر سیتراتی $pH=3/0$ از مخلوط کردن سدیم سیترات ۰/۳۰ مولار و محلول هیدروکلریک اسید با غلظت ۰/۳۰ مولار تهیه گردید.

محلول بافر فتالاتی $pH=5/0$ از مخلوط کردن محلول ۰/۲۰ مولار پتاسیم هیدروفتالات و محلول سدیم هیدروکسید با غلظت ۰/۱۰ مولار تهیه گردید.

محلول بافر فتالاتی $pH=3/0$ از مخلوط کردن محلول ۰/۴۰ مولار پتاسیم هیدروفتالات و محلول هیدروکلریک اسید با غلظت ۰/۲۰ مولار تهیه گردید.

محلول مادر $10^{-2} \times 1/0$ مولار وراپامیل هیدرو کلرید از حل کردن ۰/۰۴۹۰ گرم وراپامیل در اتانول در یک بالن حجمی ده میلی لیتری به طور روزانه تهیه گردید.

محلول مادر $10^{-2} \times 1/0$ مولار دوپامین هیدروکلرید از حل کردن ۰/۰۱۹۰ گرم دوپامین در آب مقطر در یک بالن حجمی ده میلی لیتری به طور روزانه تهیه گردید.

محلول مادر $10^{-2} \times 1/0$ مولار جم فیبروزیل از حل کردن $0/0250$ گرم جم فیبروزیل در متانول در یک بالن حجمی ده میلی لیتری به طور روزانه تهیه گردید.

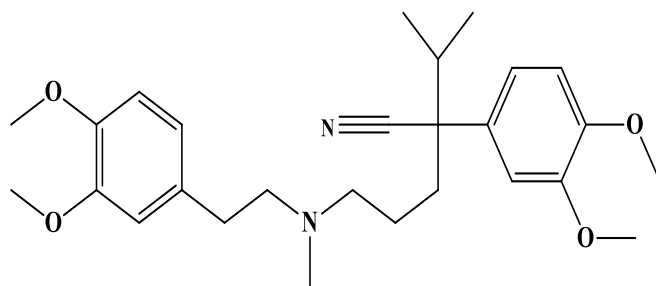
تعلیق نانو لوله های کربنی در حلال های پخش کننده نظیر آب، اتانول، دی متیل سولفوکسید و محلول سورفکتانت سدیم دو دسیل سولفات از توزیع $1/0$ میلی گرم نانو لوله کربنی چند دیواره در $1/0$ میلی لیتر از حلال های ذکر شده پس از قرار دادن در حمام اولتراسونیک بدست آمد. تعلیق نانو لوله های کربنی در دی متیل فرمامید از توزیع $1/0$ میلی گرم نانو لوله کربنی در حجم های متفاوتی در گستره $1/0-15/0$ میلی لیتر از این حلال پس از قرار دادن در حمام اولتراسونیک بدست آمد.

محلول مادر ppm $1000/0$ تتراکلروآئوریک اسید از انحلال $0/10$ گرم محلول تتراکلروآئوریک اسید در آب مقطر در یک بالن حجمی صد میلی لیتری تهیه گردید.

۴-۲ اندازه‌گیری الکتروشیمیایی وراپامیل با استفاده از الکتروود کربن

شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره

وراپامیل^۱ ($pK_a = 8.7$) یا [۵-(۹۱)-N-(۳-۴ دی متوکسی فنتیل)-N-متیل آمینو]-۲-(۳-۴ وراپامیل) دی متوکسی فنیل) ۲-ایزو-پروپیل والرونیتیل] [۹۰]، شکل (۱-۲)، دارویی است که برای درمان فشار خون، اختلال در ضربان قلب و اخیراً برای درمان سردردهای خوشه‌ای استفاده می‌شود [۹۰]. وراپامیل هم‌چنین در شیمی درمانی بیماری‌های سرطانی مورد استفاده قرار گرفته و نتایج بیانگر پتانسیل درمانی مناسب این ترکیب دارویی برای درمان سرطان‌هایی مانند سرطان خون، ریه و پروستات می‌باشد [۹۱-۹۳]. از آنجایی که مقدار وراپامیل مورد نیاز، با توجه به میزان تعیین شده توسط پزشک، برای هر بیمار متفاوت است و هم‌چنین احتمال مصرف نادرست نیز وجود دارد، اندازه‌گیری این ترکیب در نمونه‌های بیولوژیکی بسیار حائز اهمیت است. در سال ۱۹۶۴، داروی پروپرانولول با نام تجاری ایندرال^۲، اولین داروی کنترل کننده فشار خون بود که به‌صورت تجاری به‌فروش رسید. موفقیت این دارو منجر به افزایش تقاضا برای تولید داروهایی با خواص مشابه گردید و این امر منجر به تولید وراپامیل شد [۹۴].



شکل (۱-۲): فرمول ساختاری وراپامیل [۹۰].

وراپامیل به‌عنوان اولین مسدود کننده کانال کلسیم، به‌طور گسترده برای درمان فشار خون بالا، بی‌نظمی ضربان قلب و هم‌چنین سردردهای خوشه‌ای استفاده می‌شود [۹۰]. به‌دلیل خواص و ویژگی‌های ذکر شده برای وراپامیل اندازه‌گیری این ترکیب دارویی به روش‌های مختلفی نظیر:

^۱ Verapamil

^۲ Inderal

کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا [۹۵-۹۹]، کروماتوگرافی گازی [۱۰۰-۱۰۲]، میکرو استخراج فاز جامد [۱۰۳]، اسپکتروفتومتری و فلوریمتری [۸۱، ۱۰۴] گزارش شده است. روش‌های الکتروشیمیایی نیز برای اندازه‌گیری این ترکیب مهم دارویی مورد توجه دانشمندان بوده‌اند [۸۱، ۱۰۴]. از طرف دیگر، پتانسیل مازاد بالای مورد نیاز برای انجام فرایند اکسایش وراپامیل در سطح الکترودهای متداول، مشکلی در اندازه‌گیری الکتروشیمیایی این ترکیب بوده که می‌توان با به‌کارگیری اصلاح‌کننده مناسب جهت ساخت الکترودهای اصلاح شده بر این مشکل غلبه کرد. کاسیم^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۲، به اندازه‌گیری وراپامیل در ادرار و ترکیبات دارویی پرداختند [۱۰۵]. این گروه از الکتروده قطره جیوه به‌عنوان الکتروده کار استفاده نمودند. در این آزمایش تکنیک ولتامتری برهنه‌سازی جذب سطحی به‌کار گرفته شد و حد تشخیص این روش ۰/۵۰ نانو مولار گزارش شد، و ناحیه خطی بین 10^{-8} تا 10^{-6} مولار می‌باشد. چن^۲ و همکاران نیز در سال ۲۰۱۳، اندازه‌گیری الکتروشیمیایی وراپامیل را روی سطح الکتروده طلا گزارش دادند [۱۰۶]. حد تشخیص و ناحیه خطی در این گزارش با استفاده از تکنیک ولتامتری چرخه‌ای به‌ترتیب، ۱/۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر، ۱/۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر تا ۱۰۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است. از سوی دیگر سمان^۳ و همکاران در سال ۲۰۰۹ با استفاده از الکتروده مرکب گرافیت- پلی اورتان و با به‌کارگیری تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی به اندازه‌گیری وراپامیل پرداختند. این گروه ناحیه خطی 30×10^{-6} تا 2×10^{-6} مولار و حد تشخیص روش را 0.7×10^{-6} مولار گزارش دادند [۱۰۷]. مطالعه انجام شده دیگری در سال ۲۰۰۷ توسط دمیرکان^۴ و همکاران برای اندازه‌گیری وراپامیل در سطح دیسک کربن شیشه با تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی در نمونه‌های دارویی و سرم انسان انجام شد

^۱ Kasim

^۲ Chen

^۳ Semaan

^۴ Demircan

[۱۰۸]. در این مطالعات ناحیه خطی $۱۰^{-۴} \times ۱/۰ - ۱۰^{-۷} \times ۸/۰$ مولار و حد تشخیص روش $۱۰^{-۷} \times ۱/۶$ مولار گزارش شد. اولیویرا^۱ و همکاران نیز در سال ۲۰۱۳ به اندازه‌گیری وراپامیل و پروپرانولول در سطح الکتروود کربن شیشه اصلاح شده با نانو لوله کربنی و فیلم پلی آلایل آمین هیدروکلراید پرداختند [۱۰۹]. این مطالعات با تکنیک ولتامتری برهنه سازی جذب سطحی انجام شد و حد تشخیص روش برای اندازه‌گیری وراپامیل $۱۰^{-۹} \times ۳/۶$ مولار گزارش شد. در حالیکه ناحیه خطی روش $۱۰^{-۷} \times ۱/۱ - ۱۰^{-۹} \times ۵/۰$ مولار بوده است. حسن زاده و همکاران نیز در سال ۲۰۱۳ با استفاده از تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی در سطح الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با مواد بلورین مغناطیسی پیوند شده با اسید سولفونیک به اندازه‌گیری وراپامیل پرداختند [۱۱۰]. مطالعات انجام شده منجر به دسترسی به حد تشخیص $۱۰^{-۹} \times ۴۱/۰$ مولار و ناحیه خطی $۱۰^{-۹} \times ۱۶۰/۰ - ۱۰^{-۹} \times ۵۰/۰$ مولار شد.

از آنجاییکه از میان روش‌های تجزیه‌ای، روش‌های الکتروشیمیایی دارای حساسیت بالایی می‌باشند و مزاحمت گونه‌های غیرالکتروفعال تأثیری بر این اندازه‌گیری‌ها ندارد، در این بخش توانایی حسگر الکتروشیمیایی تهیه شده بر پایه نانو لوله‌های کربنی چند دیواره به‌منظور بررسی رفتار الکتروشیمیایی و اندازه‌گیری وراپامیل مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت.

۲-۴-۱ تهیه الکتروود کربن شیشه ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره

برای تهیه الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره بدین‌صورت عمل شد: ابتدا، سطح الکتروود کربن شیشه‌ای به‌منظور دستیابی به یک سطح صیقلی و براق، با استفاده از دوغابی از پودر آلومینا (با میانگین اندازه ذرات $۰/۰۵ \mu\text{m}$) در سطح صفحه سایش مخصوص الکتروود، به‌طور مکانیکی آماده شد. به‌منظور زدودن ناخالصی‌های احتمالی موجود در سطح الکتروود، الکتروود به وسیله محلول رقیق نیتریک اسید با غلظت ۰/۱۰

^۱ Oliveira

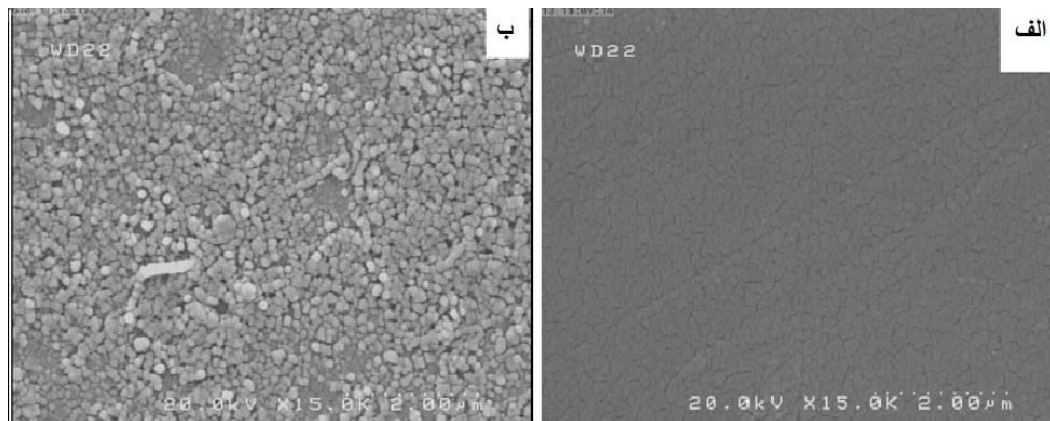
میلی مولار، در حمام فراصوت به مدت ۵ دقیقه شستشو داده شد. سپس نانو لوله‌های کربنی چند دیواره به عنوان اصلاحگر از طریق قطره‌گذاری در سطح الکتروود تثبیت گردید. به این منظور، ابتدا مخلوط کاملاً همگنی از نانو لوله‌های کربنی چند دیواره در دی متیل فرمامید با نسبت مشخص (0.10 mg/mL)، غلظت بهینه نانو لوله‌های کربنی برای اندازه‌گیری وراپامیل در این مطالعه) تهیه و سپس $100 \mu\text{L}$ از این مخلوط به کمک میکروپیپت در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای قطره‌گذاری شد و سپس حلال (دی متیل فرمامید)، با کمک لامپ IR، تبخیر شد و الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره (MWCNT/GCE)، تهیه گردید. به منظور فعال‌سازی و برخورداری از الکتروودی پایدار در طول انجام آزمایش، MWCNT/GCE تهیه شده، در سل حاوی الکترولیت حامل بافر فسفاتی با $\text{pH}=5.0$ قرار داده شد (pH بهینه برای اندازه‌گیری وراپامیل در این مطالعه) و ۵۰ روبش متوالی در محدوده پتانسیل ۰/۰ تا $+1.20$ ولت (نسبت به الکتروود مرجع نقره/نقره کلرید، که محدوده پتانسیل مورد استفاده برای اکسایش وراپامیل در این مطالعه بوده است) با سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه انجام پذیرفت (ولتاموگرام‌های به دست آمده در پیوست (شکل ۱ پ) ارائه شده است).

۲-۴-۲ بررسی و مشخصه یابی الکتروود اصلاح شده

۱-۲-۴-۲ ریخت شناسی سطح الکتروود

شکل (۲-۲-الف)، تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای را در غیاب هر گونه اصلاح کننده‌ای نشان می‌دهد. شکل (۲-۲-ب)، سطح الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، با اصلاح سطح الکتروود کربن شیشه‌ای توسط نانو لوله‌های کربنی چند دیواره، بستر الکتروود متخلخل می‌گردد که منجر به افزایش مساحت سطح موثر الکتروود اصلاح شده می‌شود. به نظر می‌رسد که افزایش مساحت سطح موثر الکتروود اصلاح شده، در نتیجه تخلخل فراهم

شده به همراه توان بالای نانو لوله‌های کربنی چنددیواره به‌عنوان کاتالیست‌های کارآمد، سبب بهبود پاسخ‌های الکتروشیمیایی گونه‌ی آزمایشی مورد نظر در سطح الکتروود اصلاح شده می‌شود.



شکل (۲-۲): (الف) تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح نشده و (ب) الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره.

۲-۲-۴-۲ اندازه‌گیری مساحت سطح الکتروودهای اصلاح شده و اصلاح نشده
 برای مطالعه و بررسی سطح الکتروود فعال MWCNT/GCE، تکنیک ولتامتری چرخه‌ای مورد استفاده قرار گرفت. به این منظور الکتروود اصلاح شده در محلول $1/0 \text{ mM}$ $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ حاوی $0/10 \text{ M}$ KCl قرار گرفت و روبش پتانسیل در سرعت‌های مختلف در محدوده ۱۰ تا ۱۵۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد (شکل ۲-۳-الف). طبق معادله راندلس-سویک (معادله ۱-۱)، برای یک سیستم برگشت‌پذیر، شدت جریان دماغه با جذر سرعت روبش ارتباط مستقیم دارد. بنابراین، نمودار شدت جریان دماغه اکسایش آهن (II) بر حسب جذر سرعت روبش رسم شد (شکل ۲-۳-ب). با دانستن میزان ضریب نفوذ $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ ($6/5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$) [۶۸] و با استفاده از شیب نمودار حاصله، مساحت سطح الکتروود فعال الکتروودهای اصلاح شده و اصلاح نشده با در نظر گرفتن معادله (۱-۱) به صورت زیر محاسبه شد:

$$I_p = S v^{1/2} \quad (1-2)$$

که در آن S شیب نمودار تغییرات جریان بر حسب جذر سرعت روبش است.

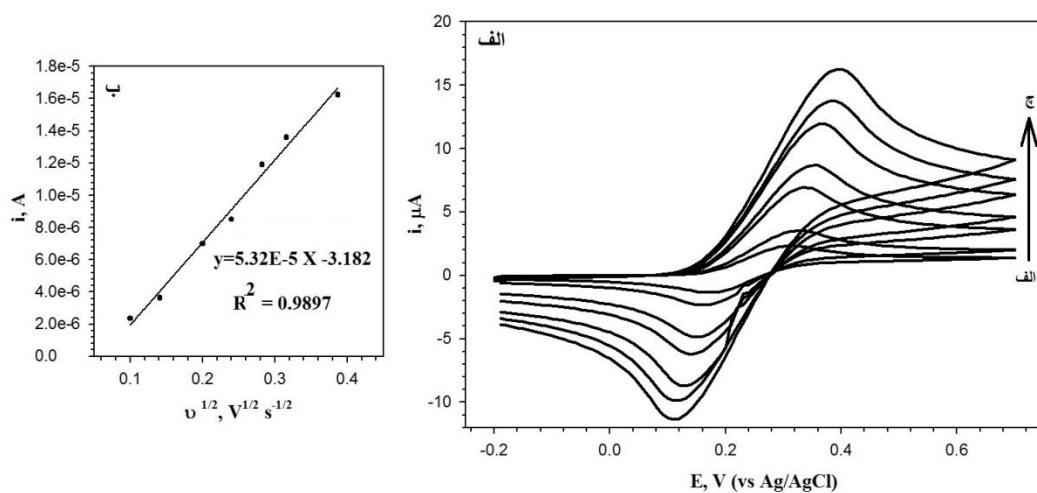
$$S = \left(2/69 \times 10^{-5} \right) n^{3/2} ACD^{1/2} = 5/32 \times 10^{-5} \quad (2-2)$$

بنابراین سطح الکتروود اصلاح شده از طریق رابطه (۳-۲) محاسبه شد:

$$A = \frac{5/32 \times 10^{-5}}{\left(2/69 \times 10^{-5} \right) \times 1^{3/2} \times 1/0 \times 10^{-6} \times \left(6/5 \times 10^{-6} \right)^{1/2}} = 0.77 \text{ cm}^2 \quad (3-2)$$

بررسی مشابهی در سطح الکتروود کربن شیشه اصلاح نشده انجام شد که طی آن شیب نمودار تغییرات جریان بر حسب جذر سرعت روبش برابر با $1/95 \times 10^{-5}$ به دست آمد. از اینرو با استفاده از معادله (۳-۲) مساحت سطح الکتروود فعال کربن شیشه برابر با 0.28 cm^2 محاسبه شد. نتایج به دست آمده در پیوست (شکل ۲ پ) ارائه شده است.

نتایج به دست آمده نشانگر افزایش ۱۷۵٪ در مساحت سطح الکتروود فعال الکتروود اصلاح شده می باشد.



شکل (۳-۲): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای MWCNT/GCE در محلول $1/0 \text{ mM}$ $K_4Fe(CN)_6$ حاوی M در سرعت روبش‌های مختلف: (الف تا ج) مربوط به سرعت‌های روبش ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و 150 mV s^{-1} می‌باشند. (ب) نمودار تغییرات شدت جریان دماغه آندی بر حسب جذر سرعت روبش.

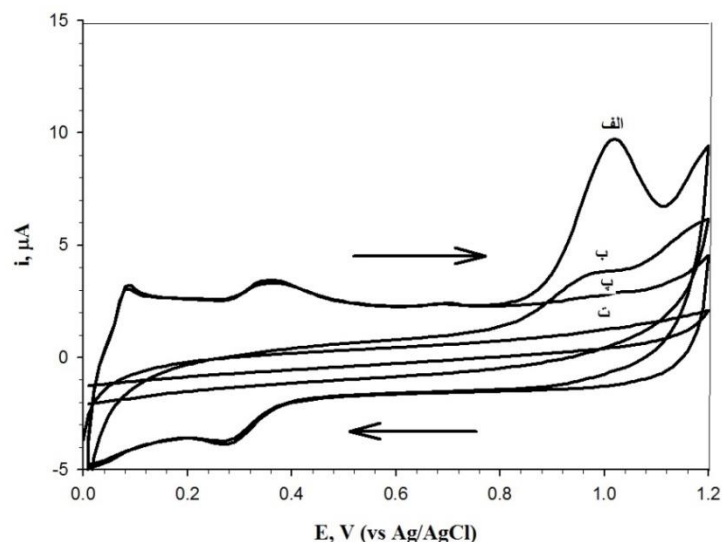
۳-۴-۲ معرفی سیستم الکتروشیمیایی مورد استفاده برای اندازه‌گیری وراپامیل

ولتاموگرام‌های چرخه‌ای وراپامیل در سطح الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره (MWCNT/GCE) و الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح نشده (GCE)، در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH}=5/0$ ، در شکل (۲-۴) نشان داده شده است. همانگونه که ملاحظه می‌شود، اکسایش وراپامیل در سطح الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح نشده، یک دماغه ضعیف و برگشت ناپذیر در پتانسیل حدود ۱/۰۰ ولت نسبت به الکتروکربن مرجع نقره/نقره کلرید (پتاسیم کلرید ۳/۰ مولار) نشان می‌دهد (شکل ۲-۴-ب). در حالیکه، در سطح الکتروکربن اصلاح شده توسط نانو لوله‌های کربنی چند دیواره، اکسایش وراپامیل در پتانسیل ۱/۰۲ ولت نسبت به الکتروکربن مرجع نقره/نقره کلرید (پتاسیم کلرید ۳/۰ مولار) ایجاد یک دماغه آندی کاملاً مشهود و تیز می‌نماید (شکل ۲-۴-الف).

شدت جریان اندازه‌گیری شده وراپامیل در محلول بافر فسفاتی در پتانسیل ۱/۰۲ ولت به‌عنوان سیگنال آنالیت در نظر گرفته شد، در حالی که شدت جریان در محلول بافر فسفاتی در غیاب آنالیت در این پتانسیل مربوط به سیگنال شاهد است (شکل ۲-۴-پ). اختلاف بین شدت جریان دماغه آنالیت و شدت جریان شاهد در پتانسیل ۱/۰۲ ولت به‌عنوان سیگنال تجزیه‌ای برای انجام سایر بررسی‌ها مورد استفاده قرار گرفته شد. حضور نانو لوله‌های کربنی چند دیواره در سطح الکتروکربن باعث افزایش مساحت سطح الکتروفعال الکتروکربن می‌شود. علاوه بر این نانو لوله‌های کربنی چند دیواره به دلیل دارا بودن ابعاد نانومتری، ساختار الکترونیکی و نقص‌های موجود در ساختار آن‌ها موجب افزایش چشمگیر در جریان اکسایش ترکیبات الکتروفعال می‌شوند [۱۱۱]. علاوه بر این، بر اساس مدل کامپتون^۱ و همکاران، مبنی بر بهبود فعالیت الکتروشیمیایی الکترودهای اصلاح شده با فیلم نازکی از فولرن‌ها و نانو لوله‌ها، افزایش در جریان دماغه هم‌چنین می‌تواند به دلیل اضافه شدن مسیر نفوذ جدید به نفوذ نیمه متناهی مسطحی

^۱ Compton

باشد که توسط معادله کاترل توصیف می‌شود [۱۱۳، ۱۱۲]. از سوی دیگر، دماغه اکسایش و کاهش مشاهده شده در پتانسیل نزدیک به ۰/۳ ولت می‌تواند مربوط به ناخالصی‌های الکتروفعال موجود در نانولوله‌های کربنی باشد.



شکل (۲-۴): ولتاموگرام‌های چرخه‌ای وراپامیل ($50/0 \mu\text{M}$) در محلول بافر فسفاتی $0/027$ مولار با $\text{pH}=5/0$ در سطح الکترودهای کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی چند دیواره (الف) و کربن شیشه‌ای اصلاح نشده (ب). (پ) و (ت) به ترتیب ولتاموگرام‌های زمینه الکترودهای اصلاح شده و اصلاح نشده می‌باشند، سرعت روبش 150 mV s^{-1} .

۲-۴-۴ بهینه سازی شرایط آزمایش

بهینه سازی پارامترهای موثر بر سیگنال تجزیه‌ای وراپامیل نه تنها به منظور دستیابی به بالاترین سیگنال تجزیه‌ای، بلکه برای داشتن سیگنالی تکرارپذیر و پایدار ضروری به نظر می‌رسد. به این منظور، پارامترهای مهم و موثری نظیر pH محیط، نوع بافر، حجم بافر، مقدار نانولوله کربنی چند دیواره، نوع حلال پخش کننده و همچنین حجم قطره از طریق روش تک متغیره مورد بررسی قرار گرفت.

۲-۴-۴-۱ روش کار کلی برای بهینه سازی پارامترهای موثر بر اکسایش وراپامیل به روش ولتامتری چرخه‌ای

همانطور که اشاره شد به منظور دسترسی به بهترین سیگنال تجزیه‌ای برای اندازه‌گیری وراپامیل به کمک الکترودهای اصلاح شده MWCNT/GC، از روش تک متغیره استفاده شد. به این

ترتیب که هنگام بهینه سازی هر پارامتر سایر پارامترهای موثر ثابت در نظر گرفته شدند. تمامی بهینه سازی‌ها در محلولی با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل با استفاده از ولتامتری چرخه‌ای و در محدوده ۰/۰ تا ۱/۲۰+ ولت نسبت به الکتروود مرجع نقره/نقره کلرید (پتاسیم کلرید ۳/۰ مولار) انجام شد. هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد و میانگین جریان اکسایش وراپامیل در پتانسیل ۱/۰۲ ولت بعد از کم کردن از جریان زمینه در این پتانسیل به‌عنوان سیگنال تجزیه‌ای در نظر گرفته شد. بعد از هر اندازه‌گیری برای از بین بردن اثر حافظه وراپامیل جذب سطحی شده روی سطح الکتروود اصلاح شده، پنج روبش متوالی در محدوده ۰/۰ تا ۱/۲۰+ در محلول بافر فسفاتی pH=۵/۰ با سرعت روبش 150 mV s^{-1} انجام شد.

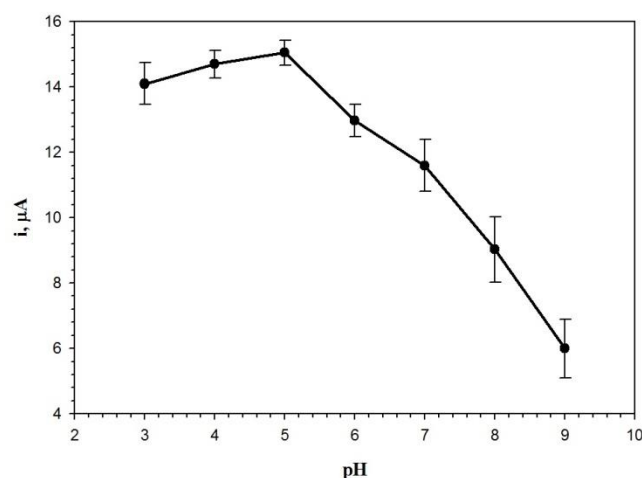
۲-۴-۴-۲ تعیین pH بهینه و نوع بافر در اکسایش وراپامیل در سطح MWCNT/GCE
به منظور بررسی تاثیر pH محیط بر پاسخ ولتامتری وراپامیل و تعیین مقدار بهینه این پارامتر به روش زیر عمل شد:

الکتروود کربن شیشه اصلاح شده از طریق قطره گذاری ۱۰/۰ میکرولیتر از مخلوط همگن MWCNT:DMF با نسبت ۱/۰ mg/mL، تهیه شد. ۴/۰ میلی‌لیتر بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با pH های متفاوت در گستره ۳/۰ تا ۹/۰ به سل الکتروشیمیایی اضافه شد و پس از افزودن ۱/۰ میلی لیتر از وراپامیل ۰/۵۰ میلی مولار، حجم محلول موجود در سل توسط آب دو بار تقطیر به ۱۰/۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس MWCNT/GCE به سل الکتروشیمیایی منتقل و روبش پتانسیل در ناحیه ۰/۰ تا ۱/۲۰+ ولت با سرعت ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد. هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد و پس از میانگین‌گیری، نمودار تغییرات جریان آندی حاصل از اکسایش وراپامیل در محلول‌های بافر فسفاتی با pH های مختلف بر حسب تغییرات pH محیط رسم گردید (شکل ۲-۵). همان‌طور که ملاحظه می‌شود، جریان اکسایش وراپامیل بر حسب pH محیط، در pH=۵/۰ دارای بیشترین مقدار می‌باشد. بنابراین، pH=۵/۰ به‌عنوان pH بهینه

جهت اندازه‌گیری این ترکیب در سطح MWCNT/GCE انتخاب شد. در pH های بالاتر، محلول وراپامیل اندکی کدر می‌شود که این امر می‌تواند به دلیل حلالیت کمتر وراپامیل با $8/7 =$ pK_a در محیط‌های خنثی نسبت به محیط‌های اسیدی باشد [۱۱۱]. جدول (۲-۲) شدت جریان‌های حاصل از اکسایش وراپامیل را در محلول‌های بافر فسفاتی با pH های مختلف نشان می‌دهد.

جدول (۲-۲) نتایج به‌دست آمده از شدت جریان دماغه اکسایش $50/0$ میکرومولار وراپامیل آمده با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای در محلول حاوی بافر فسفاتی $0/027$ مولار با pH های مختلف، سرعت روبش 100 mV s^{-1} ، حجم قطره گذاری $10/0 \text{ } \mu\text{L}$ از تعلیق MWCNT:DMF با نسبت $1/0 \text{ mg/mL}$.

pH	۳/۰	۴/۰	۵/۰	۶/۰	۷/۰	۸/۰	۹/۰
سیگنال تجزیه‌ای (μA)	$14/1 \pm 0/8$	$14/7 \pm 1/2$	$15/1 \pm 1/0$	$12/9 \pm 0/6$	$11/6 \pm 0/8$	$9/1 \pm 1/3$	$6/0 \pm 0/9$



شکل (۲-۵): نمودار تغییرات جریان آنودی بر حسب pH (بافر فسفاتی $0/027$ مولار) برای محلول $50/0$ میکرومولار وراپامیل به‌دست آمده از روش ولتامتری چرخه‌ای در سطح در سطح MWCNT/GCE با سرعت روبش 100 mV s^{-1} انجام شده است. حجم قطره گذاری $10/0 \text{ } \mu\text{L}$ از تعلیق MWCNT:DMF با نسبت $1/0 \text{ mg/mL}$.

با توجه به اهمیت نقش الکترولیت حامل در واکنش‌های الکتروشیمیایی، علاوه بر بافر فسفاتی $0/027$ مولار، الکترولیت‌های حامل مختلفی نظیر بافر سیتراتی $0/038$ مولار، فتالاتی $0/020$ مولار و استاتی $0/088$ مولار در $\text{pH}=5/0$ مورد بررسی قرار گرفتند.

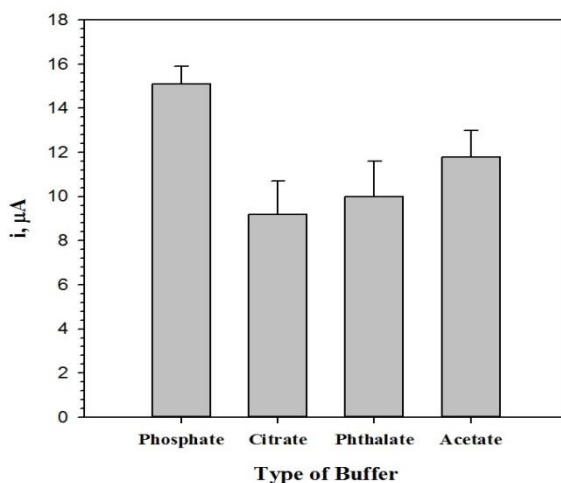
نتایج به‌دست آمده (جدول ۲-۳ و شکل ۲-۶)، نشان‌گر حساسیت بالاتر بافر فسفاتی در

اندازه‌گیری وراپامیل می‌باشد. از اینرو در مطالعات بعدی از بافر فسفاتی استفاده شد.

جدول (۲-۳): نتایج به‌دست آمده از شدت جریان دماغه اکسایش ۵۰٪ میکرومولار وراپامیل آمده با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای در محلول حاوی بافرهای مختلف با $\text{pH} = 5.0$ ، سرعت روبش 100 mV s^{-1} ، حجم قطره گذاری $10.0 \mu\text{L}$ از تعلیق MWCNT:DMF با نسبت 1.0 mg/mL .

انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)	سیگنال تجزیه‌ای (μA) *	نوع بافر
۰/۸	۱۵/۱	فسفاتی
۰/۹	۱۱/۸	استاتی
۱/۳	۹/۲	سیتراتی
۱/۳	۱۰/۰	فتالاتی

* میانگین سه اندازه‌گیری



شکل (۲-۶): نمودار تغییرات شدت جریان آنودی محلول ۵۰٪ میکرومولار وراپامیل بر حسب نوع بافر در $\text{pH} = 5.0$ در سطح MWCNT/GCE با روش ولتامتری چرخه‌ای، سرعت روبش 100 mV s^{-1} ، حجم قطره گذاری $10.0 \mu\text{L}$ از تعلیق MWCNT:DMF با نسبت 1.0 mg/mL .

۳-۴-۴-۲ بهینه سازی حجم بافر در اکسایش وراپامیل در سطح MWCNT/GCE

در این بخش از مطالعه به منظور تعیین حجم بهینه بافر فسفاتی (الکترولیت حامل)،

حجم‌های مختلفی در گستره ۲/۰ تا ۸/۰ میلی‌لیتر از بافر فسفاتی $\text{pH} = 5.0$ در حضور وراپامیل

۵۰٪ میکرومولار به سل الکتروشیمیایی اضافه شد. نتایج به‌دست آمده جدول (۲-۴) و شکل

(۲-۷)، نشان می‌دهد که با افزایش حجم الکترولیت حامل تا ۴/۰ میلی‌لیتر شدت جریان

اکسایش وراپامیل افزایش می‌یابد، در حالیکه در حجم‌های بالاتر تغییری در شدت جریان

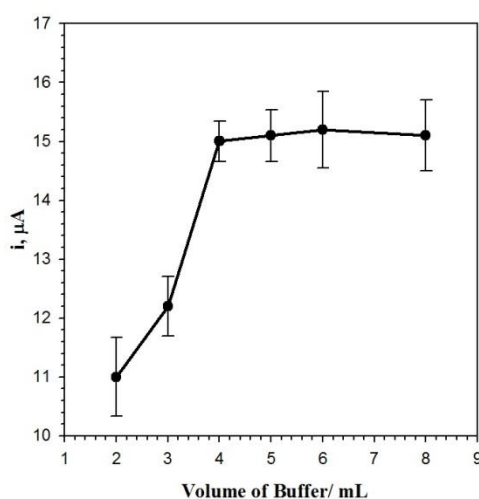
مشاهده نمی‌شود. برای توجیه این مشاهدات می‌توان گفت که با افزایش حجم بافر (الکترولیت

حامل) هدایت محلول زیاد شده، مقاومت درونی آن کاهش یافته و در نتیجه جریان افزایش می‌یابد. در حالی که در حجم‌های بالاتر از ۴/۰ میلی‌لیتر قدرت یونی محیط ثابت باقی می‌ماند که می‌توان این امر را در ثبات سیگنال شاهد در حجم‌های بالاتر مشاهده کرد. بنابراین حجم ۴/۰ میلی‌لیتر از بافر فسفاتی pH=۵/۰ به‌عنوان حجم بهینه انتخاب و در بررسی‌های بعدی استفاده شد.

جدول (۲-۴): نتایج حاصل از بررسی حجم‌های متفاوت بافر فسفاتی در pH=۵/۰ بر روی شدت جریان دماغه اکسایش وراپامیل ۵۰/۰ میکرومولار با روش ولتامتری چرخه‌ای، سرعت روبش 100 mV s^{-1} . حجم قطره گذاری $10/0 \mu\text{L}$ از تعلیق MWCNT:DMF با نسبت $1/0 \text{ mg/mL}$.

انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)	سیگنال تجزیه‌ای* (μA)	سیگنال شاهد* (μA)	حجم بافر (mL)
۰/۶	۱۱/۰	۱۴/۵	۲/۰
۰/۷	۱۲/۲	۱۳/۹	۳/۰
۰/۲	۱۵/۰	۱۳/۰	۴/۰
۰/۳	۱۵/۱	۱۳/۰	۵/۰
۰/۶	۱۵/۲	۱۲/۹	۶/۰
۰/۶	۱۵/۱	۱۲/۹	۸/۰

* میانگین سه اندازه‌گیری



شکل (۲-۷): نمودار تغییرات شدت جریان آنودی وراپامیل ۵۰/۰ میکرومولار بر حسب حجم بافر فسفاتی در pH=۵/۰، در در سطح MWCNT/GCE با روش ولتامتری چرخه‌ای، سرعت روبش 100 mV s^{-1} . حجم قطره گذاری $10/0 \mu\text{L}$ از تعلیق MWCNT:DMF با نسبت $1/0 \text{ mg/mL}$.

۲-۴-۴-۴ بهینه سازی حلال پخش کننده، غلظت و حجم قطره

یکی از مهمترین چالش‌های استفاده از نانو لوله‌های کربنی، نامحلول بودن یا حلالیت پایین آن‌ها در اکثر حلال‌های شناخته شده است. دلیل این امر خاصیت آبگریزی این ترکیبات است. بنابراین تهیه تعلیق همگن و پایدار نانو لوله‌های کربنی از اهمیت به‌سزایی برخوردار است [۱۱۱]. از اینرو طی مراحل آزمایش، تعلیق‌هایی از ۱/۰ میلی گرم نانو لوله‌های کربنی چند دیواره در ۱/۰ میلی‌لیتر از حلال‌هایی نظیر آب، اتانول، دی متیل فرامید^۱، دی متیل سولفواکسید^۲ و محلول سورفکتانت سدیم دو دسیل سولفات^۳ با غلظت ۱۰/۰ ppm تهیه شد. هر یک از محلول‌های تهیه شده به مدت ۳۰ دقیقه در حمام فراصوت قرار گرفت و سپس حجم ۱۰/۰ μL از نانو لوله کربنی پخش شده در حلال مورد نظر به کمک میکروپیپت روی سطح الکترود کربن شیشه قطره‌گذاری شد. بر اساس نتایج حاصل از بررسی‌های صورت گرفته (جدول ۲-۵)، وقتی از حلال آب و اتانول به‌عنوان حلال پخش کننده استفاده شد، تعلیق ناپایدار بوده و به‌سرعت به‌شکل لخته در آمد. هنگام استفاده از دی متیل سولفواکسید اگرچه تعلیق به‌دست آمده از پایداری خوبی برخوردار بود اما سیگنال‌های تجزیه‌ای وراپامیل از تکرارپذیری خوبی برخوردار نبود. فیلم ناشی از قطره‌گذاری MWCNT/SDS نیز ناپایدار بود و به‌راحتی از سطح الکترود جدا شد. بررسی‌های بیشتر با استفاده از حلال DMF نشان داد که این حلال برای پخش نانو لوله‌های کربنی چند دیواره به‌کمک حمام فراصوت، از پایداری، تکرارپذیری و به‌خصوص حساسیت بالاتری نسبت به سایر حلال‌های پخش کننده برخوردار است. به‌منظور تعیین بهترین نسبت غلظتی بین MWCNT:DMF، نسبت‌های متفاوتی از این دو ترکیب مورد ارزیابی قرار گرفت. به این ترتیب که محلول‌هایی با نسبت‌های ۱/۰۰، ۰/۲۰، ۰/۱۰ و ۰/۰۶ mg/mL تهیه شد و سپس حجم ۱۰/۰ μL از محلول‌های معلق تهیه شده روی

^۱ Dimethyl formade

^۲ Dimethyl sulfoxide (DMSO)

^۳ Sodium dodecyl sulfat (SDS)

جدول (۲-۵) نتایج به دست آمده از شدت جریان دماغه اکسایش ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار pH=۵/۰، در حضور الکتروود اصلاح شده با ۱۰/۰ μL از حلال‌های پخش کننده متفاوت با نسبت ۱/۰ mg/mL با استفاده از ولتامتری چرخه‌ای با سرعت روبش 100 mV s^{-1}

انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)	سیگنال تجزیه‌ای (μA) *	حلال پخش کننده
۱/۳۰	۵/۰۲	اتانول
۰/۴۱	۲/۴۱	آب
۰/۵۸	۳/۳۳	دی متیل سولفواکسید
۱/۵۰	۳/۱۵	سدیم دودسیل سولفات
۰/۶۰	۱۴/۸۴	دی متیل فرمامید

* میانگین پنج اندازه گیری

سطح GCE قطره گذاری شد. بررسی نتایج به دست آمده (جدول ۲-۶)، حاکی از این امر است که در نسبت‌های بالای MWCNT:DMF (۱/۰۰ mg/mL و ۰/۲۰ mg/mL) نسبت سیگنال آنالیت به جریان زمینه کم می‌باشد، در حالیکه در نسبت‌های پایین (۰/۱۰ mg/mL و ۰/۰۶ mg/mL) نسبت سیگنال به جریان زمینه افزایش می‌یابد.

جدول (۲-۶) نتایج به دست آمده از شدت جریان دماغه اکسایش ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار pH=۵/۰، با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای با سرعت روبش 100 mV s^{-1} ، در نسبت‌های غلظتی متفاوت MWCNT:DMF

سیگنال آنالیت سیگنال شاهد	انحراف استاندارد سیگنال آنالیت (μA)	سیگنال شاهد (μA) *	سیگنال آنالیت (μA) *	MWCNT:DMF (mg/mL)
۲/۱۰	۰/۴۰	۱۳/۰۰	۲۷/۴۰	۱/۰۰
۲/۱۰	۰/۹۰	۹/۱۲	۱۹/۱۰	۰/۲۰
۴/۱۲	۰/۱۵	۱/۴۴	۵/۹۴	۰/۱۰
۵/۰۸	۰/۵۶	۰/۹۰	۴/۵۷	۰/۰۶
۳/۹۰	۰/۳۰	۰/۹۰	۳/۵۰	۰/۰

* میانگین پنج اندازه گیری

به دلیل تکرارپذیری بهتر نتایج به دست آمده هنگام به کارگیری MWCNT:DMF با نسبت ۰/۱۰ mg/mL، این نسبت به عنوان مقدار بهینه در نظر گرفته شد.

حساسیت یک اندازه گیری در سطح الکتروود کربن شیشه اصلاح شده با نانو لوله کربنی به مقدار MWCNT موجود در سطح الکتروود وابسته می باشد. بنابراین، برای یافتن مقدار بهینه MWCNT، حجم های مختلفی از محلول معلق با نسبت ۰/۱۰ mg/mL از MWCNT:DMF، روی سطح الکتروود کربن شیشه قطره گذاری شد. ولتاموگرام ها در محلول ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل در بافر فسفاتی pH = ۵/۰ ثبت گردید. داده های به دست آمده از جدول ۲-۷، نشان می دهد که با افزایش حجم قطره، ضخامت سطح الکتروفعال به دلیل حضور مقادیر بالاتر MWCNT، افزایش می یابد. این امر علاوه بر اینکه منجر به افزایش جریان دماغه نمونه^۱ می شود، افزایش جریان زمینه را نیز در پی دارد. به این دلیل هنگامی که حجم قطره زیاد و فیلم تهیه شده ضخیم باشد، نسبت سیگنال آنالیت به سیگنال شاهد، کاهش می یابد. هنگامی که حجم قطره کم و فیلم تهیه شده نازک باشد، به دلیل کم بودن سطح الکتروفعال الکتروود اصلاح شده، مقدار وراپامیل جذب سطحی شده کم بوده و در نتیجه شدت جریان دماغه کاهش می یابد. بنابر توضیحات ارائه شده و با توجه به انحراف استانداردهای به دست آمده، در این مطالعه تحقیقاتی، حجم ۱۰/۰ میکرولیتر به عنوان حجم بهینه قطره گذاری انتخاب شد.

^۱ Sample peak current

جدول (۷-۲) نتایج به دست آمده از شدت جریان دماغه اکسایش ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل در بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار، pH=۵/۰، با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای با سرعت روبش 100 mV s^{-1} ، در حضور الکتروود اصلاح شده با حجم‌های قطره گذاری متفاوت از تعلیق MWCNT:DMF با 10 mg/mL

سیگنال آنالیت سیگنال شاهد	انحراف استاندارد سیگنال آنالیت (μA)	سیگنال شاهد* (μA)	سیگنال آنالیت (μA)*	حجم قطره (μL)
۶/۲۷	۰/۶۷	۰/۵۸	۳/۶۴	۵/۰۰
۴/۶۲	۰/۵۷	۰/۹۹	۴/۵۷	۷/۰۰
۴/۱۲	۰/۱۵	۱/۴۴	۵/۹۴	۱۰/۰
۳/۶۱	۰/۳۱	۱/۹۲	۶/۹۴	۱۲/۰
۳/۱۰	۰/۴۸	۲/۵۱	۷/۷۷	۱۵/۰
۲/۸۶	۰/۳۷	۲/۹۱	۸/۳۴	۲۰/۰

* میانگین پنج اندازه گیری

۵-۴-۴-۲ اثر سرعت روبش پتانسیل بر سیگنال تجزیه‌ای وراپامیل در سطح MWCNT/GCE به کمک ولتامتری چرخه‌ای

به منظور بررسی تاثیر تغییر سرعت روبش پتانسیل بر سیگنال تجزیه‌ای وراپامیل، روبش پتانسیل در سرعت‌های مختلف در محدوده ۲۵ تا ۲۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه، در محلول بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با pH = ۵/۰ دارای وراپامیل (۵۰/۰ میکرومولار) انجام شد (جدول ۸-۲).

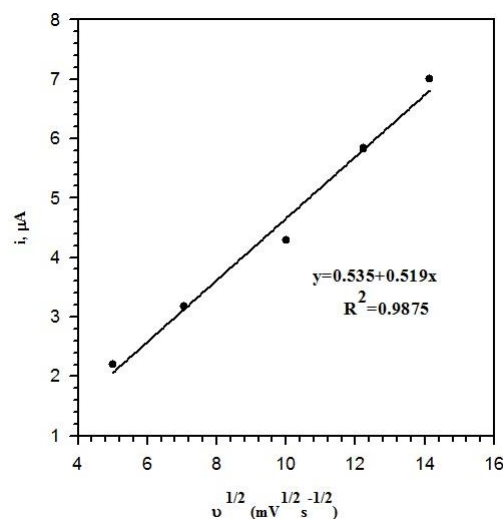
جدول (۸-۲) نتایج حاصل از بررسی سرعت روبش بر شدت جریان دماغه اکسایش ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل در بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار، pH=۵/۰، با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای، با حجم قطره گذاری $10 \mu\text{L}$ از تعلیق MWCNT:DMF با 10 mg/mL

انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)	سیگنال تجزیه‌ای* (μA)	سیگنال شاهد* (μA)	سرعت روبش (mVs^{-1})
۰/۲۲	۲/۱۹	۰/۳۵	۲۵
۰/۱۴	۳/۱۸	۰/۸۱	۵۰
۰/۱۹	۴/۲۹	۱/۴۲	۱۰۰
۰/۱۰	۵/۸۳	۲/۲۰	۱۵۰
۰/۱۵	۷/۰۰	۳/۳۰	۲۰۰

* میانگین سه اندازه گیری

در این بررسی مشاهده شد که با افزایش سرعت روبش علاوه بر افزایش سیگنال دماغه

اکسایش وراپامیل، سیگنال شاهد نیز افزایش می‌یابد که این امر در سرعت‌های روبش بالاتر از ۱۵۰ میلی ولت بر ثانیه از تاثیر بیشتری برخوردار بوده است. علاوه بر این، افزایش سرعت روبش (به ویژه در سرعت‌های روبش بالاتر از ۱۵۰ میلی ولت بر ثانیه) منجر به پهن شدن دماغه اکسایش وراپامیل و کاهش گزینش پذیری می‌شود. از سوی دیگر با افزایش سرعت روبش به علت بالا رفتن سیگنال زمینه‌ی شاهد، امکان افزایش انحراف از استاندارد سیگنال شاهد وجود دارد که این امر در نهایت منجر به افزایش حد تشخیص و کاهش حساسیت می‌شود. از اینرو سرعت روبش ۱۵۰ میلی ولت بر ثانیه در مطالعات بعدی به‌عنوان سرعت روبش بهینه مورد استفاده قرار گرفت. همانند گذشته هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد و نمودار میانگین سیگنال تجزیه‌ای حاصل بر حسب جذر سرعت روبش رسم شد. همان‌گونه که در شکل (۸-۲) مشاهده می‌شود، جریان دماغه آندی مربوط به اکسایش وراپامیل به‌طور خطی متناسب با جذر سرعت روبش پتانسیل ($v^{1/2}$) تغییر می‌کند که نشان دهنده‌ی انتشاری بودن فرایند الکترودی و جریان حاصل از آن خواهد بود، یعنی جریان به‌وسیله‌ی سرعت انتشار ترکیب الکتروفعال از درون محلول به‌سمت الکتروود محدود می‌شود.



شکل (۸-۲): نمودار تغییرات شدت جریان دماغه اکسایش ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار pH=۵/۰ در سطح MWCNT/GCE، بر حسب جذر سرعت روبش پتانسیل در محدوده ۲۵ تا ۲۰۰ میلی ولت بر ثانیه.

معادله (۴-۲) رابطه خطی بین جریان دماغه آندی مربوط به اکسایش با جذر سرعت روبش پتانسیل را نشان می‌دهد:

$$I_p(\mu A) = 0.535 (\mu A) + 0.519 v^{1/2} (mV^{1/2} s^{-1/2}) \quad R^2 = 0.9875 \quad (4-2)$$

۴-۲-۵ شرایط بهینه حاصل از مطالعات ولتامتری چرخه‌ای

با توجه به نتایج به‌دست آمده در بررسی و بهینه سازی پارامترهای موثر بر عملکرد سیستم، شرایط بهینه ای که در رسم منحنی کالبراسیون با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای مورد استفاده قرار گرفت در جدول (۴-۲) نشان داده شده است.

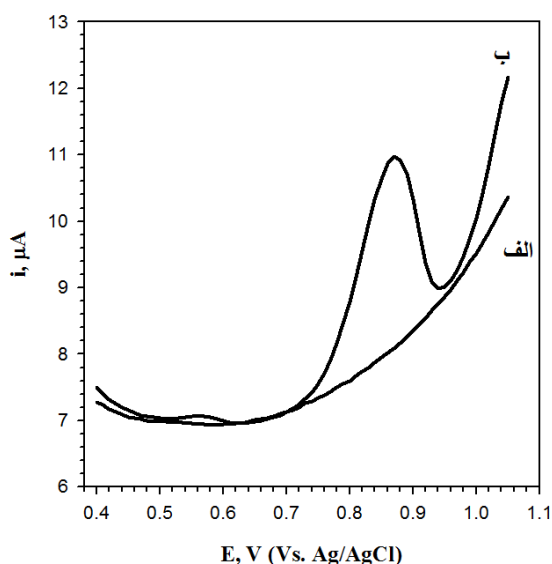
جدول (۴-۲) نتایج به‌دست آمده از بهینه سازی پارامترهای موثر بر سیگنال تجزیه‌ای اکسایش واپامیل با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای در سطح MWCNT/GCE

پارامتر	نوع یا مقدار بهینه
pH محیط	۵/۰
نوع بافر	فسفاتی
حجم بافر (mL)	۴/۰
حلال پخش کننده	DMF
نسبت غلظتی MWCNT:DMF (mg:mL)	۰/۱۰
حجم قطره (μL)	۱۰/۰
سرعت روبش (mV s ⁻¹)	۱۵۰

۴-۲-۶ بهینه سازی پارامترهای موثر بر ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی

به دلیل حساسیت بالاتر روش ولتامتری پالس تفاضلی نسبت به ولتامتری چرخه‌ای، منحنی کالبراسیون در این مطالعه با کمک این تکنیک نیز رسم شد. به این منظور پارامترهای موثر بر ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی نظیر سرعت روبش، ارتفاع پالس و مدت زمان اعمال آن مورد بررسی قرار گرفتند. به این ترتیب پس از تهیه الکتروود طبق شرایط بهینه‌سازی شده مطابق روش ولتامتری چرخه‌ای، الکتروود در محلول حاوی بافر فسفاتی pH=۵/۰ با غلظت ۰/۰۲۷ مولار و واپامیل با غلظت ۵۰/۰ میکرو مولار قرار داده شد و روبش پتانسیل در گستره

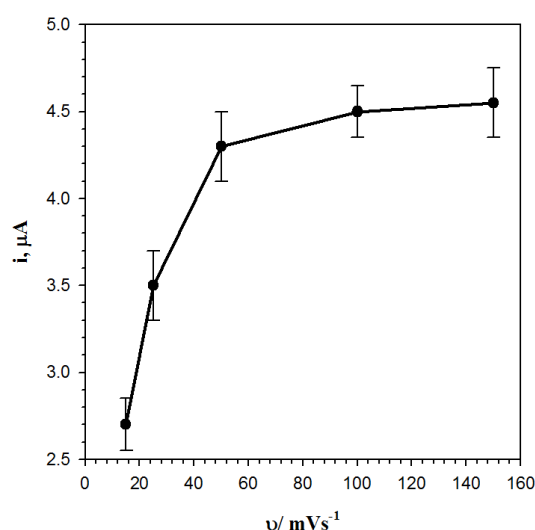
$+0.40$ تا $+1.05$ ولت در سرعت روبش، ارتفاع پالس و مدت زمان اعمال پالس مشخص انجام شد. پس از بهینه سازی شرایط ولتامتری پالس تفاضلی، شدت جریان اندازه گیری شده وراپامیل در محلول بافر فسفاتی در پتانسیل 0.90 ولت به عنوان سیگنال آنالیت برای رسم منحنی کالیبراسیون در نظر گرفته شد. سیگنال شاهد در همین پتانسیل و در غیاب آنالیت اندازه گیری شد. هر اندازه گیری سه بار تکرار شد و میانگین اندازه گیری ها به عنوان سیگنال تجزیه ای مورد استفاده قرار گرفت. شکل (۲-۹) نمونه ای از ولتاموگرام پالس تفاضلی را در محلول بافر فسفاتی 0.027 مولار در $pH=5.0$ در غیاب و حضور $25/0$ میکرومولار وراپامیل نشان می دهد.



شکل (۲-۹): ولتاموگرام های پالس تفاضلی با سرعت روبش 100 mVs^{-1} (ارتفاع پالس 80 mV و مدت زمان اعمال پالس 50 میلی ثانیه) در سطح MWCNT/GCE در محلول بافر فسفاتی 0.027 مولار با $pH=5.0$ (الف) در غیاب وراپامیل و (ب) در حضور $25/0$ میکرومولار وراپامیل.

۲-۴-۱- بهینه سازی سرعت روبش برای اکسایش وراپامیل با تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی
به منظور بررسی تاثیر سرعت روبش پتانسیل بر سیگنال تجزیه ای وراپامیل، روبش پتانسیل در سرعت های مختلف در محدوده 15 تا 150 میلی ولت بر ثانیه، در محلول بافر فسفاتی $pH=5.0$ دارای وراپامیل ($50/0$ میکرومولار) انجام شد. نتایج به دست آمده (شکل ۲-۱۰)

نشان داد که همانند روش ولتامتری چرخه‌ای با افزایش سرعت روبش علاوه بر افزایش سیگنال دماغه اکسایش وراپامیل، سیگنال زمینه نیز افزایش می‌یابد که این امر در سرعت‌های روبش بالاتر از ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه از تاثیر بیشتری برخوردار بوده است. به علاوه پهن شدگی پیک در سرعت‌های روبش بالاتر منجر به کاهش حساسیت و رسیدن به حد تشخیص بالاتر می‌شود. از اینرو سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه برای رسم منحنی کالبراسیون با این روش مورد استفاده قرار گرفت.

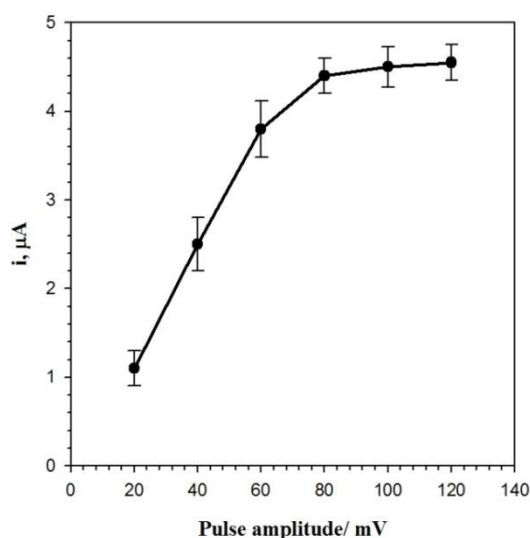


شکل (۲-۱۰): نمودار تغییرات شدت جریان آنودی وراپامیل ۵۰/۰ میکرومولار در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار $\text{pH}=5/0$ در سطح MWCNT/GCE، بر حسب سرعت روبش به کار گرفته شده در تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی. ارتفاع پالس: ۶۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه.

۲-۴-۶-۲ بهینه سازی ارتفاع پالس در اکسایش وراپامیل با کمک ولتامتری پالس تفاضلی
از جمله پارامترهای دستگاہی مهم و تاثیرگذار در سیگنال تجزیه‌ای به هنگام به کارگیری ولتامتری پالس تفاضلی، ارتفاع پالس و مدت زمان اعمال آن است.

به این منظور، برای بررسی ارتفاع پالس بر شدت جریان، این پارامتر در گستره ۲۰ تا ۱۲۰ میلی ولت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله در شکل (۲-۱۱) ارائه شده است. روش انجام کار برای بررسی این پارامتر به این صورت بود که پس از افزودن حجم ۴/۰ میلی لیتر از

بافر فسفاتی $\text{pH} = 5.0$ و وراپامیل با غلظت مشخص به سل الکتروشیمیایی، حجم محلول با آب دو بار تقطیر به 10.0 میلی لیتر رسانده شد. پس از قرار دادن الکترودها داخل سل الکتروشیمیایی، ولتاموگرامهای پالس تفاضلی در گستره $+0.40$ تا $+1.05$ ولت، با سرعت روبش 100 میلی ولت بر ثانیه با ارتفاع پالس در گستره 20 تا 120 میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس 50 میلی ثانیه، رسم شد. هر اندازه گیری سه بار تکرار شد و سیگنال میانگین به عنوان سیگنال تجزیه ای مورد استفاده قرار گرفت. تغییر ارتفاع پالس تاثیر چشمگیری بر شدت جریان دارد. در واقع ارتفاع سیگنال تجزیه ای وابسته به ارتفاع پالس است. بطوریکه کاهش ارتفاع پالس منجر به کاهش جریان دماغه می شود. در حالیکه افزایش بیش از حد ارتفاع پالس نه تنها منجر به افزایش چندان سیگنال تجزیه ای نمی شود بلکه منجر به پهن شدن دماغه و کاهش حساسیت نیز می شود [۶۸]. بنابراین، در این مطالعه تحقیقاتی برای رسیدن به حداکثر جریان بدون به خطر افتادن گزینش پذیری روش، از ارتفاع پالس 80 میلی ولت به عنوان مقدار بهینه برای رسم منحنی کالبراسیون استفاده شد.

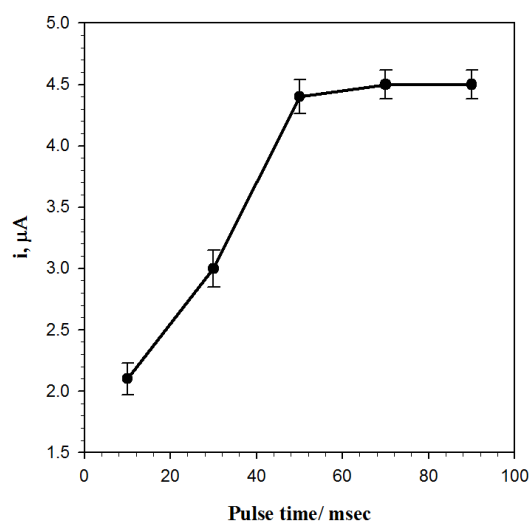


شکل (۲-۱۱): نمودار حاصل از بررسی ارتفاع پالس در روش ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه گیری 50.0 میکرومولار وراپامیل در محلول بافر فسفاتی 0.27 مولار با $\text{pH} = 5.0$ در سطح MWCNT/GCE. سرعت روبش 100 mV s^{-1} ، مدت زمان اعمال پالس 50 میلی ثانیه.

۳-۶-۴-۲ بهینه سازی مدت زمان اعمال پالس برای اکسایش وراپامیل با تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی

در ولتامتری پالس تفاضلی باید از جریان قبل و بعد از اعمال پالس نمونه گیری شود. بنابراین هر چه مدت زمان اعمال پالس بیشتر شود امکان رسیدن به جریان های بالاتر وجود دارد. در این مورد نیز همانند اثر ارتفاع پالس با افزایش مدت زمان اعمال پالس پیک پهن می شود. در این مطالعه، مدت زمان اعمال پالس در فاصله بین ۱۰ تا ۹۰ میلی ثانیه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده در شکل (۲-۱۲) گزارش شده است. همانطور که اشاره شد با افزایش مدت زمان اعمال پالس سیگنال افزایش می یابد که این روند تا زمان ۵۰ میلی ثانیه تاثیری بر پهن شدگی پیک ندارد. از اینرو مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه به عنوان بهینه برای رسم منحنی کالبراسیون استفاده شد.

با توجه به نتایج به دست آمده شرایط بهینه مورد استفاده برای رسم منحنی کالبراسیون از طریق روش ولتامتری پالس تفاضلی عبارتند از: سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۸۰ میلی ولت و زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه.

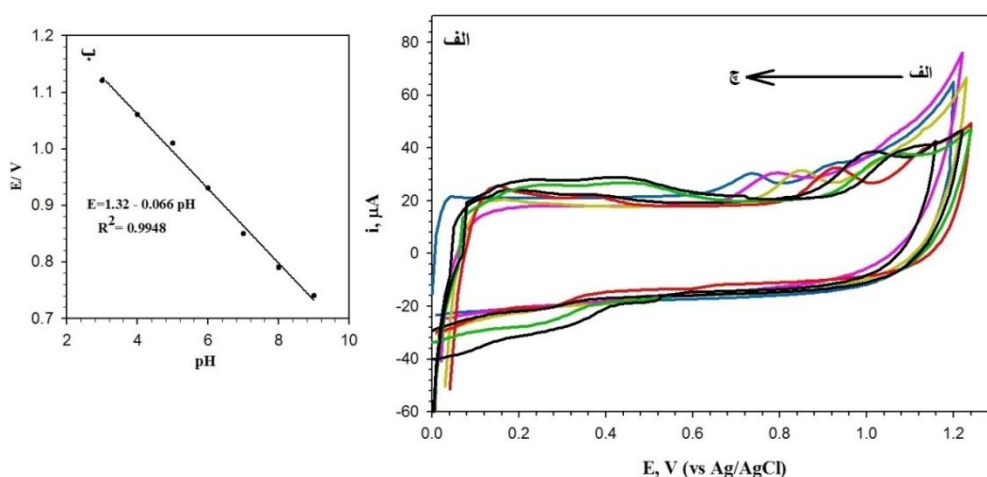


شکل (۲-۱۲): نمودار حاصل از بررسی مدت زمان اعمال پالس در روش ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه گیری ۵۰/۱۰ میکرومولار وراپامیل در محلول بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با pH=۵/۰ در سطح MWCNT/GCE. سرعت روبش 100 mV s^{-1} ، ارتفاع پالس ۸۰ میلی ولت.

۷-۴-۲ بررسی الکتروشیمیایی اکسایش وراپامیل

به منظور بررسی رفتار الکتروشیمیایی وراپامیل با تغییر pH محیط، الکتروود MWCNT/GC تهیه و در محلول بافر فسفاتی با pH های مختلف (در محدوده ۳/۰ تا ۹/۰) حاوی غلظت ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل قرار داده شد. شکل ۲-۱۳ الف، ولتاموگرام های مربوطه را نشان می دهد. بررسی تغییرات پتانسیل دماغه اکسایش وراپامیل در سطح MWCNT/GCE نسبت به pH محیط، نشان دهنده برابری تعداد الکترون مبادله شده با تعداد پروتون دخیل در فرآیند اکسایش الکتروشیمیایی این ترکیب در محدوده pH مورد مطالعه می باشد. نمودار تغییرات پتانسیل دماغه اکسایش وراپامیل بر حسب تغییرات pH، در شکل (۲-۱۳ ب) ارائه شده است. معادله (۲-۵) بیانگر رابطه خطی بین پتانسیل دماغه اکسایش وراپامیل با تغییرات pH می باشد:

$$E \text{ (V)} = 1.32 - 0.066 \text{ pH} \quad R^2 = 0.9948 \quad n=7 \quad (2-5)$$



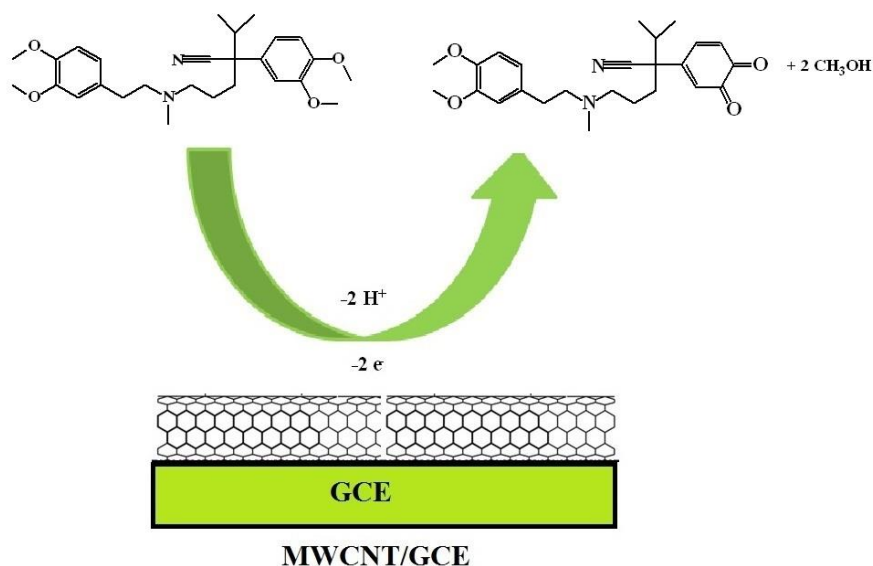
شکل (۲-۱۳): (الف) ولتاموگرام های چرخه ای محلول ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH های مختلف در سطح MWCNT/GCE با سرعت روبش 100 mV s^{-1} ، (الف) تا (ج) به ترتیب: ۳/۰، ۴/۰، ۵/۰، ۶/۰، ۷/۰، ۸/۰ و ۹/۰. (ب) نمودار تغییرات پتانسیل دماغه آندی وراپامیل بر حسب pH.

همان طور که مشاهده می شود، پتانسیل مربوط به این گونه آزمایشی، در سطح

MWCNT/GCE با افزایش pH به سمت مقادیر منفی جابجا می شود که نشان می دهد پروتون

در واکنش اکسایش وراپامیل نقش ایفا می‌کند. همچنین، شیب خط به‌دست آمده نزدیک به شیب نرنستی مورد انتظار برای فرآیند با مبادله الکترون‌ها و پروتون‌های برابر می‌باشد ($n=2$) [۱۰۸,۱۰۷].

طرح (۱-۲)، فرایند الکتروشیمیایی پیشنهادی وراپامیل در سطح MWCNT/GCE را نشان می‌دهد که طبق این طرح گروه متوکسی حلقه فنیل در فرآیند اکسایش وراپامیل نقش ایفا می‌کند [۱۰۸,۱۰۷].



طرح (۱-۲): فرایند الکترودی پیشنهادی وراپامیل در سطح MWCNT/GCE.

از سوی دیگر، برای درک بهتر رفتار الکتروشیمیایی وراپامیل در سطح الکتروود اصلاح شده، به بررسی اثر تغییر سرعت روبش پتانسیل پرداخته شد. نتایج به‌دست آمده (شکل ۲-۱۴ الف) نشان می‌دهد که با افزایش سرعت روبش پتانسیل، دماغه اکسایش وراپامیل به سمت پتانسیل‌های مثبت‌تر جابه‌جا می‌شود که این امر نشان از وجود محدودیت سینتیکی در واکنش الکتروشیمیایی مربوطه می‌باشد [۶۸].

داده‌های به دست آمده از ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در شکل (۲-۱۴-ب) نشان می‌دهد که، نمودار تغییرات پتانسیل دماغه آندی نسبت به لگاریتم طبیعی سرعت روبش پتانسیل خطی بوده و در نتیجه امکان تعیین ضریب انتقال (α) و ثابت سرعت انتقال بار ناهمگن^۱ (k_0) با استفاده از تئوری لایرون^۲ (معادله ۲-۶) فراهم می‌باشد [۶۸].

$$E(V) = E'_0(V) + \frac{RT}{(1-\alpha)nF} \left[0.78 + \ln \left[\frac{D^{1/2}}{k_0} \right] + \ln \left(\frac{(1-\alpha)nFv}{RT} \right)^{1/2} \right] \quad (۲-۶)$$

که در این معادله E'_0 ، پتانسیل استاندارد فرمال، v سرعت روبش پتانسیل، α ضریب انتقال الکترون، n تعداد الکترون‌های مبادله شده، F عدد فارادی، R ثابت جهانی گازها، T دمای محیط برحسب کلوین و k_0 ثابت سرعت انتقال بار ناهمگن می‌باشند. معادلات (۲-۷) و (۲-۸)، با استخراج شیب و عرض از مبدا تغییرات E بر حسب $\ln v$ بر مبنای معادله (۲-۶) به دست می‌آیند:

$$\text{شیب} = \frac{RT}{2(1-\alpha)nF} = S \quad (۲-۷)$$

$$\text{عرض از مبدا} = E'_0 + 1/56S + S \ln \frac{1}{2S} + 2S \ln \frac{D^{1/2}}{k_0} \quad (۲-۸)$$

با توجه به شیب نمودار در شکل (۲-۱۴-ب) و قرار دادن آن در معادله مربوط به شیب نمودار لایرون (معادله ۲-۷)، مقدار ضریب انتقال الکترون در سطح الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره برابر با ۰/۷۴ محاسبه شد.

با استفاده از شیب نمودار جریان دماغه آندی نسبت به جذر سرعت روبش پتانسیل می‌توان به ضریب انتشار گونه الکتروفعال در سطح این الکتروکربن اصلاح شده دست یافت. جریان

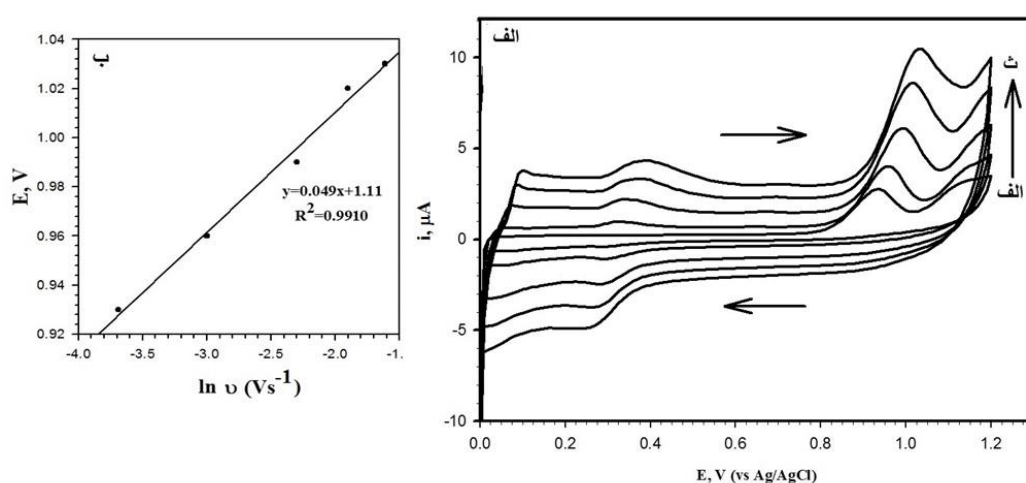
^۱ Heterogeneous electron transfer rate constant

^۲ Laviron theory

دماغه در یک ولتاموگرام چرخه ای برگشت ناپذیر در دمای 25°C از رابطه راندلس-سویک (معادله ۹-۲) پیروی می کند [۶۸].

$$I_p = (2.99 \times 10^5) n (\alpha n)^{1/2} ACD^{1/2} \nu^{1/2} \quad (9-2)$$

بر اساس شیب نمودار در شکل (۸-۲) و مقادیر به دست آمده برای α و A (در غلظت ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل)، مقدار ضریب انتشار برابر با $2/69 \times 10^{-4}$ سانتی متر مربع بر ثانیه به دست آمد.



شکل (۱۴-۲): (الف) ولتاموگرام های چرخه ای وراپامیل با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار در محلول بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH}=5.0$ در سطح MWCNT/GCE در سرعت روبش های مختلف: (الف تا ث) مربوط به سرعت های روبش ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی ولت بر ثانیه می باشد. (ب) نمودار تغییرات پتانسیل دماغه اکسایش وراپامیل بر حسب لگاریتم طبیعی سرعت روبش پتانسیل.

از طرف دیگر، با رسم تغییرات پتانسیل دماغه آندی گونه آزمایشی بر حسب سرعت روبش پتانسیل و با برون یابی از نمودار حاصل در سرعت روبش صفر (محور عمودی نمودار) می توان مقدار پتانسیل فرمال گونه آزمایشی در سطح الکتروود اصلاح شده و در شرایط آزمایش را محاسبه کرد [۶۸]. بر این اساس با توجه به معادله خط $E(V) = 0.566 \nu \text{ (Vs}^{-1}\text{)} + 0.93 \text{ (V)}$ ، مقدار پتانسیل فرمال گونه آزمایشی در سطح این الکتروود اصلاح شده برابر ۰/۹۳ ولت تعیین شد. بنابراین، با داشتن مقدار E_0' و مقدار شیب نمودار لایرون و قرار دادن در معادله مربوط به عرض از مبدا نمودار لایرون (معادله ۶-۲)، مقدار ثابت سرعت انتقال بار ناهمگن (k_0) در سطح

این الکتروود اصلاح شده، برابر با ۰/۰۱ سانتی متر بر ثانیه محاسبه گردید.

۲-۴-۸ بررسی پارامترهای تجزیه‌ای

به کارگیری روش‌های تجزیه‌ای حساس، معتبر و گزینش پذیر برای اندازه‌گیری کمی ترکیبات دارویی از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. اعتبار سنجی روش‌های تجزیه‌ای شامل اجرای تمام مراحل است که نشان دهد که روش پیشنهادی مورد استفاده برای اندازه‌گیری کمی گونه هدف قابل اعتماد و تکرارپذیر بوده است. پارامترهای اساسی برای این اعتبار سنجی عبارتند از: ناحیه خطی، حد تشخیص، دقت (تکرارپذیری و تکثیرپذیری)، صحت، گزینش پذیری و پایداری. همه این موارد در این مطالعه تحقیقاتی مورد بررسی قرار گرفته و در ادامه نتایج آن ارائه شده است.

۲-۴-۸-۱ منحنی کالیبراسیون و تعیین ناحیه خطی روش

پس از دسترسی به شرایط بهینه برای اندازه‌گیری وراپامیل توسط MWCNT/GCE، منحنی کالیبراسیون رسم شد. به این ترتیب که پس از تهیه الکتروود اصلاح شده، به منظور ثبت ولتاموگرام‌های تجزیه‌ای، در هر مرحله مقدار مناسبی از محلول استاندارد وراپامیل و ۴/۰ میلی‌لیتر از بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار $\text{pH} = 5/0$ به سل الکتروشیمیایی افزوده شد سپس حجم محلول درون سل با آب دو بار تقطیر به ۱۰/۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از آن ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در محدوده ۰/۰ تا ۱/۲۰ ولت نسبت به الکتروود مرجع نقره/نقره کلرید (پتاسیم کلرید ۳/۰ مولار) در سرعت روبش ۱۵۰/۰ میلی‌ولت بر ثانیه ثبت شد. در اندازه‌گیری‌های ولتامتری پالس تفاضلی، محدوده روبش پتانسیل از ۰/۴۰ تا ۱/۰۵+ در نظر گرفته شد و این محدوده با سرعت ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه روبش شد. همچنین در به‌کارگیری این روش ارتفاع پالس ۸۰/۰ میلی‌ولت و مدت زمان اعمال پالس ۵۰/۰ میلی‌ثانیه به‌کار گرفته شد. برای از بین بردن اثر حافظه وراپامیل جذب سطحی شده روی سطح الکتروود اصلاح شده بعد از هر اندازه‌گیری (در هر دو روش ولتامتری چرخه‌ای و پالس تفاضلی)، پنج روبش متوالی در محدوده ۰/۰ تا

۱/۲۰+ در محلول بافر فسفاتی pH=۵/۰ انجام شد. هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد و میانگین جریان اکسایش وراپامیل در پتانسیل ۱/۰۲ ولت در ولتامتری چرخه‌ای و پتانسیل ۰/۹۰ ولت در ولتامتری پالس تفاضلی به‌دست آمد. محلول بافر فسفاتی pH=۵/۰ بدون حضور وراپامیل برای ثبت سیگنال شاهد مورد استفاده قرار گرفت. اختلاف بین شدت جریان اکسایش وراپامیل و شاهد در پتانسیل ۱/۰۲ ولت به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در تکنیک ولتامتری چرخه‌ای و اختلاف سیگنال‌های ذکر شده در پتانسیل ۰/۹۰ ولت در تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی در منحنی کالبراسیون مورد استفاده قرار گرفت. لازم به ذکر است که تمامی آزمایش‌ها در دمای اتاق انجام شد.

رابطه بین شدت جریان دماغه آندی و غلظت وراپامیل با ولتامتری چرخه‌ای و ولتامتری پالس تفاضلی در شرایط بهینه مورد مطالعه قرار گرفت. شکل (۲-۱۵) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای و پالس تفاضلی ثبت شده در غلظت‌های مختلف وراپامیل را با استفاده از الکتروُد MWCNT/GC، نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت وراپامیل از ۲/۵۰ تا ۷۰/۰۰ میکرومولار، جریان اکسایش در هر دو ولتاموگرام چرخه‌ای و پالس تفاضلی به‌طور خطی افزایش می‌یابد. نتایج حاصل در شکل (۲-۱۶) و جدول (۲-۱۰) ارائه شده است.

معادلات منحنی‌های کالبراسیون به‌صورت زیر قابل توصیف است:

$$CV: I_p (\mu A) = 0.085 C_{Ver} (\mu mol L^{-1}) + 0.329 (\mu A) \quad R^2 = 0.9986 \quad (2-10)$$

$$DPV: I_p (\mu A) = 0.077 C_{Ver} (\mu mol L^{-1}) + 0.433 (\mu A) \quad R^2 = 0.9991 \quad (2-11)$$

حد تشخیص (LOD) وراپامیل با استفاده از شیب منحنی‌های کالبراسیون حاصل و بر

مبنای سه برابر انحراف استاندارد سیگنال شاهد به کمک رابطه (۲-۱۲) محاسبه شد.

$$LOD = \frac{3S_b}{m} \quad (2-12)$$

جدول (۲-۱۰) اطلاعات مربوط به منحنی‌های کالیبراسیون در ناحیه خطی ۲/۵۰ تا ۷۰/۰۰ میکرومولار

وراپامیل در محلول بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با pH=۵/۰ در سطح MWCNT/GCE

ولتامتری پالس تفاضلی (DPV)		ولتامتری چرخه‌ای (CV)	
غلظت وراپامیل ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	SD ^۱ $\pm$ سیگنال تجزیه‌ای* (μA)	غلظت وراپامیل ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	SD ^۱ $\pm$ سیگنال تجزیه‌ای* (μA)
۲/۵۰	۰/۶۰ $\pm$ ۰/۱۰	۲/۵۰	۰/۳۷ $\pm$ ۰/۰۸
۵/۰۰	۰/۶۷ $\pm$ ۰/۱۵	۵/۰۰	۰/۶۸ $\pm$ ۰/۱۴
۱۰/۰۰	۱/۲۰ $\pm$ ۰/۲۲	۱۰/۰۰	۱/۱۲ $\pm$ ۰/۲۵
۱۵/۰۰	۱/۶۴ $\pm$ ۰/۲۰	۲۰/۰۰	۲/۰۸ $\pm$ ۰/۴۲
۲۵/۰۰	۲/۳۶ $\pm$ ۰/۲۵	۲۵/۰۰	۲/۵۶ $\pm$ ۰/۳۳
۴۰/۰۰	۳/۵۰ $\pm$ ۰/۳۳	۳۰/۰۰	۲/۹۷ $\pm$ ۰/۴۰
۵۰/۰۰	۴/۳۲ $\pm$ ۰/۴۲	۵۰/۰۰	۴/۵۶ $\pm$ ۰/۳۳
۷۰/۰۰	۵/۸۰ $\pm$ ۰/۴۰	۷۰/۰۰	۵/۹۵ $\pm$ ۰/۴۲
۷۵/۰۰	۵/۸۰ $\pm$ ۰/۳۵	۷۵/۰۰	۶/۲۱ $\pm$ ۰/۳۲
۸۰/۰۰	۵/۹۵ $\pm$ ۰/۴۲	۸۰/۰۰	۶/۳۱ $\pm$ ۰/۴۰
۹۰/۰۰	۶/۰۰ $\pm$ ۰/۳۴	۹۰/۰۰	۶/۴۵ $\pm$ ۰/۳۱

* میانگین سه اندازه‌گیری

که در این رابطه، m شیب منحنی کالیبراسیون و S_b ، انحراف استاندارد شاهد است که

طبق رابطه (۲-۱۳) محاسبه می‌شود:

$$S_b = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (۲-۱۳)$$

در این بررسی، برای محاسبه انحراف استاندارد شاهد ده اندازه‌گیری تکراری در محلول

حاوی بافر فسفات pH=۵/۰ با استفاده از تکنیک‌های ولتامتری چرخه‌ای و پالس تفاضلی انجام

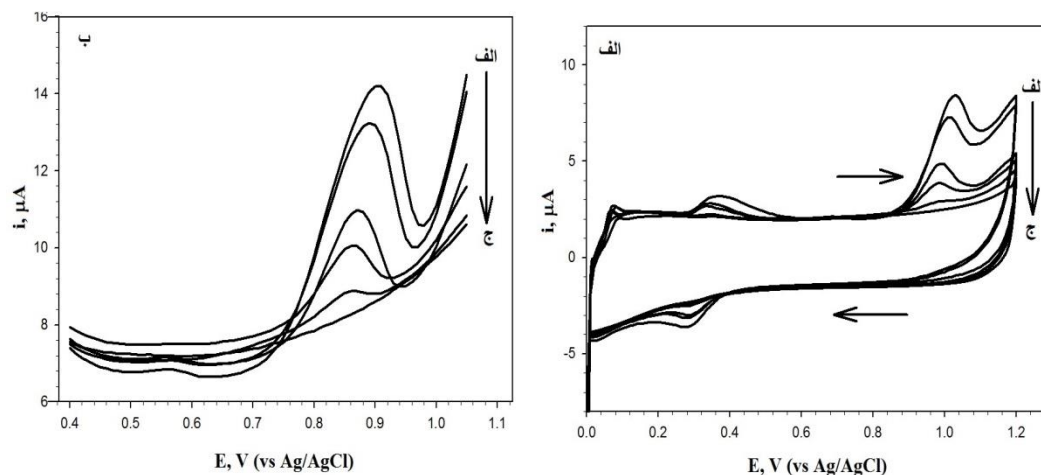
شد. انحراف استاندارد شاهد با استفاده از معادله (۲-۱۳) هنگام به‌کارگیری تکنیک ولتامتری

چرخه‌ای و ولتامتری پالس تفاضلی به‌ترتیب برابر با ۰/۰۵۷ میکروآمپر و ۰/۰۴۱ میکروآمپر

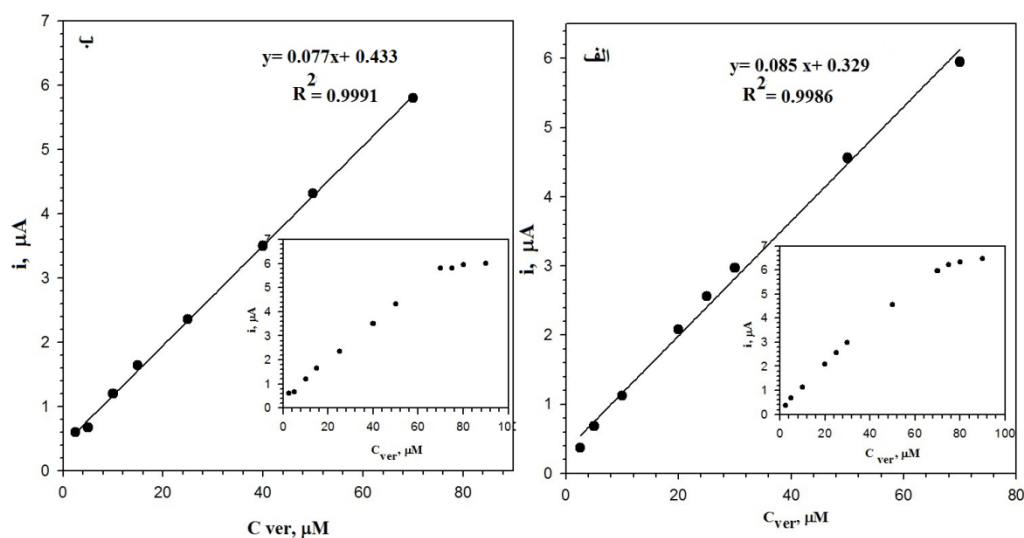
محاسبه شد. به این ترتیب، حد تشخیص وراپامیل با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای و با در

^۱ Standard deviation

نظر گرفتن شیب منحنی کالیبراسیون ($m=0.085 \frac{\mu A}{\mu mol L^{-1}}$) و با دانستن انحراف استاندارد شاهد $0.0570 \mu A$ میکروآمپر در سطح الکتروود MWCNT/GC برابر $2.00 \mu A$ میکرومولار به دست آمد.



شکل (۲-۱۵): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای با سرعت روبش $150 mVs^{-1}$ و (ب) ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی با سرعت روبش $100 mVs^{-1}$ (ارتفاع پالس $80 mV$ و مدت زمان اعمال پالس 50 میلی ثانیه) در سطح MWCNT/GCE در محلول بافر فسفاتی $0.2 M$ با $pH=5.0$ و غلظت‌های مختلف وراپامیل: (الف) تا (ج) به ترتیب: $0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0$ میکرومولار و در غیاب وراپامیل.



شکل (۲-۱۶): (الف): نمودار تغییرات شدت جریان اکسایش بر حسب غلظت وراپامیل در محدوده $0.05-1.0 \mu A$ میکرومولار به کمک ولتامتری چرخه‌ای با سرعت روبش $150 mVs^{-1}$. (ب): نمودار تغییرات شدت جریان اکسایش بر حسب غلظت وراپامیل در محدوده $0.05-1.0 \mu A$ میکرومولار به کمک ولتامتری پالس تفاضلی با سرعت روبش $100 mVs^{-1}$ (ارتفاع پالس $80 mV$) در سطح MWCNT/GCE در محلول بافر فسفاتی $0.2 M$ با $pH=5.0$.

در حالیکه مقدار حد تشخیص با استفاده از تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی، با شیب

منحنی کالبراسیون $\frac{\mu A}{\mu mol L^{-1}}$ ۰/۰۷۷ و انحراف استاندارد شاهد ۰/۰۴۱ میکروآمپر برابر با ۱/۶۰

میکرومولار محاسبه شد. نتایج حاصل به خوبی توانمندی این الکتروود اصلاح شده را در اندازه گیری ولتامتری وراپامیل اثبات می کند.

۲-۸-۴-۲ بررسی تکرارپذیری و تکثیرپذیری

تکرارپذیری و تکثیرپذیری MWCNT/GCE، از طریق هجده بار اندازه گیری سیگنال

تجزیه ای وراپامیل توسط سه الکتروود مختلف (ساخته شده در سه روز متفاوت) در محلول بافر فسفاتی با pH=۵/۰ حاوی ۵۰/۰ میکرومولار وراپامیل با روش ولتامتری چرخه ای در سرعت روبش ۱۵۰ میلی ولت بر ثانیه بررسی شد. نتایج به دست آمده در جدول (۲-۱۱) گزارش شده است.

نتایج به دست آمده، به صورت آماری با کمک روش تحلیل واریانس در سطح اطمینان

۹۵٪ مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲-۱۲). برای این اساس مقدار F محاسبه شده ($F_{cal}= ۲/۶۲$)

کوچکتر از مقدار F بحرانی ($F_{tab}= ۴/۷۶$) برای آزمون دو طرفه به دست آمد. این نتیجه نشانگر دقت الکتروودهای ساخته شده در روزهای مختلف است.

جدول (۲-۱۱) نتایج تکرارپذیری الکتروودهای MWCNT/GC برای اندازه گیری سیگنال تجزیه ای محلول ۵۰/۰ میکرو

مولار وراپامیل در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۵/۰ به روش ولتامتری چرخه ای در سرعت روبش $۱۵۰ mVs^{-1}$.

SD** ± میانگین سیگنال تجزیه ای اندازه گیری شده (μA)	
۶/۰۳±۰/۵۵	الکتروود اول-روز اول
۵/۸۳±۰/۱۲	الکتروود دوم-روز دوم
۶/۲۸±۰/۱۹	الکتروود سوم-روز سوم

* میانگین شش اندازه گیری

** انحراف استاندارد شش اندازه گیری

جدول (۲-۱۲) تحلیل واریانس داده‌های مربوط به اندازه‌گیری سیگنال تجزیه‌ای محلول ۵۰/۰ میکرو مولار وراپامیل در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۵/۰ توسط الکترودهای MWCNT/GC مختلف در روزهای مختلف به روش ولتامتری چرخه‌ای با سرعت روبش 150 mVs^{-1} .

منبع تغییرات	DF ¹	SS _{Adj} ²	MS _{Adj} ³	F- value	F-table
بین گروه‌ها	۲	۰/۶۲۸	۰/۳۱۴	۲/۶۲	۴/۷۶
درون گروه	۱۵	۱/۷۹۹	۰/۱۲۰	-	-
کل	۱۷	۲/۴۲۷	-	-	-

۲-۴-۸-۳ بررسی دقت و صحت روش

علاوه بر این، دقت و صحت به‌عنوان یکی دیگر از ارقام شایستگی روش، از طریق پنج بار اندازه‌گیری وراپامیل توسط MWCNT/GCE به روش ولتامتری چرخه‌ای در محدوده دامنه خطی منحنی کالیبراسیون در غلظت‌های ۱۵/۰ و ۳۰/۰ میکرو مولار در محلول بافر فسفاتی با pH=۵/۰، مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور پنج اندازه‌گیری تکراری از محلول‌های مورد نظر در شرایط کالیبراسیون انجام و ولتاموگرام‌های مربوطه ثبت شد. سپس غلظت مربوط به میانگین سیگنال‌های تجزیه‌ای با استفاده از معادلات منحنی‌های کالیبراسیون مربوطه محاسبه شد. نتایج به‌دست آمده در جدول (۲-۱۳)، گزارش شده‌است. بررسی آزمون t نشان می‌دهد که بین مقدار وراپامیل اندازه‌گیری شده و مقدار وراپامیل واقعی موجود در محلول، اختلاف معناداری وجود نداشته و روش از صحت خوبی برخوردار است. صحت مناسب روش از درصد بازیابی و درصد خطای نسبی نیز قابل نتیجه‌گیری است. همچنین با دانستن مقادیر انحراف استاندارد و میانگین در هر غلظت اندازه‌گیری شده، می‌توان مقادیر RSD را محاسبه نمود و به دقت روش پی برد. محاسبه مقادیر RSD دقت خوب روش را تایید می‌کند.

¹ Degree of freedom

² Adjusted sum of squares

³ Adjusted mean of squares

جدول (۲-۱۳) نتایج دقت و صحت روش برای اندازه‌گیری محلول‌های استاندارد وراپامیل به روش ولتامتری چرخه‌ای در سطح MWCNT/GCE در محلول بافر فسفات 0.027 مولار با $\text{pH}=5.0$ با سرعت روبش 1 mV s^{-1}

۱۵۰				
Ver($\mu\text{mol L}^{-1}$)	SD $\pm$ غلظت اندازه‌گیری شده*	مقدار t محاسبه شده**	درصد بازیابی	RE***%
۱۵/۰	14.8 ± 0.6	۰/۷۴	۹۸/۷	-۱/۳۳
۳۰/۰	29.7 ± 1.3	۰/۵۲	۹۹/۰	-۱/۰۰

* میانگین پنج اندازه‌گیری

** مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای پنج اندازه‌گیری، ۲/۷۷ می‌باشد

*** درصد خطای نسبی

۴-۸-۴-۲ بررسی پایداری MWCNT/GCE

از روش ولتامتری چرخه‌ای برای بررسی میزان پایداری الکتروود کربن شیشه اصلاح شده با MWCNT استفاده گردید و اثر چرخه‌های متوالی بر رفتار الکتروشیمیایی آن مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور، پس از تهیه الکتروود، اندازه‌گیری در محلول بافر فسفات $\text{pH}=5.0$ حاوی وراپامیل با غلظت 20.0 میکرومولار طبق روش ارائه شده در بخش ۴-۸-۱ انجام شد. سپس الکتروود در محلول شاهد قرار داده شد و با به‌کارگیری ولتامتری چرخه‌ای 50 روبش متوالی در گستره 0.0 تا 1.20 ولت با سرعت روبش 150 میلی ولت بر ثانیه انجام شد. پس از آن الکتروود با آب دو بار تقطیر شستشو داده شد و در محلول بافر فسفات $\text{pH}=5.0$ حاوی وراپامیل با غلظت 20.0 میکرومولار قرار گرفت و پتانسیل در محدوده 0.0 تا 1.20 با سرعت روبش 150 میلی ولت بر ثانیه روبش شد. نتایج حاکی از آن است که با انتقال الکتروود (پس از طی 50 روبش متوالی در محلول بافر فسفات)، به سل الکتروشیمیایی حاوی بافر فسفات و وراپامیل 20.0 میکرومولار، پتانسیل اکسایش وراپامیل ثابت باقی ماند. در حالیکه، شدت جریان اکسایش وراپامیل کمتر از 5 درصد کاهش نشان داد. این نتایج بیانگر پایداری خوب حسگر تهیه شده می‌باشد. همچنین پس از نگهداری الکتروود MWCNT/GCE به مدت 1 هفته در دمای محیط، پاسخ آن نسبت به اکسایش وراپامیل به 87 درصد الکتروود تازه اصلاح شده

رسید.

۲-۴-۸-۵ بررسی اثر مزاحمت برخی از ترکیبات در اندازه‌گیری ولتامتری وراپامیل در سطح

MWCNT/GCE

به منظور بررسی میزان گزینش پذیری روش، تاثیر حضور گونه‌های مختلف آزمایشی بر شدت جریان دماغه اکسایش وراپامیل ($10/0 \mu\text{g/mL}$ معادل $20/0$ میکرومولار) در پتانسیل $1/02$ ولت نسبت به الکتروود مرجع نقره/نقره کلرید (پتاسیم کلرید $3/0$ مولار) مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. به این منظور، پنج اندازه‌گیری تکراری وراپامیل در سطح MWCNT/GCE انجام شد. میانگین ($\bar{x}$) و انحراف استاندارد (S) سیگنال‌های تجزیه‌ای (در غیاب گونه مزاحم) محاسبه شد. سپس مخلوط گونه مزاحم و وراپامیل به سل الکتروشیمیایی افزوده شد و ولتاموگرام مربوطه ثبت گردید. اگر شدت جریان سیگنال تجزیه‌ای در این حالت، در محدوده ($\bar{x} \pm 3S$) باشد به این معناست که یون مورد نظر با نسبت موجود، مزاحم نیست؛ در غیر اینصورت نسبت گونه مزاحم به وراپامیل کاهش می‌یافت تا مزاحمت مشاهده نشود. نتایج در جدول (۲-۱۴) ارائه شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود، حضور بسیاری از ترکیبات تا غلظت $500/0 \mu\text{g/mL}$ تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر شدت جریان دماغه اکسایش گونه آزمایشی مورد مطالعه ندارد. در حالیکه در غلظت‌های بالاتر از $100/0 \mu\text{g/mL}$ اوریک اسید، سیگنال اکسایش وراپامیل تحت تاثیر قرار گرفته و کاهشی در شدت جریان اکسایش آن مشاهده می‌شود.

جدول (۲-۱۴) بررسی تاثیر حضور گونه‌های آزمایشی مختلف بر شدت جریان دماغه آندی وراپامیل ($\mu\text{g/mL}$)
 ۱۰/۰ در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار $\text{pH}=5/0$ در سطح MWCNT/GCE به روش ولتامتری چرخه‌ای با
 سرعت روبش 150 mV s^{-1}

گونه‌های مورد بررسی	حد مجاز غلظت گونه مزاحم به غلظت وراپامیل*
نالیدکسیک اسید ^۱ ، گلوکز، اوره، سیانید، استات، نیتрат، سیانید، کلرید، Na^+ ، K^+ ، Li^+ ، Ca^{2+} ، Co^{2+}	۵۰
اوریک اسید	۱۰

*حداکثر نسبت اندازه‌گیری شده

۲-۴-۸-۶ اندازه‌گیری ولتامتری وراپامیل در نمونه‌های حقیقی

کارایی الکتروود اصلاح شده و روش توسعه یافته برای اندازه‌گیری وراپامیل در نمونه‌های حقیقی مانند آب شهر، قرص وراپامیل و سرم خون انسان مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری این ترکیب در نمونه دارویی قرص بدین ترتیب انجام شد که چهار قرص وراپامیل که هر یک حاوی ۴۰/۰ میلی گرم وراپامیل است، وزن و در هاون بخوبی ساییده شد. سپس مقدار یک چهارم از پودر ساییده شده در مقدار کافی اتانول حل شد. محلول حاصله سپس به بالن حجمی ۲۵۰/۰ میلی‌لیتری منتقل و به کمک آب دوبار تقطیر به حجم رسانده شد. در هر مرحله ۱/۰ میلی‌لیتر از نمونه به سل الکتروشیمیایی (با حجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر) منتقل شد. سپس، با افزودن حجم‌های مشخص و متفاوتی از نمونه استاندارد وراپامیل به محلول داخل سل الکتروشیمیایی، اندازه‌گیری به روش ذکر شده در بخش ۲-۴-۴ صورت گرفت. آماده سازی نمونه سرم نیز به این روش انجام شد که نمونه‌ی حقیقی بیولوژیکی سرم خون از سانتریفیوژ کردن نمونه‌ی خون فرد سالم با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق به دست آمد. سپس به ۲/۰ میلی‌لیتر از نمونه سرم، ۱/۰ میلی‌لیتر استونیتریل برای جداسازی پروتئین‌های موجود در سرم اضافه شد. در مرحله بعد دارو با غلظت مشخص به سرم اضافه شد و محلول حاصل به بالن

^۱ Nalidixic acid

حجمی ۵/۰ میلی لیتری منتقل شد. ۱/۰ میلی لیتر از محلول رقیق شده برای انجام آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت [۱۱۴].

نمونه حقیقی آب شهر نیز بعد از عبور از کاغذ صافی بدون آماده سازی بیشتر مورد استفاده قرار گرفت. روش اندازه گیری نمونه ها مشابه روش به کار گرفته شده برای نمونه قرص بوده است. هر کدام از اندازه گیری ها سه بار تکرار شد و از منحنی کالیبراسیون برای تعیین غلظت وراپامیل در نمونه های حقیقی مورد نظر استفاده شد. نتایج به دست آمده در جدول (۲-۱۵) گزارش شده است. با توجه به داده های جدول مشاهده می گردد که مقادیر به دست آمده برای درصدهای بازیابی و t نشانگر صحت خوب روش ولتامتری چرخه ای برای اندازه گیری وراپامیل می باشد و این نتایج توانایی الکتروود اصلاح شده MWCNT/GC را برای اندازه گیری ولتامتری این گونه آزمایشی در نمونه های حقیقی نشان می دهد. همان گونه که در جدول (۲-۱۵) مشاهده می شود، مقدار وراپامیل در نمونه قرص به روش ولتامتری در سطح MWCNT/GCE محاسبه گردید که توافق بسیار خوبی با مقدار مشخص شده در برچسب آن ها توسط کارخانه سازنده دارد.

۹-۴-۲ نتیجه گیری

در این بخش، اکسایش وراپامیل در سطح الکتروود کربن شیشه ای اصلاح شده با نانو لوله های کربنی چند دیواره مورد بررسی قرار گرفت. پتانسیل اکسایش وراپامیل در سطح MWCNT/GCE در پتانسیل ۱/۰۲ ولت نسبت به الکتروود مرجع اتفاق می افتد. در حالیکه این ترکیب روی سطح الکتروود کربن شیشه در پتانسیل نزدیک به ۱/۰ ولت نسبت به مرجع اکسید می شود. نتایج به دست آمده نشان می دهد که نانو لوله های کربنی چند دیواره به کار گرفته شده در این مطالعه توانایی کاتالیز اکسایش وراپامیل را دارا نمی باشد اما به دلیل افزایش مساحت سطح الکتروود فعال الکتروود قادر به افزایش شدت جریان سیگنال تجزیه ای و در نتیجه افزایش

حساسیت اندازه‌گیری وراپامیل می‌باشد. در واقع، حساسیت تجزیه‌ای در حضور نانو لوله‌های کربنی چند دیواره افزایش یافته و شدت جریان الکترواکسایش ترکیب آزمایشی در سطح MWCNT/GCE در مقایسه با الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح نشده بیشتر می‌شود.

جدول (۲-۱۵) نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری وراپامیل در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۵/۰ در سطح الکتروود MWCNT/GC با روش ولتامتری چرخه‌ای در نمونه‌های آب شهر، سرم و قرص (n=۳)

نمونه	مقدار اضافه شده ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	غلظت اندازه‌گیری شده* ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	مقدار محاسبه شده t**	درصد بازیابی
آب شهر	----	مشاهده نشد	----	----
	۴/۰۰	۴/۱۵±۳/۳۵	۰/۱۹	۱۰۳/۷
	۸/۰۰	۷/۸۰±۲/۹۳	۰/۲۹	۹۷/۵
	۱۶/۰	۱۵/۵۶±۲/۶۶	۰/۷۱	۹۷/۳
سرم	----	مشاهده نشد	----	----
	۱۳/۵۰	۱۳/۰۰±۲/۷۳	۱/۴۴	۹۶/۳
	۲۰/۵۰	۲۰/۶۷±۳/۱۸	۰/۲۴	۱۰۰/۸
قرص***	----	۱۶/۲±۲/۵	----	----
	۲/۵۰	۱۸/۷۴±۲/۱۴	۰/۰۶	۱۰۰/۲
	۳/۷۵	۲۰/۴۰±۳/۴۸	۰/۵۶	۱۰۲/۲
	۵/۰۰	۲۱/۶۵±۲/۴۱	۰/۸۰	۱۰۲/۱
مقدار برچسب روی قرص (mg)		مقدار اندازه‌گیری شده (mg)		
۴۰/۰		۴۰/۵±۶/۰		

* محدوده اطمینان در سطح اطمینان ۹۵٪

** مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای سه اندازه‌گیری تکراری ۴/۳۰ می‌باشد

*** نمونه قرص وراپامیل هیدرو کلرید از شرکت داروسازی روز دارو، ایران (مقدار ماده موثره در هر قرص ۴۰ میلی گرم).

این موضوع تاییدی بر قابلیت نانو لوله‌های کربنی موجود در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای، در افزایش هدایت الکتریکی و همچنین مراکز فعال در سطح الکتروود اصلاح شده برای اندازه‌گیری ولتامتری گونه‌های فعال الکتروشیمیایی است. از طرف دیگر، اندازه‌گیری

ولتامتری ترکیب آزمایشی در نمونه‌های آب شهر، قرص و سرم در سطح MWCNT/GCE، توانمندی بالای حسگر پیشنهادی برای اندازه‌گیری ولتامتری ترکیب مورد بررسی در نمونه‌های حقیقی مختلف را تایید می‌نماید.

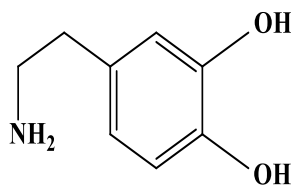
جدول (۲-۱۶)، کارایی حسگر الکتروشیمیایی پیشنهادی در اندازه‌گیری وراپامیل را نسبت به سایر حسگرهای ارائه شده توسط محققین دیگر نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، حسگر پیشنهادی دارای حد تشخیص و دامنه خطی قابل مقایسه با برخی از حسگرهای ارائه شده در منابع علمی می‌باشد.

جدول (۲-۱۶) الکترودهای اصلاح شده مختلف برای اندازه‌گیری وراپامیل				
منبع	ناحیه خطی (مولار)	حد تشخیص (مولار)	روش اندازه‌گیری	نوع الکتروده
[۱۰۷]	$۲/۰ \times ۱۰^{-۶} - ۳۰/۰ \times ۱۰^{-۶}$	$۰/۷ \times ۱۰^{-۶}$	ولتامتری پالس تفاضلی	الکتروده مرکب گرافیت- پلی اورتان
[۱۰۸]	$۸/۰ \times ۱۰^{-۷} - ۱/۰ \times ۱۰^{-۴}$	$۱/۶ \times ۱۰^{-۷}$	ولتامتری پالس تفاضلی	دیسک کربن شیشه
[۱۰۹]	$۵/۰ \times ۱۰^{-۹} - ۱/۱ \times ۱۰^{-۷}$	$۳/۶ \times ۱۰^{-۹}$	ولتامتری برهنه سازی جذب سطحی	کربن شیشه اصلاح شده با نانو لوله کربنی و فیلم پلی آلایل آمین هیدروکلراید
[۱۱۰]	$۵۰/۰ \times ۱۰^{-۹} - ۱۶۰/۰ \times ۱۰^{-۹}$	$۴/۱ \times ۱۰^{-۸}$	ولتامتری پالس تفاضلی	خمیر کربن اصلاح شده با مواد بلورین مغناطیسی پیوند شده با اسید سولفونیک
تحقیق حاضر	$۲/۵۰ \times ۱۰^{-۶} - ۷۰/۰ \times ۱۰^{-۶}$	$۱/۶ \times ۱۰^{-۶}$ $۲/۰ \times ۱۰^{-۶}$	ولتامتری پالس تفاضلی ولتامتری چرخه‌ای	کربن شیشه اصلاح شده با نانو لوله کربن چند دیواره

همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود، حد تشخیص و دامنه خطی روش‌های به‌کار گرفته شده در این مطالعه تحقیقاتی (ولتامتری پالس تفاضلی و ولتامتری چرخه‌ای) با روش‌های ولتامتری پالس تفاضلی ارائه شده توسط مراجع قابل مقایسه است [۱۰۸، ۱۰۷]. اگرچه برخی دیگر از گزارشات ارائه شده از دامنه خطی و حد تشخیص بهتری برخوردار هستند [۱۱۰، ۱۰۹] اما روش تهیه و آماده سازی الکتروده در این مطالعات وقت گیر و دشوار بوده است.

۵-۲ الکتروود خمیرکربن اصلاح شده با متیل تیوراسیل به عنوان حسگر ولتامتری جدید بر اساس واکنش افزایشی ۴,۱ مایکل برای اندازه گیری دوپامین

دوپامین^۱ ($pK_a = 8/9$) شکل (۲-۱۷)، پیام رسان عصبی از نوع کتکول آمین است که در بیشتر مهره داران و بی مهرگان وجود دارد. در شکل دارویی به عنوان تنگ کننده عروق، افزایش دهنده فشار خون و افزایش دهنده خون رسانی ارگان های حیاتی به کار می رود [۱۱۶، ۱۱۵]. هورمون مغزی دوپامین به انسان توانایی و انرژی بیشتری می بخشد که کمبود آن باعث خستگی و بی حوصلگی در افراد می شود [۱۱۷]. هورمون دوپامین نه تنها مسئول تولید نشاط و هیجان است بلکه در تولید هراس و ترس نیز دخالت دارد [۱۱۸]. دوپامین یکی از مشتقات کتکول آمین است و به عنوان یک انتقال دهنده در سیستم عصبی نقش مهمی در اعتیاد بازی می کند [۱۱۹]. بیماری های مهمی مانند جنون و پارکینسون نتیجه ی از بین رفتن اعصاب حاوی دوپامین می باشد. از اینرو، توسعه روش های سریع و گزینش پذیر برای اندازه گیری دوپامین مورد توجه دانشمندان بوده است. روش های مختلفی نظیر تزریق در جریان [۱۲۱، ۱۲۰]، کروماتوگرافی مایع عملکرد بالا [۱۲۳، ۱۲۲]، کروماتوگرافی گازی [۱۲۴] و اسپکتروفتومتری [۱۲۵] برای اندازه گیری دوپامین گزارش شده است. اگرچه این روش ها گزینش پذیری بالایی دارند، اما از معایبی نظیر قیمت بالای دستگاه مورد استفاده، پیچیدگی عملکرد دستگاه و زمان طولانی برای انجام اندازه گیری رنج می برند.



شکل (۲-۱۷): فرمول ساختاری دوپامین [۱۲۶].

^۱ Dopamine

از بین روش‌های مختلف تجزیه‌ای، روش‌های الکتروشیمیایی دارای حساسیت بالایی می‌باشند و با توجه به اینکه گونه‌های غیرالکتروفعال در این روش مزاحمتی ایجاد نمی‌کنند داده‌های به‌دست آمده تا حد زیادی قابل اعتماد هستند [۱۲۷، ۱۲۶]. اخیراً، حسگرهای ولتامتری زیادی برای اندازه‌گیری دوپامین بر پایه الکترودهای اصلاح شده شیمیایی مورد استفاده قرار گرفته است. الکترودهای اصلاح شده متفاوتی نظیر: الکترودهای اصلاح شده با پلیمر [۱۲۹، ۱۲۸]، الکترودهای اصلاح شده با مایع یونی [۱۳۱، ۱۳۰]، الکترودهای اصلاح شده با نانو مواد [۱۳۳، ۱۳۲] برای اندازه‌گیری ولتامتری دوپامین به کار گرفته شده‌اند. مهمترین نقص این الکترودهای اصلاح شده‌ی شیمیایی طولانی بودن فرآیند تهیه، عدم پایداری، ضخامت غیریکنواخت فیلم جذب سطحی شده و عدم تکرارپذیری الکترودهای تهیه شده است. بنابر دلایل ذکر شده، ساخت الکترودی که بتواند جایگزین الکترودهای اصلاح شده شیمیایی شود و تا حد زیادی معایب ذکر شده را نیز نداشته باشد مورد توجه دانشمندان بوده است. بدین منظور الکترودهای اصلاح شده خمیر کربن به کار گرفته می‌شوند که نه تنها تهیه آن‌ها آسان و سریع است بلکه از تکرارپذیری خوبی هم برخوردار هستند. مهمتر از آن، این الکترودها با مشکل جذب سطحی برگشت‌ناپذیر گونه هدف روی سطح الکتروود مواجه نیستند. سوامی^۱ و همکاران در سال ۲۰۱۲، به کمک الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با پلی رودامین اندازه‌گیری دوپامین در را گزارش کردند [۱۳۴]. در این روش با به کارگیری ولتامتری پالس تفاضلی، حد تشخیص ۰/۳۹ میکرومولار و ناحیه خطی ۱۰۰۰/۰ - ۶/۰ میکرومولار گزارش شد. این گروه هم‌چنین در سال ۲۰۱۲، با اصلاح الکتروود خمیر کربن به کمک نانو ذرات اکسید مس به اندازه‌گیری ولتامتری دوپامین پرداختند [۱۳۵]. غلظت دوپامین روی سطح این الکتروود در گستره ۲۰/۰ - ۰/۳ میکرومولار خطی گزارش شد. حد تشخیص در این روش $10^{-8} \times 5/5$ مولار می‌باشد. در مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۲، این گروه از ترکیب موراکسید و ترتیتون-۱۰۰ برای اصلاح

^۱ Swamy

الکتروود خمیر کربن برای اندازه‌گیری دوپامین استفاده نمود [۱۳۶]. در این مطالعه با استفاده از تکنیک ولتامتری چرخه‌ای حد تشخیص روش ۰/۱۵۰ میکرو مولار و دامنه خطی ۶۰/۰ - ۱/۰ میکرو مولار گزارش شد. مطالعه دیگر انجام شده توسط این گروه با استفاده از ترتیتون-۱۰۰X برای اصلاح الکتروود انجام گرفت [۱۳۷]. بدین ترتیب از الکتروود اصلاح شده با استفاده از تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه‌گیری دوپامین استفاده گردید و حد تشخیص روش ۰/۰۳ میکرو مولار و دامنه خطی ۵۰۰/۰۰ - ۰/۲۰ میکرو مولار گزارش شد. سوامی و همکاران همچنین الکتروود خمیر کربن را با اکسید گرافیت اصلاح کردند و از این الکتروود برای اندازه‌گیری دوپامین استفاده شد [۱۳۸]. حد تشخیص گزارش شده در این اندازه‌گیری ۰/۰۱۰ میکرو مولار و دامنه خطی ۷۰/۰۰ - ۰/۷۰ میکرو مولار گزارش شد. در سال ۲۰۱۴ این گروه با اصلاح خمیر کربن با نانو لوله کربنی به اصلاح الکتروود پرداختند و حد تشخیص ۰/۱۲۰ میکرو مولار و دامنه خطی ۱/۰۰ - ۰/۱۰ میکرو مولار برای اندازه‌گیری دوپامین در سطح این الکتروود اصلاح شده با تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی به‌دست آمد [۱۳۹]. در این بخش از رساله، الکتروود خمیر کربن با به‌کارگیری متیل تیوراسیل به‌عنوان اصلاحگر، که به‌دلیل حضور گوگرد دارای خاصیت نوکلئوفیلی است، اصلاح شد. الکتروود اصلاح شده سپس برای اندازه‌گیری دوپامین مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات کتابخانه‌ای نشان می‌دهد که تاکنون از ترکیبات نوکلئوفیل برای اصلاح خمیر کربن استفاده نشده است.

علاوه بر این، به‌دلیل استفاده از روش طراحی آزمایش برای بهینه‌سازی پارامترهای موثر در این مطالعه تحقیقاتی، توضیح در مورد این روش ضروری به‌نظر می‌رسد. از اینرو در ادامه این فصل به توضیح مختصری درباره روش طراحی آزمایش پرداخته می‌شود.

۲-۵-۱ تهیه الکترود خمیر کربن اصلاح شده با متیل تیوراسیل

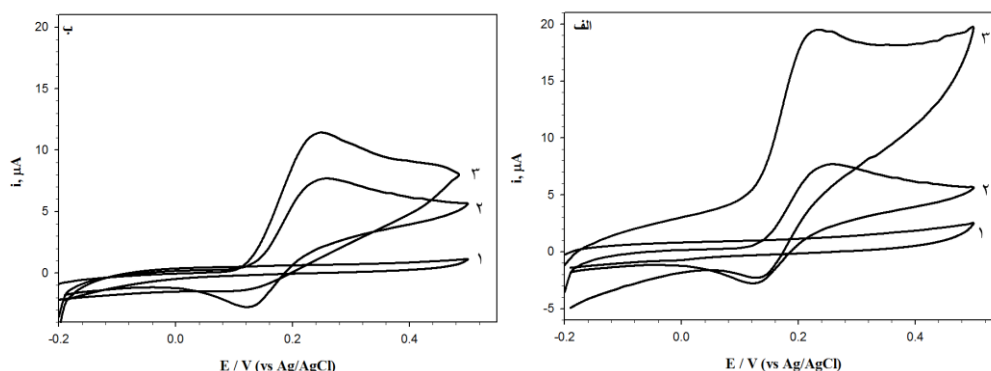
برای تهیه الکترود خمیر کربن اصلاح شده با متیل تیوراسیل (MT/MCPE)^۱، ابتدا ۰/۰۱۰ گرم متیل تیوراسیل به ۰/۲۴۰ گرم پودر گرافیت اضافه شد. پس از افزودن ۲/۰ mL دی متیل فرمامید، به منظور رسیدن به مخلوط یکنواخت، ترکیب به مدت ۱۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار گرفت. مخلوط حاصل تا تبخیر کامل حلال به کمک همزن مغناطیسی هم زده شد. بعد از تبخیر کامل حلال، ۱۷۵/۰ μL روغن پارافین به مخلوط اضافه شد و مخلوط در هاون چینی تا ایجاد خمیر کربن کاملاً یکنواخت هم زده شد. خمیر کربن اصلاح شده با متیل تیوراسیل به یک لوله تفلونی با قطر داخلی ۶/۰ mm منتقل شد و اتصال الکتریکی از طریق فرو بردن یک سیم مسی در خمیر کربن ایجاد گردید. با ساییدن سطح الکترود بر روی یک ورق سفید کاغذ گلاسه، سطح کاملاً صاف و یکنواختی حاصل می شود. تجدید سطح الکترود براحتی از طریق پیچاندن تیوب تفلونی و خارج کردن بخشی از خمیر کربن و ساییدن سطح الکترود بر روی کاغذ انجام می شود. الکترود خمیر کربن اصلاح نشده (CPE) نیز به همین روش، اما بدون افزودن متیل تیوراسیل، تهیه گردید. به این ترتیب که ۰/۲۵۰ گرم پودر گرافیت در ۲/۰ mL دی متیل فرمامید پخش شد و به مدت ۱۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار گرفت تا به شکل کاملاً یکنواخت در آید. سپس پودر کربن پخش شده در حلال دی متیل فرمامید تا تبخیر کامل حلال به کمک همزن مغناطیسی هم زده شد. بعد از تبخیر کامل حلال، ۱۷۵/۰ μL روغن پارافین به پودر گرافیت اضافه شد و در هاون چینی تا ایجاد خمیر کربن کاملاً یکنواخت هم زده شد.

۲-۵-۲ معرفی سیستم الکتروشیمیایی مورد استفاده برای اندازه گیری دوپامین

ولتامتری چرخه ای و ولتامتری تفاضلی برای مطالعه رفتار اکسایش دوپامین در سطح الکترود خمیر کربن اصلاح شده با متیل تیوراسیل مورد استفاده قرار گرفت. شکل (۲-۱۸)،

^۱ Methylthiouracil modified carbon paste electrode

ولتاموگرام‌های چرخه‌ای الکترودهای (MT/MCPE)، و الکترودهای خمیر کربن اصلاح نشده را در محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=7.0$ حاوی 0.10 میلی مولار دوپامین نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۲-۱۸-الف (ولتاموگرام ۱) مشخص است متیل تیوراسیل در گستره پتانسیلی به کار گرفته شده در محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=7.0$ الکتروفعال نمی‌باشد. شکل ۲-۱۸-الف (ولتاموگرام ۲) نشان می‌دهد که ولتاموگرام چرخه‌ای دوپامین روی سطح الکترودهای CPE دارای دماغه آندی و کاتدی کاملاً مشخص است که دماغه آندی در پتانسیل 0.26 ولت نسبت به الکتروده مرجع ناشی از اکسایش دوپامین به دوپامینوکینون می‌باشد که گونه‌ای الکتروفعال است و در چرخه برگشت می‌تواند احیا شود (پتانسیل 0.13 ولت نسبت به الکتروده مرجع) و دوپامین تولید کند. علاوه بر این، ولتاموگرام‌های به دست آمده روی سطح MT/MCPE (شکل ۲-۱۸-الف ولتاموگرام ۳) نشان می‌دهد که نه تنها جریان دماغه آندی دوپامین به‌طور چشمگیری افزایش می‌یابد، بلکه پتانسیل نیز نسبت به CPE به سمت مقادیر منفی (پتانسیل 0.23 ولت نسبت به الکتروده مرجع) جابجا می‌شود. علاوه بر این دماغه کاتدی مربوطه نیز اندکی به سمت مقادیر مثبت جابجا می‌شود (پتانسیل 0.14 ولت نسبت به الکتروده مرجع).



شکل ۲-۱۸: (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای مربوط به MT/MCPE در غیاب دوپامین در بافر فسفاتی با $\text{pH}=7.0$ در بازه 0.2 تا 0.5 ولت (۱)، 0.10 mM دوپامین روی سطح CPE (۲) و MT/MCPE (۳). (ب) ولتاموگرام‌های مربوط به CPE در محلول 0.10 mM متیل تیوراسیل (۱)، 0.10 mM دوپامین (۲) و محلول حاوی 0.10 mM متیل تیوراسیل و 0.10 mM دوپامین (۳) در بافر فسفاتی 0.27 مولار با $\text{pH}=7.0$. سرعت روبش 100 mVs^{-1} ; پتانسیل انباشت، 0.2 ولت؛ زمان انباشت 160 ثانیه؛ زمان استراحت 20 ثانیه.

از سوی دیگر، چنان‌که در شکل ۲-۱۸-ب ولتاموگرام (۱) مشاهده می‌شود متیل تیوراسیل در

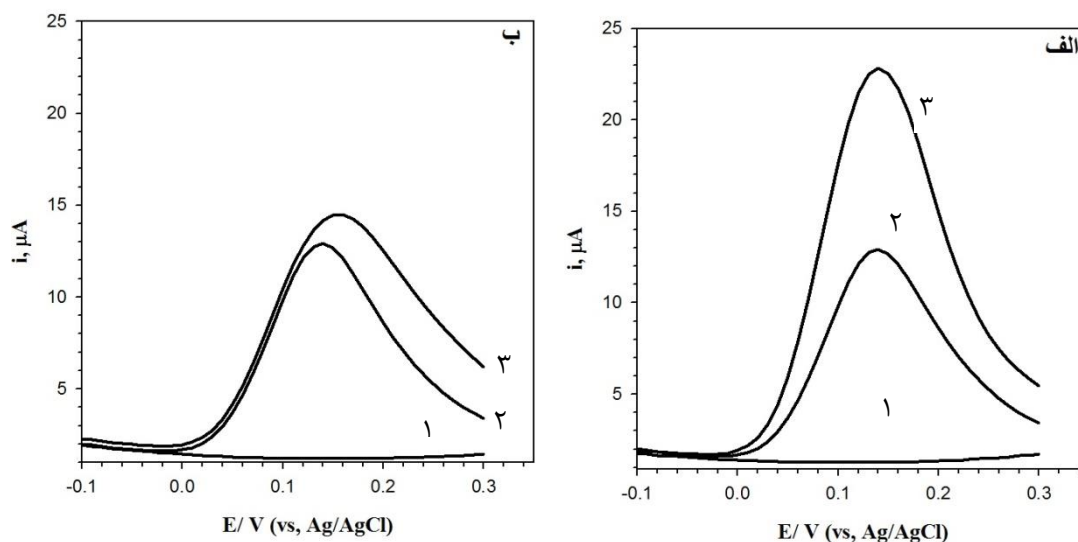
محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=7.0$ در سطح الکتروود خمیر کربن الکتروفعال نمی‌باشد. در حالی‌که، دماغه رفت و برگشت مربوط به اکسایش و کاهش دوپامین در سطح الکتروود خمیر کربن در محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=7.0$ حاوی 0.10 میلی مولار دوپامین به راحتی قابل مشاهده است (شکل ۲-۱۸-ب ولتاموگرام ۲). بررسی‌ها در محلول بافر فسفاتی $\text{pH}=7.0$ حاوی 0.10 mM متیل تیوراسیل و 0.10 mM دوپامین نیز نشان می‌دهد که حضور همزمان این دو باعث افزایش دماغه اکسایش دوپامین و حذف دماغه کاهش آن می‌شود. با توجه به ولتاموگرام‌های به دست آمده، شدت جریان اکسایش دوپامین با به کارگیری اصلاحگر در توده خمیر کربن بطور چشمگیری بیشتر از هنگامی است که متیل تیوراسیل در محلول حاضر است. بنابراین، در این مطالعه از روش اصلاح توده برای ساخت الکتروود استفاده گردید. از آنجاییکه روش‌های ولتامتری تفاضلی نسبت به ولتامتری چرخه‌ای، از حساسیت بالاتری برخوردار هستند، این روش در مطالعه اکسایش دوپامین در سطح MT/MCPE مورد استفاده قرار گرفت. از طرف دیگر، ولتامتری برهنه سازی جذب سطحی، به عنوان یک ابزار الکتروشیمیایی قوی برای اندازه‌گیری مقادیر کم آنالیت شناخته می‌شود که طی آن ابتدا پیش تغلیظ گونه آزمایشی در سطح الکتروود صورت می‌گیرد و سپس گونه پیش تغلیظ شده طی یک فرآیند الکتروشیمیایی از سطح الکتروود آزاد می‌گردد [۱۴۰]. با توجه به حساسیت بالای این روش، اکسایش دوپامین در سطح MT/MCPE و CPE با استفاده از این روش مورد مطالعه قرار گرفت.

شکل (۲-۱۹) ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی اکسایش دوپامین را در محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=7.0$ روی سطح الکتروودهای خمیر کربن متفاوت نشان می‌دهد. از مقایسه ولتاموگرام‌های (۲) و (۳) شکل (۲-۱۹-الف) می‌توان به این نتیجه رسید که اکسایش دوپامین در سطح الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با متیل تیوراسیل از حساسیت بسیار بالاتری نسبت به خمیر

کربن اصلاح نشده برخوردار است. از طرف دیگر، با مقایسه ولتاموگرام‌های (۲) و (۳) شکل (۲)-۱۹ (ب) می‌توان نتیجه گرفت هنگامی که از CPE به عنوان الکتروکد کار استفاده شود و متیل تیوراسیل و دوپامین به صورت محلول در سل الکتروشیمیایی وجود داشته باشند نیز شدت جریان دماغه اکسایش دوپامین افزایش می‌یابد. اگرچه میزان این افزایش جریان کمتر از حالتی است که متیل تیوراسیل به عنوان اصلاحگر در پیکره خمیر کربن قرار می‌گیرد. این نتایج به‌خوبی نتایج حاصل از ولتامتری چرخه‌ای را تایید می‌کنند. در بخش (۲-۵-۴) به تفصیل به توضیح دلایل این مشاهدات پرداخته شده است.

با توجه به مطالب ذکر شده، در این مطالعه تحقیقاتی، به منظور افزایش حساسیت روش و رسیدن به حد تشخیص پایین‌تر در اندازه‌گیری دوپامین، کلیه مراحل بهینه سازی و رسم منحنی کالیبراسیون با به کارگیری روش ولتامتری تفاضلی برهنه سازی جذب سطحی صورت گرفت. در بررسی‌های انجام شده به کمک ولتامتری پالس تفاضلی، شدت جریان اکسایش دوپامین در محلول بافر فسفاتی $\text{pH}=7.0$ در پتانسیل 0.15 ولت، به عنوان سیگنال در نظر گرفته شد.

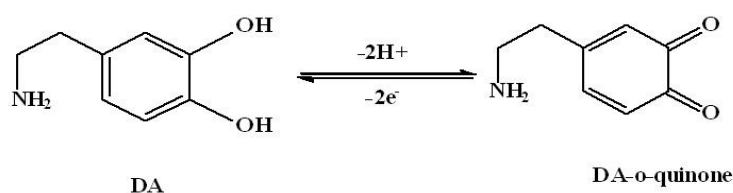
محلول شاهد، محلول بافر فسفاتی در غیاب دوپامین، برای اندازه‌گیری سیگنال شاهد مورد استفاده قرار گرفت. هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد و شدت جریان میانگین این اندازه‌گیری‌ها در بررسی‌های انجام شده مورد استفاده قرار گرفت. به منظور تجدید سطح الکتروکد پس از هر اندازه‌گیری، الکتروکد تفلونی حاوی خمیر کربن چرخانده شد تا مقداری از خمیر کربن از درون لوله تفلونی خارج شود، سپس تجدید سطح الکتروکد با ساییدن الکتروکد روی کاغذ صاف انجام شد.



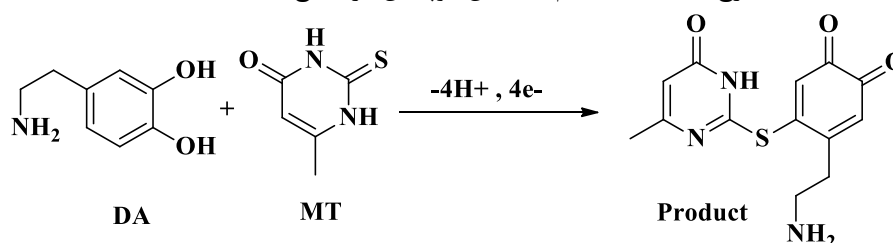
شکل (۲-۱۹): (الف) ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی مربوط به MT/MCPE در غیاب دوپامین در بافر فسفاتی با pH=۷٫۰ (۱)، ۰/۱۰ mM دوپامین روی سطح CPE (۲) و MT/MCPE (۳). (ب) ولتاموگرام‌های مربوط به CPE در محلول ۰/۱۰ mM متیل تیوراسیل (۱)، ۰/۱۰ mM دوپامین (۲) و محلول حاوی ۰/۱۰ mM متیل تیوراسیل و ۰/۱۰ mM دوپامین (۳) در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۷٫۰. سرعت روبش 60 mVs^{-1} ، ارتفاع پالس ۸۰ mV، مدت زمان اعمال پالس ۴۰ ms، پتانسیل انباشت، -۰/۲ ولت؛ زمان انباشت ۱۶۰ ثانیه؛ زمان استراحت ۲۰ ثانیه.

مکانیسم پیشنهادی کلی واکنش اکسایش دوپامین در حضور و غیاب متیل تیوراسیل در

طرح‌های شماتیک (۲-۲ و ۳-۲) ارائه شده است.



طرح (۲-۲): مکانیسم اکسایش دوپامین در سطح CPE [۱۳۴].



طرح (۳-۲): مکانیسم پیشنهادی برای واکنش کلی دوپامین در سطح MT/MCPE.

در واقع روی سطح الکتروود اصلاح شده، فرآیندی متفاوت با الکتروود اصلاح نشده در حال انجام است و این امر به دلیل استفاده از MT، اصلاحگر حاوی گروه تیول، به عنوان عامل نوکلئوفیل در پیکره الکتروود خمیر کربن است.

۳-۵-۲ بررسی و بهینه سازی متغیرهای موثر بر روی حساسیت به روش طراحی آزمایش

به منظور فراهم نمودن بهترین حساسیت و در نتیجه بهترین حد تشخیص، متغیرهای موثر بر شدت جریان اکسایش دوپامین مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی پارامترهای موثر، ابتدا از روش بهینه سازی یک متغیر در زمان استفاده شد. در این روش همه متغیرها ثابت در نظر گرفته شدند و تنها پارامتری که باید بهینه شود، تغییر داده شد. به این ترتیب که پس از تهیه الکتروود اصلاح شده، به منظور ثبت ولتاموگرام‌های تجزیه‌ای، در هر مرحله ۱/۰ میلی لیتر از محلول استاندارد دوپامین با غلظت ۰/۱۰ میلی مولار و ۴/۰ میلی لیتر از بافر فسفاتی با pH معین به سل الکتروشیمیایی افزوده شد سپس حجم محلول درون سل با آب دو بار تقطیر به ۱۰/۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس همزن مغناطیسی روشن و پتانسیل انباشت برای مدت زمان مشخص به محلول در حال هم خوردن اعمال شد. پس از پایان زمان انباشت، همزن خاموش و پس از ۲۰ ثانیه زمان استراحت، ولتاموگرام پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۴۰+ ولت با سرعت روبش معین و با مقادیر مشخصی از ارتفاع و مدت زمان اعمال پالس ثبت شد. هر اندازه‌گیری پس از تجدید سطح الکتروود (مطابق توضیح ارائه شده در بخش ۲-۵-۲) سه بار تکرار شد و میانگین جریان اکسایش دوپامین در پتانسیل ۰/۱۵ ولت به دست آمد. محلول بافر فسفاتی با pH معین بدون حضور دوپامین برای ثبت سیگنال شاهد مورد استفاده قرار گرفت. اختلاف بین شدت جریان اکسایش دوپامین و شاهد در پتانسیل ۰/۱۵ ولت به عنوان سیگنال تجزیه‌ای مورد استفاده قرار گرفت. لازم به ذکر است که تمامی آزمایش‌ها در دمای اتاق انجام شد.

پارامترهای موثر مورد بررسی در این آزمایش عبارتند از pH محلول، حجم بافر بر حسب میلی لیتر، پتانسیل انباشت (E_{acc}) بر حسب ولت، زمان انباشت (t_{acc}) بر حسب ثانیه، وزن اصلاحگر (W_m) بر حسب گرم (مقدار نهایی اصلاحگر و پودر گرافیت ۰/۲۵ گرم بوده است) و سرعت روبش (v) بر حسب میلی ولت بر ثانیه، مدت زمان اعمال پالس بر حسب میلی ثانیه و ارتفاع پالس بر حسب میلی ولت. مقادیر بهینه به دست آمده به روش تک متغیره در جدول (۲-۱۷) ارائه شده است. لازم به ذکر است نتایج حاصل از بررسی روش بهینه سازی یک متغیر در زمان در پیوست ارائه شده است.

سپس برای بررسی برهمکنش‌های عوامل و پارامترهای موثر بر هم از روش بهینه سازی طراحی آزمایش استفاده شد. روش کار در بهینه سازی همزمان متغیرها به روش طراحی آزمایش به این صورت بود که ابتدا پارامترهای موثر به وسیله طرح پلاکت - برمن شناسایی شد و سپس طرح مرکب مرکزی برای ساخت مدل و پیش بینی مقدار بهینه پارامترها به کار برده شد.

جدول (۲-۱۷) مقادیر بهینه به دست آمده برای اکسایش محلول ۱۰/۰ میکرو مولار دوپامین در سطح MT/MCPE از طریق روش تک متغیره با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی

پارامتر مورد بررسی	نوع و یا مقدار بهینه
pH محلول	۷/۰
حجم بافر (mL)	۴/۰
مدت زمان اعمال پالس (ms)	۴۰
ارتفاع پالس (mV)	۸۰
v ($mV s^{-1}$)	۵۰
W_m (g)	۰/۰۱۲۵*
t_{acc} (s)	۱۷۰
E_{acc} (V)	-۰/۱۰

*میزان پودر گرافیت برابر با ۰/۲۳۷۵ گرم

۲-۳-۵-۱ غربال کردن پارامترهای مهم با استفاده از طرح پلاکت - برمن

زمانی که هدف از انجام یک آزمایش غربال کردن عامل‌ها باشد، لازم است بعد از انتخاب عامل‌ها، دامنه تغییرات همراه با سطوح معینی از این عامل‌ها جهت انجام آزمایش‌های مورد نظر

تعیین شود. به‌طور کلی در مطالعات غربالی، استفاده از دو سطح برای هر عامل می‌تواند به‌خوبی پاسخگو باشد که سطح بالاتر به‌صورت " + " و سطح پایین‌تر به‌صورت " - " نشان داده می‌شود. بعد از تعیین سطوح مناسب (بر مبنای مطالعات صورت گرفته اولیه بر مبنای روش یک متغیر در یک زمان) برای عوامل مؤثر در اندازه‌گیری دوپامین، از نرم افزار ۱۶ Minitab برای ایجاد طرح پلاکت - برمن و پردازش داده‌ها استفاده شد. هنگامی که ۵ عامل مورد بررسی باشد و دو تکرار وجود داشته باشد، تعداد آزمایش‌ها برابر با ۲۴ آزمایش می‌باشد. جدول (۲-۱۸) خلاصه ای از این طرح را نشان می‌دهد.

جدول (۲-۱۸) فاکتورها و سطوح به‌کار گرفته شده در طراحی پلاکت-برمن برای اندازه‌گیری دوپامین ۱۰/۰ میکرو مولار در سطح MT/MCPE با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی

متغیرها	نشانه‌ها	سطوح فاکتورها
		بالا (۱+) / پایین (۱-)
pH	A	۷/۶ / ۴/۰
E_{acc} (V)	B	۰/۰ / -۰/۲
t_{acc} (s)	C	۱۸۰ / ۶۰
W_m (g)	D	۰/۰۲۵۰ / ۰/۰۱۰۰
v (mV s ⁻¹)	E	۶۰/۰ / ۲۰/۰

ماتریس طراحی آزمایش پلاکت-برمن و نتایج سیگنال‌های تجزیه‌ای مربوط به هر آزمایش در جدول ۹ پیوست (۹ پ) آمده است. در این مطالعه ۵ عامل مؤثر عبارتند از: pH محلول، پتانسیل انباشت (E_{acc}) بر حسب ولت، زمان انباشت (t_{acc}) بر حسب ثانیه، وزن اصلاحگر (W_m) بر حسب گرم و سرعت روبش (v) بر حسب میلی ولت بر ثانیه. با فرض اینکه متغیرهای دستگاهی نظیر طول عمر و ارتفاع پالس برهمکنشی با سایر متغیرها ندارند در این مطالعه برای

تمام آزمایش‌ها به ترتیب مقادیر ثابت ۴۰ میلی ثانیه و ۸۰ میلی ولت برای آن‌ها در نظر گرفته شد.

۲-۳-۵-۲ تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از طرح پلاکت - برمن و تعیین عوامل مهم
پس از انجام آزمایش‌های طراحی شده و به دست آوردن داده‌های حاصل از آن، داده‌ها وارد نرم افزار ۱۶ Minitab شده و از این نرم افزار برای ارزیابی فاکتورهای موثر استفاده گردید. برای هر عامل ضرایب رگرسیونی با استفاده از نرم افزار محاسبه گردید که نتایج آن در جدول (۱۹-۲) نشان داده شده است.

جدول (۱۹-۲) ضرایب حاصل از طرح PB برای اندازه‌گیری دوپامین ۱۰/۰ میکرو مولار در سطح MT/MCPE با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی

عبارت	اثر ^۱	ضریب ^۲	ضریب خطای استاندارد ^۳	T	ارزش P
pH	۲/۳۱۱	۱/۱۵۶	۰/۰۶۶۳۹	۱۷/۴۱	۰/۰۰۰
E _{acc} (v)	-۰/۴۹۲	-۰/۲۴۶	۰/۰۶۶۳۹	-۳/۷۱	۰/۰۰۲
t _{acc} (s)	۰/۹۲۲	۰/۴۶۱	۰/۰۶۶۳۹	۶/۹۴	۰/۰۰۰
W _m (g)	-۲/۸۰۵	-۱/۴۰۲	۰/۰۶۶۳۹	-۲۱/۱۲	۰/۰۰۰
v (mV s ⁻¹)	۰/۵۴۵	۰/۲۷۲	۰/۰۶۶۳۹	۴/۱۰	۰/۰۰۱

در طراحی پلاکت - برمن، می‌توان برای تعیین اهمیت عامل‌ها از آماره P استفاده کرد، به‌طوری‌که $P < ۰/۰۵$ به عنوان حد در نظر گرفته می‌شود. بنابراین عامل‌هایی با ارزش P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان عامل مهم مؤثر در پاسخ و عامل‌هایی با ارزش P بیشتر از ۰/۰۵ به عنوان عامل‌های غیرمؤثر بر پاسخ می‌باشند. با توجه به مقدار P متغیرها که در جدول (۲۰-۲) گزارش شده است، هر پنج عامل pH، E_{acc} (V)، t_{acc} (s)، W_m (g) و v (mV s⁻¹) به عنوان عوامل مؤثر و مهم می‌باشند. بزرگی و علائم ضرایب متغیرها، ماهیت اثر فاکتورها را روی پاسخ توضیح می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود فاکتورهایی که اندازه ضریب بزرگتری دارند اثر بیشتری

^۱ Effect

^۲ Coefficient

^۳ Standard error coefficient

روی پاسخ می‌گذارند. بنابراین وزن اصلاح‌گر و pH با توجه به اینکه ضریب بزرگتری دارند اثر بیشتری روی پاسخ دارند. علاوه بر ارزش P، از نمودارهایی نیز می‌توان برای تعیین عوامل مهم و اصلی کمک گرفت مانند نمودار پارتو^۱ و نمودار احتمال نرمال^۲ که در ادامه به توضیح این نمودارها پرداخته می‌شود.

نمودار پارتو

این نمودار مقدار مطلق اثرات را نشان می‌دهد و در آن یک خط مبنا رسم می‌شود. در نرم افزار Minitab از اثرات استاندارد شده برای مقیاس محور x استفاده می‌شود. اثرات استاندارد شده همان مقدار T نشان داده شده در جدول (۲-۲۰) و خط مبنا همان T بحرانی جدول می‌باشند و نشانگر حداقل بزرگی اثر مهم از نظر آماری برای سطح اطمینان ۹۵٪ است. مقدار عددی این خط مبنا بر اساس درجه آزادی طبق رابطه (۲-۱۴) در سطح اطمینان ۹۵٪ از جدول T محاسبه می‌شود. طول ستون‌های افقی متناسب با درجه اهمیت برای هر اثر می‌باشند. هر اثر یا برهم‌کنشی که از خط عمودی فراتر رود مهم تلقی می‌شود. شکل (۲-۲۰) نمودار پارتوی اثرات استاندارد شده مورد مطالعه در طراحی پلاکت - برمن انجام شده در این پروژه را نشان می‌دهد. همانطور که نمودار نشان می‌دهد، همه متغیرهای pH، E_{acc} (V)، t_{acc} (s)، W_m (g) و v ($mV s^{-1}$) به‌عنوان عوامل موثر و مهم می‌باشند.

(۲-۱۴) تعداد کل برهمکنش‌ها - (۱- تعداد کل آزمایش‌ها در طرح) = درجه آزادی

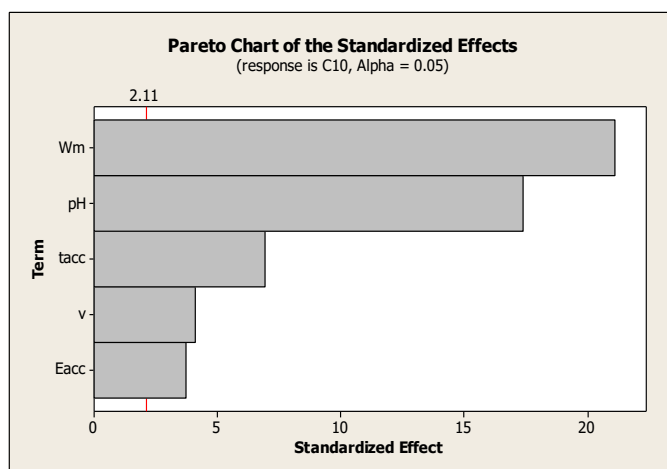
نمودار احتمال نرمال

در این نمودار هر نقطه نشان دهنده اثر هر متغیر می‌باشد. هر چه این نقاط از خط مبنا فاصله بیشتری داشته باشند دارای اثر بزرگتری هستند و میزان اهمیت آن‌ها نیز بیشتر است. در این نمودار متغیرهایی که دارای اثرات مهم و معنی دار هستند با رنگ قرمز مشخص شده‌اند.

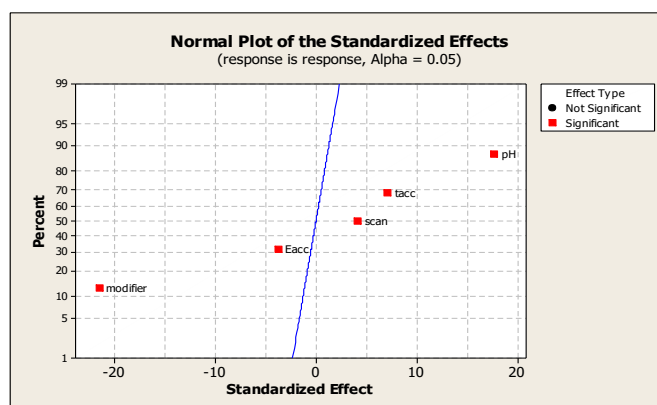
^۱ Pareto plot

^۲ Normal probability plot

این نمودار علاوه بر مشخص کردن میزان اهمیت متغیرها، مثبت یا منفی بودن اثر هر متغیر را نیز نشان می‌دهد. نقاطی که در سمت راست خط برازش قرار دارند دارای اثر مثبت و نقاطی که در سمت چپ آن قرار دارند دارای اثر منفی می‌باشند. همان‌طور که در شکل (۲-۲۱) مشخص است همه عوامل مهم می‌باشند و اثر pH، زمان انباشت و سرعت رویش مثبت بوده و دو عامل دیگر اثر منفی دارند.



شکل (۲-۲۰): نمودار پارتوی اثرات استاندارد در طراحی پلاکت-برمن برای اندازه‌گیری دوپامین.



شکل (۲-۲۱): نمودار احتمال نرمال در طراحی پلاکت-برمن برای اندازه‌گیری دوپامین.

۳-۳-۵-۲ بهینه سازی عوامل موثر در اندازه‌گیری دوپامین با استفاده از طراحی مرکب مرکزی بعد از تعیین عوامل مهم در مرحله غربالگری توسط طراحی پلاکت - برمن، روش سطح

پاسخ (RSM) برای بهینه سازی این عوامل با استفاده از طراحی مرکب مرکزی مورد استفاده قرار گرفت. در این طرح برای هر عامل سه سطح بالا، میانی و پایین در نظر گرفته می شود.

جدول (۲-۲۰) مقادیر متغیرها را در هر سه سطح نشان می دهد. این سطوح با توجه به نتایج حاصل از بهینه سازی یک متغیر در یک زمان انتخاب گردید.

برای طراحی آزمایش و نیز بررسی برهم کنش بین عوامل مهم و هم چنین برای تعیین مقدار بهینه این عوامل از نرم افزار Minitab ۱۶ برای ایجاد طرح مرکب مرکزی مرکز وجوه پر و پردازش داده ها استفاده شد. هنگامی که از روش فاکتوریال کسری دو سطحی در طراحی CCD استفاده شود ($p=1$)، تعداد آزمایش ها با ۵ عامل (k)، دو بار تکرار (r) و چهار بار تکرار نقطه مرکزی طبق معادله (۱-۱۵)، برابر با ۵۶ آزمایش می باشد. فاصله نقاط محوری از نقاط مرکزی در این طرح (پارامتر α) برابر با ۱ بوده است.

جدول (۲-۲۰) فاکتورها و سطوح به کار گرفته شده در طراحی مرکب مرکزی برای اندازه گیری دوپامین ۱۰/۰ میکرو مولار در سطح MT/MCPE با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی

متغیرها	نشانه ها	سطوح فاکتورها		
		پایین (-۱)	وسط (۰)	بالا (+۱)
pH	A	۴/۰	۵/۸	۷/۶
E_{acc} (V)	B	-۰/۲۰	-۰/۱۰	۰/۰۰
t_{acc} (s)	C	۶۰	۱۲۰	۱۸۰
W_m (g)	D	۰/۰۱۰۰	۰/۰۱۷۵	۰/۰۲۵۰
v (mV s ⁻¹)	E	۲۰/۰	۴۰	۶۰/۰

جدول (۱۰ پ) خلاصه ای از طرح انجام شده و سیگنال های حاصل از آن را نشان

می‌دهد. نتایج تجربی حاصل از انجام آزمایشات طراحی شده به وسیله‌ی روش تحلیل واریانس^۱ ANOVA مورد تجزیه و بررسی قرار گرفتند و از این روش برای بررسی مهم‌ترین اثرات و برهم‌کنش‌ها استفاده شد.

به منظور به دست آوردن مدل تجربی برای پیش بینی پاسخ، رابطه‌های خطی و درجه دوم و برهم‌کنش‌ها بر اساس داده‌های به دست آمده از آزمایش، برازش شدند و ضرایب رگرسیونی آن در جدول (۱۱ پ) نشان داده شده است. همان‌طور که مشخص است همه پارامترهای اصلی عبارات، برهم‌کنش‌های $A*A, D*D, C*C, A*B, B*E, B*C, C*D, C*E$ و $D*E$ دارای مقدار P کمتر از ۰/۰۵ بوده و به‌طور آماری معنی دار می‌باشند و سایر برهم‌کنش‌ها به دلیل دارا بودن P بالاتر از ۰/۰۵ معنی دار نیستند.

لذا عبارات بی‌معنی از معادله حذف شدند و مدل رویه پاسخ آزمایش با استفاده از اثرات و برهم‌کنش‌های معنی‌دار برای اندازه‌گیری دوپامین با استفاده از MT/MCPE به صورت زیر تشکیل شد که در آن y همان متغیر پاسخ می‌باشد:

$$y = 3/36459 + 0/674A - 0/245B + 0/377C - 0/847D + 0/134E - 0/522 A*A - 0/716 C*C + 1/344 D*D - 0/381 A*B - 0/197 B*C - 0/192 C*D + 0/254 C*E - 0/197 D*E - 0/178B*E \quad (2-15)$$

آماره R^2 (ضریب تعیین)^۲ برای اندازه‌گیری دوپامین مقدار ۹۰/۹۸٪ به دست آمده است. این آماره به عنوان یک شاخص برای بیان دقت خط رگرسیون برآورد شده به کار می‌رود و نشان دهنده نسبت تغییرات متغیر وابسته توسط متغیر مستقل است. هر چه مقدار (R^2) به صد نزدیک‌تر باشد، مدل قوی‌تر است و بهتر می‌تواند پاسخ را پیش بینی کند. مقدار R^2 در این

^۱ Analysis of Variance (ANOVA)

^۲ Determination Coefficient

روش نشان می‌دهد ۹۰/۹۸٪ تغییرات در پاسخ می‌تواند توسط مدل توضیح داده شود و نیز مشخص می‌شود بین نتایج تجربی و پیش‌بینی شده توافق خوبی وجود دارد. ضریب تعیین طبق رابطه ریاضی زیر محاسبه می‌شود:

$$R^2 = \frac{SSR}{SST} = 1 - \frac{SSE}{SST} \quad (۱۶-۲)$$

در رابطه فوق SSR^۱، SST^۲ و SSE^۳ به ترتیب بیانگر مجموع مربعات انحراف مقادیر پیش‌بینی شده متغیر وابسته از میانگین مقادیر آن، مجموع مربعات انحراف مقادیر واقعی متغیر وابسته از میانگین مقادیر آن و مجموع مربعات انحراف مقادیر واقعی متغیر وابسته از مقادیر پیش‌بینی شده برای آن می‌باشند و طبق روابط زیر محاسبه می‌شوند:

$$SSR = \sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2 = ۷۳/۰۳ \quad (۱۷-۲)$$

$$SST = \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 = ۸۰/۲۷ \quad (۱۸-۲)$$

$$SSE = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2 = ۷/۲۳ \quad (۱۹-۲)$$

با توجه به روابط فوق می‌توان نوشت:

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad (۲۰-۲)$$

میزان ضریب تعیین تصحیح شده^۴ (R²_{adj}) برای مدل ارائه شده برابر با ۸۵/۸۳٪ به دست آمده است. از آنجایی که در ضریب تعیین تعداد پارامترهای مدل در نظر گرفته نمی‌شود از ضریب تعیین تصحیح شده استفاده می‌شود. ضریب تعیین تصحیح شده طبق رابطه زیر

^۱ Sum Square Regression

^۲ Sum Square Total

^۳ Sum Square Error

^۴ Adjusted Determination Coefficient

محاسبه می‌گردد:

$$R_{adj}^2 = 1 - \frac{n-1}{n-p} \cdot \frac{SSE}{SST} = 1 - (1 - R^2) \frac{n-1}{n-p} \quad (21-2)$$

در رابطه فوق p تعداد متغیرهای مستقل و n تعداد آزمایش‌ها می‌باشد.

۲-۵-۳-۴ ارزیابی آماری مدل

برای اطمینان از اینکه مدل به‌دست آمده مدل مناسبی است، باید مدل را ارزیابی کرد.

به این منظور از روش تحلیل واریانس و بررسی باقیمانده‌ها استفاده شد.

تحلیل واریانس

با در نظر گرفتن عوامل اصلی، مدل ریاضی برای پاسخ مربوط به اندازه‌گیری دوپامین

طبق معادله (۲-۱۵) پیشنهاد شده است. برای بررسی صحت مدل ارائه شده، تحلیل واریانس

انجام شد که نتایج آن در جدول (۲-۲۱) نشان داده شده است.

یک مدل زمانی عدم برازش نشان می‌دهد که نتواند به‌صورت مناسب رابطه بین فاکتورها

و متغیر پاسخ را نشان دهد. برای اینکه بتوان تعیین کرد مدل به‌صورت صحیح می‌تواند داده‌ها

را برازش کند باید به مقدار p توجه کرد. اگر مقدار p کمتر از 0.05 باشد می‌توان نتیجه گرفت

مدل به‌خوبی داده‌ها را برازش نمی‌کند. با توجه به نتایج حاصل شده، مقدار p به‌دست آمده

مربوط به عدم برازش مدل بیشتر از 0.05 می‌باشد ($P=0.169$) که نشان می‌دهد بین مدل و

داده‌های تجربی تطابق خوبی وجود دارد.

جدول (۲-۲۱) تحلیل واریانس و پارامترهای آماری برای مدل پیشنهادی مربوط به دوپامین ۱۰/۰ میکرو مولار در سطح MT/MCPE با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی

منبع	DF	SS _{Adj}	MS _{Adj}	F- value	P- value
فاکتور اصلی	۵	۵۰/۱۲۳۶	۱۰/۰۲۴۷	۴۸/۴۷	۰/۰۰۰
برهمکنش‌های درجه دوم	۵	۱۱/۲۴۶۱	۲/۲۴۹۲	۱۰/۸۸	۰/۰۰۰
حاصل ضرب برهمکنش‌ها	۱۰	۱۱/۶۶۴۲	۱/۱۶۶۴	۵/۶۴	۰/۰۰۰
باقیمانده	۳۵	۷/۲۳۸۲	۰/۲۰۶۸	-	-
عدم برازش	۶	۱/۸۴۳۲	۰/۳۰۷۲	۱/۶۵	۰/۱۶۹
خطای خالص	۲۹	۵/۳۹۵۰	۰/۱۸۶۰	-	-
کل	۵۵	۸۰/۲۷۲۲	-	-	-

بررسی باقیمانده‌ها

آنچه که در ابتدا برای هر رگرسیونی بایستی در نظر گرفته شود فرض‌های زیربنایی است که تحلیل بر اساس آن‌ها انجام می‌پذیرد. فرض‌های زیربنایی برای یک الگوی رگرسیون به‌صورت زیر است که در آن ε نشان دهنده خطای مدل می‌باشد:

جمله خطا ε دارای میانگین صفر است. جمله خطا ε دارای واریانس ثابت است. جمله خطا ε ناهمبسته اند. جمله خطا ε دارای توزیع نرمال است.

باقیمانده‌ها به‌صورت زیر تعریف شده‌اند:

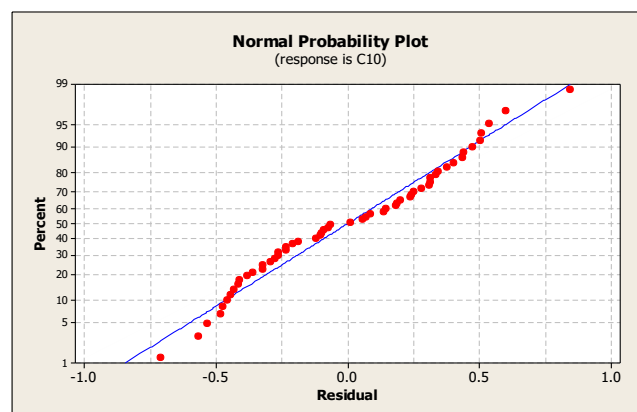
$$e_i = y_i - \hat{y}_i, \quad i=1,2,\dots,n \quad (2-22)$$

که در آن y_i یک مقدار مشاهده شده و $\hat{y}_i$ مقدار برازش شده متناظر آن است. چون تلقی از باقیمانده به‌صورت انحراف بین مقدار مشاهده شده و مقدار برازش شده می‌باشد، لذا یک

معیار از تغییراتی است که به وسیله مدل رگرسیون توضیح داده نشده است. همچنین می توان باقیمانده ها را مقادیر شناخته شده خطا دانست، بنابراین هر انحراف از مفروضات در مورد خطاها بایستی در باقیمانده ها نمایان شود. در نتیجه تحلیل باقیمانده ها یک شیوه تاثیر گذار برای کشف انواع نامناسب ها در مدل می باشد. در واقع نقض مفروضات اولیه و کفایت مدل را می توان به راحتی از طریق بررسی باقیمانده ها انجام داد. در ادامه چند نمودار باقیمانده ارائه خواهند شد که برای تعیین کفایت مدل کاربرد دارند.

نمودار احتمال نرمال

از آنجایی که در محاسبه ی آماره های t و F برای آزمون های رگرسیون و همچنین در محاسبه فواصل اطمینان، از فرض نرمال بودن خطاها استفاده می کنیم، لذا انحراف های بزرگ از توزیع نرمال می تواند روی صحت و اعتبار نتایج بدست آمده تاثیر زیادی بگذارد. یک روش ساده برای بررسی فرض نرمال بودن رسم نمودار احتمال نرمال باقی مانده ها است. زیرا این نمودار الگوی تقریباً خطی سازگار با توزیع نرمال را نشان می دهد اگر باقی مانده ها دارای توزیع نرمال باشند، عموماً نقاط باید روی یک خط راست قرار گیرند و در صورتی که نقاط از خط راست منحرف شده باشند ممکن است فرض نرمال بودن معتبر نباشد. نمودار مربوط به توزیع باقیمانده ها و بررسی نرمال بودن این توزیع در شکل (۲-۲۲) نشان داده شده است.

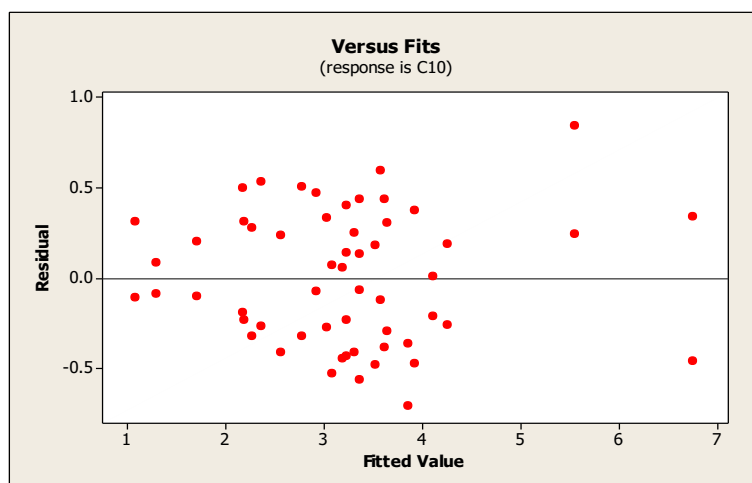


شکل (۲-۲۲): نمودار احتمال نرمال باقیمانده ها برای اندازه گیری دوپامین.

همان‌طور که از شکل مشخص است در اینجا مقدار P بزرگتر از ۰/۰۵ است که نشان می‌دهد نقاط تقریباً در امتداد یک خط مستقیم قرار گرفته‌اند و توزیع باقی‌مانده‌ها نرمال است.

نمودار باقیمانده‌ها در مقابل مقادیر برازش شده

اگر مدل صحیح و مفروضات برقرار باشد، آنگاه باقیمانده‌ها نباید ساختار خاصی از خود نشان دهند و یا ارتباط خاصی با متغیرهای دیگر از جمله پاسخ پیش‌بینی شده داشته باشد. با رسم نمودار باقیمانده‌ها بر حسب مقادیر پیش‌بینی شده به‌سهولت می‌توان این نکته را بررسی کرد. در این نمودار نباید روند مشهودی مشاهده شود. در بعضی مواقع مشکل غیر ثابت بودن واریانس در این نمودار مشاهده می‌گردد. گاهی با افزایش مقادیر مشاهدات، واریانس آن‌ها نیز افزایش می‌یابد. در چنین شرایطی نمودار باقیمانده بر حسب مقادیر برازش شده شبیه به انتهای بزرگ یک قیف یا بلندگو به‌نظر می‌رسد. شکل (۲-۲۳)، نمودار باقیمانده‌ها بر حسب مقادیر پیش‌بینی شده، برای داده‌های حاصل از طراحی مرکب مرکزی را نشان می‌دهد. این نمودار هیچ ساختار غیرعادی را نشان نمی‌دهد. به این معنی که نمودار باقیمانده‌ها از الگوی خاصی برخوردار نیست و بی‌ساختار می‌باشد.



شکل (۲-۲۳): نمودار باقیمانده‌ها بر حسب مقادیر پیش‌بینی شده برای اندازه‌گیری دوپامین.

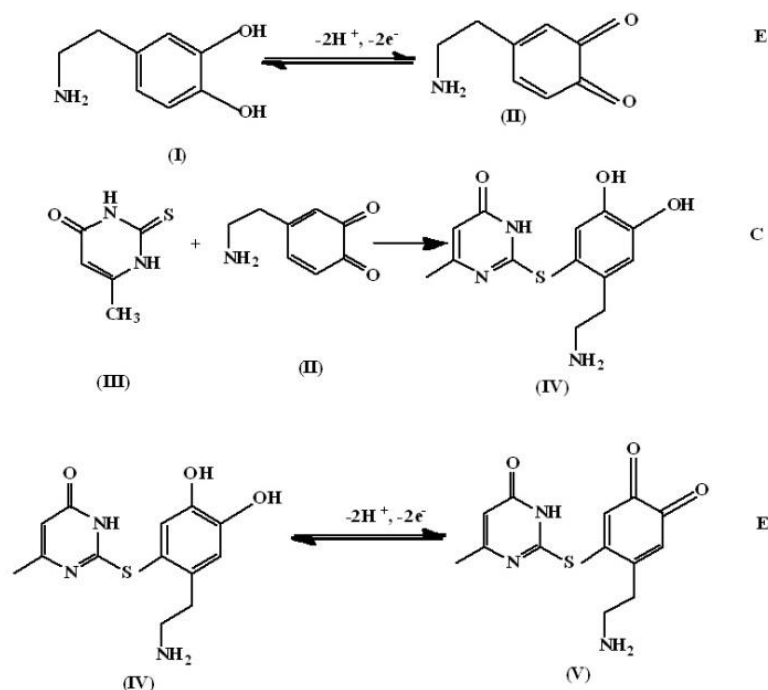
۵-۳-۵-۲ تعیین سطوح بهینه عوامل موثر

هدف اصلی از طراحی آزمایش یافتن مقدار بهینه پارامترها می‌باشد یعنی در چه ترکیبی از عوامل موثر، بیشترین میزان پاسخ مشاهده می‌شود. در نتیجه، به منظور یافتن مقادیر بهینه، داده‌های حاصل از طراحی مرکب مرکزی توسط روش سطح پاسخ، به کمک مدل درجه دو و میزان تابع مطلوبیت (D) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بر اساس پیش‌بینی‌های نرم‌افزار Minitab، شرایط بهینه برای رسیدن به حداکثر جریان اکسایش دوپامین عبارتند از: $\text{pH}=7/0$ ، $v=60 \text{ mV s}^{-1}$ و $W_m=0/010 \text{ g}$ ، $t_{\text{acc}}=160 \text{ s}$ ، $E_{\text{acc}}=-0/2 \text{ V}$ با $D=0/9817$. این مقادیر بهینه برای مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

۴-۵-۲ بررسی الکتروشیمیایی اکسایش دوپامین

با در نظر گرفتن متفاوت بودن فرآیندهای الکترودی اکسایش دوپامین در سطح الکترودهای اصلاح نشده و اصلاح شده، بررسی بیشتر مکانیسم واکنش الکترودی در سطح الکتروده اصلاح شده ضروری به نظر می‌رسد. اکسایش دوپامین در سطح MT/MCPE از طریق مکانیسم ECE، قابل وصف است (طرح ۲-۴). در واقع در حضور یک نوکلئوفیل، حالت اکسایش یافته دوپامین (II) متحمل یک واکنش شیمیایی افزایش ۴,۱ مایکل می‌شود. طی این واکنش فرآیند کاهش به کمک متیل تیوراسیل انجام می‌شود و محصول افزایشی کاهش یافته (IV) تولید می‌گردد. از سوی دیگر، این مسئله که گروه‌های تیول خاصیت الکترون دهنده‌گی دارند امری اثبات شده است، و حضور بخش تیولی در ساختار محصول افزایشی کاهش یافته (IV) باعث تسریع اکسایش الکتروشیمیایی ترکیباتی می‌شود که از واکنش افزایش ۴,۱ مایکل بین مشتقات کتکول و نوکلئوفیل‌های تیولی تولید می‌شوند [۱۴۱]. به این دلیل، پتانسیل اکسایش محصول (IV) کمی منفی‌تر از ترکیب دوپامین اولیه می‌باشد. اگرچه این اختلاف در حدی نیست که بتواند منجر به تولید دماغه قابل تشخیص و متفاوت جدیدی شود. از اینرو، اکسایش محصول افزایشی کاهش یافته (IV) به حالت اکسید شده مربوطه (V) در پتانسیلی بسیار

نزدیک به دوپامین اولیه اتفاق می افتد و همپوشانی دماغه‌ی اکسایش محصول افزایشی کاهش یافته (V) و دوپامین اولیه منجر به اندکی جابجایی منفی در پتانسیل اکسایش و هم‌چنین افزایش چشمگیر جریان دماغه اکسایش دوپامین می‌شود. در روبش برگشت، دماغه احیایی به‌خوبی دیده می‌شود (شکل ۲-۱۸-الف منحنی ۳)، که این دماغه مربوط به احیای ترکیب افزایشی (V) و دوپامین اکسید شده‌ی واکنش نداده (II) به حالت اکسید شده مربوطه می‌شود. اندک جابجایی مثبت مشاهده شده در پتانسیل به‌دلیل حضور گروه تیول در ساختار محصول (IV) و جذب سطحی محصولات روی سطح الکتروود است. به‌منظور درک بهتر رفتار اکسایش دوپامین در حضور MT، مطالعات ولتامتری روی سطح الکتروود خمیر کربن اصلاح نشده نیز انجام شد. برای انجام این بررسی دوپامین و MT، به‌صورت همزمان در محلول آزمایشی حضور داشتند (به‌جای حضور MT در توده CPE). نتایج به‌دست آمده تحت شرایط آزمایش یکسان در شکل (۲-۱۸-ب) آمده است.

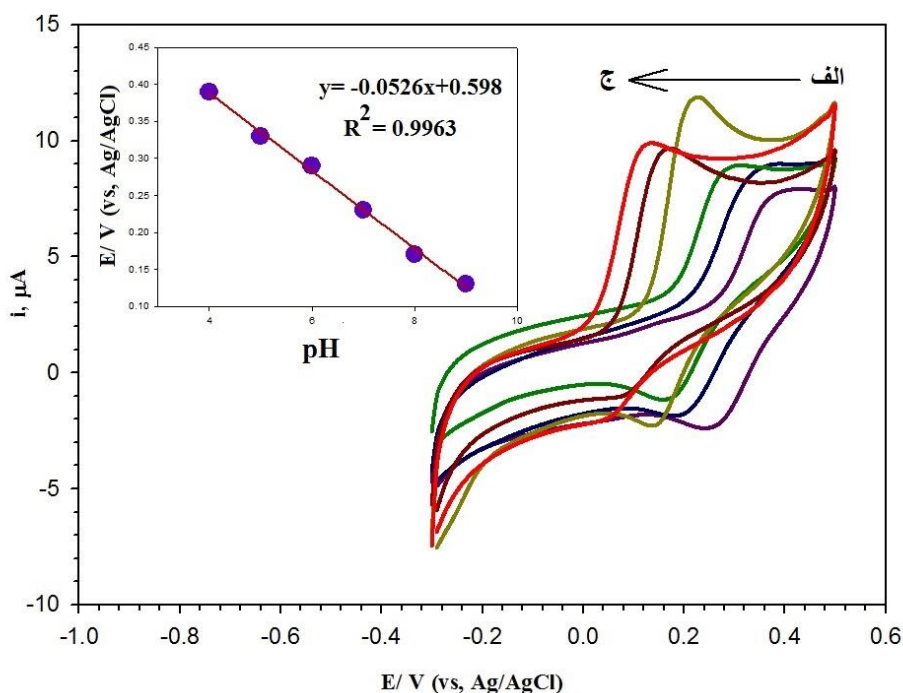


طرح (۲-۴): مکانیسم پیشنهادی برای واکنش الکتروودی روی سطح MT/MCPE.

همان‌طور که مشاهده می‌شود، نتایج مشابهی برای حالتی که MT در محلول آزمایش وجود دارد نسبت به حالت حضور در توده خمیر کربن به‌دست آمد. اگر چه شدت جریان مشاهده شده برای اکسایش دوپامین در حالتی که متیل تیوراسیل در پیکره خمیر کربن قرار گرفت بیشتر از حالتی است که در محلول آزمایشی حاضر بود. این پدیده می‌تواند به دلیل امکان دسترسی بیشتر MT نوکلئوفیل به DA الکتروفیل برای انجام واکنش افزایشی مایکل در سطح الکتروود باشد. بنابراین به‌منظور بهبود شدت جریان دماغه اکسایش دوپامین بر اساس واکنش‌های افزایش ۴,۱ مایکل، استفاده از MT/MCPE، تدبیر بهتری خواهد بود.

۲-۵-۴-۱ بررسی تاثیر تغییر pH محیط بر اکسایش دوپامین در سطح MT/MCPE

برای تعیین pH بهینه در اندازه‌گیری ولتامتری دوپامین، تغییرات شدت جریان آندی حاصل از ولتاموگرام‌های چرخه‌ای MT/MCPE در حضور ۵۰/۰ میکرومولار دوپامین نسبت به pH های مختلف ثبت شد. شکل (۲-۲۴)، ولتاموگرام چرخه‌ای دوپامین را در محلول بافر فسفاتی در pH های مختلف ۹/۰-۴/۰ نشان می‌دهد. به‌طوری که مشاهده می‌شود، شدت جریان دماغه آندی در محیط خنثی به حداکثر مقدار خود می‌رسد. بنابراین، $pH = 7.0$ به عنوان pH بهینه، در اندازه‌گیری ولتامتری دوپامین در سطح این الکتروود خمیر کربن اصلاح‌شده، انتخاب شد. همچنین، نمودار تغییرات پتانسیل دماغه اکسایش دوپامین بر حسب تغییرات pH محیط، در شکل (۲-۲۴ ضمیمه) ارائه شد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، پتانسیل دماغه اکسایش دوپامین در سطح MT/MCPE با افزایش pH، به سمت مقادیر منفی جابجا شده است. شیب خط به‌دست آمده در شکل (۲-۲۴ ضمیمه)، نشان دهنده برابری تعداد الکترون مبادله شده با تعداد پروتون دخیل در فرآیند اکسایش الکتروشیمیایی دوپامین در سطح این الکتروود اصلاح‌شده می‌باشد. بر اساس واکنش کلی (طرح ۲-۳)، چهار الکترون و چهار پروتون در اکسایش دوپامین دخالت دارند.

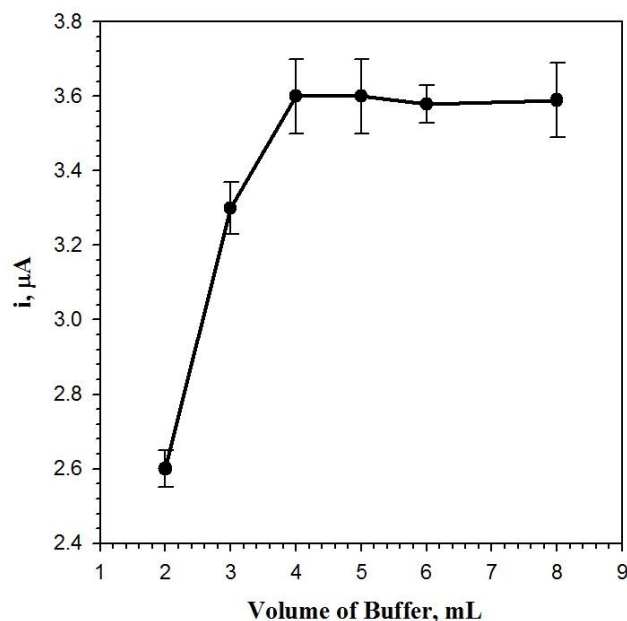


شکل (۲-۲۴): ولتاموگرام چرخه‌ای محلول ۵۰/۰ میکرومولار دوپامین در سطح MT/MCPE در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH های مختلف از ۴/۰ تا ۹/۰. سرعت روبش 100 mV s^{-1} ، پتانسیل انباشت: -۰/۲ ولت، زمان انباشت: ۱۶۰ ثانیه و زمان استراحت: ۲۰ ثانیه. ضمیمه: تغییرات دماغه پتانسیل اکسایش دوپامین را بر حسب pH نشان می‌دهد.

۲-۴-۵-۲ بررسی تاثیر حجم بافر در اکسایش دوپامین در سطح MT/MCPE

در این مطالعه همچنین به منظور تعیین حجم بهینه بافر، حجم‌های مختلفی در گستره ۲/۰ تا ۸/۰ میلی‌لیتر از بافر فسفاتی pH=۷/۰ در حضور ۱۰/۰ میکرومولار دوپامین مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج به‌دست آمده (شکل ۲-۲۵)، نشان می‌دهد که با افزایش حجم الکترولیت حامل تا ۴/۰ میلی‌لیتر شدت جریان اکسایش دوپامین افزایش می‌یابد، در حالیکه در حجم‌های بالاتر تغییری در شدت جریان مشاهده نمی‌شود. این امر به‌دلیل افزایش هدایت محلول و کاهش مقاومت درونی آن تا حجم ۴/۰ میلی‌لیتر است. در حجم‌های بالاتر از ۴/۰ میلی‌لیتر ثباتی در سیگنال شاهد مشاهده می‌شود که می‌تواند به‌دلیل عدم تغییر قدرت یونی محیط در حجم‌های بالاتر باشد (نتایج در جدول (۲ پ) ارائه شده است). بنابراین حجم ۴/۰ میلی‌لیتر از بافر فسفاتی pH=۷/۰ به‌عنوان حجم بهینه انتخاب و در بررسی‌های بعدی استفاده شد.



شکل (۲-۲۵): نمودار تغییرات میزان شدت جریان آنودی دوپامین بر حسب حجم بافر فسفاتی در $pH=7.0$ ، در محلول ۱۰/۰ میکرومولار دوپامین در سطح MT/MCPE به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی، سرعت روبش 50 mV s^{-1} ، پتانسیل انباشت: -0.1 ولت، زمان انباشت: ۱۲۰ ثانیه و زمان استراحت: ۲۰ ثانیه.

۳-۴-۵-۲ بررسی تاثیر تغییر سرعت روبش پتانسیل بر اکسایش دوپامین به کمک ولتامتری چرخه‌ای

به منظور بررسی اثر سرعت روبش پتانسیل بر رفتار الکتروشیمیایی دوپامین در سطح MT/MCPE، ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در محلول بافر فسفاتی با $pH=7.0$ حاوی ۰/۱۰ میلی مولار دوپامین در سرعت‌های روبش پتانسیلی مختلف در محدوده‌ی ۴۰ تا ۳۰۰ میلی ولت بر ثانیه ثبت شد (شکل ۲-۲۶ الف). بررسی این ولتاموگرام‌ها می‌تواند اطلاعات مفیدی در مورد مکانیسم واکنش الکتروشیمیایی در اختیار قرار دهد. همان‌طور که در شکل (۲-۲۶ الف) مشخص است، با افزایش سرعت روبش پتانسیل دماغه‌های آنودی و کاتدی به ترتیب اندکی به سمت مقادیر مثبت‌تر و منفی‌تر جابجا می‌شوند. بنابراین، اختلاف دماغه‌های پتانسیل (ΔE_p) به تدریج افزایش می‌یابد، که این امر نشانگر کاهش سرعت واکنش الکتروودی با افزایش سرعت روبش است. ارتباط بین شدت جریان آنودی (I_{pa}) و کاتدی (I_{pc}) با سرعت روبش و نیز جذر سرعت روبش مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده (جدول ۲-۲۲) نشان می‌دهد که

شدت جریان دماغه آندی با جذر سرعت روبش و شدت جریان دماغه کاتدی با سرعت روبش ارتباط خطی دارد (شکل ۲-۲۶-ب و ج).

جدول (۲-۲۲) شدت جریان‌های آندی و کاتدی در سرعت روبش‌های پتانسیل متفاوت در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۷/۰ حاوی ۰/۱۰ میلی مولار دوپامین در سطح MT/MCPE به‌وسیله ولتامتری چرخه‌ای

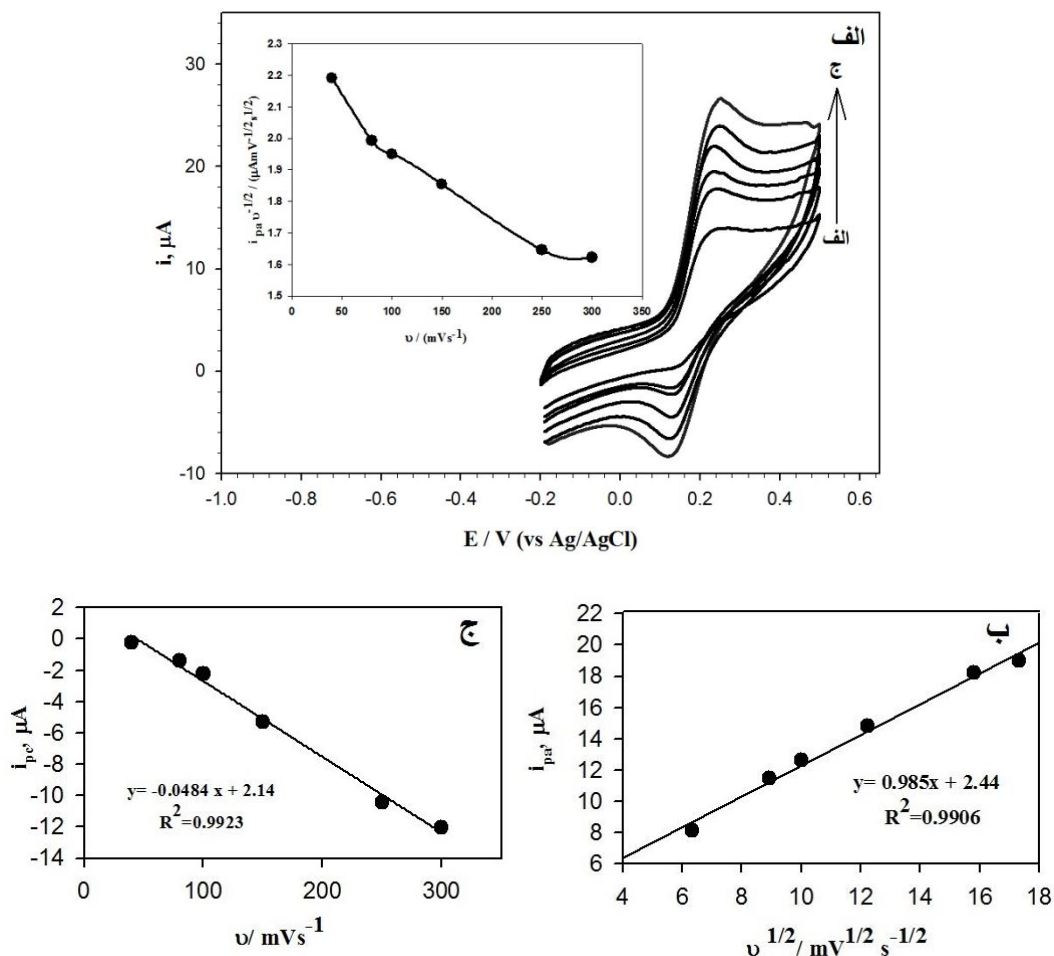
$v(\text{mVs}^{-1})$	$I_{pa} (\mu\text{A})$	$I_{pc} (\mu\text{A})$
۴۰	۸/۱۵	۰/۱۵
۸۰	۱۱/۴۵	-۱/۲
۱۰۰	۱۲/۶	-۲/۳
۱۵۰	۱۴/۸۲	-۳/۳
۲۵۰	۱۸/۲۴	-۶/۳
۳۰۰	۱۹	-۸/۶

این نوع وابستگی جریان آندی و کاتدی با سرعت روبش نشان می‌دهد که اکسایش دوپامین در سطح الکتروکود MT/MCPE، تحت کنترل انتشار می‌باشد. در صورتیکه فرآیند احیای ترکیب افزایشی (V) در سطح این الکتروکود، تحت کنترل فرآیندهای سطحی است.

بررسی تغییرات $\frac{I_p}{v^{1/2}}$ بر حسب سرعت روبش (شکل ۲-۲۶-الف-ضمیمه) نشان می‌دهد که $\frac{I_p}{v^{1/2}}$ با افزایش سرعت روبش کاهش می‌یابد و در سرعت‌های بالا به یک مقدار حدی می‌رسد، که این حالت برای انتقال الکترون برگشت‌پذیر پس از مرحله شیمیایی برگشت‌ناپذیر انتظار می‌رود. در واقع این مشاهده می‌تواند تاییدی بر وجود مکانیسم ECE در این مطالعه باشد [۷۱]. به‌منظور درک بهتر مرحله تعیین کننده سرعت، وابستگی لگاریتمی پتانسیل-جریان با استفاده از معادله (۲-۲۳) که به عنوان معادله تافل شناخته می‌شود مورد بررسی قرار گرفت [۷۱].

$$\eta = a + s \log i \quad (2-23)$$

که در آن S شیب نمودار تافل و η پتانسیل اضافی نامیده می‌شود.



شکل (۲-۲۶): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای MT/MCPE در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۷/۰ حاوی ۰/۱۰ میلی مولار دوپامین در سرعت روبش‌های مختلف. به‌ترتیب از پایین به بالا سرعت‌های روبش (الف) تا (ج): ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی ولت بر ثانیه می‌باشند. ضمیمه الف: نمودار تغییرات $\frac{i_p}{v^{1/2}}$ بر حسب سرعت روبش پتانسیل. (ب) نمودار تغییرات شدت جریان دماغه اکسایش دوپامین بر حسب جذر سرعت روبش پتانسیل. (ج) نمودار تغییرات شدت جریان دماغه احیای ترکیب افزایشی (V) بر حسب سرعت روبش پتانسیل. پتانسیل انباشت: ۰/۲- ولت، زمان انباشت: ۱۶۰ ثانیه و زمان استراحت: ۲۰ ثانیه.

نمودار تافل (شکل ۲-۲۷)، با استفاده از داده‌های مربوط به قسمت بالارونده ولتاموگرام

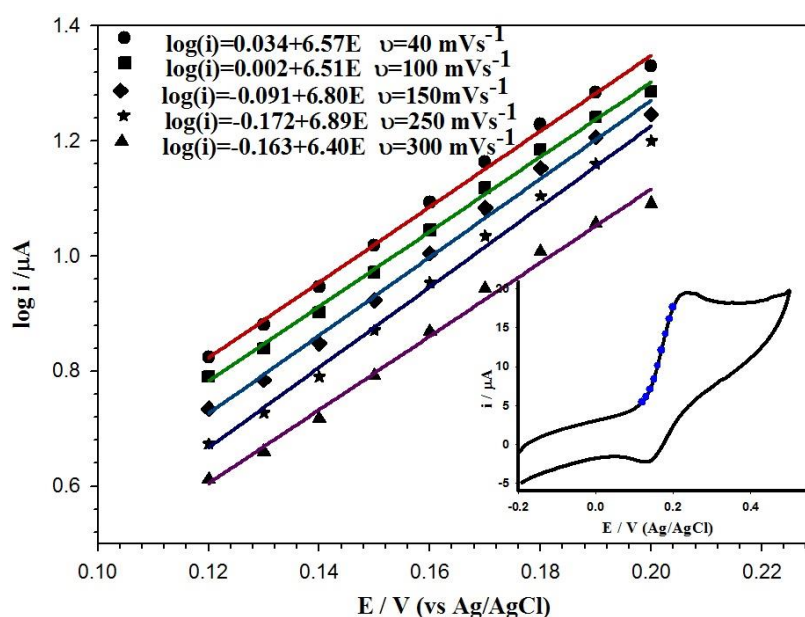
(شکل ۲-۲۷- ضمیمه)، معروف به ناحیه تافلی، رسم شد. شیب تغییرات لگاریتم جریان بر

حسب پتانسیل قسمت بالا رونده ولتاموگرام چرخه‌ای، شیب نمودار تافل است که این مقدار از

نظر تئوری به کمک رابطه (۲-۲۴) تعریف می‌شود [۶]:

$$\frac{(1-\alpha)nF}{2.3 RT} = S \quad (24-2)$$

شکل (۲۷-۲) نشان می‌دهد، که میانگین شیب نمودار مذکور برای اکسایش دوپامین در سرعت‌های روبش مختلف برابر با $6/63 \text{ V}^{-1}$ است. از اینرو $n(1-\alpha)$ برابر با $0/39$ خواهد بود. از آنجایی که بر اساس مکانیسم پیشنهادی (طرح ۲-۴)، تعداد الکترون‌ها می‌تواند ۲ در نظر گرفته شود ($n=2$)، مقدار ضریب انتقال (α) برای الکترواکسایش دوپامین، برابر $0/8$ محاسبه شد، که نشانگر نامتقارن بودن منحنی انرژی آزاد فعالسازی است. به این معنی که سرعت واکنش اکسایش و احیا در بررسی این واکنش الکترودی با هم برابر نیست. این امر بیانگر تاثیر متفاوت پتانسیل (و یا انرژی الکتریکی ورودی)^۱ بر واکنش‌های آندی و کاتدی است [۱۴۲، ۶۸].



شکل (۲۷-۲): نمودار تافل به دست آمده از رسم لگاریتم شدت جریان اکسایش دوپامین $0/10$ میلی مولار بر حسب تغییرات پتانسیل در محلول بافر فسفاتی $0/27$ مولار با $\text{pH}=7/0$ ، حاصل از ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در سرعت‌های روبش 40 ، 100 ، 150 ، 250 و 300 میلی ولت بر ثانیه.

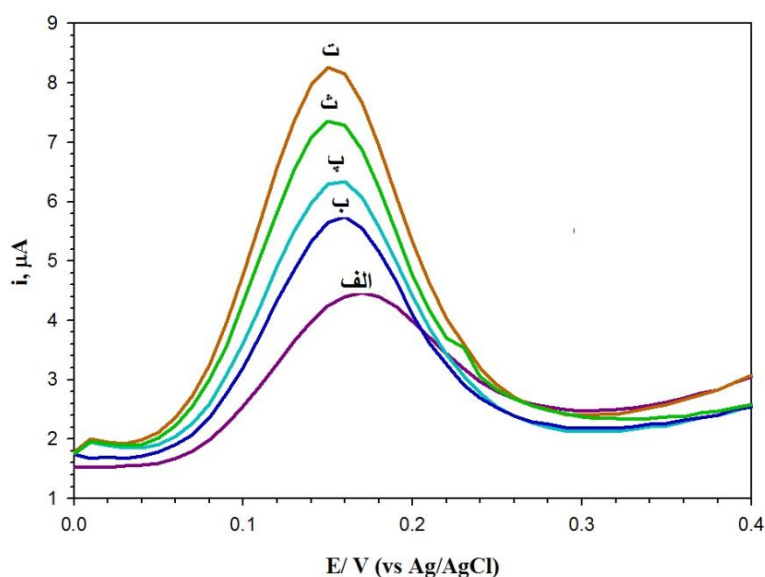
^۱ Input electrical energy

۵-۵-۲ مطالعات جذب سطحی

به منظور بررسی تاثیر جذب سطحی بر شدت جریان و پتانسیل اکسایش دوپامین در سطح MT/MCPE، ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی در محلول بافر فسفاتی pH=۷ حاوی دوپامین ۱۰/۰ میکرومولار در زمان‌های انباشت متفاوت ثبت شد (شکل ۲-۲۸). به این منظور، پس از تهیه الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با متیل تیوراسیل، الکتروود در محلول بافر فسفاتی حاوی دوپامین با غلظت ۱۰/۰ میکرومولار قرار داده شد. همزن مغناطیسی روشن و پتانسیل انباشت ۰/۲۰- ولت نسبت به الکتروود مرجع برای مدت زمان‌های مختلف به محلول در حال هم خوردن اعمال شد. پس از پایان زمان انباشت، همزن خاموش و پس از ۲۰ ثانیه زمان استراحت، ولتاموگرام پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا +۰/۴۰ ولت ثبت شد (سرعت روبش 50 mVs^{-1} ، ارتفاع پالس ۸۰ mV، مدت زمان اعمال پالس ۴۰ ms).

مقایسه پتانسیل اکسایش دوپامین بدون انباشت (شکل ۲-۲۸ منحنی الف) و پس از انباشت (شکل ۲-۲۸ منحنی ب)، نشان می‌دهد که پتانسیل اندکی به سمت مقادیر منفی جابجا شده است. دلیل این جابجایی، جذب سطحی دوپامین روی سطح الکتروود خمیر کربن اصلاح شده است. به علاوه، جریان دماغه تا زمان انباشت ۱۶۰ ثانیه افزایش می‌یابد. دلیل این امر می‌تواند این باشد که در پتانسیل انباشت ۰/۲- ولت، دوپامین روی سطح الکتروود جذب سطحی می‌شود و پیش تغلیظ صورت می‌گیرد. اگرچه در زمان‌های طولانی‌تر (ثانیه $t_{acc} > 160$)، شدت جریان کاهش می‌یابد. بنابراین، ولتامتری پالس تفاضلی برهنه سازی جذب سطحی^۱ با مقادیر بهینه به دست آمده برای زمان و پتانسیل انباشت برای اهداف تجزیه‌ای مورد استفاده قرار گرفت.

^۱ Adsorption stripping differential pulse voltammetry (AdsDPV)



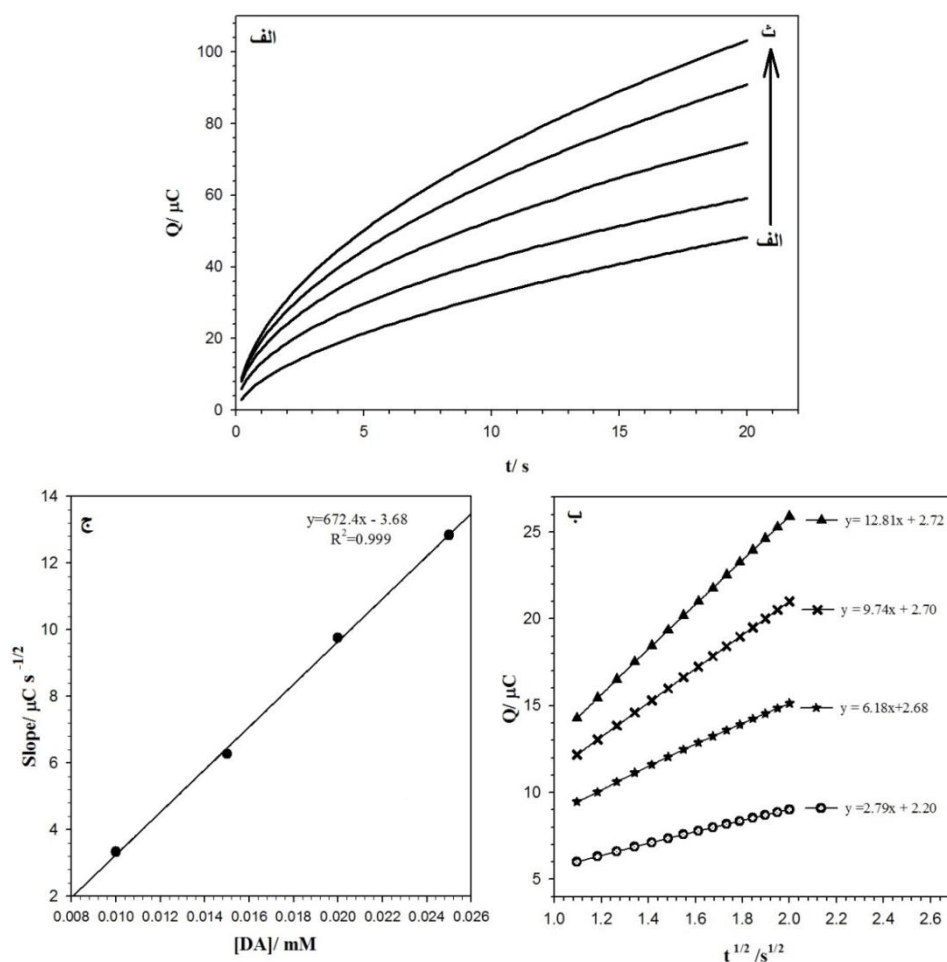
شکل (۲-۲۸): ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی MT/MCPE، در محلول بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با pH=۷ حاوی دوپامین ۱۰/۰ میکرومولار در زمان‌های انباشت (الف) ۰، (ب) ۴۰، (پ) ۸۰، (ت) ۱۶۰ و (ث) ۲۰۰ ثانیه پتانسیل انباشت ۰/۲۰- ولت؛ زمان استراحت ۲۰ ثانیه و سرعت روبش 50 mV s^{-1} .

۲-۵-۶ مطالعات کروئوکولومتری

با استفاده از روش کروئوکولومتری می‌توان ضریب انتشار (D) و هم‌چنین مقدار مازاد سطحی گونه الکتروفعال (Γ^0) مورد نظر را از طریق معادله آنسون (معادله ۱-۷) محاسبه کرد. برای انجام کروئوکولومتری تک پله‌ای، باید پتانسیلی مثبت تر از پتانسیل اکسایش آنالیت به هنگام به‌کارگیری ولتامتری چرخه‌ای (برای اطمینان از کامل بودن فرآیند اکسایش) به الکتروود کار موجود در محلول حاوی گونه هدف اعمال کرد. به این منظور پس از تهیه الکتروودهای MT/MCPE و CPE، الکتروود در محلول بافر فسفات با غلظت‌های مختلف دوپامین قرار داده شد. پس از روشن کردن همزن مغناطیسی، پتانسیل انباشت ۰/۲- ولت نسبت به الکتروود مرجع برای مدت زمان ۱۶۰ ثانیه به آن اعمال شد. پس از پایان زمان انباشت، همزن خاموش و پس از ۲۰ ثانیه زمان استراحت، کروئوکولوگرام تک پله‌ای، با اعمال پتانسیل ۰/۴ ولت نسبت به الکتروود مرجع نقره/نقره کلرید به مدت ۲۰ ثانیه در غلظت‌های مختلف دوپامین ثبت شد (شکل ۲-۲۹-الف و شکل ۱۰ پ).

کرونوکولوگرام‌های به‌دست آمده نشان می‌دهند که با افزایش غلظت دوپامین، میزان بار عبوری نیز افزایش می‌یابد. با استفاده از نمودارهای کرونوکولومتری و معادله آنسون (معادله ۷-۱) ضریب انتشار دوپامین در محلول آزمایشی تعیین شد. شکل (۲-۲۹-ب)، تغییرات Q بر حسب $t^{1/2}$ را برای غلظت‌های متفاوت از دوپامین نشان می‌دهد و در شکل (۲-۲۹-ج)، تغییرات شیب این خطوط ($Q - t^{1/2}$) بر حسب غلظت دوپامین رسم شده است. از روی شیب نمودار حاصل، مقدار 3.0×10^{-5} سانتی‌مترمربع بر ثانیه برای ضریب انتشار دوپامین در سطح این الکترواد اصلاح شده محاسبه شد (با فرض $n=4$ طبق طرح (۲-۳) و با در نظر گرفتن مساحت سطح 0.28 سانتی‌متر مربع با توجه به قطر داخلی $6/0$ میلی‌متری الکترواد). علاوه بر این، آزمایش کرونوکولومتری طبق شرایط مشابه در سطح الکترواد خمیر کربن اصلاح نشده انجام شد و بر اساس نتایج به‌دست آمده ضریب انتشار دوپامین در سطح CPE، 1.8×10^{-5} سانتی‌مترمربع بر ثانیه محاسبه شد. اختلاف بین مقدار ضرایب انتشار در سطح الکترواد اصلاح شده و اصلاح نشده نشان می‌دهد که در حضور متیل تیوراسیل، انتشار دوپامین از توده محلول به سطح الکترواد با راحتی بیشتری صورت می‌پذیرد.

به‌منظور محاسبه مقدار مازاد سطحی گونه الکتروفعال (Γ^0)، می‌توان از عرض از مبدا منحنی Q بر حسب $t^{1/2}$ استفاده نمود. نتایج به‌دست آمده در (جدول ۲-۲۳) ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، میزان Γ^0 در سطح الکترواد خمیر کربن اصلاح شده بیشتر از الکترواد خمیر کربن اصلاح نشده است. بیشتر بودن میزان Γ^0 در سطح MT/MCPE می‌تواند به دلیل جاذبه‌ی الکترواستاتیکی بین کاتیون دوپامین موجود در محلول با سطح الکتروادی باشد که به دلیل حضور گروه‌های تیول، دارای بار منفی است [۱۴۱]. با حضور MT به‌عنوان اصلاحگر، پوشش سطح بوسیله دوپامین به‌طور چشمگیری افزایش می‌یابد و سینتیک واکنش اکسایش تسهیل می‌شود، بنابراین نتایج به‌دست آمده تایید کننده مطالعات انجام شده به‌روش ولتامتری چرخه‌ای می‌باشد.



شکل (۲-۲۹): کروئوکولوگرام‌های MT/MCPE در محلول بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با pH=۷/۰ حاوی غلظت‌های متفاوت دوپامین (الف) غیاب ، (ب) ۱۰/۰ ، (پ) ۱۵/۰ ، (ت) ۲۰/۰ و (ث) ۲۵/۰ میکرو مولار. پله پتانسیل آندی در ۰/۴۰ ولت نسبت به الکتروود شاهد می‌باشد. پتانسیل انباشت: ۰/۲۰- ولت، زمان انباشت: ۱۶۰ ثانیه و زمان استراحت: ۲۰ ثانیه. (ب) نمودار تغییرات $Q-t^{1/2}$ به دست آمده از کروئوکولوگرام‌های (ب-ث) بعد از کم کردن نقطه به نقطه از زمینه است. (ج) نمودار شیب خطوط $Q-t^{1/2}$ بر حسب غلظت دوپامین.

جدول (۲-۲۳) مقادیر Γ^0 محاسبه شده برای MT/MCPE و CPE اصلاح نشده در محلول بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با pH=۷/۰ حاوی غلظت‌های مختلف دوپامین

Γ^0 (mol.cm ⁻²)		
	MT/MCPE	CPE
غلظت دوپامین ($\mu\text{mol L}^{-1}$)		
۱۰/۰	$2/03 \times 10^{-11}$	$3/24 \times 10^{-12}$
۱۵/۰	$2/48 \times 10^{-11}$	$4/07 \times 10^{-12}$
۲۰/۰	$2/50 \times 10^{-11}$	$6/66 \times 10^{-12}$
۲۵/۰	$2/52 \times 10^{-11}$	$6/84 \times 10^{-12}$

۷-۵-۲ بررسی پارامترهای تجزیه‌ای

هدف از مطالعه پارامترهای تجزیه‌ای بررسی و کنترل مشخصه‌های اعتبار سنجی روش می‌باشد که این مشخصه‌ها عبارتند از: ناحیه خطی، حد تشخیص، دقت (تکرارپذیری و تکثیرپذیری)، صحت، گزینش پذیری و پایداری. همه این موارد در این مطالعه تحقیقاتی مورد بررسی قرار گرفته و در ادامه نتایج آن ارائه شده است.

۱-۷-۵-۲ منحنی کالیبراسیون و تعیین ناحیه خطی روش

پس از دسترسی به شرایط بهینه برای اندازه‌گیری دوپامین توسط MT/MCPE، منحنی کالیبراسیون رسم شد. به این ترتیب که پس از تهیه الکتروود اصلاح شده، به منظور ثبت ولتاموگرام‌های تجزیه‌ای، در هر مرحله مقدار مناسبی از محلول استاندارد دوپامین با غلظت‌های مختلف و ۴/۰ میلی‌لیتر از بافر فسفاتی $\text{pH} = 7.0$ به سل الکتروشیمیایی افزوده شد سپس حجم محلول درون سل با آب دو بار تقطیر به ۱۰/۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس همزن مغناطیسی روشن و پتانسیل انباشت ۰/۲۰- ولت نسبت به الکتروود مرجع برای مدت زمان ۱۶۰ ثانیه به محلول در حال هم خوردن اعمال شد. پس از پایان زمان انباشت، همزن خاموش و پس از ۲۰ ثانیه زمان استراحت، ولتاموگرام پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۴۰+ ولت ثبت شد (سرعت روبش 60 mVs^{-1} ، ارتفاع پالس 80 mV ، مدت زمان اعمال پالس 40 ms). هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد و میانگین جریان اکسایش دوپامین در پتانسیل ۰/۱۵ ولت به دست آمد. به منظور تجدید سطح الکتروود بعد از هر بار استفاده، مقداری از خمیر کربن اصلاح شده با چرخاندن لوله تفلونی از سطح الکتروود خارج گردید و با کشیدن روی سطح کاغذ صاف شد. محلول بافر فسفاتی $\text{pH} = 7.0$ بدون حضور دوپامین برای ثبت سیگنال شاهد مورد استفاده قرار گرفت. اختلاف بین شدت جریان اکسایش دوپامین و شاهد در پتانسیل ۰/۱۵ ولت به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در منحنی کالیبراسیون مورد استفاده قرار گرفت. لازم به ذکر است که تمامی آزمایش‌ها در دمای اتاق انجام شد.

شکل (۲-۳۰)، ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=7.0$ حاوی غلظت‌های فزاینده از دوپامین در سطح MT/MCPE را نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت این ترکیب در ناحیه 0.20 تا 15.00 میکرومولار، شدت جریان دماغه اکسایش نیز به‌طور خطی افزایش می‌یابد. نتایج حاصل در جدول (۲-۲۴) و شکل (۲-۳۱) ارائه شده است.

معادله منحنی کالیبراسیون به‌صورت زیر قابل توصیف است:

$$I_p (\mu\text{A}) = 0.735 C_{\text{DA}} (\mu\text{molL}^{-1}) + 0.88 (\mu\text{A}) \quad R^2 = 0.9918 \quad (2-25)$$

جدول (۲-۲۴) اطلاعات مربوط به منحنی‌های کالیبراسیون در ناحیه خطی 0.20 تا 15.00 میکرومولار دوپامین در محلول بافر فسفاتی 0.27 مولار با $\text{pH}=7.0$ در سطح MT/MCPE با روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی

غلظت دوپامین (μmolL^{-1})	SD $\pm$ سیگنال تجزیه‌ای (μA)
0.20	0.90 ± 0.10
0.50	1.40 ± 0.15
1.00	2.00 ± 0.13
4.00	3.40 ± 0.15
8.00	6.80 ± 0.21
10.00	7.6 ± 0.28
12.00	10.2 ± 0.25
15.00	12.0 ± 0.32
17.00	12.2 ± 0.30
20.00	12.7 ± 0.27
22.00	13.0 ± 0.30

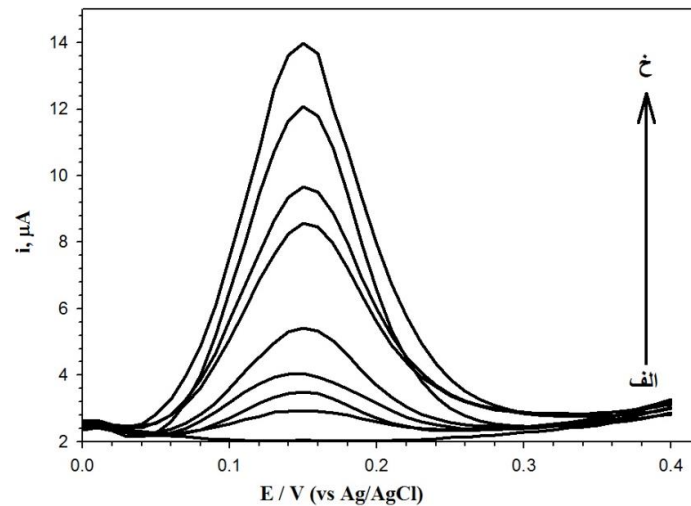
* میانگین سه اندازه‌گیری

حد تشخیص روش می‌تواند به‌کمک رابطه (۲-۱۲) محاسبه شود. در این مطالعه، برای محاسبه انحراف استاندارد شاهد، پنج اندازه‌گیری در محلول بافر فسفاتی $\text{pH}=7.0$ صورت گرفت

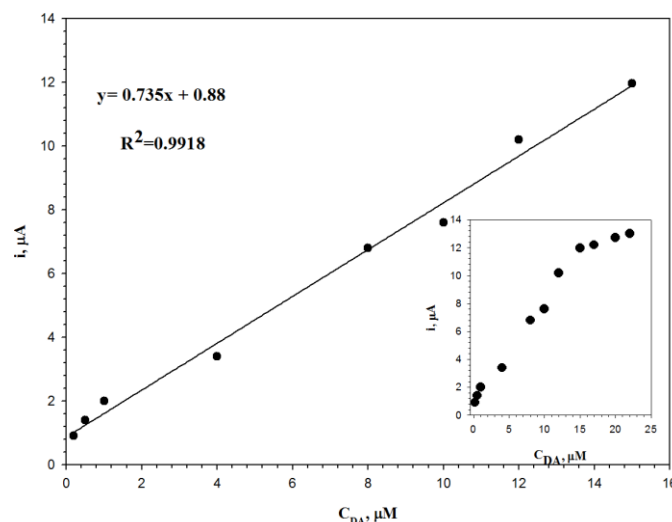
(انحراف استاندارد این اندازه‌گیری‌ها برابر با $0.18 \mu A$ به‌دست آمد) و با توجه به شیب

به‌دست آمده از نمودار کالیبراسیون ($m = 0.735 \frac{\mu A}{\mu mol L^{-1}}$) حد تشخیص روش $73/0$ نانو مولار

محاسبه شد.



شکل (۳۰-۲): ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی محلول بافر فسفاتی $0.1 M$ با $pH=7.0$ ، شامل غلظت‌های مختلف دوپامین در منحنی‌های (الف) تا (خ): $0.0, 0.2, 0.5, 1.0, 4.0, 8.0, 10.0, 12.0$ و 15.0 میکرومولار در سطح MT/MCPE. پتانسیل انباشت: -0.2 ولت، زمان انباشت: 160 ثانیه و زمان استراحت: 20 ثانیه و سرعت روبش $60 mV s^{-1}$ ، دامنه پالس اعمالی 80 میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس 40 ثانیه می‌باشد.



شکل (۳۱-۲): نمودار تغییرات شدت جریان اکسایش بر حسب غلظت دوپامین در محدوده‌ی 0.20 تا 15.0 میکرومولار به‌کمک ولتامتری پالس تفاضلی. پتانسیل انباشت: -0.2 ولت، زمان انباشت: 160 ثانیه و زمان استراحت: 20 ثانیه و سرعت روبش $60 mV s^{-1}$ ، دامنه پالس اعمالی 80 میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس 40 ثانیه می‌باشد.

۲-۷-۵-۲ بررسی تکرارپذیری و تکثیرپذیری

تکرارپذیری و تکثیرپذیری MT/MCPE، از طریق هجده بار اندازه‌گیری سیگنال تجزیه‌ای دوپامین توسط سه الکتروده مختلف (ساخته شده در سه روز متفاوت) در محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=7.0$ حاوی ۱۰٪ میکرومولار دوپامین بررسی شد. نتایج به‌دست آمده در جدول (۲-۲۵) گزارش شده است. نتایج به‌دست آمده، به‌صورت آماری با کمک روش تحلیل واریانس در سطح اطمینان ۹۵٪ مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲-۲۶). براین اساس مقدار F محاسبه شده ($F_{\text{cal}}=2/53$) کوچکتر از مقدار F بحرانی ($F_{\text{tab}}=4/76$) برای آزمون دو طرفه به‌دست آمد. این نتیجه نشانگر تکرارپذیر بودن الکترودهای ساخته شده در روزهای مختلف است.

جدول (۲-۲۵) نتایج تکرارپذیری الکترودهای MT/MCPE برای اندازه‌گیری سیگنال تجزیه‌ای محلول ۱۰٪ میکرومولار دوپامین در محلول بافر فسفاتی $\text{pH}=7.0$ توسط روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی

*** $\pm$ SD میانگین سیگنال تجزیه‌ای اندازه‌گیری شده (μA)	
الکتروده اول-روز اول	$8/44 \pm 0/36$
الکتروده دوم-روز دوم	$7/96 \pm 0/51$
الکتروده سوم-روز سوم	$8/12 \pm 0/16$

* میانگین شش اندازه‌گیری

** انحراف استاندارد شش اندازه‌گیری

جدول (۲-۲۶) تحلیل واریانس داده‌های مربوط به اندازه‌گیری محلول ۱۰٪ میکرومولار دوپامین در محلول بافر فسفاتی $\text{pH}=7.0$ توسط الکترودهای MT/MCPE در روزهای مختلف توسط روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی

F-table	F-value	MS_{Adj}	SS_{Adj}	DF	منبع تغییرات
۴/۷۶	۲/۵۳	۰/۳۵۱	۰/۷۰۱	۲	بین گروه‌ها
-	-	۰/۱۳۸	۲/۰۷۷	۱۵	درون گروه
-	-	-	۲/۷۷۸	۱۷	کل

۲-۷-۵-۳ بررسی دقت و صحت روش

دقت و صحت روش، از طریق پنج بار اندازه‌گیری ولتامتری دوپامین توسط MT/MCPE در محدوده ناحیه خطی منحنی کالیبراسیون در غلظت‌های ۰/۵۰، ۸/۰۰ و ۱۲/۰۰ میکرومولار در

محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=7.0$ ، مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور پنج اندازه‌گیری تکراری از محلول‌های مورد نظر در شرایط کالبراسیون انجام و ولتاموگرام‌های مربوطه ثبت شد. سپس غلظت مربوط به میانگین سیگنال‌های تجزیه‌ای با استفاده از معادله منحنی کالبراسیون محاسبه شد. نتایج به‌دست آمده در جدول (۲-۲۷) گزارش شده‌است. همچنین بررسی آزمون t نشان می‌دهد که بین مقدار دوپامین اندازه‌گیری شده و مقدار دوپامین واقعی موجود در محلول، اختلاف معناداری وجود نداشته و روش از صحت خوبی برخوردار است. صحت مناسب روش از درصد بازیابی و درصد خطای نسبی نیز قابل نتیجه‌گیری است. همچنین با دانستن مقادیر انحراف استاندارد و میانگین در هر غلظت اندازه‌گیری شده، می‌توان مقادیر RSD را محاسبه نمود و به دقت روش پی برد. مقادیر RSD محاسبه شده دقت خوب روش را تایید می‌کنند.

جدول (۲-۲۷) نتایج دقت و صحت روش برای اندازه‌گیری ولتامتری محلول استاندارد دوپامین در غلظت‌های مختلف توسط MT/MCPE در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH}=7.0$

DA ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	SD $\pm$ غلظت اندازه‌گیری شده *	مقدار محاسبه شده t^{**}	درصد بازیابی	%RE ***
۰/۵۰	۰/۴۹ $\pm$ ۰/۰۲	۱/۱۲	۹۸/۰۰	-۲/۰
۸/۰۰	۷/۹۴ $\pm$ ۰/۱۴	۰/۹۶	۹۹/۲۵	-۰/۷۵
۱۲/۰۰	۱۲/۱۰ $\pm$ ۰/۵۰	۰/۴۴	۱۰۰/۸	۰/۸۳

* میانگین پنج اندازه‌گیری

** مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای پنج اندازه‌گیری، ۲/۷۷ می‌باشد

*** درصد خطای نسبی

۲-۵-۷-۴ بررسی پایداری الکتروکود MT/MCPE

به منظور بررسی پایداری الکتروکود، پس از تهیه الکتروکود اندازه‌گیری در محلول بافر فسفاتی $\text{pH}=7.0$ حاوی دوپامین با غلظت ۱۰/۰ میکرومولار طبق روش ارائه شده در بخش ۲-۵-۷-۱ انجام شد. سپس الکتروکود در محلول شاهد (بافر فسفاتی $\text{pH}=7.0$ در غیاب دوپامین) قرار داده شد و با به‌کارگیری ولتامتری چرخه‌ای ۵۰ روبش متوالی در گستره ۰/۰ تا ۰/۴۰ ولت با سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد. پس از آن الکتروکود در محلول بافر فسفاتی

pH = ۷/۰ حاوی دوپامین با غلظت ۱۰/۰ میکرومولار قرار گرفت و اندازه‌گیری مطابق شرایط بهینه انجام شد. نتایج حاکی از آن است که با انتقال الکترو (پس از طی ۵۰ روبش متوالی در محلول بافر فسفاتی)، به سل الکتروشیمیایی حاوی بافر فسفاتی و دوپامین ۱۰/۰ میکرومولار، شدت جریان اکسایش دوپامین کمتر از ۴ درصد کاهش نشان داد در حالیکه پتانسیل اکسایش ثابت باقی ماند. که این نتایج حاکی از پایداری خوب حسگر تهیه شده می‌باشد. هم‌چنین پس از نگهداری الکترو MT/MCPE به مدت یک هفته در دمای محیط، پاسخ الکترودی آن نسبت به اکسایش دوپامین به ۹۰ درصد الکترو تاز به تهیه شده رسید.

۲-۵-۷-۵ بررسی اثر مزاحمت برخی از ترکیبات در اندازه‌گیری ولتاژمتری دوپامین در سطح MT/MCPE

به منظور بررسی میزان گزینش پذیری روش، تاثیر حضور گونه‌های مختلف آزمایشی بر شدت جریان دماغه اکسایش دوپامین ($\mu\text{g/mL}$ ۲/۰ معادل ۱۰/۰ میکرومولار) در پتانسیل ۰/۱۵ ولت نسبت به الکترو مرجع نقره/نقره کلرید (پتاسیم کلرید ۳ مولار) مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. به این منظور، پنج اندازه‌گیری تکراری دوپامین در سطح MT/MCPE انجام شد. میانگین ($\bar{x}$) و انحراف استاندارد (S) سیگنال‌های تجزیه‌ای (در غیاب گونه مزاحم) محاسبه شد. سپس مخلوط گونه مزاحم و دوپامین به سل الکتروشیمیایی افزوده شد و سپس همزن مغناطیسی روشن و پتانسیل انباشت ۰/۲- ولت نسبت به الکترو مرجع برای مدت زمان ۱۶۰ ثانیه به محلول در حال هم خوردن اعمال شد. پس از پایان زمان انباشت، همزن خاموش و پس از ۲۰ ثانیه زمان استراحت، ولتاموگرام پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۴+ ولت ثبت شد (سرعت روبش 60 mVs^{-1} ، ارتفاع پالس ۸۰ mV، مدت زمان اعمال پالس ۴۰ ms). هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد و میانگین جریان اکسایش دوپامین در حضور گونه مزاحم در پتانسیل ۰/۱۵ ولت به دست آمد. اگر شدت جریان سیگنال تجزیه‌ای در این حالت، در محدوده ($\bar{x} \pm 3S$) باشد به این معناست که یون مورد نظر با نسبت موجود، مزاحم نیست؛ در غیر

اینصورت نسبت گونه مزاحم به دوپامین کاهش می‌یافت تا مزاحمت مشاهده نشود. همانگونه که در جدول (۲-۲۸) مشاهده می‌شود، حضور گونه‌هایی نظیر: L-سیستئین، گلوکز، لاکتوز، متیونین، ویتامین B_۶ و L-آلانین تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر شدت جریان دماغه اکسایش دوپامین نداشته‌اند، اما حضور گونه‌هایی، نظیر: اوریک اسید و آسکوربیک اسید در اندازه‌گیری دوپامین، به دلیل اکسید شدن در پتانسیل‌هایی نزدیک به پتانسیل اکسایش دوپامین مزاحمتی از نوع مزاحمت شاهد ایجاد می‌کنند. به این ترتیب، در حضور آسکوربیک اسید به دلیل اکسید شدن این گونه در پتانسیلی بسیار نزدیک به پتانسیل اکسایش دوپامین، شدت جریان دماغه اکسایش دوپامین افزایش یافته است. افزایش شدت جریان اکسایش دوپامین در حضور غلظت‌های بالای اوریک اسید نیز مشاهده شده است.

جدول (۲-۲۸) بررسی تاثیر حضور گونه‌های آزمایشی مختلف بر شدت جریان دماغه آندی دوپامین (۲/۰ μg/mL) در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۷/۰ در سطح MT/MCPE با روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی

گونه‌های مورد بررسی	حد مجاز غلظت گونه مزاحم به غلظت دوپامین*
L-آلانین، گلوکز، لاکتوز، متیونین، $K^+, ClO_3^-, SO_4^{2-}, Na^+$	۵۰۰
$Cu^{2+}, Ca^{2+}, NH_4^+, I^-,$ اوره، Cl^-	۲۵۰
Mg^{2+}, HCO_3^-	۱۰۰
$NO_3^-, SCN^-,$ ویتامین B _۶ ، سیتریک اسید، L-سیستئین، $Ba^{2+}, Mn^{2+}, Fe^{2+}$	۵۰
اوریک اسید	۶
آسکوربیک اسید	۳

* حداکثر نسبت اندازه‌گیری شده

۲-۵-۶-۷ به کارگیری روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری دوپامین در نمونه‌های حقیقی

کارایی الکتروود اصلاح شده و روش توسعه یافته برای اندازه‌گیری دوپامین در نمونه‌های حقیقی مانند آب شهر، آمپول دوپامین و سرم خون انسان مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری

این ترکیب در نمونه دارویی آمپول بدین ترتیب انجام شد که ۲/۰ میلی لیتر از آمپول دوپامین هیدروکلرید به بالن حجمی ۱۰۰۰/۰ میلی لیتری منتقل و با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد. سپس ۱۰/۰ میلی لیتر از این محلول مجدداً در بالن حجمی ۱۰۰/۰ میلی لیتری رقیق شد. ۱/۰ میلی لیتر از محلول رقیق شده نهایی برای اندازه گیری دوپامین در هر مرحله، به سل الکتروشیمیایی (باحجم ۱۰/۰ میلی لیتر) منتقل شد. سپس، با افزودن حجم های مشخص و متفاوتی از نمونه استاندارد دوپامین به محلول درون سل الکتروشیمیایی، اندازه گیری به روش ذکر شده در بخش ۲-۵-۳ صورت گرفت. نمونه آب شهر و سرم نیز طبق روش توضیح داده شده در بخش ۲-۴-۸-۶ تهیه شدند. روش اندازه گیری این نمونه ها نیز مشابه روش به کار گرفته شده برای نمونه آمپول بوده است. هر کدام از اندازه گیری ها سه بار تکرار شد و از منحنی کالبراسیون (شکل ۲-۳۱) برای تعیین غلظت دوپامین در نمونه های حقیقی مورد نظر استفاده شد. مقادیر t و درصد های بازبایی نشانگر صحت خوب روش ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه گیری دوپامین می باشد. کارایی الکتروود اصلاح شده و روش توسعه یافته برای اندازه گیری دوپامین در نمونه های حقیقی در جدول (۲-۲۹) گزارش شده است و توانایی این الکتروود اصلاح شده را برای اندازه گیری ولتامتری این گونه آزمایشی در نمونه های حقیقی نشان می دهد.

۲-۵-۸ نتیجه گیری

در این بخش، یک حسگر الکتروشیمیایی بر پایه الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با متیل تیوراسیل که یک ترکیب نوکلئوفیل است مورد استفاده قرار گرفت. نتایج بررسی ها نشان دهنده تاثیر ویژه MT، بر افزایش چشمگیر شدت جریان دماغه آندی دوپامین با مکانیسم ECE و بر اساس واکنش افزایشی ۴,۱ مایکل است. نتایج بررسی ها هم چنین نشان داد که به کار گیری MT، در پیکره الکتروود خمیر کربن نسبت به حالتی که MT در محلول حضور داشته باشد، استراتژی موثرتری برای به کار گیری اثرات منحصر به فرد واکنش افزایشی ۴,۱ مایکل می باشد. در روش طراحی آزمایش پیشنهادی، طراحی مرکب مرکزی با موفقیت برای یافتن مقادیر بهینه

تاثیرگذار بر شدت جریان اکسایش دوپامین مورد استفاده قرار گرفت.

جدول (۲-۲۹) نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری دوپامین در بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با pH=۷/۰ در سطح MT/MCPE با روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی در نمونه‌های آب شهر، سرم و آمپول (n=۳).

نمونه	مقدار اضافه شده ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	مقدار اندازه‌گیری شده* ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	مقدار محاسبه شده **t	درصد بازیابی
آب شهر	----	مشاهده نشد	----	
	۲/۰۰	$2/05 \pm 0/55$	۰/۳۹	۱۰۲/۵
	۶/۰۰	$6/20 \pm 0/74$	۱/۱۶	۱۰۳/۳
	۱۲/۰	$11/8 \pm 1/37$	۰/۶۳	۹۸/۳۳
سرم	----	مشاهده نشد	----	
	۲/۰۰	$2/04 \pm 0/07$	۰/۱۶	۱۰۲/۰
	۶/۰۰	$6/18 \pm 0/99$	۰/۷۸	۱۰۳/۰
	۱۲/۰	$11/8 \pm 2/43$	۰/۳۵	۹۸/۳۳
آمپول***	----	$4/40 \pm 0/60$	----	--
	۲/۵۰	$7/17 \pm 2/21$	۰/۵۳	۱۱۰/۸
	۵/۰۰	$10/13 \pm 3/25$	۰/۹۷	۱۱۴/۶
	۷/۵۰	$11/68 \pm 1/27$	۰/۷۴	۹۷/۱
مقدار بر حسب روی آمپول (mg/mL)		مقدار اندازه‌گیری شده (mg/mL)		
۴۰/۰۰		$41/58 \pm 5/71$		

* محدوده اطمینان در سطح اطمینان ۹۵٪

** مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای سه اندازه‌گیری تکراری ۴/۳۰ می‌باشد

*** آمپول دوپامین هیدرو کلرید، شرکت کاسپین تامین، ایران (با برچسب ۲۰۰ mg/۵ mL)

بر اساس نتایج به‌دست آمده در این مطالعه می‌توان گفت که طرح مرکب مرکزی مرکز وجوه پر ابزار مفید و نوید بخشی برای مطالعات الکتروشیمیایی است، که منجر به بهینه سازی دقیق عوامل و پارامترهای موثر در روند آزمایش می‌شود. حسگر الکتروشیمیایی تهیه شده از حساسیت بالایی در اندازه‌گیری ولتامتری دوپامین برخوردار می‌باشد. مقایسه الکتروده تهیه شده در این مطالعه با گزارش‌های قبلی (جدول ۲-۳۰) نشان می‌دهد که الکتروده پیشنهادی دارای حد تشخیص و دامنه خطی قابل مقایسه و در برخی موارد بهتری از گزارش‌های قبلی می‌باشد. مزایای ذکر شده به‌همراه راحتی بازتولید سطح الکتروده، این سیستم را برای اندازه‌گیری

ولتامتری دوپامین فوق العاده مفید می‌سازد. همچنین به دلیل صحت بالای نتایج به دست آمده برای اندازه‌گیری دوپامین در نمونه‌های حقیقی، الکتروکود پیشنهادی برای اندازه‌گیری این ترکیب در نمونه‌های حقیقی قابل استفاده می‌باشد.

جدول (۲-۳) الکترودهای خمیر کربن اصلاح شده مختلف برای اندازه‌گیری دوپامین

منبع	ناحیه خطی دوپامین (میکرو مولار)	حد تشخیص دوپامین (میکرومولار)	آنالیت مورد اندازه‌گیری	روش اندازه‌گیری	نوع اصلاحگر
[۱۳۴]	۶/۰ - ۱۰۰۰/۰	۰/۳۹۰	DA	DPV	پلی رودامین
[۱۳۶]	۱/۰ - ۶۰/۰	۰/۱۵۰	DA	CV	موراکسید و ترتیتون-۱۰۰X
[۱۳۷]	۰/۲۰ - ۵۰۰/۰	۰/۰۳۰	DA	DPV	ترتیتون-۱۰۰X
[۱۳۸]	۰/۷۰ - ۷۰/۰	۰/۰۱۰	DA	DPV	اکسید گرافیت
[۱۳۹]	۰/۱۰ - ۱/۰	۰/۱۲۰	DA	DPV	نانو لوله کربن
[۱۴۳]	۱۰۰۰/۰ - ۳۰۰۰/۰	۰/۱۰۰	K ₄ Fe(CN) ₆ , DA	CV	سدیم دو دسیل سولفات
[۱۴۴]	۰/۸۰ - ۶۴/۰	۰/۱۰۰	DA, AA*	DPV	نانو ذرات نقره و نانو لوله کربن
[۱۴۵]	۵/۰ - ۲۷/۰	۰/۲۵۰	DA, UA**	DPV	پلی نفتول سبز
[۱۴۶]	۱/۰ - ۱۰۰/۰	۰/۵۰۰	DA, AA	DPV	کبالت سالوفن و تترا اکتیل آمونیوم برماید
[۱۴۷]	۰/۵۰ - ۵۰/۰	۰/۲۵۰	DA, AA	DPV	هیدروکسید کبالت و سدیم دو دسیل سولفات
[۱۴۸]	۵۰/۰ - ۱۰۰/۰	۰/۵۰۰	DA, AA, UA	DPV	پلی آرژنین
[۱۴۹]	۱/۹ - ۷۹/۴	۰/۵۲۰	DA, UA	DPV	نانو لوله کربن چند دیواره و ایندندیون
[۱۵۰]	۷/۰ - ۷۰/۰	۰/۰۰۹	DA, AA, UA	DPV	نانو پروسکیت
[۱۵۱]	۲/۰ - ۵۰/۰	۰/۱۳۰	DA, UA	DPV	نانو لوله کربن چند دیواره و سیکلو دکسترین
[۱۵۲]	۰/۰۰۴۰ - ۴۰۰/۰	۰/۰۲۰	DA, AA, UA	DPV	زیرکونیوم فسفات شده
[۱۵۳]	۰/۲۰ - ۴۰/۰	۰/۲۶۰	DA, AA, UA	DPV	سدیم دو دسیل سولفات و اکسید گرافن احیا شده
[۱۵۴]	۰/۰۰۵۰ - ۱۲۰/۰	۰/۰۰۲۰	DA, AA, AC***	DPV	شیف باز/نانو ذرات سولفید سرب
[۱۵۵]	۰/۰۰۸۰ - ۲۰۰/۰	۰/۰۳۰	DA, AA, UA	DPV	نانو لوله کربن چند دیواره و مایع یونی و نانو ساختار طلا
[۱۵۶]	۰/۱۰ - ۱۵۱/۰	۰/۰۳۰	DA, AA, UA	DPV	نانوذرات پالادیم/مایع یونی/نانو لوله کربن چند دیواره
تحقیق حاضر	۰/۲۰ - ۱۵/۰	۰/۰۷۳	DA	Ads DPV	متیل تیوراسیل

*آسکوربیک اسید **اوریک اسید ***استامینوفن

۲-۶ الکتروُد کربن شیشه اصلاح شده با نانو لوله کربنی چند دیواره و نانو ذرات طلا به عنوان حسگر جدید امپدیمتری و ولتامتری برهنه سازی برای اندازه گیری جم فیبروزیل

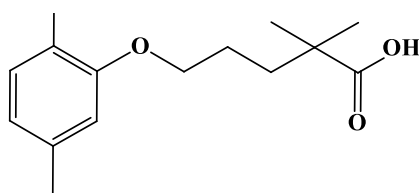
در سال های اخیر، یک تقاضای رو به رشد برای ساخت حسگرهای حساس و قابل اعتماد برای تعیین ترکیبات بیولوژیکی بوجود آمده است. در این راستا، ساخت حسگرهای الکتروشیمیایی با استفاده از الکترودهای اصلاح شده، همچنان بخش نسبتاً زیادی از تحقیقات الکتروشیمیایی را به خود اختصاص داده است [۱۵۸، ۱۵۷، ۲]. اصلاح سنجیده سطح الکترودها با مواد مناسب، انتقال الکترون ترکیبات بیولوژیکی ردوکس را تسهیل می کند، که به طور کلی به افزایش گزینش پذیری و حساسیت در تعیین این ترکیبات منجر می شود. در نتیجه، انتخاب اصلاحگر مناسب نقش کلیدی برای تهیه این نوع حسگرها ایفا می کند.

نانو ذرات فلزات نجیب، به ویژه نانو ذرات طلا، به دلیل خواص الکترونی، نوری، حرارتی و کاتالیتیکی ویژه ای که دارند، در علوم مختلف نظیر شیمی، فیزیک، زیست، پزشکی و علوم بین رشته ای کاربردهای گسترده ای دارند [۱۵۹]. این نانو ذرات هم چنین به دلیل سازگاری زیستی، خاصیت رسانایی بسیار خوب و نسبت سطح به حجم بالا، بسیار مورد توجه الکتروشیمیدان ها بوده اند [۱۶۰]. خواص منحصر به فرد ذکر شده، نانو ذرات طلا را برای استفاده به عنوان زیست حسگر، حسگر شیمیایی و الکتروکاتالیزور بسیار مفید می سازند. نسبت بالای سطح به حجم و مکان های فعال نانو ذرات طلا، بخشی از نیرو محرکه ی لازم برای توسعه الکتروکاتالیزورهای با اندازه نانو را فراهم می کند [۱۶۰]. روش های زیادی برای نشان دادن نانو ذرات طلا روی سطح الکتروُد برای کاربردهای الکتروکاتالیتیکی گزارش شده است، که شامل قرار گرفتن روی سطح^۱ بوسیله جاذبه الکترو استاتیکی، اتصال کووالانسی، ترسیب الکتروشیمیایی و غیره می شود [۱۶۰]. در این میان، ترسیب الکتروشیمیایی به دلیل توانایی

^۱Anchoring

کنترل اندازه نانو ذرات تشکیل شده از اهمیت بسزایی برخوردار است [۵۲].

جم فیبروزیل^۱ ($pK_a=4/7$) شکل (۲-۳۲)، برای پایین آوردن کلسترول لیپوپروتئین کم چگال^۲ (LDL)، تری گلیسیریدها و افزایش سطح لیپوپروتئین پرچگال^۳ (HDL) در خون استفاده می‌شود [۱۶۱]. جم فیبروزیل، از تجزیه چربی در بافت چربی جلوگیری می‌کند و ساخت تری گلیسرید کبد را کاهش می‌دهد [۱۶۲]. مصرف همزمان داروهای ضد انعقاد خوراکی با جم فیبروزیل ممکن است اثر ضد انعقادی این داروها را به‌طور قابل توجهی افزایش دهد [۱۶۳]. موارد منع مصرف این دارو شامل: حساسیت مفرط به دارو، بیماری کیسه صفرا، اختلال عملکرد کبد (از جمله سیروز صفراوی اولیه) یا اختلال شدید عملکرد کلیوی می‌باشد [۱۶۴]. این دارو خاصیت چربی دوستی داشته و حلالیت پایینی در آب دارد [۱۶۵]. بیشترین کاربرد این دارو در درمان افزایش چربی خون می‌باشد [۱۶۶].



شکل (۲-۳۲): فرمول ساختاری جم فیبروزیل [۱۶۶].

تنها مطالعه الکتروشیمیایی صورت گرفته برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل توسط فاتیبلو^۴ و همکاران در سال ۲۰۱۳، گزارش شده است. این اندازه‌گیری با استفاده از الکترود کربن شیشه اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی حاوی فیلم دی هگزادسیل هیدروژن فسفات^۵ انجام پذیرفته است [۱۶۶]. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که گستره خطی این الکترود برای جم فیبروزیل در ناحیه ۷۵/۰-۱۰۰۰/۰ نانو مولار بوده و حد تشخیص روش ۵۳/۰ نانو مولار است.

^۱ Gemfibrozil

^۲ Low density lipoprotein

^۳ High density lipoprotein

^۴ Fatibello

^۵ Dihexadecyl hydrogen phosphate

بنا به اهمیت این ترکیب دارویی و مطالعات بسیار محدود الکتروشیمیایی انجام شده بر روی آن، اندازه‌گیری این ترکیب به کمک الکترواد کربن شیشه اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره/ نانو ذرات طلا مورد بررسی قرار گرفت.

۲-۶-۱ تهیه الکترواد کربن شیشه اصلاح شده با نانو لوله کربنی چند دیواره و نانو ذرات طلا

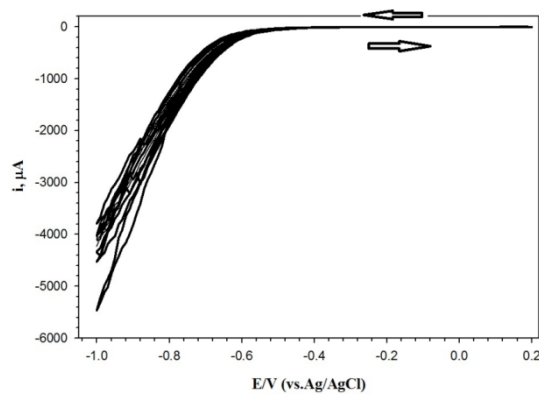
برای تهیه الکترواد کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره بدین صورت عمل شد: ابتدا، سطح الکترواد کربن شیشه‌ای به‌منظور دستیابی به یک سطح صیقلی و براق، با استفاده از دوغابی از پودر آلومینا (با میانگین اندازه ذرات $0.5 \mu\text{m}$) در سطح صفحه مخصوص صیقل دادن الکترواد، به‌طور مکانیکی آماده شد. به‌منظور زدودن ناخالصی‌های احتمالی موجود در سطح الکترواد، الکترواد به وسیله محلول رقیق نیتریک اسید با غلظت 0.1% میلی مولار در حمام فراصوت به مدت ۵ دقیقه شستشو داده شد. سپس نانو لوله‌های کربنی چند دیواره عامل‌دار شده با گروه‌های کربوکسیلیک اسید به عنوان اصلاح‌گر از طریق قطره گذاری در سطح الکترواد تثبیت گردید. در روش قطره گذاری، ابتدا مخلوط کاملاً همگنی از نانو لوله‌های کربنی چند دیواره در دی متیل فرماید با نسبت مشخص (0.80 mg/mL) تهیه و سپس $10 \mu\text{L}$ از این مخلوط به کمک میکروپیپت در سطح الکترواد کربن شیشه‌ای قطره گذاری شد. سپس حلال (دی متیل فرماید) با کمک لامپ IR تبخیر شد و الکترواد کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره (MWCNT/GCE)، تهیه گردید. برای اصلاح سطح MWCNT/GCE با نانو ذرات طلا، 10 mL میلی‌لیتر از محلول $1000 \mu\text{g/mL}$ تتراکلروآئوریک اسید به سل الکتروشیمیایی حاوی محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=7.0$ منتقل شد (حجم سل 10 mL میلی‌لیتر). الکترواد MWCNT/GC پس از شستشو با آب مقطر در این محلول قرار گرفت. سپس با روش ولتامتری چرخه‌ای و با اعمال دوازده چرخه پتانسیلی در محدوده $+0.2$ تا -1.0 ولت نسبت به الکترواد مرجع نقره / نقره کلرید (پتاسیم کلرید

۳/۰ M) با سرعت روبش 50 mV s^{-1} ، نانو ذرات طلا در سطح الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چنددیواره ترسیب شدند و الکترود اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره و نانو ذرات طلا (Au/MWCNT/GCE) تهیه شد. پس از اصلاح الکترود و شستشوی آن با آب دو بار تقطیر، به منظور زدودن ناخالصی‌ها و یا کاتیون‌های طلای باقیمانده در سطح، الکترود Au/MWCNT/GC در محلول بافر فسفاتی $\text{pH}=7/0$ قرار داده شد و سپس در همان محدوده سنتز نانو ذرات طلا، پنج روبش متوالی پتانسیل انجام شد.

۲-۶-۲ بررسی و مشخصه یابی الکترود اصلاح شده

۱-۲-۶-۲ سنتز الکتروشیمیایی نانو ذرات طلا

همانطور که در بخش (۱-۶-۲) اشاره شد، نانو ذرات طلا از طریق روش ولتامتری چرخه‌ای روی سطح MWCNT/GCE قرار گرفت. بر این اساس پس از تمیزکاری الکترود و قطره گذاری نانو لوله‌های کربنی مطابق روش ارائه شده در بخش (۱-۶-۲)، الکترود برای ترسیب نانو ذرات طلا در محلول بافر فسفاتی $\text{pH}=7/0$ حاوی $100/0 \mu\text{g/mL}$ HAuCl_4 قرار داده شد. روبش پتانسیل در محدوده $+0/20$ تا $-1/0$ ولت و با سرعت روبش 50 میلی ولت بر ثانیه انجام شد [۱۶۷،۵۲]. شکل ۲-۳۳ ولتاموگرام‌های حاصل را نشان می‌دهد. ترسیب این نانو ذرات در سطح الکترود توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی و طیف بینی پراش انرژی پرتو ایکس (EDX) تایید شد (نتایج در بخش ۲-۲-۶-۲ و ۳-۲-۶-۲ ارائه شده است).



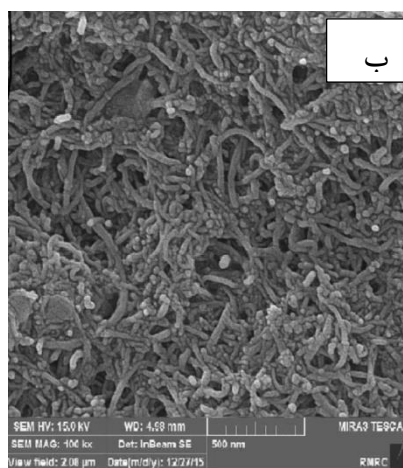
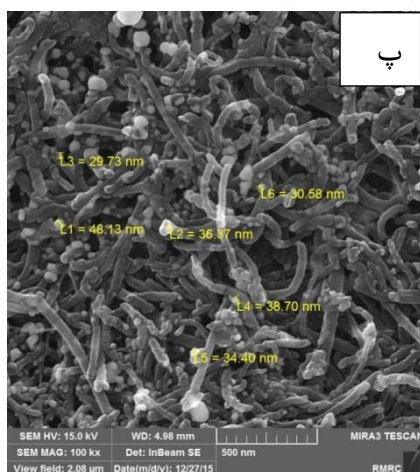
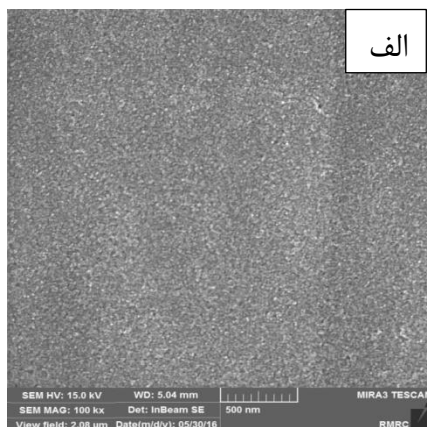
شکل (۲-۳۳): ولتاموگرام‌های چرخه‌ای (۱۲ چرخه) در محلول $100/0 \mu\text{g/mL}$ تتراکلروآنترویک اسید در بافر فسفاتی $\text{pH}=7/0$ ، سرعت روبش 50 mV s^{-1} .

۲-۲-۶-۲ ریخت شناسی و تعیین ترکیب کاتالیزگر

برای بررسی تغییرات ایجاد شده در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای در مراحل مختلف

اصلاح با استفاده از نانو لوله‌های کربنی و نانو ذرات طلا، از تصویر برداری میکروسکوپ الکترونی

روبشی (SEM) استفاده شد.



شکل (۲-۳۴): تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی الکتروود (الف) کربن شیشه‌ای اصلاح نشده (ب) کربن شیشه اصلاح شده با نانو لوله کربنی چند دیواره و (پ) الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره/نانو ذرات طلا.

شکل (۲-۳۴-الف)، تصویر SEM از سطح الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح نشده، شکل (۲-۳۴-ب) الکتروود کربن شیشه پس از اصلاح با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره و شکل (۲-۳۴-پ) تصویر SEM از سطح الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره/ نانو ذرات طلا را نشان می‌دهد (Au/MWCNT/GCE). همان‌طور که در شکل (۲-۳۴-پ) مشاهده می‌شود نانو ذرات طلا دارای شکل تقریباً کروی با قطر بین ۳۰ تا ۵۰ نانومتر می‌باشند.

هم‌چنین، به‌منظور تعیین ترکیب ساختار و درصد طلا و کربن موجود در کاتالیزگر، از آنالیز عنصری نمونه با استفاده از طیف بینی پراش انرژی پرتو ایکس (EDX) استفاده شد که نتایج حاصل در شکل (۲-۳۵) نمایش داده شده است. جدول ۲-۳۱، انرژی مشخصه مربوط به تراز انرژی هر یک از عناصر موجود در سطح الکتروود اصلاح شده را نشان می‌دهد.

جدول (۲-۳۱) جدول انرژی آنالیز EDX						عنصر
M_{β} (KeV)	M_{α} (KeV)	L_{β} (KeV)	L_{α} (KeV)	K_{β} (KeV)	K_{α} (KeV)	
-	-	-	-	-	۰/۲۷۷	کربن
۲/۲۰۳	۲/۱۲۳	۱۱/۴۴۳	۹/۷۱۳	۷۷/۹۸۲	۶۸/۸۰۶	طلا

به‌علت بالا بودن سطح انرژی ترازهای K عنصر طلا، طیف مربوط به آن قابل مشاهده و اندازه‌گیری نمی‌باشد. تنظیمات دستگاه مورد استفاده برای انجام آنالیز EDX در این مطالعه به نحوی بوده است که طیف سری L که دارای انرژی بیشتری از سری M است برای بررسی کمی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

اندازه‌گیری کمی هر عنصر در روش EDX از طریق تبدیل مساحت سطح زیر پیک به

غلظت با استفاده از تکنیک کلیف-لوریمر^۱ قابل انجام است [۱۶۸]. بر اساس این روش وقتی که بستر از دو عنصر تشکیل شده باشد، شدت جریان‌های مشخصه اشعه ایکس هر عنصر (I_A و I_B) از طریق رابطه (۲-۲۶) قابل محاسبه است:

$$\frac{C_A}{C_B} = ZAF \frac{I_A}{I_B} \quad (2-26)$$

که $\frac{C_A}{C_B}$ نسبت غلظتی گونه A به B می‌باشد. ZAF فاکتور تصحیح مربوط به عدد اتمی همه گونه‌های موجود در نمونه (Z)، جذب اشعه ایکس در نمونه (A) و میزان فلورسانس نمونه (F) است. جدول (۲-۳۲) درصد هر یک از عناصر موجود در سطح الکتروود را نشان می‌دهد.

سپس با استفاده از نتایج حاصل از درصد اتمی، درصد وزنی به صورت زیر قابل محاسبه است:

$$y = \text{جرم اتمی عنصر } X \times \text{درصد اتمی عنصر } X \quad (2-27)$$

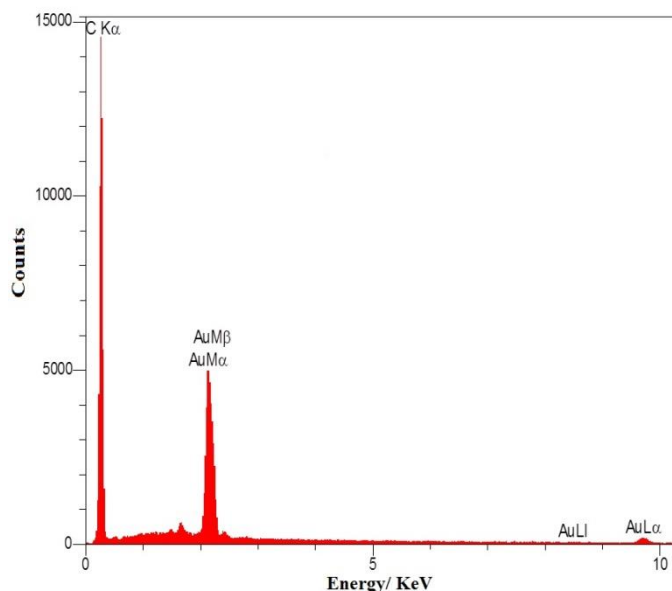
مجموع حاصلضرب جرم اتمی هر عنصر در درصد اتمی آن بدست آمده ($\sum y$) و از نسبت بین مقدار y به $\sum y$ درصد وزنی هر عنصر محاسبه می‌شود. به این ترتیب به عنوان مثال درصد وزنی کربن به صورت زیر قابل محاسبه خواهد بود:

$$(\sum y) = 196/96 \times 2/41 + 12/01 \times 97/59 = 1646/73$$

$$\frac{y}{\sum y} = \frac{12/01 \times 97/59}{1646/73} \times 100 = 71/17$$

درصد وزنی طلا نیز به همین ترتیب قابل محاسبه می‌باشد.

^۱ Cliff-Lorimer



شکل (۳۵-۲): طیف EDX، مربوط به Au/MWCNT/GCE.

جدول (۳۲-۲) داده‌های حاصل از آزمایش EDX بر روی الکترود Au/MWCNT/GC

عنصر	سری	ZAF	درصد اتمی	درصد وزنی
کربن	سری K	۰/۳۷۰۸	۹۷/۵۹	۷۱/۱۹
طلا	سری L	۰/۷۹۷۷	۲/۴۱	۲۸/۸۱

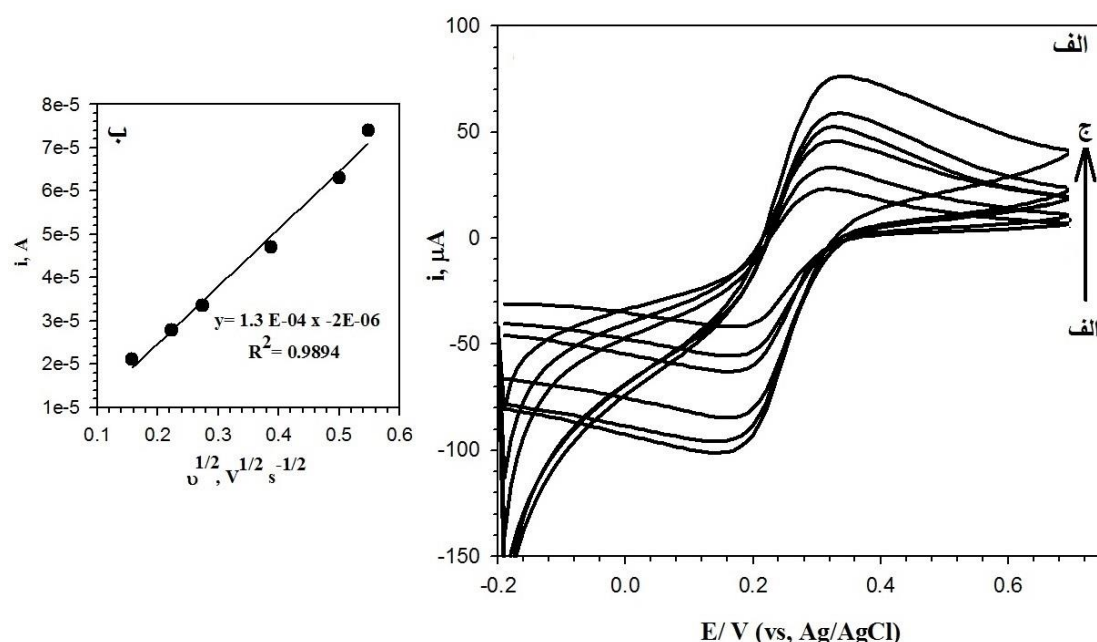
مجموع: ۱۰۰٪

۳-۲-۶-۲ اندازه‌گیری مساحت سطح الکترودهای اصلاح نشده و اصلاح شده

به‌منظور درک بهتر خاصیت الکتروشیمیایی Au/MWCNT/GCE، مساحت سطح فعال الکترودهای کربن شیشه اصلاح شده با Au/MWCNT، MWCNT و همچنین الکترود کربن شیشه اصلاح نشده به کمک ولتامتری چرخه‌ای در محلول $K_4Fe(CN)_6$ ، به‌عنوان گونه آزمایشی برگشت‌پذیر بررسی شد. شکل (۳۶-۲-الف) ولتاموگرام‌های حاصل از قرار دادن الکترود Au/MWCNT/GC را در محلول $K_4Fe(CN)_6$ ۱/۰ mM حاوی KCl ۰/۱۰ M و روبش پتانسیل در سرعت‌های روبش مختلف در محدوده ۲۵ تا ۳۰۰ میلی ولت بر ثانیه را نشان می‌دهد. همانطور که در شکل (۳۶-۲-ب) دیده می‌شود، شدت جریان دماغه آندی $K_4Fe(CN)_6$ با جذر سرعت روبش ارتباط خطی دارد که این امر نشانگر انتشاری بودن فرآیند انتقال الکترون است. سطوح الکترودهای Au/MWCNT/GC، MWCNT/GC و GC طبق معادله راندلس-سویک (معادله ۱-۱) و روابط ذکر شده در بخش ۲-۲-۴-۲ محاسبه

شد. در این مطالعات شیب نمودار جریان بر حسب جذر سرعت روبش برای الکتروود کربن شیشه اصلاح شده با Au/MWCNT برابر با $1/30 \times 10^{-4}$ ، الکتروود کربن شیشه اصلاح شده با MWCNT برابر با $6/30 \times 10^{-5}$ و برای الکتروود کربن شیشه اصلاح نشده برابر با $1/95 \times 10^{-5}$ به دست آمد. به این ترتیب، مساحت سطح الکتروفعال Au/MWCNT/GCE برابر با $0/190$ سانتی متر مربع، MWCNT/GCE برابر با $0/0920$ سانتی متر مربع (شکل ۱۱ پ) و برای GCE $0/0280$ سانتی متر مربع محاسبه شد.

نتایج به دست آمده نشان می دهد که در حضور نانولوله های کربنی چند دیواره مساحت سطح الکتروفعال الکتروود بیش از ۲۲۰٪ افزایش می یابد. در حالیکه با به کارگیری همزمان نانوذرات طلا و نانولوله های کربنی افزایش سطح الکتروود نسبت به زمانی که تنها از نانولوله های کربنی به عنوان اصلاحگر استفاده شود سطح الکتروود حدود ۱۰۶٪ افزایش می یابد. این شواهد بیان گر میزان افزایش سطح الکتروفعال الکتروود در حضور اصلاحگرهای به کار گرفته شده می باشد.



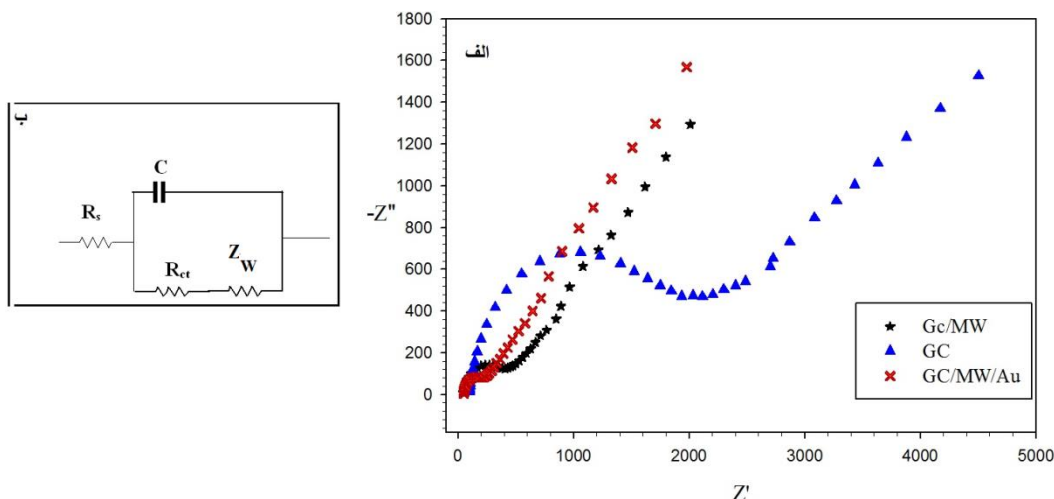
شکل (۳۶-۲): (الف) ولتاموگرام های چرخه ای Au/MWCNT/GCE در محلول $1/0$ mM $K_4Fe(CN)_6$ حاوی M در سرعت روبش های مختلف: (الف تا ج) مربوط به سرعت های روبش ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۵۰، ۲۵۰، و ۳۰۰ میلی ولت بر ثانیه می باشند. (ب) نمودار تغییرات شدت جریان دماغه آندی بر حسب جذر سرعت روبش.

۳-۶-۲ مطالعات طیف‌بینی امپدانس الکتروشیمیایی سطح الکترودهای مختلف

میزان مقاومت انتقال بار بین واکنشگر و سطح الکتروده Au/MWCNT/GC با استفاده از روش طیف‌بینی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS) بررسی شد. برای مقایسه، مطالعه EIS در سطح الکترودهای GC اصلاح نشده و MWCNT/GC نیز انجام گرفت (شکل ۲-۳۷ الف). مدار معادل شده برای طیف‌های امپدانس مشاهده شده در شکل (۲-۳۷ ب) نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، در سطح الکتروده GC، نیم دایره بزرگی در نمودار نایکوئیست^۱ مشاهده می‌شود، در حالیکه با اصلاح سطح الکتروده GC با MWCNT و MWCNT/Au ، قطر نیم دایره کوچک‌تر می‌شود. این نتایج نشان می‌دهد که هدایت الکتریکی الکتروده در حضور این کاتالیزورها افزایش یافته است.

در یک دیدگاه کلی، سل الکتروشیمیایی در پاسخ به محرک ولتاژ سینوسی کوچک می‌تواند به‌سادگی به‌صورت یک امپدانس در نظر گرفته شود، بنابراین ما قادر خواهیم بود عملکرد آنرا به‌وسیله یک مدار متشکل از مقاومت و خازن نشان دهیم [۶۸]. در مدار معادل طراحی شده برای نمودار نایکوئیست الکترودهای اصلاح نشده و اصلاح شده R_s ، C و R_{ct} به‌ترتیب مقاومت محلول، ظرفیت خازنی لایه دوگانه و مقاومت در برابر انتقال بار را نشان می‌دهند. Z_w نیز مربوط به انتشار خطی نیمه متناهی واکنشگر می‌باشد.

^۱ Nyquist plot



شکل (۲-۳۷): (الف) نمودار نایکوئیست در سطح الکترودهای GC اصلاح نشده، MWCNT/GC و Au/MWCNT/GC در محلول ۵/۰ میلی مولار پتاسیم هگزا سیانو فرات/ پتاسیم هگزا سیانو فریت حاوی ۰/۵۰ مولار پتاسیم کلرید، محدوده فرکانس ۰/۱ Hz تا ۱۰۰۰۰۰ Hz. (ب) نمایش طرح نموداری مدار معادل شده.

۴-۶-۲ معرفی سیستم الکتروشیمیایی مورد استفاده برای اندازه گیری جم فیبروزیل

الکترو کربن شیشه ای اصلاح شده با نانو لوله های کربنی چند دیواره و نانو ذرات طلا در

غیاب جم فیبروزیل در محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=3.0$ قرار داده شد (ولتاموگرام های ۱ در

شکل ۲-۳۸ الف و ب). همانطور که مشاهده می شود در محدوده پتانسیلی ۰/۹۰ تا ۱/۵۰ +

ولت هیچ دماغه ای مشاهده نمی شود، که این امر نشانگر غیر الکترو فعال بودن الکتروود اصلاح

شده در ناحیه پتانسیلی آزمایش است. همچنین در شکل (۲-۳۸)، ولتاموگرام های چرخه ای و

موج مربعی الکتروودهای کربن شیشه ای اصلاح نشده (۲)، اصلاح شده با نانو لوله های کربنی چند

دیواره (۳) و اصلاح شده با نانو لوله های کربنی چند دیواره/ نانو ذرات طلا (۴) در محلول بافر

فسفاتی با $\text{pH}=3.0$ دارای ۳۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل مشاهده می شود. همانگونه که در

شکل (۲-۳۸ الف) دیده می شود، اکسایش جم فیبروزیل در سطح تمام الکتروودها به صورت

برگشت ناپذیر اتفاق می افتد. در سطح الکتروود کربن شیشه ای اصلاح نشده، پاسخ ولتامتری جم

فیبروزیل شدت جریان کمی در پتانسیل ۱/۳۴ ولت نسبت به الکتروود مرجع نشان می دهد

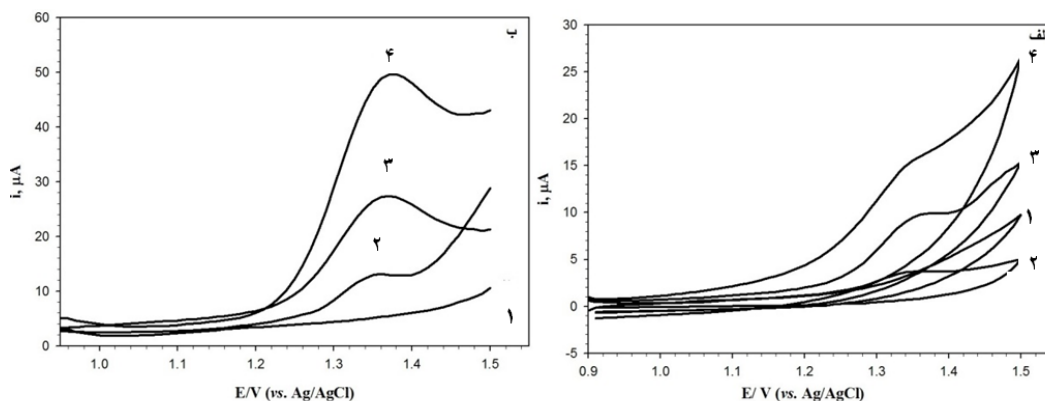
(شکل ۲-۳۸ الف - منحنی ۲). در حالی که در سطح الکتروود اصلاح شده با نانو لوله های کربنی

شدت جریان دماغه آندی جم فیبروزیل افزایش می یابد بدون آنکه جابجایی در پتانسیل

اکسایش دیده شود (شکل ۲-۳۸ الف- منحنی ۳). این افزایش در شدت جریان می‌تواند مربوط به افزایش مساحت سطح فعال الکتروود در حضور نانو لوله‌های کربنی باشد. هم‌چنین مشاهده می‌گردد که شدت جریان اکسایش جم فیبروزیل در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چنددیواره/ نانو ذرات طلا (شکل ۲-۳۸ الف- منحنی ۴)، نسبت به الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چنددیواره بیشتر است (پتانسیل اکسایش ۱/۳۴ ولت). این مشاهده حاکی از آن است که تثبیت نانو ذرات طلا در سطح نانو لوله‌های کربنی چنددیواره موجود بر سطح الکتروود کربن شیشه‌ای، کارآیی الکتروود را در الکترواکسایش جم فیبروزیل به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌دهد. اگرچه با توجه به عدم جابجایی پتانسیل نمی‌توان اثر الکتروکاتالیزوری برای این اصلاحگر در نظر گرفت، اما علت این افزایش جریان را علاوه بر افزایش سطح الکتروفعال و افزایش هدایت الکتریکی، می‌توان به قابلیت این نانوذرات برای تسهیل جذب سطحی جم فیبروزیل در سطح الکتروود اصلاح شده دانست (توضیحات بیشتر در بخش ۲-۶-۸ ارائه شده است). با توجه به اینکه نتایج به دست آمده از داده‌های ولتامتری موج مربعی، تایید کننده داده‌های ولتامتری چرخه‌ای است (از نظر افزایش جریان و هم‌چنین عدم جابجایی دماغه اکسایش جم فیبروزیل) و با توجه حساسیت بیشتر ولتامتری موج مربعی، این تکنیک برای مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گرفت. علاوه بر این، بررسی‌های صورت گرفته نشان داد که جریان اکسایش جم فیبروزیل با اعمال زمان‌های انباشت متفاوت (بدون اعمال پتانسیل) از شدت بیشتری نسبت به حالت بدون انباشت برخوردار بوده است (توضیحات بیشتر در بخش ۲-۶-۸ ارائه شده است). از اینرو به دلیل کارایی بالای ولتامتری برهنه سازی جذب سطحی، اکسایش جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE، با استفاده از این روش مورد مطالعه قرار گرفت.

در این مطالعه، شدت جریان اندازه‌گیری شده جم فیبروزیل در محلول بافر فسفاتی در

پتانسیل ۱/۳۴ ولت به عنوان سیگنال آنالیت و شدت جریان در محلول بافر فسفاتی در غیاب جم فیبروزیل در این پتانسیل مربوط به سیگنال شاهد در نظر گرفته شد. اختلاف بین شدت جریان دماغه آنالیت و شدت جریان شاهد در پتانسیل ۱/۳۴ ولت به عنوان سیگنال تجزیه‌ای برای انجام سایر بررسی‌ها مورد استفاده قرار گرفته شده است.



شکل (۲-۳۸): ولتاموگرام‌های (الف) چرخه‌ای و (ب) موج مربعی ۳۰۰ میکرومولار جم فیبروزیل در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH} = 3.0$ در سطح الکترودهای کربن شیشه‌ای اصلاح نشده (۲)، اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چنددیواره (۳) و اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چنددیواره/نانو ذرات طلا (۴). منحنی (۱) در (الف و ب)، به ترتیب ولتاموگرام چرخه‌ای و موج مربعی الکترودهای کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چنددیواره/نانو ذرات طلا را در غیاب جم فیبروزیل نشان می‌دهد. زمان انباشت ۵۰ ثانیه، زمان استراحت ۱۰ ثانیه، سرعت روبش در ولتامتری چرخه‌ای ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه می‌باشد. برای ولتاموگرام موج مربعی ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و فرکانس ۴۰ هرتز.

۲-۶-۵ بهینه سازی شرایط آزمایش

بهینه‌سازی پارامترهای موثر بر شدت جریان دماغه اکسایش جم فیبروزیل نظیر pH محیط، نوع بافر، حجم بافر، شرایط آماده سازی الکترودها و شرایط اندازه‌گیری (مانند پتانسیل و زمان انباشت و پارامترهای دستگاهی) اهمیت به‌سزایی در رسیدن به حداکثر جریان اکسایشی دارند. در این بخش از پروژه از روش یک متغیر در یک زمان برای بهینه سازی پارامترهای موثر استفاده گردید.

۲-۶-۵-۱ روش کار کلی برای بهینه سازی پارامترهای موثر بر اکسایش جم فیبروزیل

همانطور که اشاره شد، به‌منظور دسترسی به بهترین سیگنال تجزیه‌ای برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل به کمک الکترودها اصلاح شده Au/MWCNT/GC ، از روش تک متغیره استفاده

شد. به این ترتیب که هنگام بهینه سازی هر پارامتر سایر پارامترهای موثر ثابت در نظر گرفته شدند.

فرآیند تهیه الکتروود در این مرحله به این صورت انجام شد که نانو لوله‌های کربنی از طریق قطره‌گذاری در سطح الکتروود تثبیت گردید. در روش قطره‌گذاری، ابتدا مخلوط کاملاً همگنی از نانو لوله‌های کربنی چند دیواره در دی متیل فرماید با نسبت مشخص (mg/mL ۰/۱۰) تهیه و سپس $100 \mu\text{L}$ از این مخلوط به کمک میکروپیپت در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای قطره‌گذاری شد. سپس حلال (دی متیل فرماید) با کمک لامپ IR تبخیر شد و الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره (MWCNT/GCE)، تهیه گردید. برای اصلاح سطح MWCNT/GCE با نانو ذرات طلا، الکتروود پس از شستشو با آب مقطر در محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=7.0$ حاوی $250 \mu\text{g/mL}$ تتراکلروآئوریک اسید (غلظت مورد استفاده قبل از بهینه سازی) قرار داده شد. سپس با روش ولتامتری چرخه‌ای و با اعمال دوازده چرخه پتانسیلی در محدوده $+0.2$ تا -1.0 ولت نسبت به الکتروود مرجع نقره/نقره کلرید (پتانسیم کلرید 3.0 M) با سرعت روبش 50 mV s^{-1} ، نانو ذرات طلا در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چنددیواره ترسیب شدند و الکتروود اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره و نانو ذرات طلا (Au/MWCNT/GCE) تهیه شد. سپس 100 mL از محلول استاندارد جم فیروزیل با غلظت 0.30 mL میلی مولار به سل الکتروشیمیایی منتقل شد و pH محیط با افزودن مقدار مشخصی از بافر فسفاتی در pH معین تنظیم شد. پس از آن، حجم محلول با استفاده از آب دو بار تقطیر به 100 mL میلی لیتر رسانده شد. سپس الکتروودها داخل سل الکتروشیمیایی قرار داده شدند و همزن مغناطیسی روشن شد و سپس انباشت به صورت مدار باز^۱ برای مدت زمان معین در سطح الکتروود Au/MWCNT/GC انجام شد. پس از پایان زمان انباشت، همزن خاموش شد و پس از 10 ثانیه زمان استراحت، ولتاموگرام موج

^۱ Open circuit

مربعی در محدوده $+0/90$ تا $+1/50$ ولت نسبت به الکتروُد مرجع نقره/نقره کلرید (پتاسیم کلرید $3/0$ مولار) ثبت شد. پارامترهای دستگاهی ولتامتری موج مربعی به هنگام ثبت ولتاموگرام‌ها عبارت بود از ارتفاع پالس 50 میلی ولت و فرکانس 50 هرتز. برای ثبت سیگنال شاهد (در مرحله قبل از اندازه‌گیری جم فیبروزیل)، الکتروُد کار در محلول با شرایط pH و نوع بافر یکسان با مرحله اندازه‌گیری جم فیبروزیل (ولی فاقد جم فیبروزیل) قرار گرفت و شدت جریان متناظر با پتانسیل دماغه اکسایش جم فیبروزیل به عنوان سیگنال شاهد در نظر گرفته شد. هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد. شدت جریان میانگین این اندازه‌گیری‌ها در بررسی‌های انجام شده مورد استفاده قرار گرفت. به منظور پاکسازی سطح الکتروُد و از بین بردن اثر حافظه جم فیبروزیل باقیمانده روی سطح الکتروُد اصلاح شده بعد از هر اندازه‌گیری، پنج روبش چرخه‌ای متوالی در محدوده $+0/90$ تا $+1/50$ در محلول شاهد با سرعت روبش 100 mVs^{-1} انجام شد (شکل ۱۲ پ).

۲-۵-۶-۲ تعیین pH بهینه و نوع بافر در اکسایش جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE

تقریباً تمام ترکیبات دارویی باز یا اسید ضعیف هستند، به این معنی که این ترکیبات دارای حداقل یک موقعیت هستند که می‌تواند بصورت برگشت پذیر پروتون گرفته و یا از دست دهد [۱۶۹]. به این دلیل تاثیر pH محیط بر پاسخ ولتامتری جم فیبروزیل و تعیین مقدار بهینه این پارامتر به روش زیر بررسی شد:

پس از تهیه الکتروُد اصلاح شده به روش شرح داده شده در بخش ۲-۵-۶-۱، به منظور بررسی تاثیر تغییر pH بر پاسخ الکتروشیمیایی جم فیبروزیل، $4/0$ میلی لیتر بافر فسفاتی $0/067$ مولار با pH های متفاوت در گستره $2/0$ تا $6/0$ به سل الکتروشیمیایی اضافه شد و پس از افزودن $1/0$ میلی لیتر از جم فیبروزیل $0/30$ میلی مولار، حجم محلول موجود در سل توسط آب دو بار تقطیر به $10/0$ میلی لیتر رسانده شد. سپس الکتروُد داخل سل الکتروشیمیایی

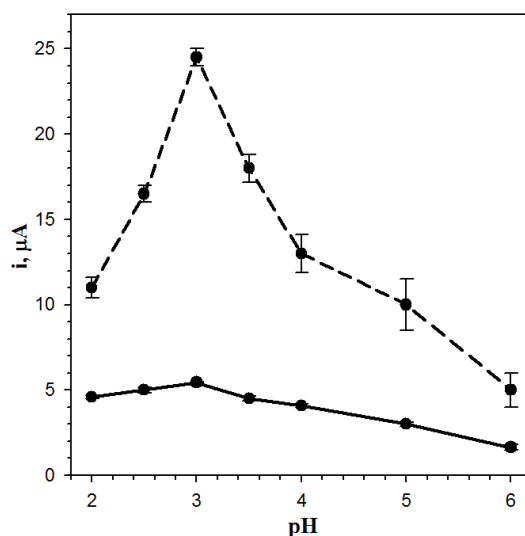
قرار داده شدند و همزن مغناطیسی روشن شد. سپس انباشت در شرایط مدار باز و به مدت ۷۰ ثانیه انجام شد. پس از خاموش کردن همزن و پس از ۱۰ ثانیه زمان استراحت، ولتاموگرام موج مربعی در محدوده +۰/۹۰ تا +۱/۵۰ ولت ثبت شد (ارتفاع پالس ۵۰ mV، فرکانس ۵۰ Hz). هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد. میانگین جریان آندی حاصل از اکسایش جم فیبروزیل (پس از تفریق از جریان زمینه) بر حسب تغییرات pH (در گستره ۲/۰ تا ۶/۰) رسم گردید. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳۳-۲) و شکل (۳۹-۲) خط چین) ارائه شده است.

جدول (۳۳-۲) نتایج به‌دست آمده از شدت جریان دماغه اکسایش ۳۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با pH های مختلف در سطح Au/MWCNT/GCE به کمک روش ولتامتری موج مربعی جذب سطحی

pH	۲/۰	۲/۵	۳/۰	۳/۵	۴/۰	۵/۰	۶/۰
سیگنال تجزیه‌ای (μA)	11.0 ± 0.6	16.5 ± 0.5	24.5 ± 0.5	18.0 ± 0.8	13.0 ± 1.1	10.0 ± 1.5	5.0 ± 1.0

همان‌طور که ملاحظه می‌شود، pH محیط بر جریان اکسایش جم فیبروزیل تاثیر بسزایی دارد. با افزایش pH محیط، شدت جریان افزایش می‌یابد تا در $pH=3.0$ به بیشترین مقدار رسیده و سپس کاهش می‌یابد. با توجه به اینکه جم فیبروزیل دارویی با خصلت اسید ضعیف است ($pK_a=4.7$) [۱۷۰]، با افزایش pH به فرم غیر پروتونه خود (COO^-) تبدیل می‌شود و این امر می‌تواند علت کاهش شدت جریان در pH های بالاتر از pK_a باشد. در این مطالعه، $pH=3.0$ به‌عنوان pH بهینه جهت اندازه‌گیری جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE انتخاب شد.

بررسی تاثیر تغییر pH (در گستره ۲/۰ تا ۶/۰) بر پاسخ الکتروشیمیایی جم فیبروزیل، بدون اعمال زمان انباشت نیز انجام شد. نتایج حاصل در شکل (۳۹-۲) به‌صورت خط پر ارائه شده است. همان‌طور که در شکل دیده می‌شود شدت جریان اکسایش جم فیبروزیل با تغییرات pH در حالت بدون جذب سطحی تقریباً ثابت بوده است.



شکل (۲-۳۹): نمودار تغییرات جریان آنودی بر حسب pH بافر فسفاتی برای محلول ۳۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در سطح الکترود Au/MWCNT/GC با روش ولتامتری موج مربعی جذب سطحی. خط چین: پس از اعمال زمان انباشت: ۷۰ ثانیه، خط پر: بدون اعمال زمان انباشت، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و فرکانس ۵۰ هرتز.

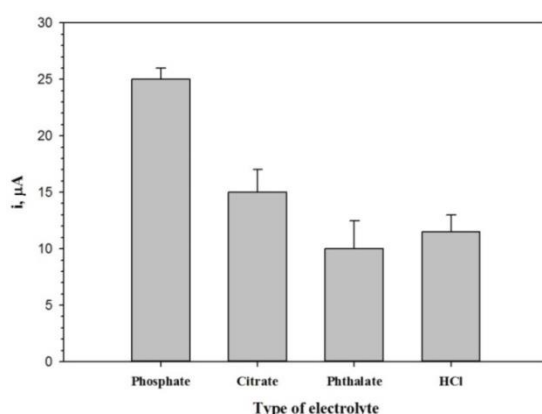
این در حالیهست که پس از اعمال مدت زمان ۷۰ ثانیه برای جذب سطحی جم فیبروزیل روی سطح الکترود، تغییر شدت جریان اکسایش جم فیبروزیل با تغییر pH محسوس می‌باشد. این نتایج نشانگر تاثیرپذیری اکسایش جم فیبروزیل در pH های مختلف از فرآیند جذب سطحی می‌باشد.

با توجه به اهمیت نقش الکترولیت حامل در واکنش‌های الکتروشیمیایی، علاوه بر بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار، الکترولیت‌های حامل مختلفی نظیر بافر سیتراتی ۰/۰۷۲ مولار، فتالاتی ۰/۰۴۰ مولار و محلول هیدروکلریک اسید ۰/۰۰۱۰ مولار حاوی ۰/۰۲۰ مولار KCl در pH=۳/۰ مورد بررسی قرار گرفتند. این بررسی به منظور تعیین بهترین الکترولیت حامل برای اندازه‌گیری شدت جریان اکسایش جم فیبروزیل انجام شد. نتایج به‌دست آمده (جدول ۲-۳۴ و شکل ۲-۴۰)، نشان می‌دهد که سیگنال تجزیه‌ای اکسایش جم فیبروزیل در بافر فسفاتی هم از شدت بالاتر و هم از تکرارپذیری بهتری برخوردار بوده است. در نتیجه در مطالعات بعدی از بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار pH=۳/۰ به عنوان بافر بهینه برای اندازه‌گیری اکسایش جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE استفاده شد.

جدول (۲-۳۴): نتایج حاصل از شدت جریان دماغه اکسایش ۳۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در الکترولیت‌های حامل متفاوت با pH=۳/۰ در سطح Au/MWCNT/GCE به کمک روش ولتامتری موج مربعی جذب سطحی

انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)	سیگنال تجزیه‌ای* (μA)	نوع الکترولیت حامل
۰/۹	۲۵/۰	فسفاتی
۱/۳	۱۵/۰	سیتراتی
۱/۸	۱۰/۰	فتالاتی
۱/۲	۱۱/۵	هیدروکلریک اسید

* میانگین سه اندازه‌گیری



شکل (۲-۴۰): نمودار تغییرات میزان شدت جریان آنودی بر حسب نوع الکترولیت حامل در pH=۳/۰ حاوی ۳۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE با روش ولتامتری موج مربعی. زمان انباشت: ۷۰ ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و فرکانس ۵۰ هرتز.

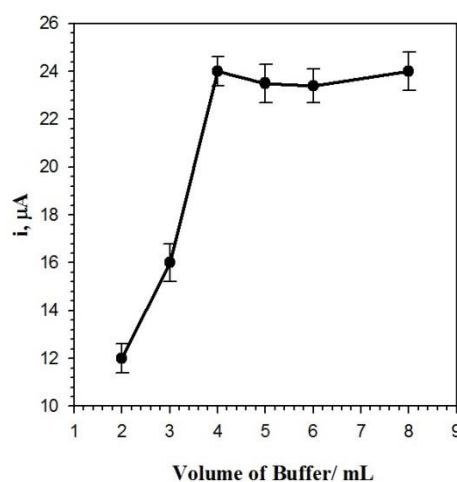
۲-۶-۳ تعیین حجم بافر در اکسایش جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE

در این بخش از مطالعه به منظور تعیین حجم بهینه بافر که نقش الکترولیت حامل را ایفا می‌کند، تاثیر حجم‌های مختلفی از بافر فسفاتی pH=۳/۰ در گستره ۲/۰ تا ۸/۰ میلی‌لیتر بر شدت جریان اکسایش جم فیبروزیل مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده (شکل ۲-۴۱ و جدول ۲-۳۵)، نشان می‌دهد که با افزایش حجم الکترولیت حامل تا ۴/۰ میلی‌لیتر شدت جریان اکسایش جم فیبروزیل افزایش می‌یابد، در حالیکه در حجم‌های بالاتر تغییری در شدت جریان مشاهده نمی‌شود. برای توجیه این مشاهدات می‌توان گفت که با افزایش حجم بافر (الکترولیت حامل) هدایت محلول زیاد شده، مقاومت درونی آن کاهش یافته و در نتیجه جریان افزایش می‌یابد.

جدول (۲-۳۵): نتایج حاصل از بررسی حجم‌های متفاوت بافر فسفاتی در $\text{pH}=3.0$ بر شدت جریان دماغه اکسایش $3.0/0$ میکرومولار جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE به کمک روش ولتامتری موج مربعی

انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)	سیگنال تجزیه‌ای* (μA)	سیگنال شاهد* (μA)	حجم بافر (mL)
۱/۰	۱۲/۰	۹/۵	۲/۰
۱/۱	۱۶/۰	۹/۰	۳/۰
۰/۹	۲۴/۰	۸/۴	۴/۰
۰/۹	۲۳/۵	۸/۴	۵/۰
۰/۹	۲۳/۴	۸/۳	۶/۰
۰/۶	۲۴/۰	۸/۳	۸/۰

* میانگین سه اندازه‌گیری



شکل (۲-۴۱): نمودار تغییرات میزان شدت جریان آنودی جم فیبروزیل بر حسب حجم بافر فسفاتی $0.027/0$ مولار در $\text{pH}=3.0$ حاوی $3.0/0$ میکرومولار جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE با روش ولتامتری موج مربعی. زمان انباشت: ۷۰ ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و فرکانس ۵۰ هرتز.

در حالیکه در حجم‌های بالاتر از $4/0$ میلی‌لیتر قدرت یونی محیط ثابت باقی می‌ماند که می‌توان این امر را در ثبات سیگنال شاهد در حجم‌های بالاتر مشاهده کرد. بنابراین حجم $4/0$ میلی‌لیتر از بافر فسفاتی $\text{pH}=3.0$ به‌عنوان حجم بهینه انتخاب و در بررسی‌های بعدی استفاده شد.

۲-۵-۴ بهینه سازی غلظت نانو لوله‌های کربنی چند دیواره

می‌دانیم که حساسیت در سطح الکترودهای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند

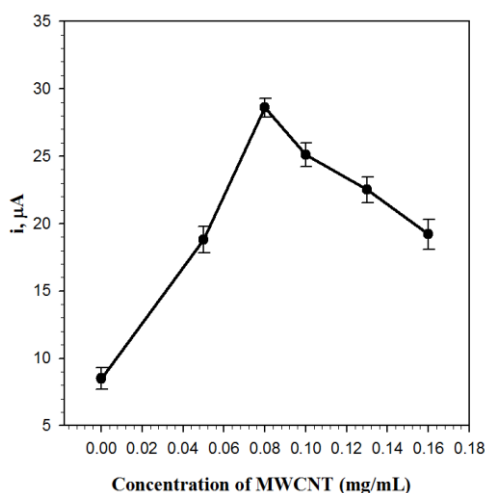
دیواره، به مقدار این اصلاحگر در سطح الکتروده وابسته است. بنابراین، به منظور تعیین غلظت بهینه MWCNT، الکترودهایی با غلظت‌های مختلف از MWCNT در گستره ۰/۰ تا ۰/۱۶۰ میلی گرم بر میلی لیتر و غلظت ثابتی از محلول تترا کلرو آئوریک اسید تهیه شد. به این منظور، در هر مرحله مقادیر مشخصی از نانو لوله‌های کربنی با ۱۰/۰ میلی لیتر DMF مخلوط شد. سپس این مخلوط برای همگن سازی، به مدت ۳۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار گرفت. ۱۰/۰ میکرو لیتر از مخلوط حاصل با استفاده از میکروپیپت روی سطح الکتروده قطره گذاری شد. پس از آن، الکتروده قطره گذاری شده در محلول $25/0 \mu\text{g/mL}$ تترا کلرو آئوریک اسید قرار داده شد. ترسیب نانو ذرات طلا طی ۱۲ روبش متوالی پتانسیل در محدوده $+0/20$ تا $-1/00$ ولت و با سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد. سپس الکتروده اصلاح شده Au/MWCNT/GCE در محلول بافر فسفاتی $\text{pH}=3/0$ قرار گرفت، پس از روشن کردن همزن، انباشت روی سطح الکتروده اصلاح شده در محلول حاوی جم فیبروزیل با غلظت ۳۰/۰ میکرومولار به مدت ۷۰ ثانیه و بدون اعمال پتانسیل انجام شد. سپس همزن خاموش شد و پس از ۱۰ ثانیه زمان استراحت ولتاموگرام موج مربعی ثبت شد و شدت جریان در پتانسیل ۱/۳۴ ولت نسبت به الکتروده مرجع اندازه گیری و به عنوان سیگنال نمونه ثبت شد. سیگنال شاهد همانند سیگنال نمونه اندازه گیری شد با این تفاوت که به محلول شاهد، جم فیبروزیل اضافه نشد. نتایج حاصل در جدول (۲-۳۶) و شکل (۲-۴۲) گزارش شده است.

همان طور که در شکل دیده می شود شدت جریان دماغه تا غلظت ۰/۰۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر از MWCNT، افزایش می یابد و در غلظت‌های بالاتر شدت جریان با افت روبرو می شود. با توجه به جدول (۲-۳۶)، این امر می تواند به دلیل جریان‌های زمینه بیشتر هنگام به کارگیری غلظت‌های بالاتر MWCNT باشد. در واقع به دلیل افزایش جریان زمینه، سیگنال تجزیه ای کاهش می یابد.

جدول (۲-۳۶) نتایج حاصل از بررسی غلظت MWCNT با کمک روش ولتامتری موج مربعی در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH} = 3/0$ حاوی ۳۰/۰ میکرو مولار جم فیبروزیل

MWCNT:DMF (mg/mL)	سیگنال شاهد * (μA)	سیگنال تجزیه‌ای * (μA)	انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)
۰/۰۰	۳/۰	۸/۵	۰/۸
۰/۰۵۰	۴/۵	۱۸/۸	۰/۷
۰/۰۸۰	۶/۹	۲۸/۶	۰/۷
۰/۱۰۰	۸/۴	۲۴/۰	۰/۸
۰/۱۳۰	۹/۳	۲۲/۵	۰/۹
۰/۱۶۰	۱۰/۳	۱۹/۲	۰/۸

* میانگین سه اندازه‌گیری



شکل (۲-۴۲): تاثیر غلظت MWCNT در سطح الکترود اصلاح شده روی شدت جریان دماغه جم فیبروزیل با غلظت ۳۰/۰ میکرومولار در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH} = 3/0$. زمان انباشت: ۷۰ ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و فرکانس ۵۰ هرتز.

علاوه بر این، در غلظت‌های بالای MWCNT، میزان چسبندگی اصلاحگر به سطح الکترود کاهش می‌یابد که این امر منجر به از بین رفتن مواد تثبیت شده بر سطح الکترود و در نهایت کاهش تکرارپذیری اندازه‌گیری‌ها می‌شود. بنابراین، غلظت 0.08 mg/mL MWCNT به عنوان مقدار بهینه در مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۵-۵ بهینه سازی مقدار نانو ذرات طلا

نانو ذرات طلا به عنوان واسطه مناسب برای انتقال الکترون موجود در سطح الکترود نقش تعیین کننده‌ای در پاسخ ولتامتری الکترود اصلاح شده دارد. از اینرو، با به کارگیری مقدار بهینه

MWCNT (۰/۰۸۰ mg/mL) تاثیر مقدار نانو ذرات طلا بر پاسخ الکتروشیمیایی جم فیبروزیل مورد بررسی قرار گرفت. این مطالعه در محدوده غلظت‌های ۰/۰ تا ۲۰۰/۰ $\mu\text{g/mL}$ HAuCl_4 و هم‌چنین با تعیین تعداد چرخه‌های پتانسیلی لازم (در گستره ۵ تا ۲۰) برای تثبیت الکتروشیمیایی این نانو ذرات بر سطح الکتروود MWCNT/GC، بررسی شد.

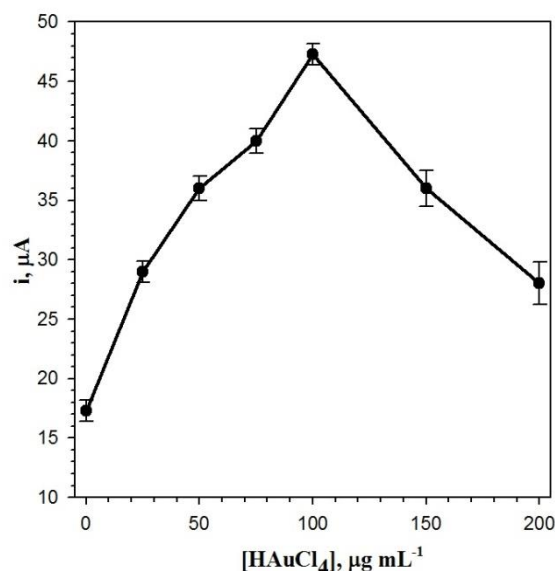
بهینه سازی غلظت نانو ذرات طلا

برای تعیین غلظت بهینه نانو ذرات طلا، پس از تهیه الکتروود MWCNT/GC از طریق قطره گذاری ۱۰ میکرولیتر از تعلیق نانولوله‌های کربنی چند دیواره در دی متیل فرماید با غلظت ۰/۰۸۰ mg/mL، الکتروود در هر مرحله در محلولی با غلظت مشخصی از محلول تتراکلرو آئوریک اسید (در محدوده غلظتی ۲۵/۰ تا ۲۰۰/۰ $\mu\text{g/mL}$) قرار گرفت و پتانسیل در محدوده ۰/۲۰+ تا ۱/۰۰- ولت با سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه به تعداد ۱۲ چرخه متوالی روبش شد. نتایج به‌دست آمده در (جدول ۲-۳۷ و شکل ۲-۴۳)، نشان می‌دهد که با افزایش غلظت HAuCl_4 تا ۱۰۰/۰ $\mu\text{g/mL}$ شدت جریان دماغه اکسایش جم فیبروزیل افزایش می‌یابد، در حالیکه در غلظت‌های بالاتر شدت جریان دماغه آندی کاهش می‌یابد. از اینرو، غلظت ۱۰۰/۰ $\mu\text{g/mL}$ HAuCl_4 به‌عنوان مقدار بهینه برای سایر مطالعات در نظر گرفته شد.

جدول (۲-۳۷) نتایج حاصل از بررسی غلظت HAuCl_4 با کمک روش ولتامتری موج مربعی در محلول بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH} = 3/0$ حاوی ۳۰/۰ میکرو مولار جم فیبروزیل

انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)	سیگنال تجزیه‌ای* (μA)	سیگنال شاهد* (μA)	[HAuCl_4] ($\mu\text{g/mL}$)
۰/۷	۱۷/۳	۵/۵	۰/۰
۰/۵	۲۹/۰	۶/۹	۲۵/۰
۰/۹	۳۶/۰	۷/۹	۵۰/۰
۰/۷	۴۰/۰	۸/۳	۷۵/۰
۰/۷	۴۷/۳	۸/۹	۱۰۰/۰
۱/۱	۲۶/۰	۹/۴	۱۵۰/۰
۱/۶	۱۸/۰	۱۰/۰	۲۰۰/۰

* میانگین سه اندازه‌گیری



شکل (۲-۴۳): تاثیر غلظت HAuCl_4 مورد استفاده برای اصلاح الکترود روی شدت جریان دماغه جم فیبروزیل با غلظت ۳۰/۰ میکرومولار در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH}=3$ با روش ولتامتری موج مربعی. زمان انباشت: ۷۰ ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و فرکانس ۵۰ هرتز.

بهینه سازی تعداد چرخه‌های لازم برای ترسیب الکتروشیمیایی طلا

پارامتر موثر دیگر هنگام اصلاح الکتروشیمیایی طلا با استفاده از ولتامتری چرخه‌ای، تعداد چرخه‌های به کار گرفته شده برای ترسیب این نانو ذرات بر سطح الکترود است. از اینرو الکترود MWCNT/GC پس از تهیه در محلول با غلظت ۱۰۰/۰ $\mu\text{g/mL}$ از HAuCl_4 قرار داده شد و روبش‌های متوالی پتانسیل با سرعت ۵۰ میلی ولت بر ثانیه در محدوده ۰/۲۰ تا -۱/۰۰ به تعداد بین ۵ تا ۲۰ چرخه انجام شد. الکترودهای اصلاح شده Au/MWCNT/GCE سپس در محلول حاوی جم فیبروزیل با غلظت ۳۰/۰ میکرومولار حاوی بافر فسفاتی $\text{pH}=3$ قرار داده شدند. پس از انباشت مدار باز به مدت ۷۰ ثانیه همراه با هم خوردن محلول، همزن خاموش و پس از ۱۰ ثانیه زمان استراحت ولتاموگرام موج مربعی رسم شد و شدت جریان در پتانسیل ۱/۳۴ ولت نسبت به الکترود مرجع اندازه‌گیری شد و سیگنال تجزیه‌ای پس از تفریق جریان زمینه به دست آمد. نتایج حاصل در جدول (۲-۳۸) و شکل (۲-۴۴) آورده شده است. با افزایش تعداد چرخه‌های لازم برای تثبیت نانو ذرات طلا بر روی سطح الکترود MWCNT/GC، تا ۱۲ چرخه شدت جریان دماغه آندی جم فیبروزیل افزایش می‌یابد در حالیکه در تعداد چرخه‌های

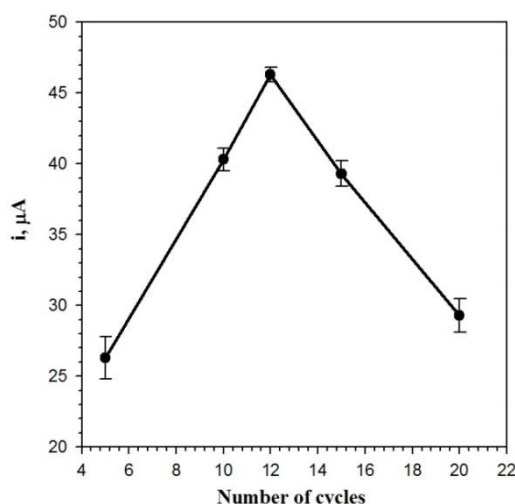
بالاتر کاهشی در شدت جریان اکسایش گونه هدف مشاهده می‌شود. از اینرو تعداد ۱۲ چرخه برای ترسیب نانو ذرات طلا بر سطح الکتروود به عنوان مقدار بهینه انتخاب شد.

جدول (۳۸-۲) نتایج حاصل از بررسی تعداد چرخه‌های لازم برای ترسیب HAuCl_4 با کمک روش ولتامتری موج مربعی در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH}=3/0$ حاوی ۳۰/۰ میکرو مولار جم فیبروزیل

تعداد چرخه	سیگنال شاهد* (μA)	سیگنال تجزیه‌ای* (μA)	انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)
۵	۵/۵	۲۶/۳	۰/۸
۱۰	۸/۰	۴۰/۳	۰/۹
۱۲	۸/۹	۴۶/۷	۰/۶
۱۵	۱۱/۲	۳۹/۳	۰/۹
۲۰	۱۲/۱	۲۹/۰	۱/۲

* میانگین سه اندازه‌گیری

دلیل مشاهدات ذکر شده در بخش (۲-۶-۵-۵) می‌تواند به این دلیل باشد که به‌کارگیری مقادیر زیاد نانو ذرات طلا منجر به تجمع و در نتیجه افزایش قطر این ذرات شده و در نهایت سطح مقطع موثر این نانو ذرات کاهش می‌یابد که نتیجه این اثر، کاهش شدت جریان دماغه اکسایش جم فیبروزیل خواهد بود [۱۷۱].

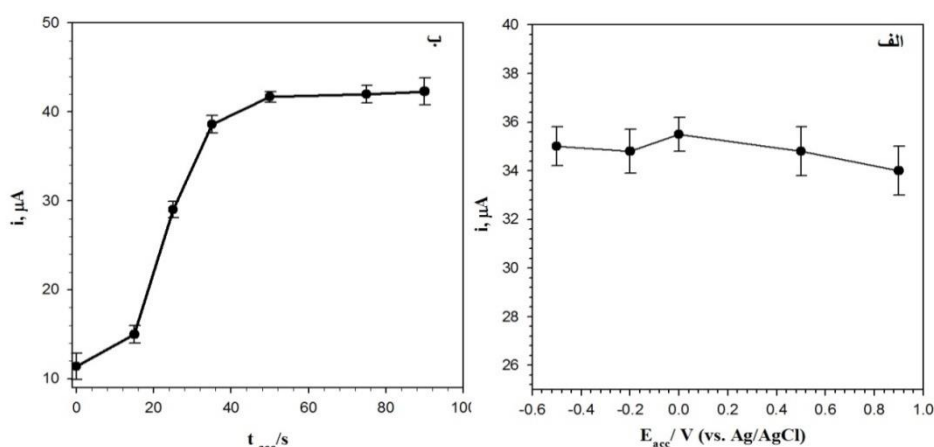


شکل (۴۴-۲): تاثیر تعداد چرخه‌های ترسیب نانو ذرات طلا بر روی شدت جریان دماغه جم فیبروزیل با غلظت ۳۰/۰ میکرومولار در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH}=3/0$ با روش ولتامتری موج مربعی. زمان انباشت: ۷۰ ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و فرکانس ۵۰ هرتز.

۶-۵-۶-۲ بهینه سازی پتانسیل و زمان انباشت

برای تعیین تاثیر پتانسیل انباشت بر شدت جریان دماغه اکسایش جم فیبروزیل، پتانسیل در گستره -0.50 تا $+1.0$ ولت، مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور، الکتروده اصلاح شده در سل الکتروشیمیایی حاوی بافر فسفاتی $\text{pH}=3.0$ با غلظت 3.0×10^{-3} میکرو مولار از جم فیبروزیل قرار داده شد. سپس همزن روشن شد و پتانسیل انباشت در گستره ذکر شده به مدت 70 ثانیه به محلول در حال هم خوردن اعمال شد. پس از اتمام زمان هم خوردن، همزن خاموش و پس از گذشت 10 ثانیه زمان استراحت، ولتاموگرام موج مربعی در گستره $+0.90$ تا $+1.50$ ولت ثبت شد. نتایج به دست آمده (شکل ۲-۴۵-الف) نشان داد که تغییر پتانسیل انباشت تاثیری به سزایی بر شدت جریان دماغه اکسایش ایجاد نکرد، این امر می تواند به دلیل خنثی بودن جم فیبروزیل و تجمع مولکولی آن تحت شرایط انباشت در بافر فسفاتی $\text{pH}=3.0$ باشد (با $\text{pK}_a=4.7$). از اینرو، انباشت در شرایط مدار باز انجام شد.

در ادامه تاثیر زمان انباشت در گستره 0 تا 90 ثانیه مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به دست آمده (شکل ۲-۴۵-ب)، نشان داد که با افزایش زمان انباشت تا 50 ثانیه شدت جریان دماغه آندی افزایش یافته و بعد از آن ثابت باقی ماند



شکل (۲-۴۵): تاثیر (الف) پتانسیل و (ب) زمان انباشت بر روی شدت جریان دماغه جم فیبروزیل با غلظت 3.0×10^{-3} میکرو مولار در محلول بافر فسفاتی 0.027 مولار با $\text{pH}=3.0$ با روش ولتامتری موج مربعی جذب سطحی در سطح Au/MWCNT/GCE. ارتفاع پالس 50 میلی ولت و فرکانس 50 هرتز.

. این پدیده نشان می‌دهد که سطح الکتروود به حالت اشباع در آمده است. بنابراین در مطالعات بعدی مدت زمان ۵۰ ثانیه در حالت پتانسیل مدار باز برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده مورد استفاده قرار گرفت.

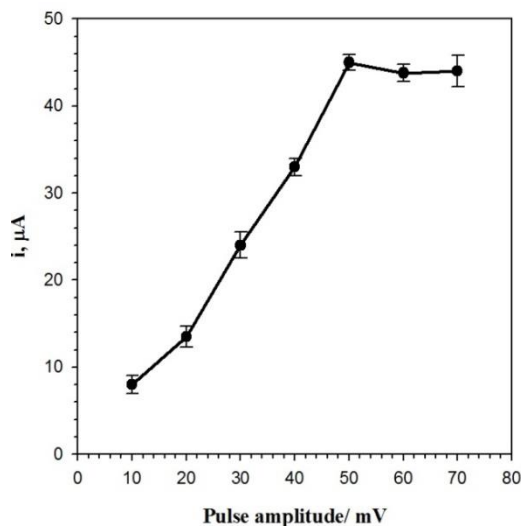
۲-۶-۶ بهینه سازی پارامترهای دستگاهی

از جمله پارامترهای دستگاهی مهم و تاثیرگذار در سیگنال تجزیه‌ای به هنگام به-کارگیری ولتامتری موج مربعی، ارتفاع پالس و فرکانس است. بنابراین در این بخش از مطالعه تحقیقاتی به بهینه سازی این پارامترها پرداخته شد. روش کار طبق بخش ۲-۶-۵-۱ صورت گرفت. با این تفاوت که در این بخش از مطالعه ارتفاع پالس و فرکانس برای رسیدن به مقدار بهینه و دریافت حداکثر پاسخ ولتامتری مربوط به اکسایش جم فیبروزیل تغییر داده شدند.

۲-۶-۶-۱ بهینه سازی ارتفاع پالس در بررسی اکسایش جم فیبروزیل با تکنیک ولتامتری موج مربعی

به منظور بررسی ارتفاع پالس بر شدت جریان، ارتفاع پالس در گستره ۱۰ تا ۷۰ میلی ولت مورد بررسی قرار گرفت. روش انجام کار برای بررسی این دو پارامتر به این صورت انجام شد که پس از افزودن حجم ۴/۰ میلی‌لیتر از بافر فسفاتی ۳/۰ pH و ۱/۰ میلی لیتر جم فیبروزیل با غلظت ۰/۳۰ میلی مولار به سل الکتروشیمیایی، حجم محلول با آب دو بار تقطیر به ۱۰/۰ میلی لیتر رسانده شد. پس از قرار دادن الکترودها داخل سل الکتروشیمیایی، محلول در شرایط پتانسیل مدار باز به مدت ۵۰ ثانیه به کمک همزن، هم زده شد و پس از ۱۰ ثانیه زمان استراحت ولتاموگرام موج مربعی در گستره ۰/۹۰+ تا ۱/۵۰+ ولت، رسم شد. فرکانس مورد استفاده حین این مرحله از آزمایش ۵۰ هرتز بوده است. هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد و سیگنال میانگین به‌عنوان سیگنال تجزیه‌ای مورد استفاده قرار گرفت. همانگونه که در بخش (۲-۶-۴-۲) اشاره شد تغییر ارتفاع پالس تاثیر چشمگیری بر شدت جریان دارد. در واقع ارتفاع سیگنال تجزیه‌ای وابسته به ارتفاع پالس است. بطوریکه کاهش ارتفاع پالس منجر به کاهش

جریان دماغه می‌شود. از طرف دیگر افزایش بیش از حد ارتفاع پالس نه تنها منجر به افزایش چندان سیگنال تجزیه‌ای نمی‌شود بلکه منجر به پهن شدن دماغه و کاهش حساسیت نیز می‌شود [۶۸]. نتایج حاصل از این مطالعه در شکل (۲-۴۶) ارائه شده است.



شکل (۲-۴۶): نمودار حاصل از بررسی ارتفاع پالس در روش ولتامتری موج مربعی جذب سطحی برای اندازه گیری ۳۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در محلول بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با pH=۳/۰ در سطح Au/MWCNT/GCE. زمان انباشت: ۵۰ ثانیه و فرکانس ۵۰ هرتز. همانطور که در شکل دیده می‌شود، با افزایش ارتفاع پالس تا ۵۰ میلی ولت، شدت جریان افزایش می‌یابد و پس از آن تقریباً ثابت باقی می‌ماند. از اینرو در مطالعات بعدی ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت به عنوان مقدار بهینه در نظر گرفته شد.

۲-۶-۶-۲ بهینه سازی فرکانس اعمالی در بررسی اکسایش جم فیبروزیل با تکنیک ولتامتری موج مربعی

از سوی دیگر، دیگر پارامتر بسیار تاثیر گذار در ولتامتری موج مربعی، فرکانس موج مربع بر حسب هرتز است. شدت جریان اندازه‌گیری شده برای هر پالس در ولتامتری موج مربعی بر اساس معادله (۲-۲۸) قابل محاسبه است [۱۷۲].

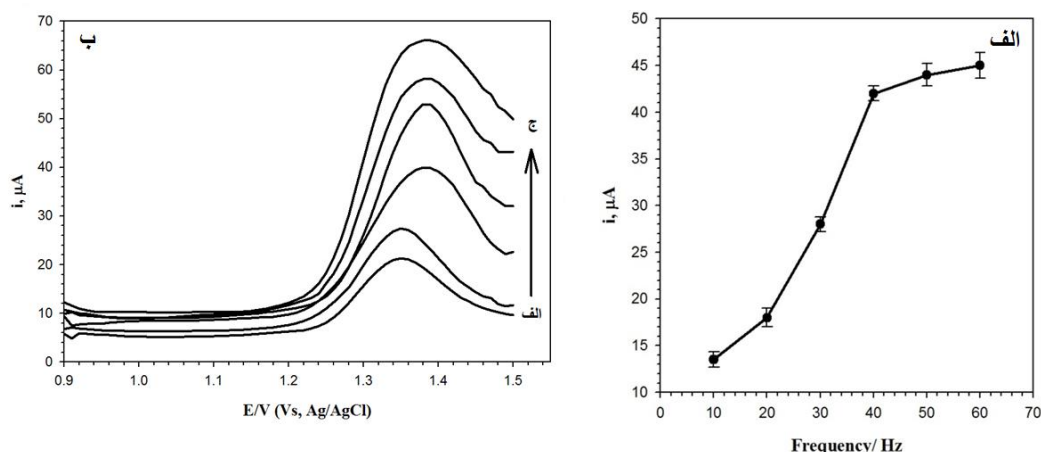
$$I = \frac{nFACD^{1/2}}{\pi^{1/2}\tau^{1/2}} \psi \quad (2-28)$$

که τ دامنه پالس بر حسب ثانیه و ψ تابع جریان بدون بعد است که به ارتفاع پله و

ارتفاع پالس موج مربعی وابسته است.

همان‌طور که در رابطه (۲-۲۸) مشاهده می‌شود جریان با $\tau^{-1/2}$ ارتباط دارد و از آنجاییکه $f = \tau^{-1}$ ، بنابراین جریان با $f^{1/2}$ رابطه مستقیم دارد. بنابراین، افزایش فرکانس موج مربعی موجب افزایش شدت جریان و بالا رفتن حساسیت می‌شود [۱۷۲].

در این مطالعه، فرکانس موج مربع در گستره ۱۰ تا ۶۰ هرتز مورد بررسی قرار گرفت. همان‌طور که در شکل (۲-۴۷-الف) مشاهده می‌شود، با افزایش فرکانس موج مربع تا ۴۰ هرتز، شدت جریان اکسایش جم فیبروزیل افزایش می‌یابد اما در فرکانس‌های بالاتر از ۴۰ هرتز میزان افزایش جریان چشم‌گیر نیست. دلیل این امر می‌تواند به افزایش سیگنال زمینه در فرکانس‌های بالاتر نسبت داده شود که این امر منجر به کاهش حساسیت در فرکانس‌های بالاتر می‌گردد. علاوه بر این، در فرکانس‌های بالاتر از ۴۰ هرتز، دماغه اکسایش جم فیبروزیل پهن می‌شود (شکل ۲-۴۷-ب) و در نتیجه گزینش پذیری کاهش می‌یابد. بنابراین، در این مطالعه تحقیقاتی برای رسیدن به حداکثر جریان بدون از بین رفتن حساسیت روش، فرکانس ۴۰ هرتز به عنوان فرکانس بهینه برای انجام مطالعات مورد استفاده قرار گرفت.



شکل (۲-۴۷): (الف) نمودار حاصل از بررسی فرکانس موج مربع در روش ولتامتری موج مربعی جذب سطحی (ب) ولتاموگرام‌های موج مربعی برای اندازه‌گیری ۳۰/۱۰ میکرومولار جم فیبروزیل در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $pH=3/0$ در سطح Au/MWCNT/GCE. زمان انباشت: ۵۰ ثانیه و ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت.

جدول (۳۹-۲) نتایج به دست آمده از بهینه سازی پارامترهای موثر بر اکسایش جم

فیبروزیل را در سطح Au/MWCNT/GCE با روش بهینه سازی تک متغیره نشان می دهد.

جدول (۳۹-۲) نتایج به دست آمده از بهینه سازی پارامترهای موثر بر سیگنال تجزیه ای اکسایش جم فیبروزیل
۳۰/۰ میکرو مولار در سطح Au/MWCNT/GCE

پارامتر	نوع یا مقدار بهینه
pH محیط	۳/۰
نوع بافر	فسفاتی
حجم بافر (mL)	۴/۰
غلظت MWCNT (mg/mL)	۰/۰۸۰
[HAuCl ₄] (μg/mL)	۱۰۰/۰
تعداد چرخه	۱۲
t _{acc} (s)	۵۰
ارتفاع پالس (mV)	۵۰
فرکانس (Hz)	۴۰

۷-۶-۲ بررسی الکتروشیمیایی اکسایش جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GC

پس از بهینه سازی پارامترهای موثر بر اندازه گیری جم فیبروزیل، تاثیر تغییر pH محیط

و تغییر سرعت روبش بر اکسایش الکتروشیمیایی این ترکیب در سطح الکترو

Au/MWCNT/GC مورد بررسی قرار گرفت.

۱-۷-۶-۲ بررسی تاثیر تغییر pH محیط بر اکسایش جم فیبروزیل

بررسی اکسایش جم فیبروزیل در pH های متفاوت به روش ولتامتری موج مربعی جذب

سطحی صورت گرفت. شکل (۲-۴۸-الف) ولتاموگرام های حاصله را در محلول بافر فسفاتی در

pH های مختلف ۶/۰-۲/۰ نشان می دهد.

نمودار تغییرات پتانسیل دماغه اکسایش جم فیبروزیل بر حسب تغییرات pH محیط، در

شکل (۲-۴۸-ب) آمده است. همان طور که در شکل دیده می شود پتانسیل دماغه اکسایش جم

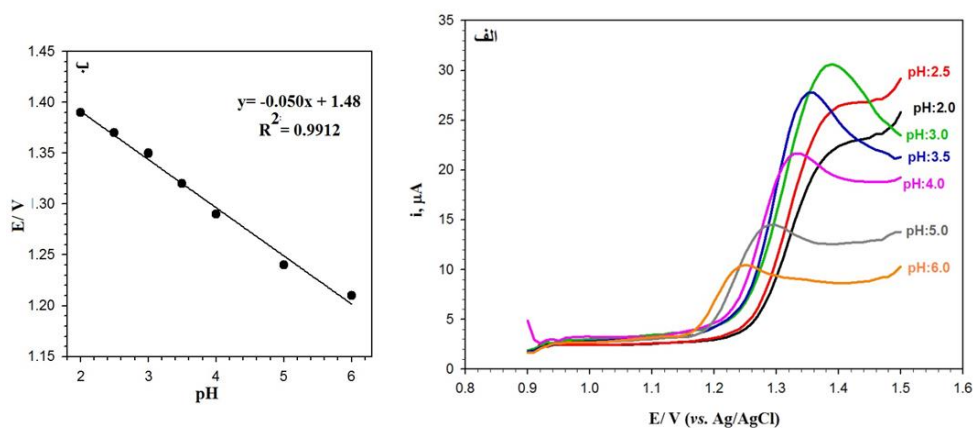
فیبروزیل با تغییر pH محیط به طور خطی تغییر می کند.

معادله (۲-۲۹) بیانگر رابطه بین پتانسیل دماغه اکسایش جم فیبروزیل با تغییرات pH می باشد:

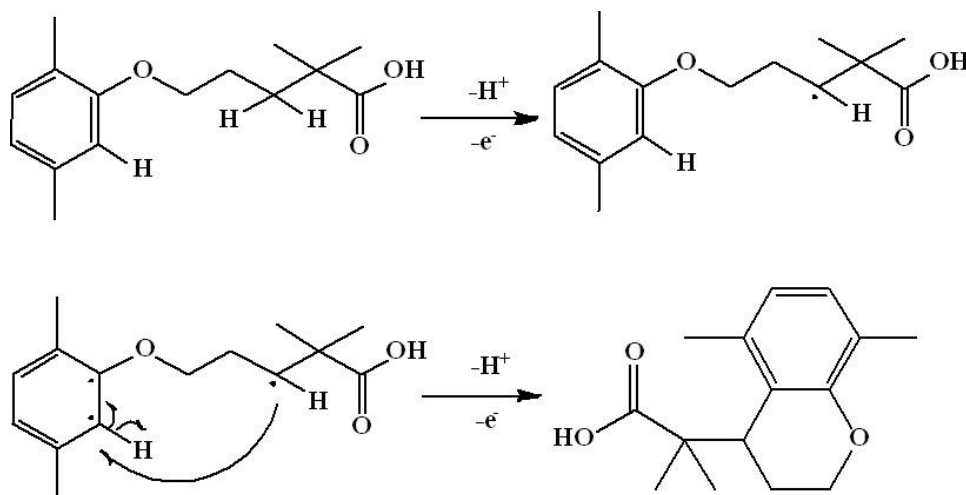
$$E(V) = 1/48 - 0/050 \text{ pH} \quad R^2 = 0/9912 \quad n=7 \quad (29-2)$$

همچنین در شکل (۲-۴۸-الف) مشاهده می‌شود که پتانسیل دماغه اکسایش جم فیروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE با افزایش pH، به سمت پتانسیل‌های کمتر جابجا شده است. این امر بیان می‌کند که پروتون در فرآیند اکسایش جم فیروزیل نقش ایفا می‌کند. شیب خط به دست آمده، نشان دهنده‌ی برابری تعداد الکترون مبادله شده با تعداد پروتون دخیل در فرآیند اکسایش الکتروشیمیایی جم فیروزیل در سطح این الکتروود اصلاح شده می‌باشد. با توجه به نتایج به دست آمده مکانیسم پیشنهادی مطابق طرح (۲-۵) برای واکنش اکسایش جم فیروزیل ارائه شده است.

طبق مکانیسم پیشنهادی، با اعمال پتانسیل، پیوند کربن-هیدروژن شکسته می‌شود [۱۷۴، ۱۷۳]. به این ترتیب یک الکترون و یک پروتون از کربن سوم زنجیره جانبی جم فیروزیل جدا می‌شود. در ادامه واکنش، رادیکال ایجاد شده با حمله به هیدروژن حلقه بنزن با خروج یک پروتون و یک الکترون از حلقه، بنزوپیران را تشکیل می‌دهد. تشکیل حلقه بنزوپیران در اثر اکسایش جم فیروزیل توسط مطالعات دیگری نیز ارائه شده است [۱۷۵]، [۱۶۶].



شکل (۲-۴۸): (الف) ولتاموگرام موج مربعی برهنه سازی جذب سطحی محلول ۳۰/۰ میکرومولار جم فیروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE در محلول بافر فسفات با pH های مختلف از ۲/۰ تا ۶/۰. زمان انباشت: ۷۰ ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی‌ولت و فرکانس ۵۰ هرتز. (ب) تغییرات پتانسیل دماغه اکسایش جم فیروزیل را بر حسب pH نشان می‌دهد.



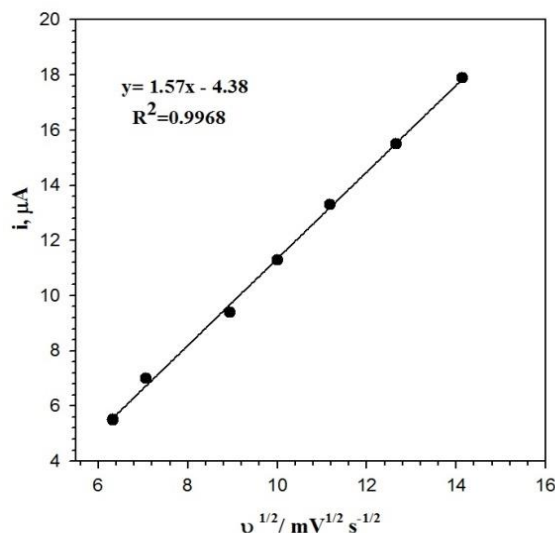
طرح (۵-۲): فرآیند الکتروشیمیایی پیشنهادی برای اکسایش جم فیبروزیل.

۲-۷-۶-۲ بررسی تاثیر تغییر سرعت روبش بر اکسایش جم فیبروزیل به کمک ولتامتری چرخه‌ای

به‌منظور درک این مسئله که اکسایش جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE تحت کنترل نفوذ اتفاق می‌افتد یا واکنش‌های کنترل شده با سطح، ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در حضور ۳۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در سرعت‌های روبش مختلف در گستره ۴۰ تا ۲۰۰ میلی ولت بر ثانیه ثبت شد. شکل (۲-۴۹) نشان می‌دهد که تغییرات شدت جریان الکترواکسایش جم فیبروزیل در سطح الکتروود اصلاح شده بر حسب جذر سرعت روبش پتانسیل خطی است. بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت، فرآیند اکسایش جم فیبروزیل در سطح الکتروود Au/MWCNT/GC تحت کنترل انتشار است.

معادله (۲-۳۰) رابطه خطی بین جریان دماغه آندی مربوط به اکسایش با جذر سرعت روبش پتانسیل را نشان می‌دهد:

$$I_p(\mu A) = 1/57 v^{1/2} (mV^{1/2}s^{-1/2}) - 4/38 (\mu A) \quad R^2 = 0/9968 \quad (2-30)$$



شکل (۲-۴۹): نمودار تغییرات شدت جریان دماغه اکسایش ۳۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در محلول بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH} = 3$ ، بر حسب جذر سرعت روبش پتانسیل در محدوده ۴۰ تا ۲۰۰ میلی ولت بر ثانیه به کمک روش ولتامتری چرخه‌ای در سطح الکترود Au/MWCNT/GC.

از سوی دیگر، برای درک بهتر رفتار الکتروشیمیایی جم فیبروزیل در سطح الکترود اصلاح شده، به بررسی اثر تغییر سرعت روبش بر پتانسیل دماغه اکسایش جم فیبروزیل پرداخته شد. شکل (۲-۵۰ الف) ولتاموگرام‌های به‌دست آمده ناشی از تغییر سرعت روبش در گستره ۴۰ تا ۲۰۰ میلی ولت بر ثانیه را نشان می‌دهد.

داده‌های به‌دست آمده از ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در شکل (۲-۵۰ ب) نشان می‌دهد که نمودار تغییرات پتانسیل دماغه آندی نسبت به لگاریتم طبیعی سرعت روبش پتانسیل خطی بوده و در نتیجه امکان تعیین ضریب انتقال (α) و ثابت سرعت انتقال بار ناهمگن (k_0) با استفاده از تئوری لایبرون (معادله ۲-۶) فراهم می‌باشد [۶۸]. محاسبات در این بخش با استفاده از معادلات ارائه شده در بخش (۲-۴-۷) انجام شد. در اینجا اشاره کوتاهی به این معادلات می‌شود.

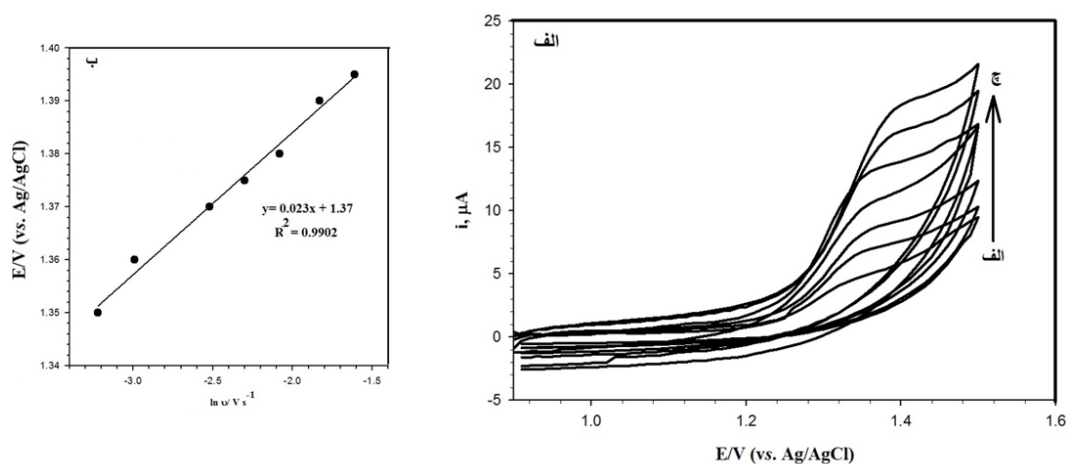
معادلات (۲-۳۱) و (۲-۳۲)، با استخراج شیب و عرض از مبدا تغییرات E بر حسب $\ln v$

بر مبنای معادله (۲-۶) به‌دست می‌آیند:

$$\text{شیب} = \frac{RT}{2(1-\alpha)nF} = S \quad (31-2)$$

$$E_0' = E' + \frac{1}{2}S + S \ln \frac{1}{2S} + 2S \ln \frac{D^{1/2}}{k_0} \quad (32-2)$$

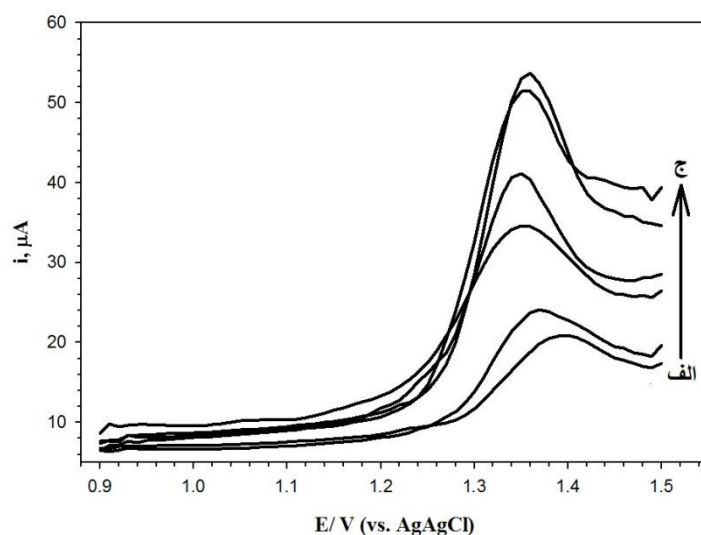
با توجه به شیب نمودار در شکل (۲-۵۰-ب) و قرار دادن آن در معادله مربوط به شیب نمودار لایپرون (معادله ۲-۳۱)، مقدار ضریب انتقال الکترون در سطح الکتروود Au/MWCNT/GC برابر ۰/۷۲ محاسبه شد ($n=2$). همچنین با استفاده از عرض از مبدا نمودار (شکل ۲-۵۰-ب) و با دانستن مقدار $E_0' = 1/34$ و $D = 9/47 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ مقدار ثابت سرعت انتقال بار ناهمگن (k_0) در سطح این الکتروود اصلاح شده برابر با $0/51 \text{ cm s}^{-1}$ محاسبه گردید. لازم به توضیح است که برای یافتن مقدار E_0' باید نمودار پتانسیل دماغه اکسایش بر حسب سرعت روبش رسم شود که با رسم این نمودار خطی به معادله $E(V) = 0/27v \text{ (Vs}^{-1}) + 1/34 \text{ (V)}$ به دست می‌آید. عرض از مبدا این نمودار مقدار E_0' را در اختیار قرار می‌دهد. ضریب نفوذ (D) نیز از مطالعات کروئوکولومتری (بخش ۲-۶-۹) محاسبه شده است.



شکل (۲-۵۰): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در سطح Au/MWCNT/GCE در محلول بافر فسفات ۰/۲۷ مولار با $\text{pH}=3/0$ دارای ۳۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در سرعت روبش‌های مختلف: (الف تا ج) مربوط به سرعت‌های روبش ۴۰، ۵۰، ۸۰، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۶۰ و ۲۰۰ میلی ولت بر ثانیه می‌باشند. (ب) نمودار تغییرات پتانسیل دماغه اکسایش جم فیبروزیل بر حسب لگاریتم طبیعی سرعت روبش پتانسیل.

۲-۶-۸ مطالعات جذب سطحی

به منظور بررسی تاثیر جذب سطحی بر شدت جریان و پتانسیل اکسایش جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE، ولتاموگرام های موج مربعی در محلول بافر فسفاتی $\text{pH}=3/0$ حاوی جم فیبروزیل $30/0$ میکرومولار در زمان های انباشت $0/0$ تا $75/0$ ثانیه ثبت شد (شکل ۲-۵۱). به این منظور، الکتروود Au/MWCNT/GC در محلول بافر فسفاتی حاوی جم فیبروزیل با غلظت $30/0$ میکرومولار قرار داده شد. سپس همزن مغناطیسی روشن شد و محلول بدون اعمال پتانسیل در زمان های مورد نظر هم زده شد. پس از پایان زمان انباشت، همزن خاموش و پس از 10 ثانیه زمان استراحت، ولتاموگرام موج مربعی در محدوده $+0/90$ تا $+1/50$ ولت ثبت شد (ارتفاع پالس 50 mV ، فرکانس موج مربع 40 Hz). مقایسه پتانسیل اکسایش جم فیبروزیل بدون انباشت (شکل ۲-۵۱ ولتاموگرام الف) و پس از انباشت (شکل ۲-۵۱ ولتاموگرام ب تا ج)، نشان می دهد که پتانسیل اندکی به سمت مقادیر منفی جابجا شده است. دلیل این جابجایی می تواند جذب سطحی جم فیبروزیل روی سطح الکتروود کربن شیشه اصلاح شده باشد.



شکل (۲-۵۱): ولتاموگرام های موج مربعی در سطح Au/MWCNT/GCE، در محلول بافر فسفاتی 0.27 M با $\text{pH}=3/0$ حاوی جم فیبروزیل $30/0$ میکرومولار در زمان های انباشت (الف-ج) $0/0$ ، $15/0$ ، $25/0$ ، $35/0$ و $75/0$ ثانیه بدون اعمال پتانسیل انباشت، ارتفاع پالس 50 میلی ولت، فرکانس 50 هرتز.

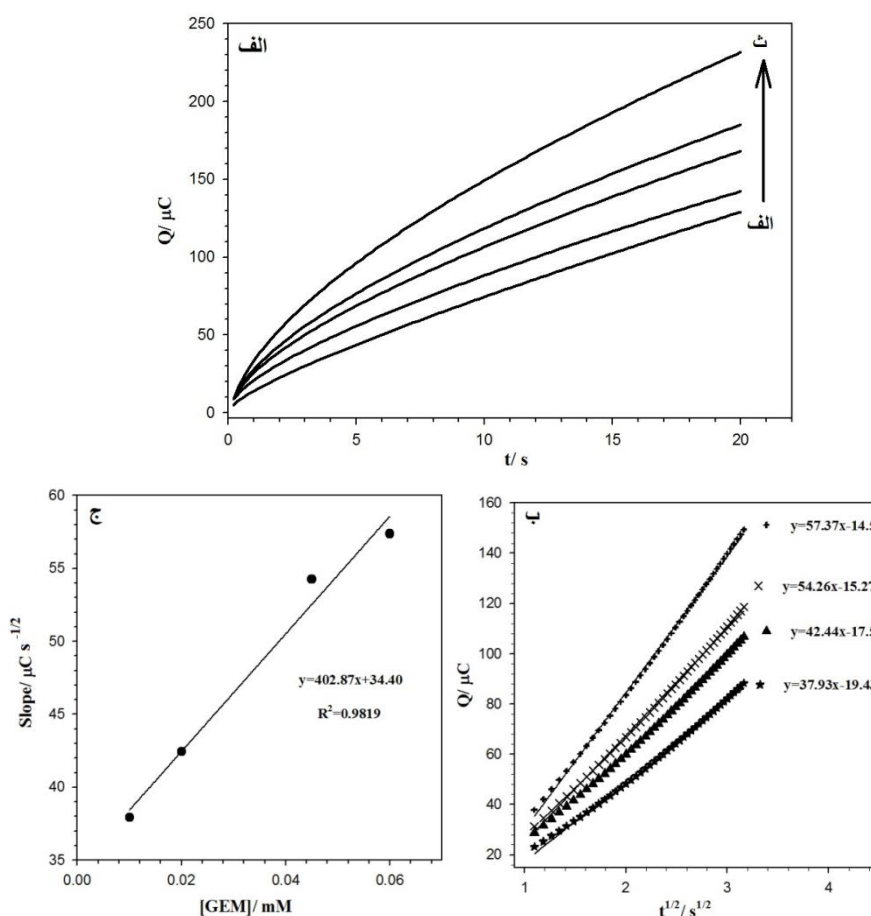
۹-۶-۲ مطالعات کروнокولومتری

با استفاده از روش کروнокولومتری می‌توان ضریب انتشار (D) و هم‌چنین مقدار مازاد سطحی گونه الکتروفعال (Γ^0) مورد نظر را از طریق معادله آنسون (معادله ۷-۱) محاسبه کرد. برای انجام کروнокولومتری تک پله‌ای، باید پتانسیلی مثبت تر از پتانسیل اکسایش آنالیت به هنگام به‌کارگیری ولتامتری چرخه‌ای (برای اطمینان از کامل بودن فرآیند اکسایش) به الکتروود کار موجود در محلول حاوی گونه هدف اعمال کرد. به این منظور الکتروودهای MWCNT/GC، Au/MWCNT/GC و GC در محلول بافر فسفاتی با غلظت‌های مختلف جم فیبروزیل قرار داده شد. پس از روشن کردن همزن مغناطیسی، محلول بدون اعمال پتانسیل برای مدت زمان ۵۰ ثانیه همزده شد. پس از پایان زمان انباشت، همزن خاموش و پس از ۱۰ ثانیه زمان استراحت، کروнокولوگرام تک پله‌ای، با اعمال پتانسیل ۱/۴۵ ولت نسبت به الکتروود مرجع نقره/نقره کلرید به مدت ۲۰ ثانیه در غلظت‌های مختلف جم فیبروزیل در محدوده ۱۰/۰ تا ۶۰/۰ میکرومولار ثبت شد (شکل ۲-۵۲-الف) و شکل‌های (۱۳-الف و ۱۴-الف پیوست).

کروнокولوگرام‌های به‌دست آمده نشان می‌دهند که با افزایش غلظت جم فیبروزیل، میزان بار عبوری نیز افزایش می‌یابد. با استفاده از نمودارهای کروнокولومتری و معادله آنسون (معادله ۷-۱) ضریب انتشار جم فیبروزیل در محلول آزمایشی تعیین شد. شکل (۲-۵۲-ب)، تغییرات Q بر حسب $t^{1/2}$ را برای غلظت‌های متفاوت از جم فیبروزیل نشان می‌دهد و در شکل (۲-۵۲-ج)، تغییرات شیب این خطوط ($Q - t^{1/2}$) بر حسب غلظت جم فیبروزیل رسم شده است. از روی شیب نمودار حاصل، مقدار $9/47 \times 10^{-5}$ سانتی‌متر مربع بر ثانیه برای ضریب انتشار جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE محاسبه شد (با فرض $n=2$ طبق طرح (۲-۵) و با در نظر گرفتن مساحت سطح $0/190$ سانتی‌متر مربع محاسبه شده در بخش ۲-۶-۳). علاوه بر این، آزمایش کروнокولومتری طبق شرایط مشابه در سطح الکتروود MWCNT/GC انجام شد و بر اساس نتایج به‌دست آمده ضریب انتشار جم فیبروزیل در سطح MWCNT/GCE و GCE

به ترتیب برابر با $7/64 \times 10^{-5}$ و $2/34 \times 10^{-5}$ سانتی مترمربع بر ثانیه محاسبه شد. اختلاف بین مقدار ضرایب انتشار در سطح الکترودهای اصلاح شده و اصلاح نشده نشان می‌دهد که در حضور نانوذرات طلا و نانولوله‌های کربنی، انتشار جم فیبروزیل از توده محلول به سطح الکترودها با راحتی بیشتری صورت می‌پذیرد.

به منظور محاسبه مقدار مازاد سطحی گونه الکتروفعال (Γ^0)، می‌توان از عرض از مبدا منحنی Q بر حسب $t^{1/2}$ ، استفاده نمود. نتایج به دست آمده در (جدول ۲-۴۰) ارائه شده است.



شکل (۲-۵۲): (الف) کروئوکولوگرام‌های Au/MWCNT/GCE در محلول بافر فسفات با $pH=3$ حاوی غلظت‌های متفاوت جم فیبروزیل (الف) غیاب، (ب) ۱۰/۰، (پ) ۲۰/۰، (ت) ۴۵/۰ و (ث) ۶۰/۰ میکرو مولار. پله پتانسیل آندی در ۱/۴۵ ولت نسبت به الکتروده شاهد می‌باشد. زمان انباشت: ۵۰ ثانیه و زمان استراحت: ۱۰ ثانیه. (ب) نمودار تغییرات $Q-t^{1/2}$ به دست آمده از کروئوکولوگرام‌های (ب-ث) بعد از کم کردن نقطه به نقطه از زمینه است. (ج) نمودار شیب خطوط $Q-t^{1/2}$ بر حسب غلظت جم فیبروزیل.

جدول (۲-۴) مقادیر Γ^0 محاسبه شده برای Au/MWCNT/GCE، MWCNT/GCE و GCE اصلاح نشده در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۳/۰ حاوی غلظت‌های مختلف جم فیبروزیل

غلظت جم فیبروزیل ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Γ^0 (mol.cm^{-2})		
	Au/MWCNT/GCE	MWCNT/GCE	GCE
۱۰/۰	$1/30 \times 10^{-9}$	$2/60 \times 10^{-10}$	$8/92 \times 10^{-11}$
۲۰/۰	$1/83 \times 10^{-9}$	$4/57 \times 10^{-10}$	$1/85 \times 10^{-10}$
۴۵/۰	$2/43 \times 10^{-9}$	$6/07 \times 10^{-10}$	$4/36 \times 10^{-10}$
۶۰/۰	$2/65 \times 10^{-9}$	$6/97 \times 10^{-10}$	$5/79 \times 10^{-10}$

نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که جذب سطحی جم فیبروزیل در سطح الکتروده اصلاح شده با نانو ذرات طلا و نانو لوله‌های کربنی حدود چهار برابر بیشتر از سطح الکتروده اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی است. در حالیکه میزان جذب سطحی در سطح الکتروده اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی نسبت به الکتروده کربن شیشه اصلاح نشده بطور میانگین دو برابر افزایش یافته است. این نتایج نشان می‌دهد که نانو ذرات طلا نقش موثری در جذب سطحی جم فیبروزیل بر سطح الکتروده ایفا می‌کند.

۲-۶-۱۰ بررسی پارامترهای تجزیه‌ای حسگر در اندازه‌گیری جم فیبروزیل

رسم منحنی کالبراسیون و تعیین ناحیه خطی جم فیبروزیل توسط الکتروده اصلاح شده به دو روش ولتامتری موج مربعی و امپدیمتری انجام شد. روش کار کلی در هر دو روش به این صورت انجام شد که مقدار مشخصی از محلول استاندارد جم فیبروزیل در ناحیه غلظتی ۰/۱۵۰ تا ۶۰/۰ میکرو مولار به سل الکتروشیمیایی منتقل شد و pH محیط با افزودن ۴/۰ میلی‌لیتر بافر فسفاتی pH=۳ تنظیم شد. سپس حجم محلول موجود در سل به کمک آب دو بار تقطیر به ۱۰/۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از آن، الکترودها در سل قرار داده شدند. همزن مغناطیسی روشن شد و محلول با اعمال پتانسیل مدار باز به Au/MWCNT/GCE به مدت ۵۰ ثانیه همزده شد. پس از پایان زمان انباشت، همزن خاموش شد و اندازه‌گیری به هر یک از روش‌های

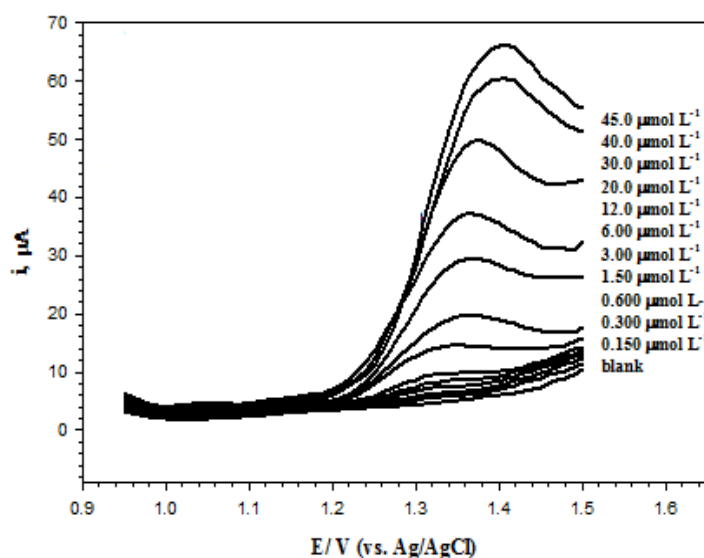
اشاره شده طبق توضیحاتی که در ادامه به آن پرداخته می‌شود انجام شد.

۲-۶-۱۰-۱ منحنی کالیبراسیون و تعیین ناحیه خطی روش به روش ولتامتری موج مربعی پس از انجام مراحل ذکر شده در بخش ۲-۶-۱۰ و پس از اعمال ۱۰ ثانیه زمان استراحت، ولتاموگرام‌های موج مربعی در محدوده $+0.90$ تا $+1.50$ ولت (ارتفاع پالس: ۵۰ میلی ولت، فرکانس ۴۰ هرتز) ثبت شد. مقدار شدت جریان دماغه اکسایش جم فیبروزیل در پتانسیل 1.34 ولت اندازه‌گیری شد. محلول شاهد، در غیاب جم فیبروزیل، برای ثبت سیگنال شاهد مورد استفاده قرار گرفت. هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد و اختلاف بین جریان دماغه آنالیت و جریان شاهد به‌عنوان سیگنال تجزیه‌ای در رسم منحنی کالیبراسیون ولتامتری موج مربعی جذب سطحی مورد استفاده قرار گرفت. به منظور پاکسازی سطح الکتروود و از بین بردن اثر حافظه جم فیبروزیل باقیمانده روی سطح الکتروود اصلاح شده بعد از هر اندازه‌گیری، پنج روبش چرخه‌ای متوالی در محدوده $+0.90$ تا $+1.50$ در محلول شاهد انجام شد. همان‌طور که در شکل (۲-۵۳) مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت جم فیبروزیل شدت جریان دماغه اکسایش آن در محدوده 0.15 تا 45.00 میکرو مولار به‌طور خطی افزایش می‌یابد. نتایج حاصل در جدول (۲-۴۱) و شکل (۲-۵۴) ارائه شده است.

معادله منحنی کالیبراسیون به‌صورت معادله (۲-۳۳) قابل توصیف است:

$$I_p (\mu A) = 1/40 C_{GEM} (\mu mol L^{-1}) + 0.10 (\mu A) \quad R^2 = 0.9971 \quad (2-33)$$

حد تشخیص به‌دست آمده برای جم فیبروزیل با به‌کارگیری روش ولتامتری موج مربعی به‌کمک رابطه (۲-۱۲) محاسبه شد. در این مطالعه، برای محاسبه انحراف استاندارد سیگنال شاهد، هفت اندازه‌گیری در محلول بافر فسفاتی $pH=3.0$ ، صورت گرفت که انحراف استاندارد این اندازه‌گیری‌ها $0.46 \mu A$ به‌دست آمد.



شکل (۲-۵۳): ولتاموگرام‌های موج مربعی جذب سطحی در سطح Au/MWCNT/GCE در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH}=3/0$ دارای غلظت‌های مختلف جم فیبروزیل از ۰/۱۵ تا ۴۵/۰ میکرو مولار. زمان انباشت: ۵۰ ثانیه، زمان استراحت: ۱۰ ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و فرکانس ۴۰ هرتز.

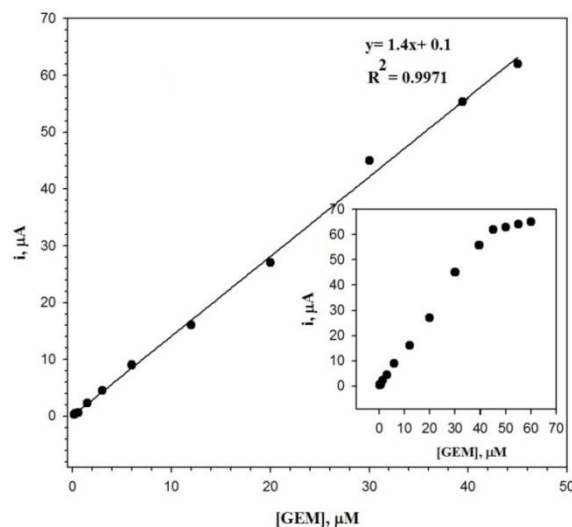
با استفاده از شیب منحنی کالیبراسیون ($m=1/40 \frac{\mu\text{A}}{\mu\text{mol L}^{-1}}$) و بر مبنای سه برابر انحراف

استاندارد سیگنال شاهد در سطح الکترواد اصلاح شده، حد تشخیص اندازه‌گیری جم فیبروزیل با کمک تکنیک ولتامتری موج مربعی برابر ۰/۱۰ میکرو مولار محاسبه شد.

جدول (۲-۴۱) اطلاعات مربوط به منحنی‌های کالیبراسیون در ناحیه خطی ۰/۱۵۰ تا ۴۵/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با $\text{pH}=3/0$ در سطح Au/MWCNT/GCE با روش ولتامتری موج مربعی

غلظت جم فیبروزیل ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	SD± سیگنال تجزیه‌ای* (μA)	غلظت جم فیبروزیل ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	SD± سیگنال تجزیه‌ای* (μA)
۰/۱۵	۰/۳۰±۰/۰۵	۲۰/۰	۲۷/۰±۰/۳۰
۰/۳۰	۰/۵۵±۰/۰۵	۳۰/۰	۴۵/۰±۰/۵۰
۰/۶۰	۰/۶۰±۰/۰۹	۴۵/۰	۶۲/۰±۰/۵۵
۱/۵۰	۲/۳۰±۰/۰۹	۵۰/۰	۶۳/۰±۰/۵۰
۳/۰۰	۳/۰۰±۰/۱۳	۵۵/۰	۶۴/۰±۰/۶۰
۶/۰۰	۹/۰۰±۰/۱۷	۶۰/۰	۶۵/۰±۰/۶۵
۱۲/۰	۱۶/۰±۰/۲۴	—	—

* میانگین سه اندازه‌گیری



شکل (۲-۵۴): نمودار تغییرات شدت جریان اکسایش بر حسب غلظت جم فیبروزیل در محدوده ۰/۱۵ تا ۴۵/۰۰ میکرومولار در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH = ۳/۰ به کمک ولتامتری موج مربعی جذب سطحی در سطح Au/MWCNT/GCE. زمان انباشت: ۵۰ ثانیه و زمان استراحت: ۱۰ ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و فرکانس ۴۰ هرتز.

۲-۱۰-۶-۲ رسم منحنی کالیبراسیون و تعیین ناحیه خطی جم فیبروزیل به روش امپدیمتری
پس از انجام مراحل ذکر شده در بخش ۲-۱۰-۶ و پس از اعمال ۱۰ ثانیه زمان استراحت، برای اطمینان از مفید بودن الکتروود اصلاح شده به عنوان حسگر امپدیمتری در اندازه‌گیری کمی جم فیبروزیل، رسم منحنی کالیبراسیون توسط روش EIS انجام پذیرفت. آزمایش‌های EIS با اعمال پتانسیل جبران کننده مستقیم^۱ ۱/۳۴ ولت و در محدوده فرکانس ۰/۱ تا ۱۰۰۰۰۰ هرتز انجام شد. به منظور محاسبه مقاومت انتقال بار، داده‌های امپدانس در مدار الکتریکی معادل طراحی شده توسط نرم افزار دستگاه ایویوم برازش شدند. هنگام به کارگیری طیف‌بینی امپدانس الکتروشیمیایی برای رسم منحنی کالیبراسیون اختلاف بین معکوس مقاومت انتقال بار محلول حاوی جم فیبرویل و محلول شاهد به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در نظر گرفته شد

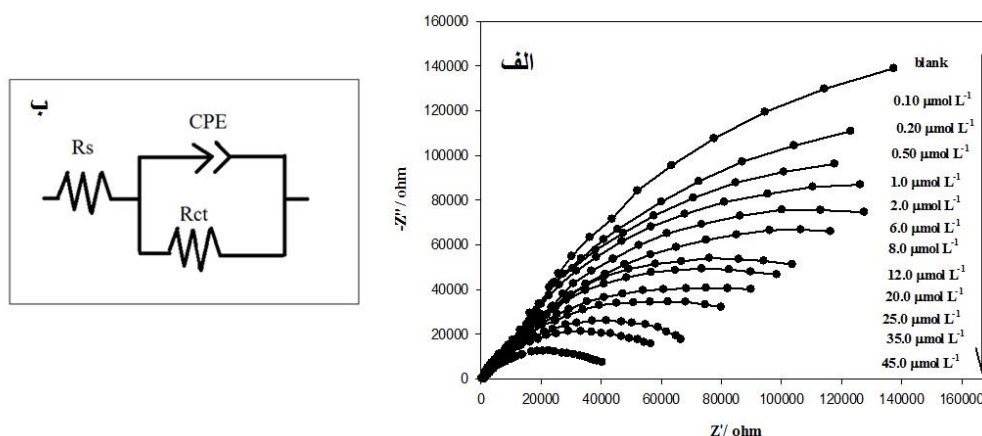
$$\left(\frac{1}{R_{ct(\text{شاهد})}} - \frac{1}{R_{ct(\text{نمونه})}} \right) = \text{سیگنال تجزیه‌ای}.$$

همانطور که در بخش (۱-۶-۳) اشاره شد، رابطه خطی بین معکوس مقاومت انتقال بار و

غلظت گونه‌های موجود در محلول وجود دارد (معادله‌های ۱-۸ و ۱-۹).

^۱DC Offset potential (E_{dc})

شکل (۲-۵۵-الف) نمودار نایکوئیست جم فیبروزیل را در غلظت‌های مختلف در محدوده ۰/۱۰ تا ۴۵/۰۰ میکرو مولار در سطح الکترود Au/MWCNT/GC نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، مقاومت در برابر انتقال بار با افزایش غلظت جم فیبروزیل کاهش می‌یابد که این امر می‌تواند به دلیل حضور مقادیر بیشتر گونه الکتروفعال در محلول آزمایشی باشد. مدار معادل برای طیف‌های امپدانس مشاهده شده، در شکل (۲-۵۵-ب) نشان داده شده است. از آنجاییکه سیستم‌های حقیقی از رفتار ایده‌آل انحراف دارند، عنصر فاز ثابت^۱ جایگزین جریان خازنی لایه دوگانه می‌شود [۷۸]. بنابراین مدار معادل شامل R_s ، R_{ct} و CPE می‌شود. که R_s نشانگر مقاومت محلول و R_{ct} نشان دهنده مقاومت انتقال بار بین جم فیبروزیل و سطح الکترود اصلاح شده می‌باشد. نتایج به دست آمده (شکل ۲-۵۶) نشان می‌دهد که منحنی کالبراسیون در گستره ۰/۱۰ تا ۴۵/۰۰ میکرو مولار خطی است (جدول ۲-۴۲).

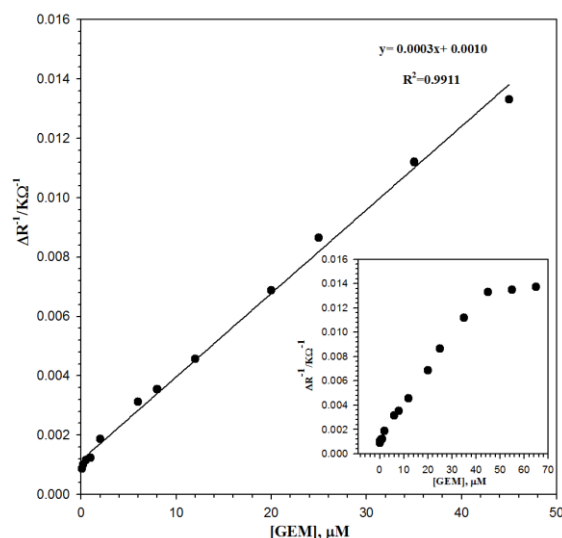


شکل (۲-۵۵): (الف) نمودار نایکوئیست در سطح الکترود Au/MWCNT/GC در غیاب و حضور غلظت‌های فزاینده جم فیبروزیل از ۰/۱۰ تا ۴۵/۰۰ میکرو مولار در محلول بافر فسفاتی با $pH=3.0$ ، $E_{dc}=1/34$ ولت و فرکانس ۱۰۰۰۰۰ تا ۰/۱ هرتز. زمان انباشت ۵۰ ثانیه و زمان استراحت ۱۰ ثانیه. (ب) نمایش طرح نموداری مدار معادل شده.

معادله منحنی کالبراسیون به کمک معادله (۲-۳۴) قابل توصیف است:

$$\Delta R^{-1} (K\Omega)^{-1} = 0.0003 C_{GEM} (\mu\text{mol L}^{-1}) + 0.0010 (K\Omega)^{-1} R^2 = 0.9917 \quad (2-34)$$

^۱ Constant phase element (CPE)



شکل (۲-۵۶): نمودار تغییرات معکوس مقاومت در برابر انتقال بار بر حسب غلظت جم فیبروزیل در محدوده ۰/۱۰-۴۵/۰۰ میکرو مولار در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۳/۰ در سطح الکترود Au/MWCNT/GC با روش امپدیمتری.

جدول (۲-۴۲) اطلاعات مربوط به منحنی‌های کالیبراسیون در ناحیه خطی ۰/۱۰ تا ۴۵/۰۰ میکرومولار جم فیبروزیل در محلول بافر فسفاتی با pH=۳/۰ با استفاده از روش طیف بینی امپدانس الکتروشیمیایی در سطح

Au/MWCNT/GCE			
غلظت جم فیبروزیل ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	سیگنال تجزیه‌ای (معکوس مقاومت انتقال بار)* ($\text{K}\Omega$) ⁻¹	غلظت جم فیبروزیل ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	سیگنال تجزیه‌ای (معکوس مقاومت انتقال بار)* ($\text{K}\Omega$) ⁻¹
۰/۱۰۰	$۸/۷۸۰۰ \times ۱۰^{-۴}$	۱۲/۰	$۴/۵۶۷۳ \times ۱۰^{-۳}$
۰/۲۰۰	$۱/۰۰۷۹ \times ۱۰^{-۳}$	۲۰/۰	$۶/۸۷۵۰ \times ۱۰^{-۳}$
۰/۵۰۰	$۱/۱۵۰۰ \times ۱۰^{-۳}$	۲۵/۰	$۸/۶۳۹۷ \times ۱۰^{-۳}$
۱/۰۰	$۱/۲۲۲۸ \times ۱۰^{-۳}$	۳۵/۰	$۱/۱۲۰۰ \times ۱۰^{-۲}$
۲/۰۰	$۱/۸۷۵۰ \times ۱۰^{-۳}$	۴۵/۰	$۱/۳۳۰۰ \times ۱۰^{-۲}$
۶/۰۰	$۳/۱۲۵۰ \times ۱۰^{-۳}$	۵۵/۰	$۱/۳۵۰۰ \times ۱۰^{-۲}$
۸/۰۰	$۳/۵۴۱۷ \times ۱۰^{-۳}$	۶۵/۰	$۱/۳۷۰۰ \times ۱۰^{-۲}$

* میانگین سه اندازه‌گیری

حد تشخیص به‌دست آمده برای جم فیبروزیل با به‌کارگیری روش امپدیمتری و با کمک رابطه

(۲-۱۲) محاسبه شد. در این مطالعه، برای محاسبه انحراف استاندارد سیگنال شاهد، هفت

اندازه‌گیری در محلول بافر فسفاتی pH=۳/۰، صورت گرفت. با استفاده از شیب منحنی

کالیبراسیون ($m = ۰/۰۰۰۳ \frac{\text{K}\Omega^{-1}}{\mu\text{mol L}^{-1}}$) و بر مبنای سه برابر انحراف استاندارد سیگنال شاهد در

سطح الکتروود اصلاح شده، حد تشخیص اندازه‌گیری جم فیبروزیل با کمک تکنیک امپدیمتری ۷۴/۰ نانو مولار محاسبه شد.

۳-۱۰-۶-۲ بررسی تکرارپذیری و تکثیرپذیری

به‌منظور اطمینان از تکرارپذیری و تکثیرپذیری الکترودهای ساخته شده، اکسایش الکتروشیمیایی جم فیبروزیل در سطح Au/MWCNT/GCE، توسط سه الکتروود مختلف (ساخته شده در سه روز متفاوت) با استفاده از تکنیک‌های ولتامتری موج مربعی و امپدیمتری مورد مطالعه قرار گرفت. با هر یک از الکترودهای ساخته شده ۶ اندازه‌گیری تکراری انجام شد. نتایج به‌دست آمده در جدول‌های (۲-۴۳ و ۲-۴۴) گزارش شده‌است. نتایج به‌دست آمده، به‌صورت آماری با کمک روش تحلیل واریانس در سطح اطمینان ۹۵٪ مورد بررسی قرار گرفت (جدول‌های ۲-۴۵ و ۲-۴۶). براین اساس مقدار F محاسبه شده با استفاده از تکنیک ولتامتری موج مربعی ($F_{cal} = ۲/۹۲$) و تکنیک امپدیمتری ($F_{cal} = ۰/۰۷$) کوچکتر از مقدار F بحرانی ($F_{tab} = ۴/۷۶$) برای آزمون دو طرفه به‌دست آمد. این نتایج نشانگر دقت الکترودهای ساخته شده در روزهای مختلف است.

جدول (۲-۴۳) نتایج تکرارپذیری الکترودهای Au/MWCNT/GC مختلف برای اندازه‌گیری ۱۲/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در بافر فسفاتی pH=۳/۰ توسط تکنیک ولتامتری موج مربعی

SD** ± میانگین سیگنال تجزیه‌ای اندازه‌گیری شده (μA)	
۱۶/۷۵ ± ۰/۸۸	الکتروود اول-روز اول
۱۷/۶۳ ± ۰/۷۵	الکتروود دوم-روز دوم
۱۷/۵۸ ± ۰/۴۹	الکتروود سوم-روز سوم

* میانگین شش اندازه‌گیری ** انحراف استاندارد شش اندازه‌گیری تکراری

جدول (۲-۴۴) نتایج تکرارپذیری الکترودهای Au/MWCNT/GC مختلف برای اندازه‌گیری ۲۵/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در بافر فسفاتی pH=۳/۰ توسط تکنیک امپدیمتری

SD** ± میانگین سیگنال تجزیه‌ای اندازه‌گیری شده (MΩ) ⁻¹	
۸/۴۶ ± ۰/۳۵	الکتروود اول-روز اول
۸/۵۱ ± ۰/۳۸	الکتروود دوم-روز دوم
۸/۵۵ ± ۰/۳۹	الکتروود سوم-روز سوم

* میانگین شش اندازه‌گیری ** انحراف استاندارد شش اندازه‌گیری تکراری

جدول (۲-۴۵) تحلیل واریانس داده‌های مربوط به اندازه‌گیری جم فیبروزیل توسط الکترودهای

Au/MWCNT/GC مختلف در روزهای مختلف توسط روش ولتامتری موج مربعی

منبع تغییرات	DF	SS _{Adj}	MS _{Adj}	F- value	F-table
بین گروه‌ها	۲	۳/۰۸۳	۱/۵۴۲	۲/۹۲	۴/۷۶
درون گروه	۱۵	۷/۹۱۷	۰/۵۲۸۰	-	
کل	۱۷	۱۱/۰۰	-	-	

جدول (۲-۴۶) تحلیل واریانس داده‌های مربوط به اندازه‌گیری جم فیبروزیل توسط الکترودهای

Au/MWCNT/GC مختلف در روزهای مختلف توسط روش امپدیمتری

منبع تغییرات	DF	SS _{Adj}	MS _{Adj}	F- value	F-table
بین گروه‌ها	۲	۰/۰۲۰۰	۰/۰۱۰۰	۰/۰۷	۴/۷۶
درون گروه	۱۵	۲/۱۲۳	۰/۱۴۲	-	
کل	۱۷	۲/۱۴۳	-	-	

۲-۱۰-۴ بررسی دقت و صحت روش

بررسی دقت و صحت، از طریق اندازه‌گیری جم فیبروزیل توسط Au/MWCNT/GCE در

غلظت‌های ۳/۰۰، ۱۵/۰۰ و ۳۵/۰۰ میکرو مولار و در محلول بافر فسفاتی با pH=۳٫۰، با

به‌کارگیری روش‌های ولتامتری موج مربعی و امپدیمتری انجام شد.

به این منظور پنج اندازه‌گیری تکراری از محلول‌های مورد نظر در شرایط کالیبراسیون انجام و

ولتاموگرام‌ها و نمودارهای نایکوئیست مربوطه ثبت شد. سپس غلظت مربوط به میانگین

سیگنال‌های تجزیه‌ای با استفاده از معادلات منحنی‌های کالیبراسیون مربوطه محاسبه شد.

نتایج به‌دست آمده در جدول‌های (۲-۴۷ و ۲-۴۸) گزارش شده‌است. بررسی آزمون t نشان

می‌دهد که بین مقدار جم فیبروزیل اندازه‌گیری شده و مقدار واقعی جم فیبروزیل موجود در

محلول، اختلاف معناداری وجود نداشته و روش از صحت خوبی برخوردار است. صحت مناسب روش از درصد بازیابی و درصد خطای نسبی نیز قابل نتیجه گیری است. همچنین با دانستن مقادیر انحراف استاندارد و میانگین در هر غلظت اندازه گیری شده، می توان مقادیر RSD را محاسبه نمود و به دقت روش پی برد. مقادیر RSD محاسبه شده دقت خوب روش های به کار گرفته شده را تایید می کنند.

جدول (۲-۴۷) نتایج دقت و صحت روش برای اندازه گیری ولتامتری موج مربعی محلول استاندارد جم فیروزیل توسط Au/MWCNT/GCE در محلول بافر فسفاتی با pH=۳/۰

GEM ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	SD $\pm$ غلظت اندازه گیری شده *	مقدار محاسبه شده t^{**}	درصد بازیابی	%RE ***
	($\mu\text{mol L}^{-1}$)			
۳/۰۰	$3/20 \pm 0/19$	۲/۳۵	۱۰۶/۷	۶/۶
۱۵/۰۰	$14/95 \pm 0/16$	۰/۷۰	۹۹/۷	-۰/۳۳
۳۵/۰۰	$34/90 \pm 0/57$	۰/۳۹	۹۹/۷	-۰/۲۸

* میانگین پنج اندازه گیری

** مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای پنج اندازه گیری، ۲/۷۷ می باشد

*** درصد خطای نسبی

جدول (۲-۴۸) نتایج دقت و صحت روش برای اندازه گیری محلول استاندارد جم فیروزیل به کمک روش امپدیمتری توسط Au/MWCNT/GCE در محلول بافر فسفاتی با pH=۳/۰

GEM ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	SD $\pm$ غلظت اندازه گیری شده *	مقدار محاسبه شده t^{**}	درصد بازیابی	%RE ***
	($\mu\text{mol L}^{-1}$)			
۳/۰۰	$2/87 \pm 0/15$	۱/۹۴	۹۵/۷	-۴/۳۳
۱۵/۰۰	$14/83 \pm 0/21$	۱/۸۱	۹۸/۹	-۱/۱۳
۳۵/۰۰	$35/40 \pm 0/77$	۱/۱۶	۱۰۱/۱	۱/۱۴

* میانگین پنج اندازه گیری

** مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای پنج اندازه گیری، ۲/۷۷ می باشد

*** درصد خطای نسبی

۲-۶-۱۰-۵ بررسی پایداری الکتروکاتالیزور Au/MWCNT/GC

از روش ولتامتری چرخه ای برای بررسی میزان پایداری الکتروکاتالیزور کربن شیشه اصلاح شده با نانو ذرات طلا و نانو لوله های کربنی استفاده گردید و اثر روبش های متوالی بر رفتار الکتروشیمیایی آن مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور، پس از تهیه الکتروکاتالیزور اندازه گیری در

محلول بافر فسفاتی $\text{pH}=3/0$ حاوی جم فیبروزیل با غلظت $30/0$ میکرومولار طبق روش ارائه شده در بخش ۲-۶-۱۰-۱ انجام شد. سپس الکتروود در محلول شاهد قرار داده شد و با به کارگیری ولتامتری چرخه‌ای 50 روبش متوالی در گستره $0/90$ تا $1/50$ ولت با سرعت روبش 100 میلی ولت بر ثانیه انجام شد. پس از آن الکتروود در محلول بافر فسفاتی $\text{pH}=3/0$ حاوی جم فیبروزیل با غلظت $30/0$ میکرومولار قرار گرفت و اندازه‌گیری مطابق شرایط بهینه انجام شد. نتایج حاکی از آن است که شدت جریان دماغه اکسایش جم فیبروزیل کمتر از 5 درصد کاهش نشان داد در حالیکه پتانسیل اکسایش ثابت باقی ماند که این نتایج حاکی از پایداری خوب حسگر تهیه شده می‌باشد. هم‌چنین پس از نگهداری الکتروود Au/MWCNT/GC به مدت یک هفته در محلول بافر $\text{pH}=3/0$ پاسخ الکتروودی آن نسبت به اکسایش جم فیبروزیل به 85 درصد الکتروود تازه تهیه شده رسید.

۲-۶-۱۰-۶ بررسی اثر مزاحمت برخی از ترکیبات در اندازه‌گیری جم فیبروزیل در سطح الکتروود اصلاح شده

در این بخش تاثیر حضور گونه‌های آزمایشی مختلف بر شدت جریان دماغه آندی جم فیبروزیل توسط تکنیک‌های ولتامتری و امپدیمتری مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. در این بخش، پنج اندازه‌گیری تکراری جم فیبروزیل با غلظت $2/0 \mu\text{g/mL}$ (معادل $8/0$ میکرو مولار) در سطح Au/MWCNT/GCE پس از طی زمان انباشت 50 ثانیه و بدون اعمال پتانسیل، توسط هر یک از روش‌های ولتامتری و امپدیمتری انجام شد. میانگین ($\bar{x}$) و انحراف استاندارد (S) سیگنال‌های تجزیه‌ای (در غیاب گونه مزاحم) محاسبه شد. سپس مخلوط گونه مزاحم و جم فیبروزیل به سل الکتروشیمیایی افزوده شد و سیگنال مربوطه ثبت شد. در ادامه به توضیح هر یک از این روش‌ها پرداخته شده است.

بررسی اثر مزاحمت گونه‌ها در اندازه‌گیری ولتاژمتری موج مربعی جم فیبروزیل در سطح الکتروود اصلاح شده

ولتاموگرام موج مربعی در محدوده $+0.90$ تا $+1.50$ ولت ثبت شد (ارتفاع پالس mV ۵۰، فرکانس ۴۰ هرتز). هر روبش سه بار تکرار شد و میانگین جریان اکسایش جم فیبروزیل در حضور گونه مزاحم در پتانسیل $1/34$ ولت به دست آمد. اگر شدت جریان سیگنال تجزیه‌ای در این حالت، در محدوده ($\bar{x} \pm 3S$) باشد به این معناست که ترکیب مورد نظر با نسبت موجود، مزاحم نیست؛ در غیر اینصورت نسبت گونه مزاحم به جم فیبروزیل کاهش می‌یافت تا مزاحمت مشاهده نشود. همانگونه که در جدول (۲-۴۹) مشاهده می‌شود، حضور گونه‌هایی، نظیر: L-آلانین، گلوکز، لاکتوز، سیتریک اسید، تارتاریک اسید و ویتامین B_۹ تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر شدت جریان دماغه اکسایش جم فیبروزیل نداشته‌اند، اما حضور گونه‌هایی، نظیر تیو اوره، ویتامین B_۱، متیونین در اندازه‌گیری جم فیبروزیل مزاحمت ایجاد می‌کنند. خطای ایجاد شده توسط این گونه‌ها از نوع خطای منفی است و علت این امر می‌تواند به دلیل حضور گوگرد در این ترکیبات و تمایل شدید آن برای جذب در سطح طلا باشد که در نتیجه امکان دسترسی جم فیبروزیل به سطح الکتروود اصلاح شده کم شده و سیگنال تجزیه‌ای کاهش یافته است [۱۷۶، ۱۷۷]. از طرف دیگر ترکیباتی نظیر آترواستاتین و لوزارتان به دلیل اکسید شدن در پتانسیل‌هایی نزدیک به جم فیبروزیل، در صورت حضور در غلظت‌هایی بالاتر از مقدار ذکر شده می‌توانند منجر به افزایش شدت جریان اکسایش جم فیبروزیل شوند.

جدول (۲-۴۹) بررسی تاثیر حضور گونه‌های آزمایشی مختلف بر شدت جریان دماغه آندی جم فیبروزیل (۲/۰ μg/mL) در بافر فسفات‌ی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۳/۰ در سطح Au/MWCNT/GC توسط تکنیک ولتامتری

موج مربعی جذب سطحی

گونه‌های مورد بررسی	حد مجاز غلظت گونه مزاحم به غلظت جم فیبروزیل*
L-آلانین، گلوکز، لاکتوز، سیتریک اسید، K ⁺ , Ca ²⁺ , Ni ²⁺ , Ba ²⁺ , Mg ²⁺ , Cu ²⁺ , Cr ⁶⁺ , Zn ²⁺ , NH ₄ ⁺ , HCO ₃ ⁻ , BrO ₃ ⁻ , Cl ⁻ , Na ⁺ , NO ₃ ⁻ ، اسید، تارتاریک اسید،	۵۰۰
ویتامین B _۱ ، ویتامین B _{۱۲}	۲۵۰
دوپامین، استامینوفن، اوریک اسید، ترامادول	۵۰
تیو اوره، ویتامین B _۱ ، متیونین، آترواستاتین،	۲۵
لوزارتان	۵

*حداکثر نسبت اندازه‌گیری شده

بررسی اثر مزاحمت گونه‌ها در اندازه‌گیری امپدیمتری جم فیبروزیل در سطح الکتروود اصلاح شده پس از انجام مراحل ذکر شده در بخش ۲-۶-۱۰-۶ و پس از اعمال ۱۰ ثانیه زمان استراحت، بررسی تاثیر گونه‌های مزاحم در اندازه‌گیری کمی جم فیبروزیل، توسط روش EIS انجام پذیرفت. هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد و میانگین معکوس مقاومت انتقال بار محلول حاوی جم فیبروزیل به دست آمد. اگر سیگنال تجزیه‌ای در این حالت، در محدوده ($\bar{x} \pm 3S$) باشد به این معناست که ترکیب مورد نظر با نسبت موجود، مزاحم نیست؛ در غیر اینصورت نسبت گونه مزاحم به جم فیبروزیل کاهش می‌یافت تا مزاحمت مشاهده نشود. همانگونه که در جدول (۲-۵۰) مشاهده می‌شود، حضور گونه‌هایی، نظیر: گلوکز، لاکتوز، اوره و سیتریک اسید تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر اندازه‌گیری جم فیبروزیل نداشته اند. اما حضور گونه‌هایی، نظیر: آترواستاتین، اوریک اسید و تیو اوره در اندازه‌گیری جم فیبروزیل مزاحمت ایجاد می‌کنند. در حضور این ترکیبات معکوس مقاومت انتقال بار افزایش یافته و در نتیجه خطای ایجاد شده توسط این گونه‌ها از نوع خطای مثبت است و علت این امر می‌تواند به دلیل افزایش غلظت گونه الکتروفعال در محیط باشد.

جدول (۲-۵) بررسی تاثیر حضور گونه‌های آزمایشی مختلف بر شدت جریان دماغه آندی جم فیبروزیل (۲/۰ µg/mL) در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۳/۰ در سطح Au/MWCNT/GC توسط تکنیک امپدیمتری

گونه‌های مورد بررسی	حد مجاز غلظت گونه مزاحم به غلظت جم فیبروزیل
اوره، گلوکز، لاکتوز، Zn^{2+}	۲۵۰*
$Ba^{2+}, Mg^{2+}, Ni^{2+}, Ca^{2+}, Na^+, Cl^-, NO_3^-$	۱۲۵*
NH_4^+ ، سیتریک اسید	۵۰*
استامینوفن، ویتامین B _۱	۲۵*
دوپامین	۵*
آترواستاتین، اوریک اسید	۲*
تیو اوره	۱**

*حداکثر نسبت اندازه‌گیری شده

** حداقل نسبت اندازه‌گیری شده

۲-۶-۱۰-۷ به کارگیری روش ولتامتری موج مربعی و امپدیمتری برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل در نمونه‌های حقیقی

به منظور ارزیابی کارایی الکتروده تهیه شده برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل در نمونه‌های حقیقی، از نمونه کپسول جم فیبروزیل، آب شهر و سرم خون انسان مورد استفاده شد. کارایی الکتروده اصلاح شده توسط روش ولتامتری موج مربعی و امپدیمتری برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل در نمونه‌های حقیقی مانند آب شهر، کپسول جم فیبروزیل و سرم خون انسان مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری این ترکیب در نمونه دارویی کپسول بدین ترتیب انجام شد که ده کپسول جم فیبروزیل که هر یک حاوی ۳۰۰/۰ میلی گرم جم فیبروزیل است، وزن و به خوبی با هم مخلوط شد. سپس مقدار یک ششم از پودر مخلوط شده در مقدار کافی متانول حل شد. سپس محلول به دست آمده به بالن حجمی ۱۰۰۰/۰ میلی لیتر منتقل و با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد (کلیه رقیق سازی‌ها پس از این مرحله با استفاده از آب دو بار تقطیر انجام شد). رقیق سازی بیشتر از طریق انتقال ۱۰/۰ میلی لیتر از این محلول به بالن ۱۰۰/۰ میلی لیتری انجام شد. در هر مرحله ۱/۰ میلی لیتر از نمونه به سل الکتروشیمیایی (باحجم ۱۰/۰ میلی لیتر) منتقل شد. سپس، با افزودن حجم‌های مشخص و متفاوتی از نمونه استاندارد

جم فیبروزیل به محلول فوق، اندازه‌گیری به روش‌های ولتامتری و امپدیمتری صورت گرفت. نمونه آب شهر و سرم نیز طبق روش توضیح داده شده در بخش ۲-۴-۸-۶ تهیه شدند. روش اندازه‌گیری نمونه‌ها مشابه روش به کار گرفته شده برای نمونه کپسول بوده است. هر کدام از اندازه‌گیری‌ها سه بار تکرار شد و از منحنی کالبراسیون مربوطه برای تعیین غلظت جم فیبروزیل در نمونه‌های حقیقی مورد نظر استفاده شد. مقادیر t و درصد بازیابی‌ها نشانگر صحت خوب روش ولتامتری موج مربعی و امپدیمتری برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل می‌باشد.

نتایج به‌دست آمده در جدول‌های (۲-۵۱ و ۲-۵۲) گزارش شده است. با توجه به داده‌های جدول مشاهده می‌گردد که مقادیر خوبی برای درصدهای بازیابی به‌دست آمده است که نشان دهنده توانایی این الکتروود اصلاح شده برای اندازه‌گیری این گونه آزمایشی در نمونه‌های حقیقی می‌باشد. همان‌گونه که در جدول‌های (۲-۵۱ و ۲-۵۲) مشاهده می‌شود، مقدار جم فیبروزیل در نمونه کپسول به روش ولتامتری موج مربعی جذب سطحی و امپدیمتری در سطح Au/MWCNT/GCE توافق بسیار خوبی با مقدار مشخص شده در برچسب آن‌ها توسط کارخانه سازنده دارد. نمودارهای نایکوئیست مربوط به نمونه‌های حقیقی در پیوست (شکل‌های ۱۴-۱۷ پ) ارائه شده است.

جدول (۲-۵۱) نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری موج مربعی جذب سطحی جم فیبروزیل در نمونه‌های آب شهر، سرم و کپسول (n=۳) در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۳/۰ در سطح Au/MWCNT/GCE

نمونه	مقدار اضافه شده ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	SD $\pm$ مقدار اندازه‌گیری شده ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	مقدار محاسبه شده *t	درصد بازیابی
آب شهر	----	مشاهده نشد	----	----
	۰/۶۰	۰/۶۵ $\pm$ ۰/۰۴	۲/۱۶	۱۰۸/۳
	۳/۰	۲/۸ $\pm$ ۰/۱	۳/۴۶	۹۳/۳
	۷/۰	۶/۶ $\pm$ ۰/۳	۲/۳۱	۹۴/۲
سرم	----	مشاهده نشد	----	----
	۱۰/۰	۱۰/۲ $\pm$ ۰/۶	۰/۵۸	۱۰۱/۷
	۱۵/۰	۱۴/۲ $\pm$ ۰/۹	۱/۵۴	۹۴/۷
	۲۰/۰	۱۹/۷ $\pm$ ۱/۰	۰/۵۲	۹۸/۷
کپسول**	----	۲۰/۳ $\pm$ ۰/۵	----	----
	۵/۰۰	۲۴/۷ $\pm$ ۰/۴	۲/۶۰	۸۸/۰
	۱۰/۰	۳۰/۹ $\pm$ ۰/۴	۲/۶۰	۱۰۶/۰
	۲۰/۰	۴۰/۵ $\pm$ ۰/۸	۰/۴۳	۱۰۱/۰
مقدار برچسب روی کپسول (mg)		مقدار اندازه‌گیری شده (mg)		
۳۰۰/۰		۳۰۴/۵ $\pm$ ۸/۰		
* با در نظر گرفتن مقدار ۴/۳۰ برای t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای سه اندازه‌گیری				
** نمونه کپسول جم فیبروزیل از شرکت داروسازی تولید دارو، ایران (مقدار ماده موثر در هر کپسول ۳۰۰ میلی گرم)				

جدول (۲-۵) نتایج حاصل از اندازه‌گیری امپدیمتری جم فیبروزیل در نمونه‌های آب شهر، سرم و

کپسول (n=۳) در بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۳/۰ در سطح Au/MWCNT/GCE

نمونه	مقدار اضافه شده ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	SD $\pm$ مقدار اندازه‌گیری شده ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	مقدار محاسبه شده t^*	درصد بازیابی
آب شهر	----	مشاهده نشد	----	----
	۰/۵۰	۰/۴۶ $\pm$ ۰/۰۲	۳/۴۶	۹۲/۰
	۲/۰	۲/۱ $\pm$ ۰/۲	۰/۸۷	۱۰۵/۰
	۳/۰	۳/۱ $\pm$ ۰/۲	۰/۸۷	۱۰۳/۳
سرم	----	مشاهده نشد	----	----
	۴/۰	۴/۰ $\pm$ ۰/۴	۰/۰	۱۰۰/۰
	۸/۰	۸/۲ $\pm$ ۰/۶	۰/۵۸	۱۰۲/۵
	۱۲/۰	۱۱/۸ $\pm$ ۰/۴	۰/۸۷	۹۸/۳
کپسول**	----	۲۰/۶ $\pm$ ۰/۴	----	----
	۵/۰۰	۲۴/۹ $\pm$ ۰/۷	۱/۷۳	۸۶/۰
	۱۰/۰	۲۹/۶ $\pm$ ۰/۵	۳/۴۶	۹۰/۰
	۲۰/۰	۳۹/۶ $\pm$ ۰/۸	۲/۲۷	۹۵/۰
مقدار برچسب روی کپسول (mg)		مقدار اندازه‌گیری شده (mg)		
۳۰۰/۰		۳۰۹/۰ $\pm$ ۶/۰		

* با در نظر گرفتن مقدار ۴/۳۰ برای t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای سه اندازه‌گیری

** نمونه کپسول جم فیبروزیل از شرکت داروسازی تولید دارو، ایران (مقدار ماده موثر در هر کپسول ۳۰۰ میلی گرم).

۲-۶-۱۱ نتیجه گیری

در این بخش، سطح الکتروود کربن شیشه‌ای با استفاده از نانو لوله‌های کربنی چند دیواره و نانو ذرات طلا اصلاح شد. رفتار الکترو شیمیایی جم فیبروزیل روی سطح این الکتروود اصلاح شده توسط ولتامتری چرخه‌ای و موج مربعی بررسی شد. نتایج به‌دست آمده نشانگر افزایش چشمگیر شدت جریان دماغه اکسایش جم فیبروزیل در سطح الکتروود اصلاح شده با MWCNT/Au، نسبت به الکتروود اصلاح شده با MWCNT و الکتروود اصلاح نشده می‌باشد.

پارامترهای سینتیکی نظیر ثابت سرعت انتقال بار ناهمگن و ضریب انتقال الکترون گونه مورد نظر تعیین شد. الکتروود اصلاح شده از حساسیت، گزینش پذیری و تکرارپذیری بالایی برخوردار است. این مزایا به همراه راحتی تهیه الکتروود و عدم نیاز به صیقل دادن سطح، امکان استفاده از این سیستم را به عنوان یک حسگر ولتامتری و امپدیمتری مناسب، فراهم می‌سازد. در نهایت، به کارگیری روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری ولتامتری و امپدیمتری جم فیبروزیل در نمونه‌های حقیقی، کارایی حسگر پیشنهادی را برای اندازه‌گیری این ترکیب در نمونه‌های حقیقی تایید می‌کند.

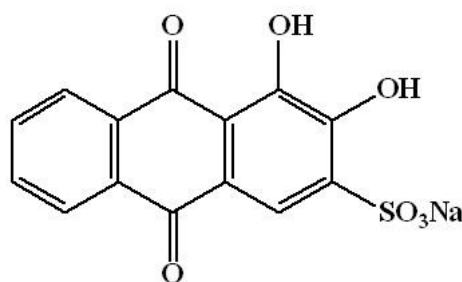
تنها یک مطالعه الکتروشیمیایی برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل گزارش شده است که نتیجه آن با روش پیشنهادی ولتامتری و امپدیمتری مقایسه گردید. با توجه به نتیجه حاصله که در جدول (۲-۵۳) آمده است، کارایی حسگر ولتامتری و امپدیمتری پیشنهادی در اندازه‌گیری جم فیبروزیل نسبت به حسگر ارائه شده توسط محققین دیگر نشان می‌دهد که حسگر پیشنهادی دارای حد تشخیص و دامنه خطی قابل مقایسه با روش ولتامتری است.

جدول (۲-۵۳) الکترودهای کربن شیشه اصلاح شده مختلف برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل				
روش اندازه‌گیری	نوع اصلاحگر	ناحیه خطی (مولار)	حد تشخیص (مولار)	مرجع
ولتامتری موج مربعی	نانو لوله‌های کربنی حاوی فیلم دی هگزادسیل هیدروژن فسفات	$1/0 \times 10^{-6} - 75/0 \times 10^{-9}$	$53/0 \times 10^{-9}$	[۱۶۶]
ولتامتری موج مربعی	نانو ذرات طلا/نانو لوله‌های کربنی	$45/0 \times 10^{-6} - 0/150 \times 10^{-6}$	$1/0 \times 10^{-7}$	تحقیق حاضر
امپدیمتری		$45/0 \times 10^{-6} - 0/10 \times 10^{-6}$	$74/0 \times 10^{-9}$	

۷-۲ الکتروود کربن شیشه اصلاح شده با نانو لوله کربنی چند دیواره و پلی آلیزارین قرمز S به عنوان حسگر ولتامتری جدید برای اندازه گیری جم فیبروزیل

پس از کشف نانو لوله های کربنی در سال ۱۹۹۱، این ترکیبات در علم مواد و شیمی بسیار مورد توجه بوده اند. CNT ها به دلیل خواص پیشرفته مکانیکی، الکتریکی و الکتروشیمیایی در گستره وسیعی از کاربردها مفید می باشند. برای مثال این ترکیبات می توانند با مس در هدایت الکتریکی رقابت کنند و به دلیل دارا بودن سطح مقطع موثر بالا باعث افزایش سرعت انتقال الکترون در واکنش های الکتروشیمیایی شوند [۱۷۸]. در زمینه الکتروشیمیایی CNT ها یکی از مواد بسیار مورد توجه هستند که به دلیل خواصی نظیر مقاومت پایین، سطح مقطع بالا و پایداری شیمیایی بطور گسترده در الکترودهای اصلاح شده شیمیایی به کار گرفته می شوند [۱۷۸]. الکترودهای تهیه شده با کمک CNT و یا کامپوزیت با آن ها، بطور گسترده برای مطالعه گونه هایی نظیر جم فیبروزیل، دوپامین و غیره [۱۷۹، ۱۶۶، ۱۵۷، ۳۳، ۲] مورد استفاده قرار گرفته است. اگرچه به دلیل جرم بسیار بالای این نانو مواد، پخش شدن آن ها در حلال های آبی بسیار سخت است و این امر موجب کاهش چشمگیری استفاده از این مواد می شود [۱۷۸]. تلاش های زیادی برای بهبود پخش شدگی CNT ها در محیط های آبی صورت گرفته است [۱۷۸]. برای مثال در یکی از روش های موجود برای رفع این مشکل، CNT ها در معرض محیط های اسیدی مانند سولفوریک اسید، نیتریک اسید، هیدروکلریک اسید و یا مخلوط آن ها قرار گرفته اند و در دمای اتاق رفلکس شده اند [۱۸۱، ۱۸۰]. اصلاح شیمیایی CNT ها به کمک مولکول های عامل دار نیز یکی از روش های موثر برای تغییر خواص شیمیایی سطح نانو لوله های کربنی است که منجر به ایجاد خواص جدید در سطح آن ها می شود. CNT های عامل دار شده را می توان از طریق تشکیل پیوندهای کووالانسی و یا غیر کووالانسی نظیر برهمکنش های $\pi-\pi$ و واندروالس بین CNT ها و گروه های عاملی تهیه کرد. رنگدانه های بسیاری می توانند به منظور

عامل دار کردن CNT ها از طریق برهمکنش های غیر کووالانس با نانو لوله های کربنی برهمکنش داشته باشند و منجر به افزایش پخش شدن این ترکیبات در محیط های آبی شوند [۱۸۲]. کینون ها و مشتقات آن ها به دلیل اینکه می توانند به عنوان حد واسط در انتقال الکترون نقش ایفا کنند، بطور گسترده ای برای اصلاح سطح الکتروود مورد استفاده قرار گرفته اند [۱۷۸]. یکی از این رنگدانه های پر مصرف آنتراکینونی، آلیزارین قرمز S (ARS) است. ساختار این یک رنگدانه محلول در آب در شکل (۵۷-۲) نشان داده شده است. این ترکیب دارای گروه های هیدروکسیل مجاور و بخش آنتراکینون است که به عنوان عامل کیلیت کننده در اندازه گیری فلزات به کار گرفته شده است [۱۸۳، ۱۸۴]. همچنین به علت حضور گروه آنتراکینون این ترکیب به عنوان حد واسط انتقال الکترون برای اندازه گیری تریپتوفان، پلی ساکاریدها و پروتئین ها استفاده شده است [۱۸۵-۱۸۷].



شکل (۵۷-۲) فرمول ساختاری آلیزارین قرمز S [۱۸۴].

در این بخش از مطالعه تحقیقاتی با توجه به توضیحات ارائه شده مبنی بر ساختار مولکولی ویژه ARS و توانایی آن برای برهمکنش با MWCNT از طریق پیوندهای غیر کووالانسی و حل کردن آن در محیط های آبی اقدام به اصلاح سطح الکتروود کربن شیشه با پلیمریزاسیون الکتروشیمیایی ARS موجود در محلول MWCNT-ARS شد. الکتروود اصلاح شده سپس برای اندازه گیری جم فیروزیل مورد استفاده قرار گرفت.

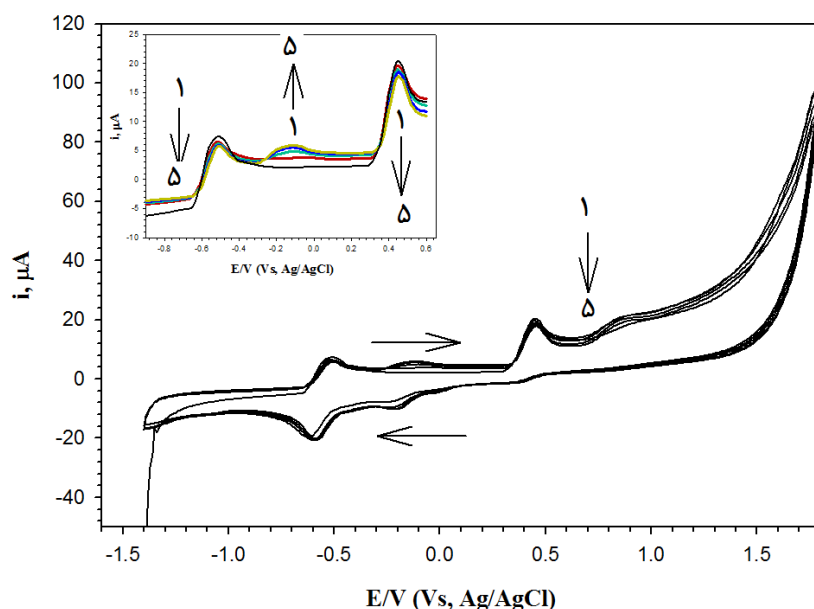
۲-۷-۱ تهیه الکتروُد کربن شیشه اصلاح شده با نانو لوله کربنی چند دیواره/ پلی آلزارین قرمز S

برای تهیه الکتروُد کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره بدین صورت عمل شد: ابتدا، سطح الکتروُد کربن شیشه‌ای به منظور دستیابی به یک سطح صیقلی و براق، با استفاده از دوغابی از پودر آلومینا (با میانگین اندازه ذرات $0.5 \mu\text{m}$) در سطح صفحه مخصوص صیقل دادن الکتروُد، به طور مکانیکی آماده شد. به منظور زدودن ناخالصی‌های احتمالی موجود در سطح الکتروُد، الکتروُد به وسیله محلول رقیق نیتریک اسید با غلظت 0.10 میلی مولار در حمام فراصوت به مدت 5 دقیقه شستشو داده شد. سپس 0.6 میلی گرم از ARS در 100 میلی لیتر بافر فسفاتی $\text{pH}=7.0$ حل شد. پس از آن 0.8 میلی گرم از MWCNT به محلول فوق افزوده شد. به منظور تهیه محلول همگنی از MWCNT-ARS، این ترکیب برای مدت 15 دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار گرفت. محلول به دست آمده به سل الکتروشیمیایی منتقل شد. به منظور تهیه الکتروُد کربن شیشه اصلاح شده با پلی آلزارین قرمز S/نانو لوله‌های کربنی چند دیواره (MWCNT-PARS)، الکتروُد کربن شیشه در سل حاوی محلول MWCNT-ARS قرار گرفت و پلیمریزاسیون الکتروشیمیایی از طریق تکنیک ولتامتری چرخه‌ای با روبش پتانسیل طی پنج چرخه متوالی در گستره -1.40 تا $+1.80$ ولت نسبت به الکتروُد مرجع /نقره /نقره کلرید (پتاسیم کلرید 3.0 مولار) با سرعت روبش 100 میلی ولت بر ثانیه انجام شد. پس از الکتروپلیمریزاسیون، الکتروُد اصلاح شده با آب دو بار تقطیر شسته شد تا هر گونه ناخالصی از سطح آن پاک شود. سپس به منظور اطمینان از عدم حضور منومر و یا دیم‌های باقی مانده و پلیمریزه نشده در سطح الکتروُد کربن شیشه، الکتروُد MWCNT-/GC PARS در محلول بافر فسفاتی $\text{pH}=7.0$ قرار داده شد و روبش پتانسیل در محدوده تشکیل پلیمر به تعداد 5 سیکل متوالی انجام شد.

۲-۷-۲ بررسی و مشخصه یابی الکتروود اصلاح شده

۱-۲-۷-۲ پلیمریزاسیون الکتروشیمیایی ARS در سطح GCE

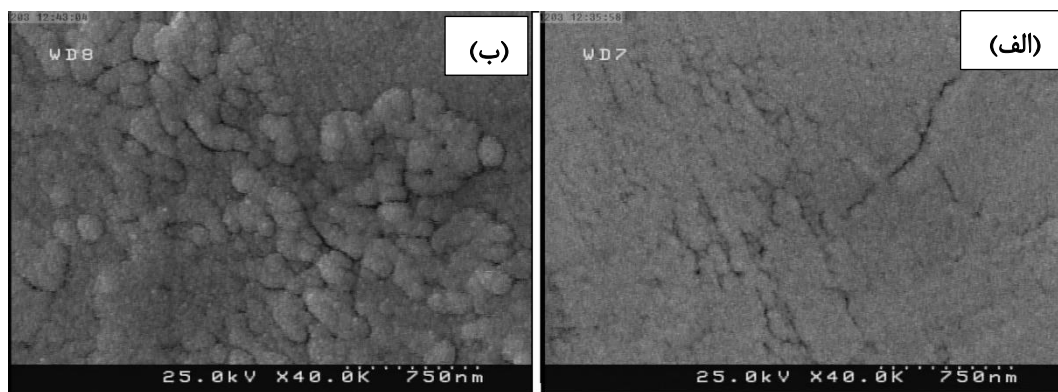
ولتاموگرام‌های چرخه‌ای متوالی جهت تشکیل پلیمر از محلول حاوی ۰/۶۰ میلی گرم بر میلی لیتر ARS و ۰/۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر MWCNT در شکل (۵۸-۲) نشان داده شد. همان‌طور که در شکل دیده می‌شود یک جفت دماغه اکسایش و کاهش در $E_{pa} = -0.50$ V و $E_{pc} = -0.56$ V به همراه یک دماغه اکسایش در پتانسیل 0.47 V در چرخه اول دیده می‌شود. دماغه ردوکس اول مربوط به واکنش اکسایش و کاهش آنتراکینون است در حالیکه پیک اکسایش در پتانسیل‌های مثبت تر ($E_{pa} = 0.47$ V) می‌تواند مربوط به بخش کتکولی باشد [۱۸۵]. در چرخه‌های بعدی، یک دماغه اکسایشی در -0.5 V و دو دماغه کاهش‌ی در پتانسیل‌های -0.2 V و -0.20 V مشاهده می‌شود که بتدریج با افزایش چرخه‌های الکتروپلیمریزاسیون افزایش می‌یابند (شکل ۵۵-۲-ضمیمه). دلیل این امر می‌تواند تشکیل فیلم پلیمری در سطح الکتروود باشد [۱۸۸].



شکل (۵۸-۲): الکتروپلیمریزاسیون MWCNT-ARS در سطح الکتروود کربن شیشه در ۱۰/۰ میلی لیتر بافر فسفات $pH=7.0$ ۰/۰۶۷ مولار حاوی ۶/۰ میلی گرم ARS و ۸/۰ میلی گرم MWCNT، سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه.

۲-۲-۷-۲ ریخت شناسی سطح الکتروود

به منظور بررسی تغییرات ایجاد شده در سطح الکتروود به هنگام به کار گیری پلی آلیزارین قرمز S و همچنین فیلم MWCNT-PARS از تصویر برداری میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده شد. شکل (۲-۵۹-الف)، سطح الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با PARS را نشان می‌دهد (الکترودهای اصلاح شده به روش ذکر شده در بخش ۲-۷-۱ تهیه شدند). همان‌طور که مشاهده می‌شود، پس از پلیمریزاسیون سطح الکتروود کربن به شکل یکنواختی در آمده است. از سوی دیگر با توجه به شکل (۲-۵۹-ب) می‌توان دریافت که MWCNT بطور یکنواختی در فیلم PARS پخش شده است.

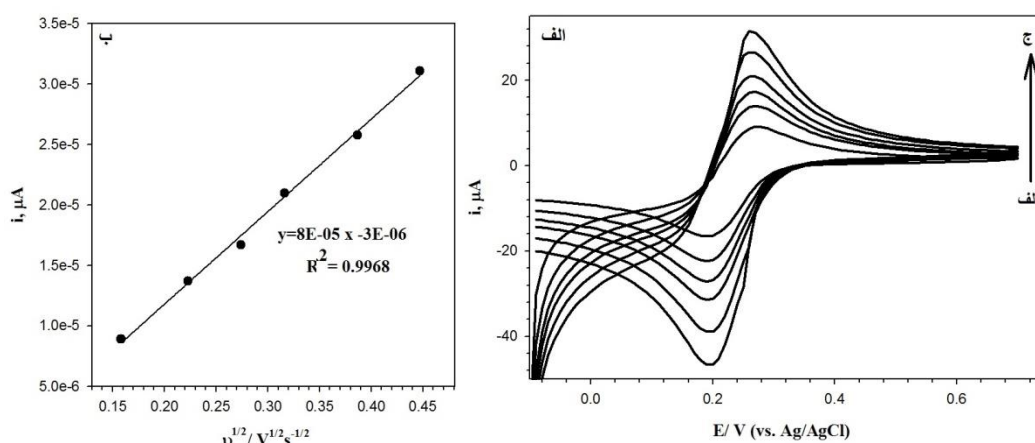


شکل (۲-۵۹): تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با (الف) PARS (ب) MWCNT-PARS

۲-۲-۷-۳ اندازه‌گیری مساحت سطح الکترودهای اصلاح شده

همانند فصول گذشته برای مطالعه و بررسی سطح الکتروودهای اصلاح شده، تکنیک ولتامتری چرخه‌ای مورد استفاده قرار گرفت. به این منظور الکتروود اصلاح شده در محلول mM $1/10$ $K_4Fe(CN)_6$ حاوی 0.10 M KCl قرار گرفت و روبش پتانسیل در سرعت‌های مختلف در محدوده ۲۵ تا ۲۰۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد (شکل ۲-۶۰-الف). طبق معادله راندلس-سویک برای یک سیستم برگشت‌پذیر (معادله ۱-۱)، شدت جریان دماغه با جذر سرعت روبش ارتباط خطی دارد. بنابراین، نمودار شدت جریان دماغه اکسایش آهن (II) بر حسب جذر

سرعت روبش رسم شد (شکل ۲-۶۰-ب). خطی بودن این نمودار تایید کننده انتشاری بودن فرآیند انتقال الکترون در سطح PARS/GCE و MWCNT-PARS/GCE می باشد. محاسبات مطابق روش ارائه شده در بخش (۲-۴-۲) انجام شد. در انجام این محاسبات شیب نمودار جریان بر حسب جذر سرعت روبش برای الکتروکد کربن شیشه اصلاح شده با PARS برابر با 5×10^{-5} و مقدار این شیب برای الکتروکد کربن شیشه اصلاح شده با MWCNT-PARS برابر با 5×10^{-5} به دست آمد. به این ترتیب سطوح الکتروفعال الکترودهای PARS/GC (شکل ۱۸ پ) و MWCNT-PARS/GC به ترتیب برابر با 0.054 و 0.117 سانتی متر مربع محاسبه شد.

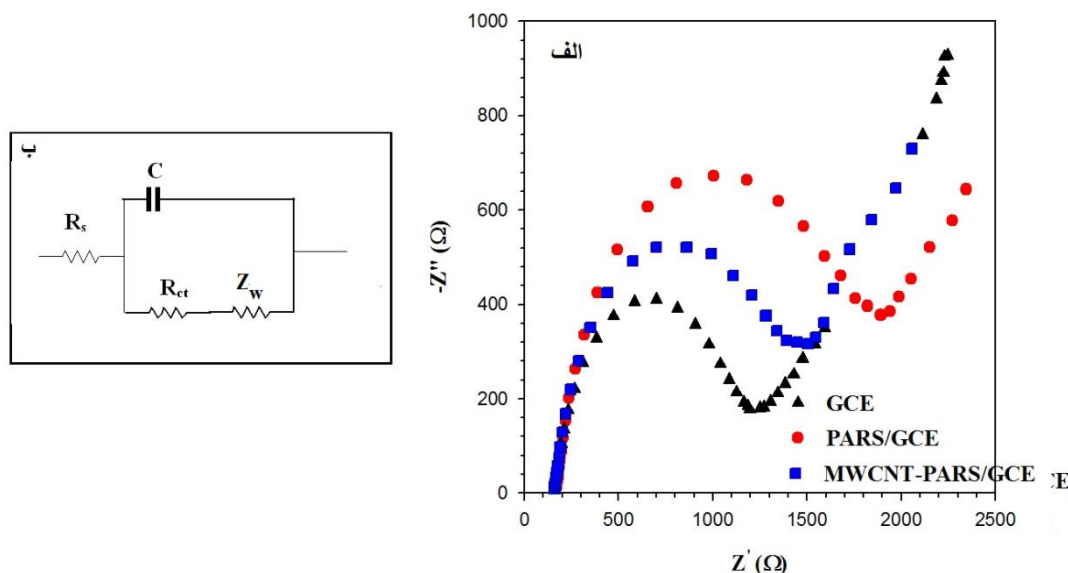


شکل (۲-۶۰): (الف) ولتاموگرامهای چرخه‌ای MWCNT-PARS/GCE در محلول $1/0 \text{ mM K}_4\text{Fe(CN)}_6$ حاوی 0.1 M KCl در سرعت روبشهای مختلف: (الف تا ج) مربوط به سرعت‌های روبش ۷۵، ۵۰، ۲۵، ۱۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی ولت بر ثانیه می باشند. (ب) نمودار تغییرات شدت جریان دماغه آندی بر حسب جذر سرعت روبش.

۳-۷-۲ مطالعات طیف‌بینی امپدانس الکتروشیمیایی در سطح الکترودهای مختلف

نمودارهای نیکوئیست در طیف بینی امپدانس الکتروشیمیایی ابزاری برای اندازه‌گیری میزان مقاومت انتقال بار بین واکنشگر و سطح الکتروکد هستند. در این بخش از مطالعه با بررسی نمودارهای نیکوئیست الکترودهای GC، PARS/GC و MWCNT-PARS/GC اطلاعات مفیدی در زمینه مقاومت در برابر انتقال بار هر یک از این الکترودها به دست آمد. نتایج حاصله در شکل (۲-۶۱ الف) ارائه شده است. مدار معادل شده برای طیف‌های امپدانس مشاهده شده در شکل (۲-۶۱-ب) نشان داده شده است.

برای انجام این مطالعات الکترودها در محلول ۵/۰ میلی مولار $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ حاوی ۰/۵۰ مولار KCl قرار گرفتند. پس از برازش داده‌ها با استفاده از نرم افزار ایویوم، میزان مقاومت انتقال بار برای الکترودهای GC، PARS/GC و MWCNT-PARS/GC به ترتیب برابر با ۵۴۰، ۸۶۰ و ۶۷۰ اهم به دست آمد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، میزان مقاومت انتقال بار در حضور PARS نسبت به الکترودهای GC افزایش می‌یابد. دلیل این امر دافعه الکترواستاتیکی بین PARS با بار منفی و مولکول‌های $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ می‌باشد [۱۷۸]. در حضور MWCNT به هنگام تشکیل پلیمر مقاومت انتقال بار نسبت به PARS کاهش می‌یابد که این امر نشانگر اصلاح موفق سطح الکترودها به وسیله فیلم MWCNT-PARS است.



شکل (۲-۶۱): (الف) نمودار نایکوئیست در سطح الکترودهای GC اصلاح نشده، PARS/GC و MWCNT-PARS/GC در محلول ۵/۰ میلی مولار پتاسیم هگزاسیانو فرات / پتاسیم هگزاسیانو فریت حاوی ۰/۵۰ مولار پتاسیم کلرید، محدوده فرکانس ۰/۱ تا ۱۰۰۰۰۰ Hz. (ب) نمایش طرح نموداری مدار معادل شده.

در مدار معادل طراحی شده برای نمودار نایکوئیست الکترودهای برهنه و اصلاح شده R_s ، R_{ct} و C به ترتیب مقاومت محلول، ظرفیت خازنی لایه دوگانه و مقاومت در برابر انتقال بار را نشان می‌دهند. Z_w نیز مربوط به انتشار خطی نیمه متناهی واکنشگر می‌باشد.

۴-۷-۲ بررسی رفتار الکتروشیمیایی فیلم MWCNT-PARS در سطح الکتروود کربن

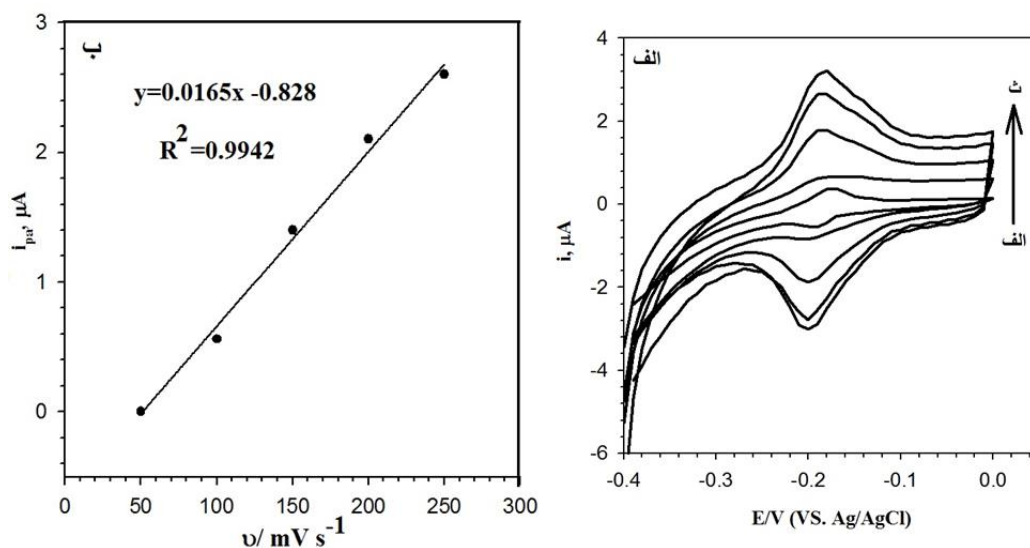
شیشه

به منظور بررسی رفتار الکتروشیمیایی فیلم MWCNT-PARS در سطح الکتروود GC، پس از تهیه الکتروود طبق روش شرح داده شده در بخش (۱-۷-۲)، الکتروود در سل الکتروشیمیایی حاوی ۱۰/۰ میلی لیتر محلول سولفوریک اسید ۰/۵۰ مولار قرار داده شد و در سرعت‌های روبش مختلف در گستره ۵۰ تا ۲۵۰ میلی ولت بر ثانیه در محدوده پتانسیلی ۰/۴۰- تا ۰/۰ ولت روبش شد و ولتاموگرام‌های به‌دست آمده ثبت شد (شکل ۲-۶۲-الف).

همان‌طور که در شکل (۲-۶۲-الف) مشاهده می‌شود این ولتاموگرام‌ها دارای دماغه ردوکس هستند. این مشاهده تایید می‌کند که فیلم پلیمری تهیه شده در این محیط الکتروفعال است. داده‌های حاصل از این بررسی در جدول (۲-۵۴) ارائه شده است. همچنین با رسم نمودار شدت جریان دماغه آندی بر حسب سرعت روبش (شکل ۲-۶۲-ب) می‌توان دید که شدت جریان دماغه آندی مطابق معادله (۲-۳۵) با سرعت روبش رابطه خطی دارد. این نتیجه نشان می‌دهد که فرآیند انتقال الکترون تحت کنترل واکنش‌های سطحی است.

$$i_{pa}(\mu A) = 0.0165 v (mV s^{-1}) - 0.828 (\mu A) \quad (R^2 = 0.9942) \quad (2-35)$$

همچنین همان‌طور که در جدول (۲-۵۴) دیده می‌شود نسبت شدت جریان آندی به شدت جریان کاتدی (i_{pa}/i_{pc}) تقریباً برابر یک است. از سوی دیگر دیده می‌شود که دماغه آندی در پتانسیلی حدود ۰/۱۷- ظاهر می‌شود در حالیکه دماغه احیا در پتانسیلی نزدیک به ۰/۲- ولت دیده می‌شود. در واقع، جدایی دماغه‌های پتانسیل آندی و کاتدی ($\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$) برابر با ۳۰/۰ میلی‌ولت بوده و با افزایش سرعت روبش ثابت باقی مانده است. این نتایج نشانگر برگشت پذیر بودن فرایند الکتروودی فیلم تثبیت شده PARS در سطح الکتروود است [۱۸۹].



شکل (۲-۶): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای MWCNT-PARS/GCE در محلول ۰/۵۰ مولار H_2SO_4 در سرعت روبش‌های مختلف: (الف تا ث) مربوط به سرعت‌های روبش ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی ولت بر ثانیه می‌باشند. (ب) نمودار تغییرات شدت جریان آنودی بر حسب سرعت اسکن.

جدول (۲-۵) داده‌های حاصل از بررسی پاسخ الکتروود MWCNT-PARS/GC در محلول ۰/۵۰ مولار H_2SO_4 در سرعت‌های روبش مختلف

v ($mV s^{-1}$)	i_{pa} (μA) [*]	i_{pc} (μA) ^{**}
۵۰	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴
۱۰۰	۰/۵۶	۰/۵۴
۱۵۰	۱/۴۵	۱/۴
۲۰۰	۲/۱	۲/۰۵
۲۵۰	۲/۶	۲/۶۴

$E_{pa} = -0.17$ *

$E_{pc} = -0.2$ **

با در نظر گرفتن برگشت پذیر بودن سیستم PARS می‌توان از میزان جدایی دماغه‌های پتانسیل ($\Delta E_p = 30$ mV) برای تعیین تعداد الکترون‌های انتقال یافته در واکنش الکتروودی (n) استفاده نمود. از آنجاییکه برای سیستم برگشت پذیر میزان ΔE_p در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نزدیک به $2/3 RT/nF$ می‌باشد، بنابراین تعداد الکترون‌های انتقال یافته در این واکنش الکتروودی برابر با ۲ ($n=1/97$) در نظر گرفته شد.

برای تعیین غلظت سطح گونه‌های فعال در یک واکنش کنترل شده با فرآیندهای سطحی از رابطه (۲-۱) استفاده می‌شود. محاسبات انجام شده در این مطالعه بر اساس رابطه (۲-۱) به شرح معادله (۳۶-۲) است:

$$I_p = S \nu \quad (36-2)$$

که در آن S شیب نمودار تغییرات جریان بر حسب سرعت روبش است.

$$S = \frac{n A \Gamma_F^2}{4RT} = 0.165 \text{ A.s.v}^{-1} \quad (37-2)$$

بنابراین غلظت سطح گونه‌های الکتروفعال از طریق رابطه (۳۸-۲) محاسبه شد:

$$\Gamma = \frac{0.165 \times 298 \times 8.314 \times 4}{2 \times (96485)^2 \times 0.117} = 3.75 \times 10^{-8} \text{ mol cm}^{-2} \quad (38-2)$$

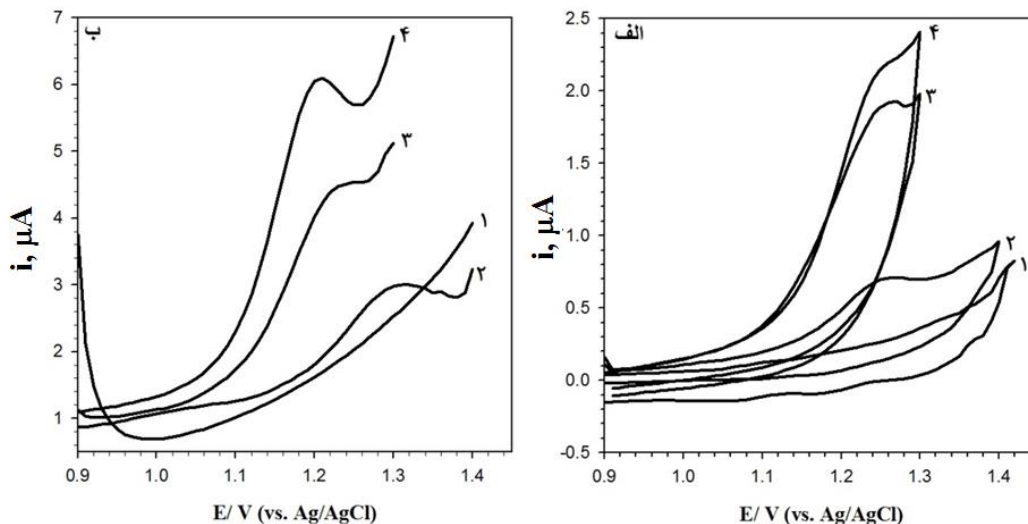
۲-۷-۵ معرفی سیستم الکتروشیمیایی مورد استفاده برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل

الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح‌شده با فیلم MWCNT-PARS در غیاب جم فیبروزیل در محلول بافر استات با pH=۴/۵ قرار داده شد (ولتاموگرام‌های ۱ در شکل ۲-۶۳-الف و ب). همانطور که مشاهده می‌شود در محدوده پتانسیلی ۰/۹۰ تا ۱/۴۰ ولت هیچ دماغی مشاهده نمی‌شود، که این امر نشانگر غیر الکتروفعال بودن الکتروکربن اصلاح‌شده در ناحیه پتانسیلی آزمایش است. همچنین در شکل (۲-۶۳)، ولتاموگرام‌های چرخه‌ای و پالس تفاضلی الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح‌نشده (۲)، اصلاح‌شده با PARS (۳) و اصلاح‌شده با MWCNT-PARS (۴) در محلول بافر استاتی (pH= ۴/۵) حاوی ۲۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل، در گستره ۰/۹۰ تا ۱/۴۰ ولت نسبت به الکتروکربن مرجع دیده می‌شود. همانطور که در شکل مشاهده می‌شود اکسایش جم فیبروزیل در سطح همه این الکتروکربن‌ها بطور برگشت ناپذیر اتفاق می‌افتد. در سطح الکتروکربن شیشه برهنه (ولتاموگرام ۲ شکل ۲-۶۳-الف) پاسخ ولتامتری جم فیبروزیل به‌صورت دماغی با شدت جریان کم و در پتانسیل ۱/۲۵ ولت نسبت به الکتروکربن مرجع دیده می‌شود. ولتاموگرام‌های حاصل از اکسایش جم فیبروزیل در سطح

PARS/GCE (ولتاموگرام ۳ شکل ۲-۶۳ الف) شدت جریان بیشتری را در پتانسیل‌های اندکی منفی‌تر ($E_{pa}=1/21\text{ V}$) در مقایسه با الکتروُد کربن شیشه اصلاح نشده نشان می‌دهد. افزایش جریان و کاهش پتانسیل (حدود ۴۰ میلی‌ولت) در این مورد می‌تواند ناشی از سهولت انتقال الکترون در حضور پلیمر الکتروفعال PARS در سطح GCE باشد. در سطح MWCNT-PARS/GCE (ولتاموگرام ۴ شکل ۲-۶۳ الف)، شدت جریان دماغه افزایش می‌یابد. در این حالت نسبت به الکتروُد PARS/GC جابجایی اندکی در پتانسیل مشاهده می‌شود (حدود ۱۰ میلی‌ولت). دلیل این امر می‌تواند بهره‌گیری همزمان از هر دو عامل اصلاح‌گر باشد. نتایج این بررسی تایید می‌کند که فیلم MWCNT-PARS سینتیک انتقال الکترون را در سطح کربن شیشه بصورت موثری تسهیل می‌کند.

در بخش دیگری از این مطالعات، از تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی برای بررسی اکسایش جم فیبروزیل در بافر استاتی ($pH=4/5$) با سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه (ارتفاع پالس ۷۰ میلی‌ولت و مدت زمان اعمال پالس ۲۰ میلی‌ثانیه) و در گستره ۰/۹۰ تا +۱/۴۰ ولت نسبت به الکتروُد مرجع، در سطح الکترودهای GC، PARS/GC و MWCNT-PARS/GC استفاده شد. نتایج حاصل از بررسی‌های ولتامتری تفاضلی (شکل ۲-۶۳ ب) همانند نتایج به‌دست آمده از ولتامتری چرخه‌ای نشان می‌دهد که اکسایش جم فیبروزیل کمترین شدت جریان را در سطح الکتروُد کربن شیشه و در پتانسیل ۱/۳۱+ ولت دارد (ولتاموگرام ۲ شکل ۲-۶۳ ب). درحالی‌که اصلاح سطح الکتروُد با پلیمر الکتروفعال PARS نه تنها منجر به افزایش جریان اکسایشی این ترکیب می‌شود بلکه جابجایی در پتانسیل نیز مشاهده می‌شود ($E_{pa}=1/24\text{ V}$) (ولتاموگرام ۳ شکل ۲-۶۳ ب). درحالی‌که بیشترین جریان اکسایش این ترکیب در سطح الکتروُد کربن شیشه اصلاح شده با فیلم MWCNT-PARS و در پتانسیل ۱/۲۱ ولت مشاهده می‌شود (ولتاموگرام ۴ شکل ۲-۶۳ ب). بنابراین، با توجه به نتایج

به دست آمده و به دلیل حساسیت بالاتر روش ولتامتری تفاضلی نسبت به ولتامتری چرخه‌ای در اندازه‌گیری‌های کمی، از تکنیک ولتامتری تفاضلی برای توسعه این حسگر الکتروشیمیایی استفاده شد.



شکل (۲-۶۳): ولتاموگرام‌های (الف) چرخه‌ای و (ب) پالس تفاضلی ۲۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در محلول بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با $\text{pH} = 4.5$ در سطح الکترودهای کربن شیشه‌ای اصلاح نشده (۲)، اصلاح‌شده با PARS (۳) و اصلاح‌شده با فیلم MWCNT-PARS (۴). ولتاموگرام (۱) در (الف و ب) به ترتیب، مربوط به ولتاموگرام چرخه‌ای و پالس تفاضلی الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح‌شده با فیلم MWCNT-PARS در غیاب جم فیبروزیل می‌باشد. سرعت روبش در ولتامتری چرخه‌ای ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه. برای ولتاموگرام پالس تفاضلی ارتفاع پالس ۷۰ میلی ولت، مدت زمان اعمال پالس ۲۰ میلی ثانیه و سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه.

۲-۷-۶ بهینه سازی شرایط آزمایش

بهینه‌سازی پارامترهای موثر بر شدت جریان دماغه اکسایش جم فیبروزیل نظیر pH محیط، نوع بافر، حجم بافر، شرایط آماده سازی الکترود، سرعت روبش و پارامترهای دستگاهی (مانند ارتفاع پالس و مدت زمان اعمال پالس) اهمیت به‌سزایی در رسیدن به حداکثر جریان اکسایشی دارند. در این بخش از پروژه از روش یک متغیر در یک زمان برای بهینه سازی پارامترهای موثر استفاده گردید.

۲-۷-۶-۱ روش کار کلی برای بهینه سازی پارامترهای موثر بر اکسایش جم فیبروزیل به‌منظور دسترسی به بهترین سیگنال تجزیه‌ای برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل به کمک

الکتروود کرین شیشه اصلاح شده با فیلم MWCNT-PARS، از روش تک متغیره استفاده شد. به این ترتیب که هنگام بهینه سازی هر پارامتر سایر پارامترهای موثر ثابت در نظر گرفته شدند. فرآیند انجام آزمایش‌ها به این صورت بود که پس از تهیه الکتروود اصلاح شده، حجم مشخصی از محلول استاندارد جم فیبروزیل به سل الکتروشیمیایی منتقل شد و pH محیط با افزودن مقدار مشخصی از محلول بافر در pH معین تنظیم شد، سپس حجم محلول با استفاده از آب دو بار تقطیر به ۱۰/۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس الکتروودها داخل سل الکتروشیمیایی قرار داده شدند و ولتاموگرام تفاضلی در محدوده +۰/۹۰ تا +۱/۳۰ ولت نسبت به الکتروود مرجع نقره/نقره کلرید (پتاسیم کلرید ۳/۰ مولار) با سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه ثبت شد. پارامترهای دستگاهی ولتامتری پالس تفاضلی به هنگام ثبت ولتاموگرام‌ها طی بهینه سازی عبارت بود از ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه. پس از ثبت ولتاموگرام تفاضلی در محلول حاوی جم فیبروزیل شدت جریان در پتانسیل ۱/۲۱ ولت اندازه‌گیری و ثبت شد. برای ثبت سیگنال شاهد، الکتروود کار در محلول با شرایط pH و نوع بافر یکسان با مرحله اندازه‌گیری جم فیبروزیل قرار گرفت و شدت جریان متناظر با پتانسیل دماغه اکسایش جم فیبروزیل به عنوان سیگنال شاهد در نظر گرفته شد. اختلاف بین شدت جریان نمونه و شدت جریان شاهد در پتانسیل ۱/۲۱ ولت به‌عنوان سیگنال تجزیه‌ای در نظر گرفته شد. هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد. شدت جریان میانگین این اندازه‌گیری‌ها در بررسی‌های انجام شده مورد استفاده قرار گرفت. به‌منظور پاکسازی سطح الکتروود و از بین بردن اثر حافظه جم فیبروزیل باقیمانده روی سطح الکتروود اصلاح شده بعد از هر اندازه‌گیری، پنج روبش چرخه‌ای متوالی در محدوده +۰/۹۰ تا +۱/۳۰ در محلول شاهد انجام شد.

۲-۶-۷-۲ تعیین pH بهینه و نوع بافر در اکسایش جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE

با توجه به فرمول ساختاری جم فیبروزیل (بخش ۷-۲)، این ترکیب دارای گروه

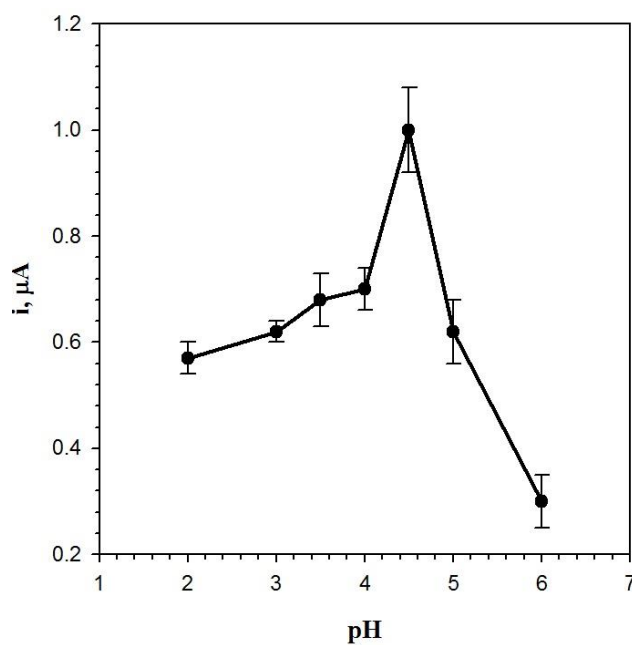
کربوکسیلیک اسید می‌باشد و قادر است به صورت برگشت پذیر یک پروتون گرفته و یا از دست بدهد. از اینرو باید اثر pH محیط بر سیگنال تجزیه‌ای در سطح الکتروود اصلاح شده مورد بررسی قرار گیرد. فرآیند انجام آزمایش به این صورت بود که الکتروود اصلاح شده از طریق حل کردن ۴/۰ میلی گرم ARS در ۱۰/۰ میلی لیتر بافر فسفات $\text{pH}=7/0$ و سپس افزودن ۸/۰ میلی گرم MWCNT، به محلول فوق تهیه شد. برای داشتن مخلوطی همگن، این ترکیب به مدت ۱۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار داده شد. محلول حاصل سپس به سل الکتروشیمیایی منتقل شد. الکتروودها در سل قرار داده شدند و برای پلیمریزاسیون الکتروشیمیایی ARS و تشکیل فیلم MWCNT-PARS در سطح الکتروود کربن شیشه، ۱۵ روبش متوالی در گستره پتانسیلی $-1/40$ تا $+1/80$ ولت با سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه در محلول فوق انجام شد. الکتروود اصلاح شده سپس با آب دوبار تقطیر شسته شد تا ناخالصی‌های موجود از سطح شسته شوند. سپس به منظور اطمینان از عدم حضور منومر و یا دیم‌های باقی مانده و پلیمریزه نشده در سطح الکتروود کربن شیشه، الکتروود MWCNT-PARS /GC در محلول بافر فسفات $\text{pH}=7/0$ قرار داده شد و روبش پتانسیل در محدوده تشکیل پلیمر به تعداد ۵ سیکل متوالی انجام شد.

به منظور بررسی تاثیر تغییر pH بر پاسخ الکتروشیمیایی جم فیبروزیل، ۴/۰ میلی لیتر بافر فسفات $0/067$ مولار با pH های متفاوت در گستره ۲/۰ تا ۶/۰ به سل الکتروشیمیایی اضافه شد و پس از افزودن ۱/۰ میلی لیتر از محلول استاندارد جم فیبروزیل با غلظت مشخص حجم محلول موجود در سل توسط آب دو بار تقطیر به ۱۰/۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس الکتروودها داخل سل الکتروشیمیایی قرار داده شدند و ولتاموگرام تفاضلی در محدوده $+0/90$ تا $+1/30$ ولت با سرعت روبش ۵۰ میلی ثانیه ثبت شد (ارتفاع پالس ۵۰ mV، مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه). هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد. میانگین جریان آندی حاصل از اکسایش

جم فیبروزیل بر حسب تغییرات pH (در گستره ۲/۰ تا ۶/۰) رسم گردید. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۵۵-۲) و شکل (۶۴-۲) ارائه شده است.

جدول (۵۵-۲) نتایج به دست آمده از شدت جریان دماغه اکسایش ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در محلول حاوی بافر فسفاتی با pH های مختلف با روش ولتامتری پالس تفاضلی در سطح الکترود MWCNT-/GC

PARS							
pH	۲/۰	۳/۰	۳/۵	۴/۰	۴/۵	۵/۰	۶/۰
سیگنال تجزیه‌ای (μA)	0.57 ± 0.03	0.62 ± 0.02	0.68 ± 0.05	0.70 ± 0.04	1.00 ± 0.08	0.62 ± 0.06	0.30 ± 0.05



شکل (۶۴-۲): نمودار تغییرات جریان آنودی بر حسب pH برای محلول ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل. تمامی اندازه گیری‌ها در محلول ۰/۰۲۷ مولار بافر فسفاتی و در سطح الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با MWCNT-PARS. ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه و سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه.

همان‌طور که ملاحظه می‌شود، pH محیط بر جریان اکسایش جم فیبروزیل تاثیر به‌سزایی دارد. با افزایش pH محیط، شدت جریان افزایش می‌یابد تا در $pH=4.5$ به بیشترین مقدار رسیده و سپس کاهش می‌یابد. در واقع، افزایش pH می‌تواند منجر به بهبود سرعت از دست دادن پروتون در جم فیبروزیل شده و کارایی اکسایش آنرا در سطح

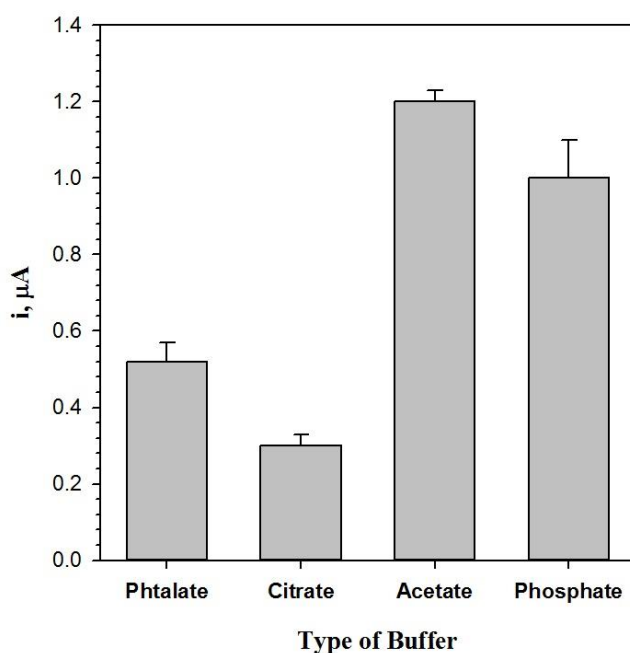
MWCNT-PARS/GCE افزایش دهد. اگرچه با افزایش pH، گروه‌های کربوکسیل با بار منفی موجود در ساختار جم فیبروزیل در سطح الکترواد افزایش می‌یابد. با توجه به اینکه سطح PARS به دلیل حضور گروه‌های SO_3^- دارای بار منفی است، این مسئله منجر به دافعه الکترواستاتیک بین آن‌ها و گروه‌های کربوکسیل موجود در جم فیبروزیل شده و در نتیجه جریان کاهش می‌یابد. بنا به دلایل ذکر شده، pH=۴/۵ به عنوان pH بهینه جهت اندازه‌گیری جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE انتخاب شد.

با توجه به اهمیت نقش الکترولیت حامل در واکنش‌های الکتروشیمیایی، علاوه بر بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار، الکترولیت‌های حامل مختلفی نظیر بافر سیتراتی ۰/۰۸۸ مولار، فتالاتی ۰/۰۲۰ مولار و ۰/۱۰ مولار استاتی در pH=۴/۵ مورد بررسی قرار گرفتند. این بررسی به منظور تعیین بهترین الکترولیت حامل برای اندازه‌گیری شدت جریان اکسایش جم فیبروزیل انجام شد. نتایج به دست آمده جدول ۲-۵۶ و شکل ۲-۶۵، نشان می‌دهد که سیگنال تجزیه‌ای اکسایش جم فیبروزیل در بافر استاتی و بافر فسفاتی در سطح این الکترواد تقریباً یکسان بوده اما تکرارپذیری در بافر استاتی بهتر بود. در نتیجه در مطالعات بعدی از بافر استاتی ۰/۱۰ مولار به عنوان بافر بهینه برای اندازه‌گیری اکسایش جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE استفاده شد.

جدول (۲-۵۶): نتایج حاصل از بررسی الکترولیت‌های حامل متفاوت در pH=۴/۵ برای محلول ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی

انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)	سیگنال تجزیه‌ای * (μA)	نوع بافر
۰/۲۰	۱/۰۰	فسفاتی
۰/۰۳	۰/۳۰	سیتراتی
۰/۰۶	۰/۵۲	فتالاتی
۰/۰۴	۱/۲۰	استاتی

* میانگین سه اندازه‌گیری



شکل (۲-۶۵): نمودار تغییرات میزان شدت جریان آندی بر حسب نوع بافر در $pH=4/5$ ، در محلول ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE. ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه و سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه.

۳-۶-۷-۲ تعیین حجم بافر در اکسایش جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE

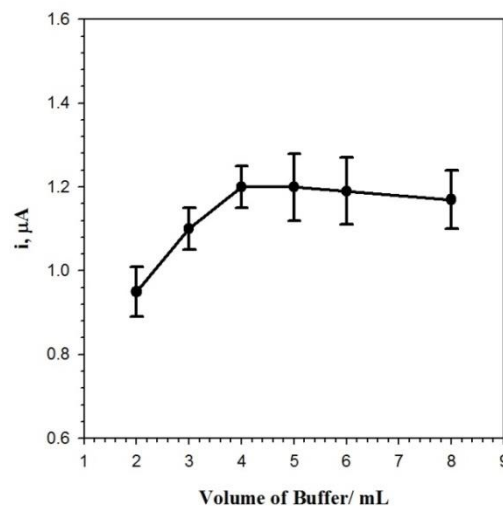
در این بخش از مطالعه به منظور تعیین حجم بهینه بافر، تاثیر حجم‌های مختلفی از بافر استاتی $pH=4/5$ در گستره ۲/۰ تا ۸/۰ میلی‌لیتر بر شدت جریان اکسایش جم فیبروزیل مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده در جدول ۲-۵۷ و شکل ۲-۶۶، نشان می‌دهد که با افزایش حجم الکترولیت حامل تا ۴/۰ میلی‌لیتر شدت جریان اکسایش جم فیبروزیل افزایش می‌یابد، در حالیکه در حجم‌های بالاتر تغییری در شدت جریان مشاهده نمی‌شود.

برای توجیه این مشاهدات می‌توان گفت که با افزایش حجم بافر (الکترولیت حامل) هدایت محلول زیاد شده، مقاومت درونی آن کاهش یافته و در نتیجه جریان افزایش می‌یابد. در حالیکه در حجم‌های بالاتر از ۴/۰ میلی‌لیتر قدرت یونی محیط ثابت باقی می‌ماند که می‌توان این امر را در ثبات سیگنال شاهد در حجم‌های بالاتر مشاهده کرد. بنابراین حجم ۴/۰ میلی لیتر از بافر استاتی $pH=4/5$ به‌عنوان حجم بهینه انتخاب و در بررسی‌های بعدی استفاده شد.

جدول (۲-۵۷): نتایج حاصل از بررسی حجم‌های متفاوت بافر استاتی در pH=۴/۵ برای محلول ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی

انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای	سیگنال تجزیه‌ای* (μA)	سیگنال شاهد* (μA)	حجم بافر (mL)
(μA)			
۰/۳۰	۰/۹۵	۱/۴۰	۲/۰
۰/۰۴	۱/۱۰	۱/۲۰	۳/۰
۰/۱۱	۱/۲۰	۰/۹۲	۴/۰
۰/۰۶	۱/۲۰	۰/۹۰	۵/۰
۰/۱۰	۱/۱۷	۰/۹۰	۶/۰
۰/۰۵	۱/۱۸	۰/۹۲	۸/۰

* میانگین سه اندازه‌گیری



شکل (۲-۶۶): نمودار تغییرات میزان شدت جریان آنودی جم فیبروزیل بر حسب حجم بافر استاتی ۱۰/۰ مولار در pH=۴/۵، در محلول ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE به روش ولتامتری پالس تفاضلی. ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه و سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه.

۲-۶-۷-۴ بهینه سازی مقدار نانو لوله‌های کربنی چند دیواره

از آنجاییکه حساسیت در سطح الکترودهای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره، به مقدار این اصلاحگر در سطح الکتروود وابسته است. بنابراین، به‌منظور تعیین مقدار بهینه MWCNT، الکترودها به این نحو تهیه شدند:

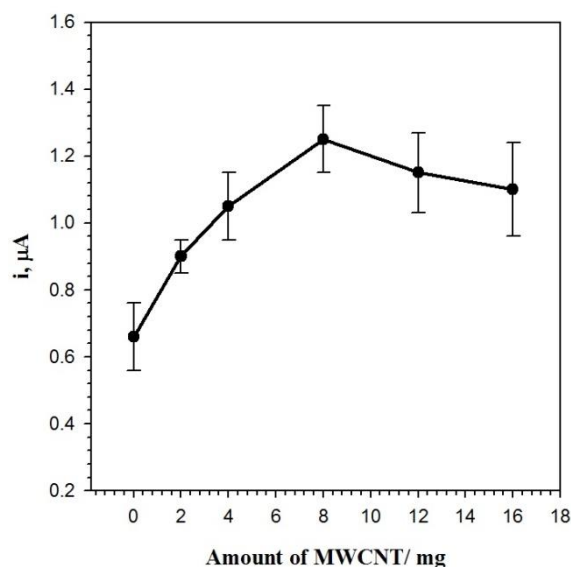
مقادیر مختلفی از MWCNT در گستره ۰/۰ تا ۱۶/۰ میلی گرم و مقدار ثابتی از ARS

(۴/۰ میلی گرم) در ۱۰/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی pH=۷/۰ تهیه شد (جدول ۲-۵۸ و شکل ۲-۶۷). پس از قرار دادن مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک، مخلوط همگن به دست آمده به سل الکتروشیمیایی منتقل شد. پس از قرار دادن الکترودها درون سل، تشکیل پلیمر با روبش پتانسیل طی ۱۵ چرخه متوالی در محدوده -۱/۴۰ تا +۱/۸۰ ولت نسبت به الکتروده مرجع انجام شد. پس از شستشوی الکتروده با آب دو بار تقطیر، آنرا در سل الکتروشیمیایی حاوی بافر فسفاتی pH=۷/۰ قرار داده و ۵ روبش متوالی پتانسیل در محدوده تشکیل پلیمر انجام شد. سپس الکتروده حاصله برای اندازه گیری جم فیبروزیل ۱۰/۰ میکرومولار در بافر استاتی pH=۴/۵ به کمک تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی، در سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه مورد استفاده قرار گرفت. همانطور که در شکل مشاهده می شود با افزایش مقدار نانو لوله های کربنی چند دیواره تا ۸/۰ میلی گرم شدت جریان سیگنال تجزیه ای جم فیبروزیل افزایش می یابد و در مقادیر بالاتر شدت جریان با کاهش روبرو می شود. این مسئله می تواند مربوط به افزایش شدت جریان زمینه در حضور مقادیر بالاتر CNT شود که این امر در نهایت موجب کاهش سیگنال تجزیه ای جم فیبروزیل می گردد. از سوی دیگر به هنگام استفاده از مقادیر بالاتر نانو لوله های کربنی، چسبندگی آنها به سطح الکتروده کاهش یافته و در نتیجه تکرارپذیری سیگنال تجزیه ای کاهش می یابد. از اینرو، مقدار ۸/۰ میلی گرم به عنوان مقدار بهینه MWCNT در مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

جدول (۵۸-۲) نتایج حاصل از بررسی مقدار MWCNT برای محلول ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در بافر استاتی ۰/۱۰ مولار pH=۴/۵ در سطح MWCNT-PARS/GCE به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی

انحراف استاندارد سیگنال تجزیه ای (μA)	سیگنال تجزیه ای* (μA)	سیگنال شاهد* (μA)	مقدار MWCNT (mg)
۰/۱۰	۰/۶۶	۰/۵۰	۰/۰
۰/۰۴	۰/۹۰	۰/۸۰	۲/۰
۰/۱۳	۱/۰۵	۰/۸۵	۴/۰
۰/۱۱	۱/۲۵	۰/۹۲	۸/۰
۰/۱۰	۱/۱۵	۱/۱۵	۱۲/۰
۰/۱۵	۱/۱۰	۱/۲۵	۱۶/۰

* میانگین سه اندازه گیری



شکل (۶۷-۲): تاثیر مقدار MWCNT مورد استفاده در اصلاح الکتروود روی شدت جریان دماغه جم فیبروزیل با غلظت ۱۰/۰ میکرومولار در محلول بافر استاتی با pH=۴/۵ با روش ولتامتری پالس تفاضلی. ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه و سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه.

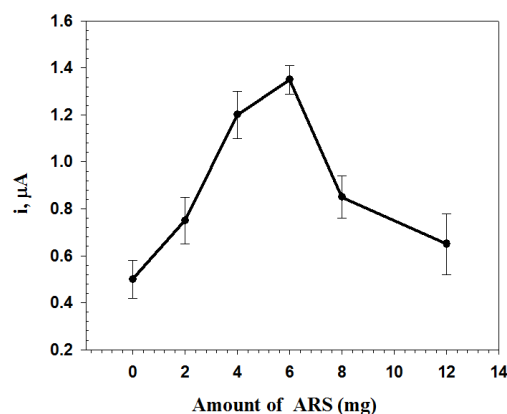
۲-۶-۵ بهینه سازی مقدار ARS

همانند MWCNT، مقدار ARS موجود در سطح الکتروود نیز نقش تعیین کننده‌ای در پاسخ ولتامتری الکتروود اصلاح شده دارد. از اینرو تاثیر تغییر مقادیر متفاوتی از ARS در گستره ۰/۰ تا ۱۲/۰ میلی گرم در حضور مقدار ثابتی از MWCNT (۸/۰ میلی گرم) بررسی شد. نتایج حاصل در جدول (۵۹-۲) و شکل (۶۸-۲) ارائه شده است.

جدول (۵۹-۲) نتایج حاصل از بررسی مقدار ARS برای محلول ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در بافر استاتی ۰/۱۰ مولار pH=۴/۵ در سطح MWCNT-PARS/GCE به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی

مقدار ARS (mg)	سیگنال تجزیه‌ای * (μA)	انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)
۰/۰	۰/۵۰	۰/۰۸
۲/۰	۰/۷۵	۰/۱۰
۴/۰	۱/۲۰	۰/۱۰
۶/۰	۱/۳۵	۰/۰۶
۸/۰	۰/۸۵	۰/۰۹
۱۲/۰	۰/۶۵	۰/۱۳

* میانگین سه اندازه‌گیری



شکل (۲-۶۸): تاثیر مقدار ARS مورد استفاده در اصلاح الکتروود روی شدت جریان دماغه جم فیبروزیل با غلظت ۱۰/۰ میکرومولار در محلول بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با $pH=4/5$ با روش ولتامتری پالس تفاضلی. ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه و سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه.

همانطور که در شکل مشاهده می‌شود با افزایش میزان ARS تا ۶/۰ میلی گرم، سیگنال تجزیه‌ای اکسایش جم فیبروزیل افزایش و سپس کاهش می‌یابد. این پدیده را می‌توان به این صورت توجیه کرد که اگرچه در حضور مقادیر کمتر ARS، فیلم MWCNT-PARS تهیه شده به‌عنوان حدواسط مناسبی برای انتقال الکترون عمل می‌کند و شدت جریان اکسایش جم فیبروزیل را افزایش می‌دهد اما با افزایش مقدار این عامل پلیمر کننده ضخامت لایه پلیمری در سطح الکتروود افزایش می‌یابد و این امر می‌تواند منجر به عایق شدن سطح الکتروود و در نهایت کاهش سیگنال تجزیه‌ای شود. بنابراین، مقدار ۶/۰ میلی گرم آلزارین قرمز S به‌عنوان مقدار بهینه در سایر اندازه‌گیری‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۶-۶-۶ بهینه سازی تعداد چرخه‌های تشکیل پلیمر

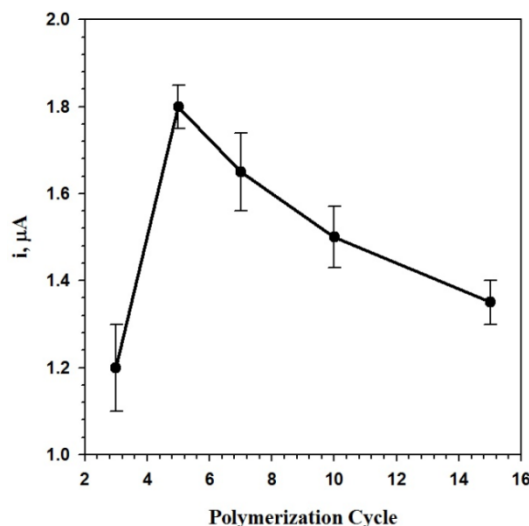
ضخامت فیلم MWCNT-PARS، تاثیر بسزایی در پاسخ ولتامتری جم فیبروزیل دارد. با توجه به اهمیت این پارامتر و به منظور دریافت تاثیر آن بر شدت جریان اکسایش جم فیبروزیل، پس از تعیین مقادیر بهینه MWCNT و ARS (به ترتیب ۸/۰ و ۶/۰ میلی گرم در ۱۰/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی $pH=7/0$) پلیمریزاسیون الکتروود اصلاح شده با تعداد چرخه‌های روبش متوالی پتانسیل در گستره ۳ تا ۱۵ چرخه و با سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه صورت گرفت. داده‌های حاصل در جدول (۲-۶۰) و شکل (۲-۶۹) ارائه شده است. رابطه بین

تعداد چرخه‌های تشکیل پلیمر و شدت جریان دماغه اکسایش جم فیبروزیل بررسی شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که دماغه اکسایش محلول ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در بافر استاتی pH=۴/۵ با افزایش تعداد چرخه‌های تشکیل پلیمر تا ۵ سیکل افزایش می‌یابد در حالیکه پس از آن با افزایش تعداد چرخه‌های تشکیل پلیمر شدت جریان کاهش می‌یابد. این پدیده می‌تواند به ضخامت فیلم MWCNT-PARS مربوط باشد که در صورت افزایش بیش از حد لازم می‌تواند مانع انتقال الکترون در سطح الکتروود شود. از اینرو، تعداد ۵ چرخه برای تشکیل پلیمر به روش الکتروشیمیایی به‌عنوان بهینه انتخاب شد.

جدول (۲-۶۰) نتایج حاصل از بررسی تعداد چرخه‌های لازم برای تشکیل پلیمر برای محلول ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در بافر استاتی ۰/۱۰ مولار pH=۴/۵ در سطح MWCNT-PARS/GCE به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی

تعداد چرخه	سیگنال تجزیه‌ای * (μA)	انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)
۳	۱/۲۰	۰/۰۸
۵	۱/۸۰	۰/۰۸
۷	۱/۶۵	۰/۱۲
۱۰	۱/۵۰	۰/۱۰
۱۵	۱/۲۵	۰/۱۰

* میانگین سه اندازه‌گیری



شکل (۲-۶۹): تاثیر تعداد چرخه‌های تشکیل پلیمر بر روی شدت جریان دماغه جم فیبروزیل با غلظت ۱۰/۰ میکرومولار در محلول بافر استات ۰/۱۰ مولار با pH=۴/۵ روش ولتامتری پالس تفاضلی. ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه و سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه.

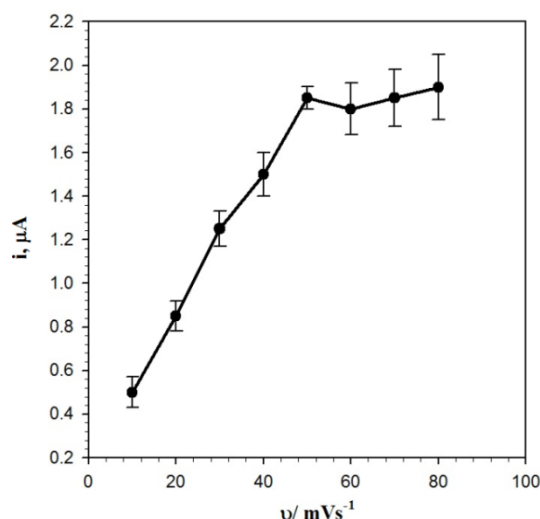
۷-۶-۷-۲ بهینه سازی سرعت روبش پتانسیل به کار گرفته شده در ولتامتری پالس تفاضلی برای اکسایش جم فیبروزیل

به منظور بررسی تاثیر تغییر سرعت روبش پتانسیل بر سیگنال تجزیه‌ای جم فیبروزیل، روبش پتانسیل در سرعت‌های مختلف در محدوده ۱۰ تا ۸۰ میلی‌ولت بر ثانیه، در محلول بافر استاتی $\text{pH} = 4/5$ دارای جم فیبروزیل (۱۰/۰ میکرومولار) انجام شد. نتایج به‌دست آمده (جدول ۶۱-۲ و شکل ۷۰-۲) نشان داد که با افزایش سرعت روبش علاوه بر افزایش سیگنال دماغه اکسایش جم فیبروزیل، سیگنال زمینه نیز افزایش می‌یابد که این امر در سرعت‌های روبش بالاتر از ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه از تاثیر بیشتری برخوردار بوده است. به علاوه پهن شدگی پیک در سرعت‌های روبش بالاتر منجر به کاهش گزینش‌پذیری می‌شود. از اینرو سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه به‌عنوان سرعت روبش بهینه در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت.

جدول (۶۱-۲) نتایج حاصل از بررسی سرعت روبش در ولتامتری پالس تفاضلی برای محلول ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در بافر استاتی ۰/۱۰ مولار $\text{pH} = 4/5$ در سطح MWCNT-PARS/GCE

انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای	سیگنال تجزیه‌ای*	سیگنال شاهد* (μA)	تعداد چرخه
(μA)	(μA)		
۰/۰۷	۰/۵۰	۰/۶۰	۱۰
۰/۰۷	۰/۸۵	۰/۷۰	۲۰
۰/۰۸	۱/۲۵	۰/۸۵	۳۰
۰/۱۰	۱/۵۰	۰/۹۰	۴۰
۰/۰۵	۱/۸۵	۰/۹۰	۵۰
۰/۱۲	۱/۸۰	۱/۱۵	۶۰
۰/۱۳	۱/۸۵	۱/۵۰	۷۰
۰/۱۵	۱/۹۰	۱/۸۵	۸۰

* میانگین سه اندازه‌گیری



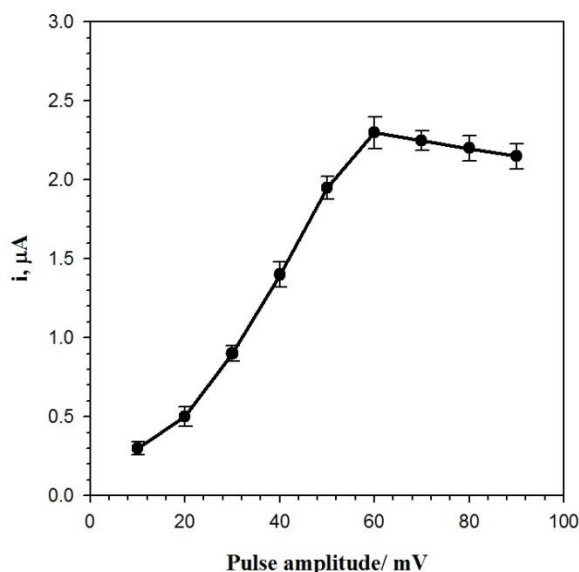
شکل (۷۰-۲): تاثیر سرعت روبش بر روی شدت جریان دماغه جم فیبروزیل با غلظت ۱۰/۰ میکرومولار در محلول بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با pH=۴/۵ با روش ولتامتری پالس تفاضلی در سطح MWCNT-PARS/GCE. ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه.

۸-۶-۷-۲ بهینه سازی ارتفاع پالس به کار گرفته شده در ولتامتری پالس تفاضلی برای اکسایش جم فیبروزیل

همانطور که در بخش (۲-۶-۴-۲) اشاره شد، از جمله پارامترهای دستگاہی مهم و تاثیرگذار در سیگنال تجزیه‌ای به هنگام به کارگیری ولتامتری پالس تفاضلی، ارتفاع پالس و مدت زمان اعمال آن است. بنابراین بررسی و بهینه سازی این پارامترها برای رسیدن به حداکثر سیگنال تجزیه‌ای ناشی از اکسایش جم فیبروزیل غیر قابل اجتناب است.

به این منظور، برای بررسی ارتفاع پالس بر شدت جریان، این پارامتر در گستره ۱۰ تا ۹۰ میلی ولت مورد بررسی قرار گرفت. روش انجام کار برای بررسی این پارامتر به این صورت انجام شد که پس از افزودن حجم ۴/۰ میلی لیتر از بافر استاتی pH= ۴/۵ و جم فیبروزیل با غلظت مشخص به سل الکتروشیمیایی، حجم محلول با آب دو بار تقطیر به ۱۰/۰ میلی لیتر رسانده شد. پس از قرار دادن الکترودها داخل سل الکتروشیمیایی، ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی در گستره ۰/۹۰+ تا ۱/۳۰+ ولت، با سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه با ارتفاع پالس در گستره ۱۰ تا ۹۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه، رسم شد (شکل ۷۱-۲). هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد و سیگنال میانگین به عنوان سیگنال تجزیه‌ای مورد استفاده قرار گرفت. تغییر ارتفاع پالس تاثیر چشمگیری بر شدت جریان دارد. در واقع ارتفاع سیگنال

تجزیه‌ای وابسته به ارتفاع پالس است. بطوریکه کاهش ارتفاع پالس منجر به کاهش جریان دماغه می‌شود. در حالیکه افزایش بیش از حد ارتفاع پالس نه تنها منجر به افزایش چندان سیگنال تجزیه‌ای نمی‌شود بلکه منجر به پهن شدن دماغه و کاهش گزینش پذیری نیز می‌شود [۶۸]. بنابراین، در این مطالعه تحقیقاتی برای رسیدن به حداکثر جریان بدون به خطر افتادن گزینش پذیری روش، از ارتفاع پالس ۷۰ میلی ولت به‌عنوان مقدار بهینه استفاده شد.

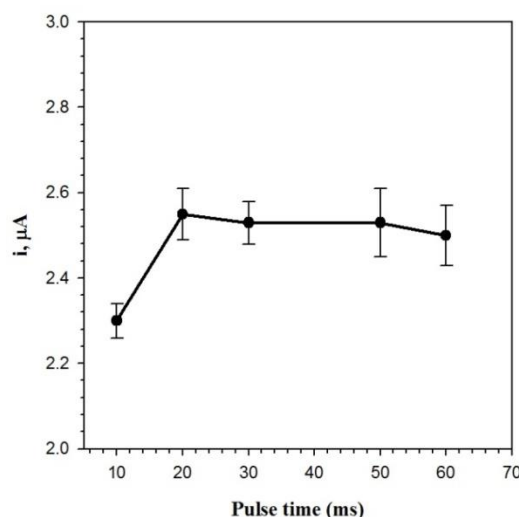


شکل (۲-۷۱): نمودار حاصل از بررسی ارتفاع پالس در روش ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه‌گیری ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در محلول بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با pH=۴/۵ در سطح MWCNT-PARS/GCE. سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه، مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه.

۲-۶-۷-۹ بهینه‌سازی مدت زمان اعمال پالس به‌کار گرفته شده در ولتامتری پالس تفاضلی برای اکسایش جم فیبروزیل

از سوی دیگر، در ولتامتری پالس تفاضلی باید از جریان قبل و بعد از اعمال پالس نمونه‌گیری شود. بنابراین مدت زمان اعمال پالس به‌عنوان یک عامل تاثیرگذار بر شدت جریان سیگنال تجزیه‌ای جم فیبروزیل مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه، مدت زمان اعمال پالس در فاصله بین ۱۰ تا ۶۰ میلی ثانیه مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۲-۷۲). همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش مدت زمان اعمال پالس تا ۲۰ میلی ثانیه سیگنال افزایش می‌یابد. به‌نظر می‌رسد که زمان نمونه‌گیری ۲۰ میلی ثانیه اکسایش جم فیبروزیل در سطح الکتروده

حداکثر مقدار خود رسیده است و زمان‌های بالاتر نمونه برداری تاثیری بر افزایش شدت جریان اکسایشی ندارد. از اینرو مدت زمان اعمال پالس ۲۰ میلی ثانیه به‌عنوان بهینه برای مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گرفت.



شکل (۷۲-۲): نمودار حاصل از بررسی مدت زمان اعمال پالس در روش ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه گیری ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در محلول بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با pH=۴/۵ در سطح MWCNT-PARS/GCE. سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۷۰ میلی ولت.

جدول (۶۲-۲) نتایج به‌دست آمده از بهینه سازی پارامترهای موثر بر اکسایش جم فیبروزیل را در سطح MWCNT-PARS/GCE با روش بهینه سازی تک متغیره نشان می‌دهد.

جدول (۶۲-۲) نتایج به‌دست آمده از بهینه سازی پارامترهای موثر بر سیگنال تجزیه‌ای اکسایش جم فیبروزیل ۱۰/۰ میکرو مولار در سطح MWCNT-PARS/GCE

پارامتر مورد بررسی	نوع یا مقدار بهینه
pH محیط	۴/۵
نوع بافر	استاتی
حجم بافر	۴/۰
مقدار MWCNT (mg)	۸/۰
مقدار ARS (mg)	۶/۰
تعداد چرخه تشکیل پلیمر	۵
سرعت روبش (mVs^{-1})	۵۰
ارتفاع پالس (mV)	۷۰
مدت زمان اعمال پالس (ms)	۲۰

۷-۷-۲ بررسی الکتروشیمیایی اکسایش جم فیبروزیل در سطح MWCNT-

PARS/GCE

پس از بهینه سازی پارامترهای موثر بر اندازه گیری جم فیبروزیل، همانند بخش ۶-۲، تاثیر تغییر pH محیط و تغییر سرعت روبش بر اکسایش الکتروشیمیایی این ترکیب در سطح الکتروود MWCNT-PARS/GC مورد بررسی قرار گرفت.

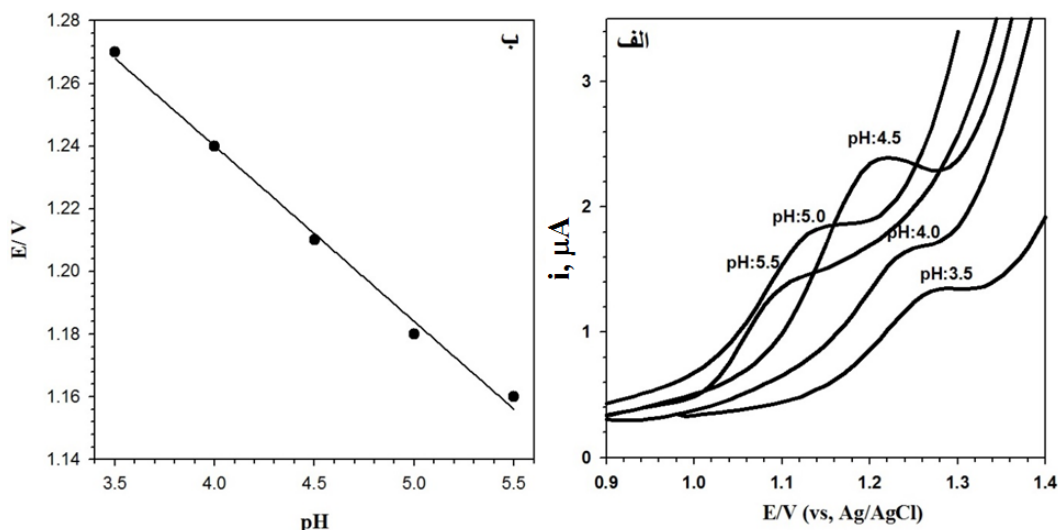
۱-۷-۷-۲ بررسی تاثیر تغییر pH محیط بر اکسایش جم فیبروزیل

بررسی اکسایش جم فیبروزیل در pH های متفاوت به روش ولتامتری تفاضلی صورت گرفت. شکل (۲-۷۳-الف) ولتاموگرام های حاصله را در محلول استات در pH های مختلف ۵/۵-۳/۵ نشان می دهد. نمودار تغییرات پتانسیل دماغه اکسایش جم فیبروزیل بر حسب تغییرات pH محیط، در شکل (۲-۷۳-ب) آمده است. همان طور که در شکل دیده می شود پتانسیل دماغه اکسایش جم فیبروزیل با تغییر pH محیط به طور خطی تغییر می کند.

معادله (۲-۳۹) بیانگر رابطه بین پتانسیل دماغه اکسایش جم فیبروزیل با تغییرات pH می باشد:

$$E(V) = 1/46 - 0/056 \text{ pH} \quad R^2 = 0/9937 \quad n=5 \quad (2-39)$$

همچنین در شکل (۲-۷۳-الف) مشاهده می شود که پتانسیل دماغه اکسایش جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE با افزایش pH، به سمت مقادیر منفی جابجا شده است. همانطور که در بخش (۲-۷-۶-۱) اشاره شد، این امر بیان می کند که پروتون در فرآیند اکسایش جم فیبروزیل نقش ایفا می کند. شیب خط به دست آمده، نشان دهنده ی برابری تعداد الکترون مبادله شده با تعداد پروتون دخیل در فرآیند اکسایش الکتروشیمیایی جم فیبروزیل در سطح این الکتروود اصلاح شده می باشد. مکانیسم اکسایش جم فیبروزیل در بخش (۲-۷-۶-۱) توضیح داده شده است.



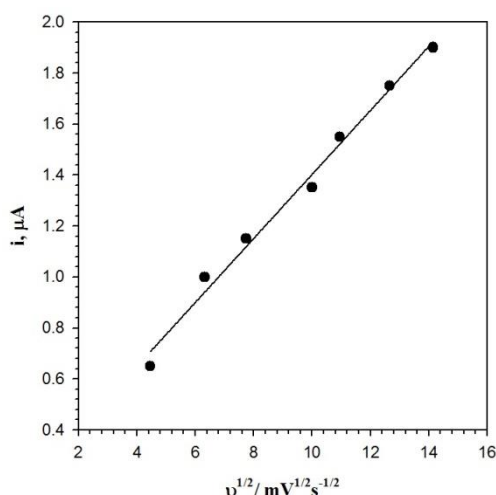
شکل (۲-۷۳): (الف) ولتاموگرام پالس تفاضلی محلول ۱۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE در محلول بافر استاتی با pH های مختلف از ۳/۵ تا ۵/۵. سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۷۰ میلی ولت، مدت زمان اعمال پالس ۲۰ میلی ثانیه. (ب) تغییرات پتانسیل دماغه اکسایش جم فیبروزیل را بر حسب pH نشان می‌دهد.

۲-۷-۷-۲ بررسی تاثیر تغییر سرعت روبش بر اکسایش جم فیبروزیل به کمک ولتامتری چرخه‌ای

به‌منظور درک این مسئله که اکسایش جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE تحت کنترل نفوذ اتفاق می‌افتد یا واکنش‌های کنترل شده با سطح، ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در محلول بافر استاتی pH=۴/۵ حاوی ۲۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل با استفاده از الکتروود MWCNT-PARS/GCE در سرعت‌های روبش مختلف در گستره ۲۰ تا ۲۰۰ میلی ولت بر ثانیه ثبت شد. شکل (۲-۷۴) نشان می‌دهد که تغییرات شدت جریان الکترواکسایش جم فیبروزیل در سطح الکتروود اصلاح شده بر حسب جذر سرعت روبش پتانسیل خطی است. بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت، فرآیند اکسایش جم فیبروزیل در سطح الکتروود MWCNT-PARS/GC تحت کنترل انتشار است.

معادله (۲-۴۰) رابطه خطی بین جریان دماغه آندی مربوط به اکسایش با جذر سرعت روبش پتانسیل را نشان می‌دهد:

$$I_p(\mu A) = 0.125 v^{1/2} (mV^{1/2} s^{-1/2}) + 0.146 (\mu A) \quad R^2 = 0.9894 \quad (40-2)$$



شکل (۷۴-۲): نمودار تغییرات شدت جریان دماغه اکسایش ۱۰/۰ میکرومولار جم فیروزیل در محلول بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با $pH = 4/5$ بر حسب جذر سرعت روبش پتانسیل در محدوده ۲۰ تا ۲۰۰ میلی ولت بر ثانیه به روش ولتامتری چرخه‌ای در سطح MWCNT-PARS/GCE.

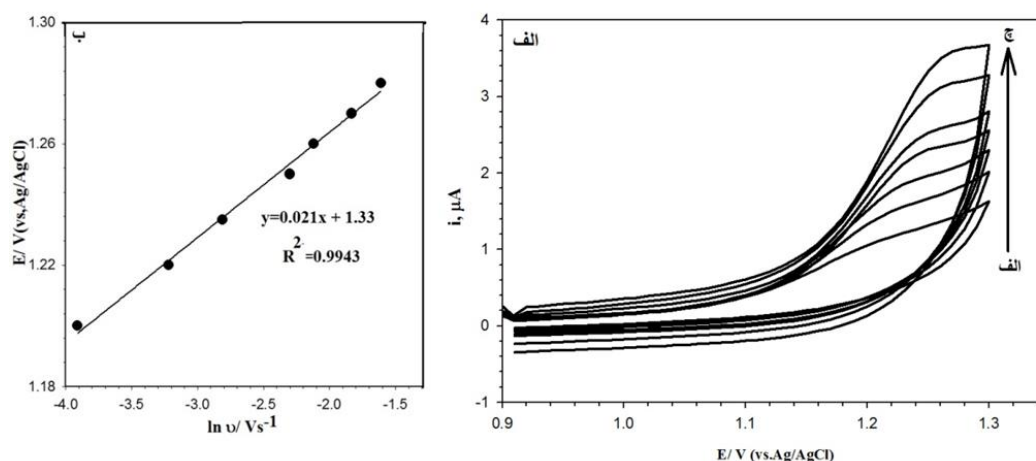
از سوی دیگر، برای درک بهتر رفتار الکتروشیمیایی جم فیروزیل در سطح الکتروود اصلاح شده MWCNT-PARS/GCE، به بررسی اثر تغییر سرعت روبش پتانسیل پرداخته شد. شکل (۷۵-۲ الف) ولتاموگرام‌های به‌دست آمده ناشی از تغییر سرعت روبش در گستره ۲۰ تا ۲۰۰ میلی ولت بر ثانیه را نشان می‌دهد.

داده‌های به‌دست آمده از ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در شکل (۷۵-۲ ب) نشان می‌دهد که نمودار تغییرات پتانسیل دماغه آندی نسبت به لگاریتم طبیعی سرعت روبش پتانسیل خطی بوده و در نتیجه امکان تعیین ضریب انتقال (α) و ثابت سرعت انتقال بار ناهمگن (k_0) با استفاده از تئوری لایرون (معادله ۶-۲) فراهم می‌باشد [۶۸]. محاسبات طبق معادلات ارائه شده در بخش (۷-۴-۲) انجام شد.

$$\text{شیب} = \frac{RT}{2(1-\alpha)nF} = S \quad (41-2)$$

$$E'_0 = E_0 + \frac{1}{56S} + S \ln \frac{1}{2S} + 2S \ln \frac{D^{1/2}}{k_0} \quad (2-42)$$

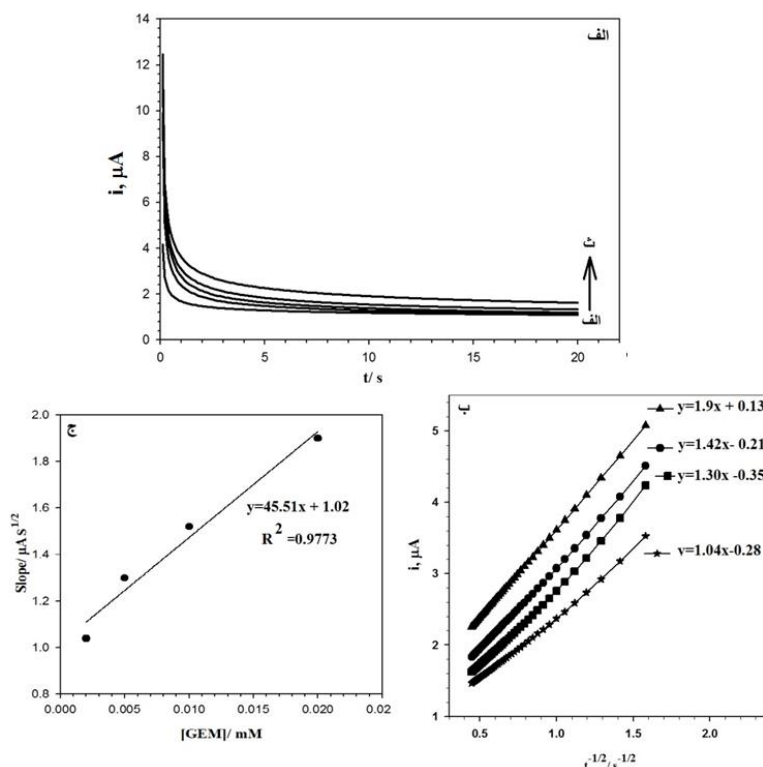
با توجه به شیب نمودار در شکل (۲-۷۵-ب) و قرار دادن آن در معادله مربوط به شیب نمودار لایرون (معادله ۲-۴۱)، مقدار ضریب انتقال الکترون در سطح الکتروود MWCNT-PARS/GC برابر ۰٫۷۰ محاسبه شد ($n=2$). همچنین با استفاده از عرض از مبدا نمودار در شکل (۲-۷۵-ب) و با دانستن مقدار $E'_0 = 1/28 \text{ V}$ و $D = 1/27 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ مقدار ثابت سرعت انتقال بار ناهمگن (k_0) در سطح این الکتروود اصلاح شده برابر با 0.1 cm s^{-1} محاسبه گردید. لازم به توضیح است که برای یافتن مقدار E'_0 باید نمودار پتانسیل دماغه اکسایش بر حسب سرعت روبش رسم شود که با رسم این نمودار خطی به معادله $E(V) = 0.43v \text{ (Vs}^{-1}\text{)} + 1/28 \text{ (V)}$ حاصل می‌شود که عرض از مبدا این نمودار مقدار E'_0 را در اختیار قرار می‌دهد. ضریب نفوذ نیز از مطالعات کروئوآمپرومتری (بخش ۲-۷-۸) محاسبه شده است.



شکل (۲-۷۵): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در سطح MWCNT-PARS/GCE در محلول بافر استاتی ۰٫۱ مولار با $\text{pH}=4.5$ دارای ۲۰٫۰ میکرومولار جم فیروزیل در سرعت روبش‌های مختلف: (الف تا ج) مربوط به سرعت‌های روبش ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۱۰۰، ۱۲۰، ۱۶۰ و ۲۰۰ میلی ولت بر ثانیه می‌باشند. (ب) نمودار تغییرات پتانسیل دماغه اکسایش جم فیروزیل بر حسب لگاریتم طبیعی سرعت روبش پتانسیل.

۸-۷-۲ مطالعات کروئوآمپرومتری

کروئوآمپرومتری شامل تغییر لحظه‌ای پتانسیل الکتروود کار، از مقداری که در آن واکنش فارادایی رخ نمی‌دهد به پتانسیلی است که در آن غلظت سطحی گونه الکتروفعال به‌طور موثر برابر با صفر می‌گردد. الکتروود کار ساکن، بدون هم زدن محلول در کروئوآمپرومتری مورد استفاده قرار می‌گیرد و وابستگی جریان حاصل نسبت به زمان پیگیری می‌شود. به این منظور، در این مطالعه تحقیقاتی پس از تهیه الکتروود MWCNT-PARS/GC، الکتروود در محلول بافر استاتی با غلظت‌های مختلف جم فیبروزیل از محدوده ۲/۰ تا ۲۰/۰ میکرومولار قرار داده شد. سپس کروئوآمپروگرام تک پله‌ای، با اعمال پتانسیل ۱/۴۰ ولت نسبت به الکتروود مرجع نقره/نقره کلرید به مدت ۲۰ ثانیه ثبت شد (شکل ۲-۷۶-الف).



شکل (۲-۷۶): (الف) کروئوآمپروگرام‌های MWCNT-PARS/GCE در محلول بافر استات با $pH=4/5$ حاوی غلظت‌های متفاوتی از جم فیبروزیل: (الف) غیاب، (ب) ۲/۰، (پ) ۵/۰، (ت) ۱۰/۰ و (ث) ۲۰/۰ میکرومولار. پله پتانسیل آندی برابر با ۱/۴۰ ولت نسبت به الکتروود شاهد می‌باشد. (ب) نمودار تغییرات $I - t^{-1/2}$ ، مربوط به کروئوآمپروگرام‌های (ب-ث) قسمت (الف) است. (ج) نمودار شیب خطوط $I - t^{-1/2}$ بر حسب غلظت جم فیبروزیل.

کروئوآمپروگرام‌های به‌دست آمده نشان می‌دهند که با افزایش غلظت جم فیبروزیل،

شدت جریان اکسایش آن نیز افزایش می‌یابد و هم‌چنین برای هر غلظت مورد بررسی، این شدت جریان به‌طور نمایی با زمان کاهش می‌یابد. با استفاده از نمودارهای کرونوآمپرومتری و معادله کاترل (معادله ۱-۶) ضریب انتشار جم فیبروزیل در محلول آزمایشی تعیین شد. شکل (۲-۷۶-ب)، تغییرات $I - t^{-1/2}$ را برای غلظت‌های متفاوت از جم فیبروزیل نشان می‌دهد و شکل (۲-۷۶-ج)، تغییرات شیب این خطوط ($I - t^{-1/2}$) برحسب غلظت جم فیبروزیل رسم شده است. از روی شیب نمودار حاصل، مقدار $10^{-5} \times 1/27$ سانتی‌مترمربع بر ثانیه برای ضریب انتشار جم فیبروزیل در سطح این الکترود اصلاح شده محاسبه شد.

۹-۷-۲ بررسی پارامترهای تجزیه‌ای حسگر در اندازه‌گیری جم فیبروزیل

بررسی و اعتبارسنجی روش‌های تجزیه‌ای راه‌کار مناسبی برای تشخیص مناسب بودن روش تجزیه‌ای به‌کار گرفته شده در اندازه‌گیری ترکیب مورد نظر می‌باشد. مشخصه‌های اعتبارسنجی روش معمولاً عبارتند از: ناحیه خطی، حد تشخیص، دقت (تکرارپذیری و تکرارپذیری)، صحت، گزینش‌پذیری و پایداری. همه این موارد در این مطالعه تحقیقاتی مورد بررسی قرار گرفته و در ادامه نتایج آن ارائه شده است.

۱-۹-۷-۲ منحنی کالیبراسیون و تعیین ناحیه خطی روش

رسم منحنی کالیبراسیون و تعیین ناحیه خطی جم فیبروزیل توسط الکترود اصلاح شده به روش ولتامتری تفاضلی انجام شد. روش کار کلی به این صورت انجام شد که مقدار مشخصی از محلول استاندارد جم فیبروزیل در ناحیه غلظتی ۱/۰۰ تا ۳۵/۰۰ میکرو مولار به سل الکتروشیمیایی منتقل شد و pH محیط با افزودن ۴/۰ میلی‌لیتر بافر استاتی pH=۴/۵ تنظیم شد. سپس حجم محلول موجود در سل به کمک آب دو بار تقطیر به ۱۰/۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از آن، الکترودها در سل قرار داده شدند. روبش پتانسیل توسط تکنیک ولتامتری تفاضلی در گستره +۰/۹۰ تا +۱/۳۰ ولت و با سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد (ارتفاع پالس ۷۰/۰ میلی ولت، مدت زمان اعمال پالس ۲۰/۰ میلی ثانیه). برای از بین بردن اثر

حافظه جم فیبروزیل جذب سطحی شده روی سطح الکتروود اصلاح شده بعد از هر اندازه‌گیری، پنج روبش متوالی در محدوده $+0.90$ تا $+1.30$ در محلول بافر استاتی $\text{pH}=4.5$ انجام شد. هر روبش سه بار تکرار شد و میانگین جریان اکسایش جم فیبروزیل در پتانسیل $1/21$ ولت به‌دست آمد. محلول بافر استاتی $\text{pH}=4.5$ بدون حضور جم فیبروزیل برای ثبت سیگنال شاهد مورد استفاده قرار گرفت. اختلاف بین شدت جریان اکسایش جم فیبروزیل و شاهد در پتانسیل $1/21$ ولت به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در منحنی کالیبراسیون مورد استفاده قرار گرفت. لازم به ذکر است که تمامی آزمایش‌ها در دمای اتاق انجام شد. رابطه بین شدت جریان دماغه آندی و غلظت جم فیبروزیل با به‌کارگیری تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی در شرایط بهینه مورد مطالعه قرار گرفت. شکل (۷۷-۲) ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی ثبت شده در غلظت‌های مختلف جم فیبروزیل را با استفاده از الکتروود MWCNT-PARS/GC، نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت جم فیبروزیل از $1/100$ تا $22/100$ میکرومولار، جریان اکسایش در ولتاموگرام پالس تفاضلی به‌طور خطی افزایش می‌یابد. نتایج حاصل در شکل (۷۸-۲) و جدول (۶۳-۲) ارائه شده است.

معادله منحنی کالیبراسیون با معادله (۴۳-۲) قابل توصیف است:

$$I_p (\mu\text{A}) = 0.145 C_{\text{GEM}} (\mu\text{mol L}^{-1}) + 1.09 (\mu\text{A}) \quad R^2 = 0.9906 \quad (43-2)$$

حد تشخیص به‌دست آمده برای جم فیبروزیل با به‌کارگیری روش ولتامتری پالس تفاضلی به‌کمک رابطه (۱۲-۲) محاسبه شد.

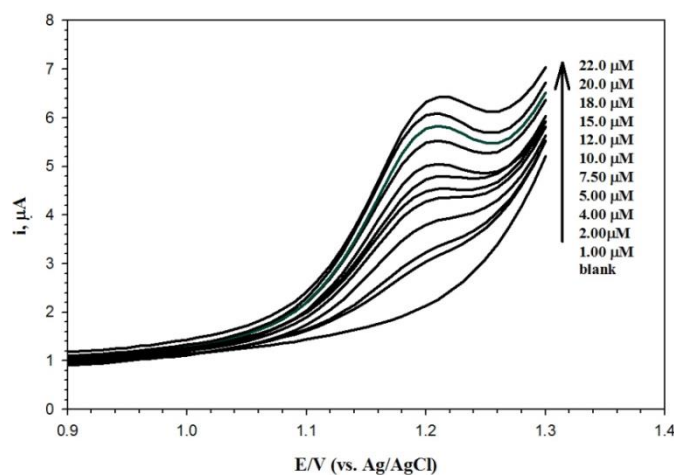
در این مطالعه، برای محاسبه انحراف استاندارد شاهد، هفت اندازه‌گیری در محلول بافر استات $\text{pH}=4.5$ صورت گرفت که انحراف استاندارد این اندازه‌گیری‌ها $0.117 \mu\text{A}$ به‌دست آمد. با استفاده از شیب منحنی کالیبراسیون ($m=0.145 \frac{\mu\text{A}}{\mu\text{mol L}^{-1}}$) و بر مبنای سه برابر انحراف

استاندارد در سطح الکتروود اصلاح شده، حد تشخیص اندازه‌گیری جم فیبروزیل با کمک تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی برابر ۰/۲۴۰ میکرو مولار محاسبه شد.

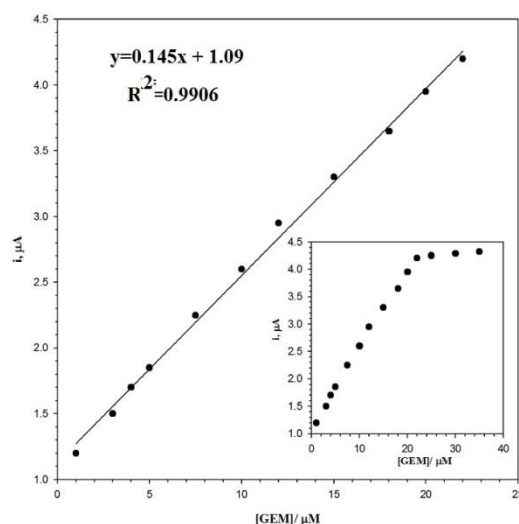
جدول (۶۳-۲) اطلاعات مربوط به منحنی‌های کالیبراسیون در ناحیه خطی ۱/۰۰ تا ۲۲/۰۰ میکرومولار جم فیبروزیل در بافر استاتی ۰/۱۰ مولار pH=۴/۵ در سطح MWCNT-PARS/GCE با روش ولتامتری پالس تفاضلی

غلظت جم فیبروزیل ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	SD $\pm$ سیگنال تجزیه‌ای* (μA)	غلظت جم فیبروزیل ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	SD $\pm$ سیگنال تجزیه‌ای* (μA)
۱/۰۰	۱/۱۵ $\pm$ ۰/۱۱	۱۵/۰۰	۳/۳۰ $\pm$ ۰/۳۰
۲/۰۰	۱/۳۰ $\pm$ ۰/۱۳	۱۸/۰۰	۳/۶۵ $\pm$ ۰/۳۲
۳/۰۰	۱/۵۰ $\pm$ ۰/۱۵	۲۰/۰۰	۳/۹۵ $\pm$ ۰/۲۸
۴/۰۰	۱/۸۰ $\pm$ ۰/۲۰	۲۲/۰۰	۴/۲۰ $\pm$ ۰/۳۰
۵/۰۰	۱/۹۵ $\pm$ ۰/۱۷	۲۵/۰۰	۴/۲۵ $\pm$ ۰/۳۲
۷/۵۰	۲/۲۵ $\pm$ ۰/۲۱	۳۰/۰۰	۴/۲۹ $\pm$ ۰/۳۰
۱۰/۰۰	۲/۶۵ $\pm$ ۰/۱۹	۳۵/۰۰	۴/۳۲ $\pm$ ۰/۳۰
۱۲/۰۰	۲/۹۵ $\pm$ ۰/۲۴	-	-

*میانگین سه اندازه‌گیری



شکل (۷۷-۲): ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی جم فیبروزیل در محلول بافر استات با pH=۴/۵ در سطح الکتروود MWCNT-PARS/GC در غلظت‌های مختلف. سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۷۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۲۰ میلی ثانیه.



شکل (۲-۷۸): نمودار تغییرات شدت جریان اکسایش بر حسب غلظت جم فیبروزیل در محدوده ۱/۰ تا ۲۲/۰ میکرومولار در بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با pH=۴/۵ به کمک ولتامتری پالس تفاضلی. سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۷۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۲۰ میلی ثانیه.

۲-۹-۷-۲ بررسی تکرارپذیری و تکثیرپذیری

به منظور اطمینان از تکرارپذیری و تکثیرپذیری الکترودهای ساخته شده، اکسایش الکتروشیمیایی جم فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE، توسط سه الکتروده مختلف (ساخته شده در سه روز متفاوت) با استفاده از تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی مورد مطالعه قرار گرفت. با هر یک از الکترودهای ساخته شده ۶ اندازه‌گیری تکراری انجام شد. نتایج به دست آمده در جدول (۲-۶۴) گزارش شده است. نتایج به دست آمده، به صورت آماری با کمک روش تحلیل واریانس در سطح اطمینان ۹۵٪ مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲-۶۵). برای اساس مقدار F محاسبه شده ($F_{cal} = ۰/۰۷$) کوچکتر از مقدار F بحرانی ($F_{tab} = ۴/۷۶$) برای آزمون دو طرفه به دست آمد. این نتیجه نشانگر دقت الکترودهای ساخته شده در روزهای مختلف است.

جدول (۲-۶۴) نتایج تکرارپذیری الکترودهای MWCNT-PARS/GCE مختلف برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل ۱۰/۰ میکرومولار در بافر استاتی pH=۴/۵ توسط تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی

**SD ± میانگین سیگنال تجزیه‌ای اندازه‌گیری شده (μA)

۲/۵۷±۰/۳۳	الکتروده اول-روز اول
۲/۵۰±۰/۳۱	الکتروده دوم-روز دوم
۲/۶۰±۰/۴۱	الکتروده سوم-روز سوم

* میانگین شش اندازه‌گیری ** انحراف استاندارد شش اندازه‌گیری تکراری

جدول (۶۵-۲) تحلیل واریانس داده‌های مربوط به اندازه‌گیری جم فیبروزیل توسط الکترودهای مختلف در روزهای مختلف توسط روش ولتامتری پالس تفاضلی

منبع تغییرات	DF	SS _{Adj}	MS _{Adj}	F- value	F-table
بین گروه‌ها	۲	۰/۰۱۸	۰/۰۰۹۰	۰/۰۷	۴/۷۶
درون گروه	۱۵	۱/۹۱۲	۰/۱۲۷۰		
کل	۱۷	۱/۹۲۹			

۳-۹-۷-۲ بررسی دقت و صحت روش

بررسی دقت و صحت، از طریق اندازه‌گیری جم فیبروزیل توسط MWCNT-PARS/GCE در غلظت‌های ۲/۰۰، ۱۲/۰ و ۲۰/۰ میکرو مولار و در محلول بافر استاتی با pH=۴/۵، با به‌کارگیری روش ولتامتری پالس تفاضلی انجام شد. به این منظور پنج اندازه‌گیری تکراری از محلول‌های مورد نظر در شرایط کالیبراسیون انجام و ولتاموگرام‌ها مربوطه ثبت شد. سپس غلظت مربوط به میانگین سیگنال‌های تجزیه‌ای با استفاده از معادله منحنی کالیبراسیون محاسبه شد. نتایج به‌دست آمده در جدول (۶۶-۲) گزارش شده‌است بررسی آزمون t نشان می‌دهد که بین مقدار جم فیبروزیل اندازه‌گیری شده و مقدار واقعی جم فیبروزیل موجود در محلول، اختلاف معناداری وجود نداشته و روش از صحت خوبی برخوردار است. صحت مناسب روش از درصد بازیابی و درصد خطای نسبی نیز قابل نتیجه‌گیری است. همچنین با دانستن مقادیر انحراف استاندارد و میانگین در هر غلظت اندازه‌گیری شده، می‌توان مقادیر RSD را محاسبه نمود و به دقت روش پی برد. مقادیر RSD محاسبه شده دقت خوب روش‌های به‌کار گرفته شده را تایید می‌کنند.

جدول (۶۶-۲) نتایج دقت و صحت روش برای اندازه‌گیری ولتامتری پالس تفاضلی محلول استاندارد جم

فیبروزیل در سطح MWCNT-PARS/GCE در محلول بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با pH=۴/۵

GEM ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	SD $\pm$ غلظت اندازه‌گیری شده *	مقدار محاسبه شده t**	درصد بازیابی	RE*** %
۲/۰۰	۱/۹۰ $\pm$ ۰/۱۰	۲/۲۳	۹۵/۰	-۵/۰
۱۲/۰۰	۱۲/۳۲ $\pm$ ۰/۳۷	۱/۹۳	۱۰۲/۷	-۲/۶۷
۲۰/۰۰	۱۹/۶۲ $\pm$ ۰/۳۵	۲/۴۲	۹۸/۱	-۱/۹

* میانگین پنج اندازه‌گیری

** مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای پنج اندازه‌گیری، ۲/۷۷ می‌باشد

*** درصد خطای نسبی

۴-۹-۷-۲ بررسی پایداری الکتروکود MWCNT-PARS/GCE

از روش ولتامتری چرخه‌ای برای بررسی میزان پایداری الکتروکود کربن شیشه اصلاح شده با MWCNT-PARS استفاده گردید و اثر روبش‌های متوالی بر رفتار الکتروشیمیایی آن مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور، پس از تهیه الکتروکود اندازه‌گیری در محلول بافر استات pH=۴/۵ حاوی جم فیبروزیل با غلظت ۲۰/۰ میکرومولار طبق روش ارائه شده در بخش ۲-۷-۹-۱، انجام شد. سپس الکتروکود در محلول شاهد قرار داده شد و با به‌کارگیری ولتامتری چرخه‌ای ۵۰ روبش متوالی در گستره ۰/۹۰+ تا ۱/۳۰+ ولت با سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد. پس از آن الکتروکود در محلول بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با pH=۴/۵ حاوی جم فیبروزیل با غلظت ۲۰/۰ میکرومولار قرار گرفت و اندازه‌گیری مطابق شرایط بهینه انجام شد. نتایج حاکی از آن است که جریان دماغه آندی اکسایش جم فیبروزیل بعد از ۵۰ روبش متوالی در بافر استاتی، کمتر از ۷ درصد کاهش نشان داد در حالیکه پتانسیل اکسایش تقریباً ثابت باقی ماند. این نتایج حاکی از پایداری خوب حسگر تهیه شده می‌باشد. هم‌چنین پس از نگهداری الکتروکود MWCNT-PARS/GC به مدت یک هفته در محلول بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با pH=۴/۵، پاسخ الکتروکودی آن نسبت به اکسایش جم فیبروزیل به ۸۰ درصد الکتروکود تازه تهیه شده رسید.

۵-۹-۷-۲ بررسی اثر مزاحمت برخی از ترکیبات در اندازه‌گیری ولتامتری جم فیبروزیل در سطح الکتروود اصلاح شده با فیلم MWCNT-PARS

در این بخش تاثیر حضور گونه‌های آزمایشی مختلف بر شدت جریان دماغه آندی جم فیبروزیل مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت (جدول ۲-۶۷). به این منظور، پنج اندازه‌گیری تکراری جم فیبروزیل با غلظت $2/50 \mu\text{g/mL}$ (معادل $10/0$ میکرو مولار) در سطح MWCNT-PARS/GCE انجام شد. میانگین ($\bar{x}$) و انحراف استاندارد (S) سیگنال‌های تجزیه‌ای (در غیاب گونه مزاحم) در پتانسیل $1/21$ ولت محاسبه شد. سپس مخلوط گونه مزاحم و جم فیبروزیل به سل الکتروشیمیایی افزوده شد و ولتاموگرام پالس تفاضلی در محدوده $+0/90$ تا $+1/30$ ولت ثبت شد (سرعت روبش 50 میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس 70 mV و مدت زمان اعمال پالس 20 میلی ثانیه). هر روبش سه بار تکرار شد و میانگین جریان اکسایش جم فیبروزیل در حضور گونه مزاحم به دست آمد. اگر شدت جریان سیگنال تجزیه‌ای در این حالت، در محدوده ($\bar{x} \pm 3S$) باشد به این معناست که ترکیب مورد نظر با نسبت موجود، مزاحم نیست؛ در غیر اینصورت نسبت گونه مزاحم به جم فیبروزیل کاهش می‌یافت تا مزاحمت مشاهده نشود. همانگونه که در جدول (۲-۶۷) مشاهده می‌شود، حضور گونه‌هایی، نظیر: L-آلانین، گلوکز، لاکتوز، سیتریک اسید، تارتاریک اسید و ویتامین B_۹ تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر شدت جریان دماغه اکسایش جم فیبروزیل نداشته‌اند، اما حضور گونه‌هایی، نظیر تیو اوره، ویتامین B_۶، متیونین در اندازه‌گیری جم فیبروزیل مزاحمت ایجاد می‌کنند. از آنجاییکه پتانسیل اکسایش ترکیباتی نظیر وراپامیل، لوزارتان و آترواستاتین در این pH نزدیک به پتانسیل اکسایش جم فیبروزیل است، حضور این ترکیبات در غلظت‌های بالاتر از مقادیر ذکر شده منجر به افزایش شدت جریان اکسایش جم فیبروزیل می‌شود.

جدول (۶۷-۲) بررسی تاثیر حضور گونه‌های آزمایشی مختلف بر شدت جریان دماغه آندی جم فیبروزیل
(۲/۵۰ μg/mL) در سطح الکتروود MWCNT-PARS/GC در بافر استاتی ۰/۱۰ مولار با pH=۴/۵

گونه‌های مورد بررسی	حد مجاز غلظت گونه مزاحم به غلظت جم فیبروزیل*
L-آلانین، سیتریک اسید، اوره K^+ , Ca^{2+} , Ni^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Cr^{6+} , Zn^{2+} , NH_4^+ , HCO_3^- , BrO_3^- , ClO_3^- , Na^+	۵۰۰
گلوکز، لاکتوز، تارتاریک اسید، NO_3^-	۲۵۰
ویتامین B_1 ، ویتامین B_{12}	۵۰
دوپامین، استامینوفن، اوریک اسید، ترامادول	۲۵
تیواوره، ویتامین B_6 ، متیونین، وراپامیل، آترواستاتین، لوزارتان	۵

*حداکثر نسبت اندازه‌گیری شده

۶-۹-۷-۲ به‌کارگیری روش ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل در نمونه‌های حقیقی

به‌منظور ارزیابی کارایی الکتروود تهیه شده برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل در نمونه‌های حقیقی، از نمونه کپسول جم فیبروزیل، آب شهر و سرم خون انسان مورد استفاده شد.

کارایی الکتروود اصلاح شده روش ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل در نمونه‌های حقیقی مانند آب شهر، کپسول جم فیبروزیل و سرم خون انسان مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری این ترکیب در نمونه دارویی کپسول بدین ترتیب انجام شد که سه کپسول جم فیبروزیل که هر یک حاوی ۳۰۰/۰ میلی گرم جم فیبروزیل است، وزن و به‌خوبی با هم مخلوط شد. سپس مقدار یک ششم از پودر مخلوط شده در مقدار کافی متانول حل شد. سپس محلول به‌دست آمده به بالن حجمی ۵۰۰/۰ میلی‌لیتر منتقل و با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد (کلیه رقیق سازی‌ها پس از این مرحله با استفاده از آب دو بار تقطیر انجام شد). رقیق سازی بیشتر از طریق انتقال ۱۰/۰ میلی‌لیتر از این محلول به بالن ۱۰۰/۰ میلی‌لیتری انجام شد. در هر مرحله ۱/۰ میلی‌لیتر از این نمونه به سل الکتروشیمیایی (باحجم ۱۰/۰ میلی‌لیتر) منتقل شد. سپس، با افزودن حجم‌های مشخص و متفاوتی از نمونه استاندارد جم

فیبروزیل به محلول فوق، اندازه‌گیری به روش ذکر شده در بخش ۲-۷-۶-۱ صورت گرفت. نمونه آب شهر و سرم نیز طبق روش توضیح داده شده در بخش ۲-۴-۸-۶ تهیه شدند. روش اندازه‌گیری نمونه‌ها مشابه روش به کار گرفته شده برای نمونه کپسول بوده است. هر کدام از اندازه‌گیری‌ها سه بار تکرار شد و از منحنی کالیبراسیون برای تعیین غلظت جم فیبروزیل در نمونه‌های حقیقی مورد نظر استفاده شد. مقادیر t و درصد بازیابی‌ها نشانگر صحت خوب روش ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل می‌باشد. نتایج به‌دست آمده در جدول (۶۸-۲) گزارش شده است.

جدول (۶۸-۲) نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری جم فیبروزیل در سطح الکترود MWCNT-PARS/GC در نمونه‌های آب شهر، سرم و کپسول ($n=3$) با روش ولتامتری پالس تفاضلی				
نمونه	مقدار اضافه شده ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	SD $\pm$ مقدار اندازه‌گیری شده ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	مقدار محاسبه شده t^*	درصد بازیابی
آب شهر	----	مشاهده نشد	----	----
	۳/۰	۳/۱ $\pm$ ۰/۱	۱/۷۳	۱۰۳/۳
	۵/۰	۵/۱ $\pm$ ۰/۴	۰/۴۳	۱۰۲/۰
	۷/۵	۷/۴ $\pm$ ۰/۴	۰/۴۳	۹۸/۷
سرم	----	مشاهده نشد	----	----
	۱۰/۰	۹/۶ $\pm$ ۰/۲	۳/۴۶	۹۶/۰
	۱۲/۰	۱۲/۶ $\pm$ ۰/۷	۱/۴۸	۱۰۵/۰
	۲۰/۰	۲۰/۲ $\pm$ ۱/۰	۰/۳۵	۱۰۱/۰
کپسول**	----	۱۲/۳ $\pm$ ۰/۲	----	----
	۳/۰۰	۱۵/۱ $\pm$ ۰/۳	۱/۱۵	۹۵/۰
	۶/۰۰	۱۸/۷ $\pm$ ۰/۳	۲/۳۱	۱۰۶/۷
	۹/۰۰	۲۰/۹ $\pm$ ۰/۸	۰/۸۷	۹۵/۵
مقدار برچسب روی کپسول (mg)		مقدار اندازه‌گیری شده (mg)		
۳۰۰/۰		۳۰۷/۵ $\pm$ ۵/۰		

با توجه به داده‌های جدول مشاهده می‌گردد که مقادیر خوبی برای درصدهای بازیابی به‌دست

آمده است که نشان دهنده توانایی این الکتروود اصلاح شده برای اندازه‌گیری ولتامتری این گونه آزمایشی در نمونه‌های حقیقی می‌باشد. همان‌گونه که در جدول (۲-۶۸) مشاهده می‌شود، مقدار جم فیبروزیل در نمونه کپسول به‌روش ولتامتری پالس تفاضلی در سطح MWCNT-PARS/GCE محاسبه گردید که توافق خوبی با مقدار مشخص شده در برجسب آن‌ها توسط کارخانه سازنده دارد.

۲-۷-۱۰ نتیجه‌گیری

در این بخش، سطح الکتروود کربن شیشه‌ای با استفاده از فیلم MWCNT-PARS اصلاح شد. رفتار الکترو شیمیایی جم فیبروزیل روی سطح این الکتروود اصلاح شده توسط ولتامتری چرخه‌ای و پالس تفاضلی بررسی شد. نتایج به‌دست آمده نشانگر افزایش شدت جریان دماغه اکسایش جم فیبروزیل در سطح الکتروود اصلاح شده با MWCNT-PARS، نسبت به الکتروود اصلاح شده با PARS و الکتروود اصلاح نشده می‌باشد. پارامترهای سینتیکی نظیر ثابت سرعت انتقال بار ناهمگن و ضریب انتقال الکترون گونه مورد نظر تعیین شد. الکتروود اصلاح شده از گزینش‌پذیری و تکرارپذیری بالایی برخوردار است. این مزایا به همراه راحتی تهیه الکتروود و عدم نیاز به صیقل دادن سطح، امکان استفاده از این سیستم را به‌عنوان یک حسگر ولتامتری و مناسب، فراهم می‌سازد. درنهایت، الکتروود اصلاح شده به کمک روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری ولتامتری جم فیبروزیل در نمونه‌های حقیقی به‌کار گرفته شد. نتایج به‌دست آمده کارایی حسگر پیشنهادی را برای اندازه‌گیری این ترکیب در نمونه‌های حقیقی تایید می‌کند.

چنان‌که در بخش ۲-۶-۱۱ اشاره شد، تنها یک مطالعه الکتروشیمیایی مربوط به اندازه‌گیری جم فیبروزیل گزارش شده است (جدول ۲-۶۹). مقایسه حسگر تهیه شده در این مطالعه با

گزارش قبلی نشان می‌دهد که حسگر پیشنهادی علی‌رغم روش تهیه آسان و سریع دارای حد تشخیص بالاتر و گستره خطی محدودتری است.

جدول (۶۹-۲) الکترودهای کربن شیشه اصلاح شده مختلف برای اندازه‌گیری جرم فیبروزیل				
روش اندازه‌گیری	نوع اصلاحگر	ناحیه خطی (مولار)	حد تشخیص (مولار)	مرجع
ولتامتری موج مربعی	نانو لوله‌های کربنی حاوی فیلم دی هگزادسیل هیدروژن فسفات	$۱/۰ \times ۱۰^{-۶} - ۷۵/۰ \times ۱۰^{-۹}$	$۵۳/۰ \times ۱۰^{-۹}$	[۱۶۶]
ولتامتری پالس تفاضلی	فیلم پلی آلیزارین قرمز/نانو لوله‌های کربنی	$۲۲/۰ \times ۱۰^{-۶} - ۱/۰ \times ۱۰^{-۶}$	$۲/۴۰ \times ۱۰^{-۷}$	تحقیق حاضر

فصل سوم-نتیجه گیری

نتیجه‌گیری کلی

در این کار تحقیقاتی، محور مطالعات بر اساس تهیه الکترودهای اصلاح شده حساس و گزینش‌پذیر برای اندازه‌گیری برخی از ترکیبات دارویی نظیر وراپامیل، دوپامین و جم فیبروزیل بوده است. در این راستا، بستر الکتروود کربن شیشه برای تثبیت اصلاحگرهایی نظیر نانو لوله‌های کربنی چند دیواره، نانو ذرات طلا و پلی آلیزارین قرمز مورد استفاده قرار گرفت. در حالیکه اصلاح توده الکتروود خمیر کربن به کمک متیل تیوراسیل انجام شد.

در گام اول این مطالعات، الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی چند دیواره تهیه شد. ریخت شناسی سطح الکتروود به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد مطالعه قرار گرفت و مساحت سطح الکترودهای اصلاح شده و اصلاح نشده به کمک روش ولتامتری چرخه‌ای در سرعت روبش‌های مختلف بررسی شد. نتایج به دست آمده نشان داد که نانو لوله‌های کربنی چند دیواره موجب افزایش سطح الکتروفعال الکتروود شده است. در این مطالعه الکترواکسایش وراپامیل در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانو لوله‌های کربنی به روش‌های مختلف الکتروشیمیایی نظیر ولتامتری چرخه‌ای و ولتامتری پالس تفاضلی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که حضور نانو لوله‌های کربنی چند دیواره روی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای باعث افزایش حساسیت تجزیه‌ای برای اندازه‌گیری ولتامتری این ترکیب شده است. در بخشی از این مطالعه تاثیر سرعت روبش پتانسیل بر رفتار الکتروشیمیایی وراپامیل بررسی و مشخص شد که فرایند اکسایش وراپامیل در سطح این الکتروود اصلاح شده تحت کنترل سرعت انتشار آن از توده محلول به سطح الکتروود قرار دارد. همچنین در این مطالعه، ضریب انتشار وراپامیل برابر با 2.69×10^{-4} سانتی‌مترمربع بر ثانیه محاسبه شد. در این بخش، با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی و ولتامتری چرخه‌ای حد تشخیص برای وراپامیل در سطح این الکتروود اصلاح شده به ترتیب برابر با $1/6$ و $2/0$ میکرومولار محاسبه شد. سپس به منظور بررسی کارایی الکتروود اصلاح شده برای اندازه‌گیری وراپامیل، مطالعات

ولتامتری در نمونه‌های دارویی و بیولوژیکی انجام شد که نتایج کارایی مناسب حسگر پیشنهادی برای اندازه‌گیری وراپامیل در نمونه‌های مورد آزمایش را تایید کرده است.

در بخش بعدی، کارایی الکتروُد خمیر کربن اصلاح شده با متیل تیوراسیل به‌عنوان عامل نوکلئوفیل در اکسایش الکتروشیمیایی دوپامین مورد بررسی قرار گرفت. پاسخ الکتروشیمیایی دوپامین در حضور و غیاب عامل اصلاح‌گر در سطح الکتروُد خمیر کربن بررسی و مقایسه شد. نتایج مطالعات ولتامتری حاکی از این است که در سطح الکتروُد اصلاح شده نه تنها دماغه آندی دوپامین به‌طور چشمگیری افزایش می‌یابد، بلکه پتانسیل نیز نسبت به الکتروُد خمیر کربن اصلاح نشده به‌سمت مقادیر منفی جابجا می‌شود. علاوه بر این دماغه کاتدی مربوطه نیز به‌سمت مقادیر مثبت جابجا می‌شود. در این مطالعه برای تعیین پارامترهای موثر بر اکسایش دوپامین از روش طراحی آزمایش استفاده شد تا بتوان علاوه بر تاثیر یک پارامتر، اثر برهم‌کنش پارامترهای موثر روی یکدیگر را نیز مورد توجه و بررسی قرار داد. مطالعات کرونوکولومتری نیز در این بخش انجام شد و میزان ضریب نفوذ دوپامین در سطح الکتروُد های اصلاح شده و اصلاح نشده به‌ترتیب برابر با 3.0×10^{-5} و 1.8×10^{-5} سانتی‌متر مربع بر ثانیه محاسبه شد. این نتایج نشان می‌دهد که اصلاح‌گر متیل تیوراسیل منجر به تسهیل انتشار دوپامین به سطح الکتروُد می‌شود. بررسی اکسایش الکتروشیمیایی دوپامین در این مطالعه از طریق روش ولتامتری برهنه سازی جذب سطحی پالس تفاضلی صورت گرفت و حد تشخیص برای دوپامین در سطح الکتروُد اصلاح شده برابر با $73/0$ نانومولار محاسبه شد. هم‌چنین کارایی الکتروُد با مطالعه نمونه‌های حقیقی مانند سرم خون، آمپول و نمونه آب شهر بررسی و تایید شد.

در بخش دیگر، یک حسگر الکتروشیمیایی با استفاده از ترسیب نانو لوله‌های کربنی چند دیواره و نانو ذرات طلا در سطح الکتروُد کربن شیشه‌ای تهیه شد و برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل مورد استفاده قرار گرفت. در این مطالعه، ریخت شناسی و تعیین ترکیب اصلاح‌گر به‌کمک SEM و EDX انجام شد. نتایج به‌دست آمده حضور نانو لوله‌های کربنی چند دیواره و

نانو ذرات طلا را تایید نمود و مقادیر کمی آن‌ها نیز گزارش شد. نتایج نشان می‌دهد که به‌کارگیری همزمان نانو لوله‌های کربنی و نانو ذرات طلا نه تنها موجب افزایش سطح الکتروفعال الکتروود می‌گردد بلکه نانو ذرات طلای به‌کار گرفته شده برای اصلاح الکتروود باعث افزایش قدرت جذب سطحی جم فیبروزیل در سطح الکتروود اصلاح شده می‌گردد که این امر توسط مطالعات کروماتوگرافی و اندازه‌گیری مقدار مازاد سطحی گونه الکتروود فعال بررسی و تایید شد. در این قسمت از مطالعه تحقیقاتی، دو روش ولتامتری برهنه سازی موج مربعی جذب سطحی و امپدیمتری برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل مورد استفاده قرار گرفت. حد تشخیص اندازه گیری جم فیبروزیل به این روش‌ها به‌ترتیب ۱۰۰/۰ و ۷۴/۰ نانو مولار محاسبه شد.

در بخش پایانی، حسگر الکتروشیمیایی دیگری با استفاده از تثبیت فیلم پلیمری با استفاده از رنگدانه آلیزارین قرمز S و نانو لوله‌های کربنی چند دیواره در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای تهیه شد. نتایج حاصل از بررسی‌های SEM و طیف‌بینی امپدانس الکتروشیمیایی حضور فیلم پلیمری و نانو لوله‌های کربنی و بهبود خواص سطح الکتروود بواسطه حضور این ترکیبات را تایید نمود. الکتروود اصلاح شده در این مطالعه به روش ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل مورد استفاده قرار گرفت. حد تشخیص اندازه گیری جم فیبروزیل به این روش ۲/۰ میکرو مولار محاسبه شد.

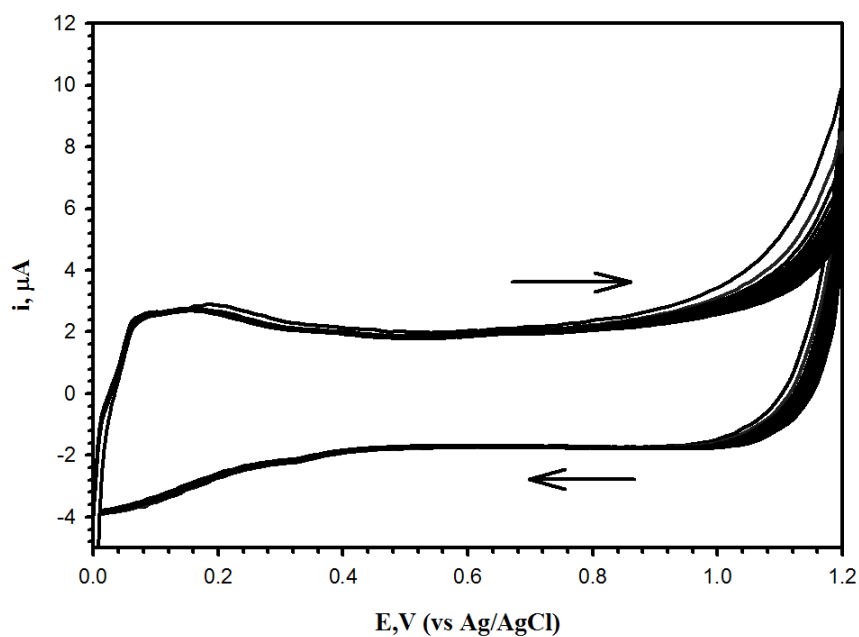
در یک بیان کلی، اصلاح کردن بستر الکتروودی، تاثیر چشمگیری بر افزایش کارایی الکتروود مورد استفاده برای اندازه‌گیری ترکیبات دارویی دارد. مطالعات انجام گرفته در کار تحقیقاتی حاضر، نشان داده است که اصلاح الکتروود به کمک نانو ذرات در سطح و یا اصلاح توده، می‌تواند رویکرد مناسبی در راستای افزایش حساسیت حسگرهای الکتروشیمیایی محسوب شود.

آینده‌نگری

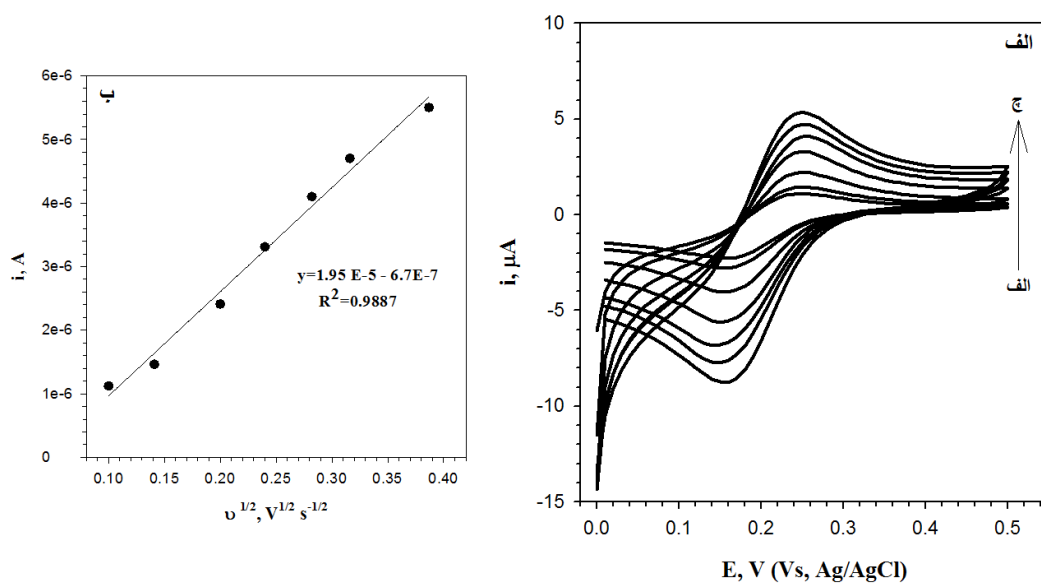
با توجه به قابلیت‌های منحصر به فرد انواع نانومواد، واسطه‌گرها و الکترودهای به کار رفته در این تحقیق، می‌توان پیشنهادات زیر را جهت تهیه حسگرهای الکتروشیمیایی جدید، ارائه نمود:

- ساخت الکترودهای اصلاح شده بر پایه سایر نانومواد، نظیر: نانو ذرات پلاتین و نانو ذرات مغناطیسی برای اندازه‌گیری سایر ترکیبات دارویی در نمونه‌های بیولوژیکی
- استفاده از دیگر ترکیبات به عنوان واسطه‌گرهای انتقال الکترون برای تهیه الکترودهای خمیر کربن اصلاح شده به منظور اندازه‌گیری الکتروشیمیایی برخی از ترکیبات مهم بیولوژیکی و دارویی
- به کارگیری سایر نانو ذرات فلزی به عنوان اصلاح کننده برای ساخت حسگر جهت اندازه‌گیری گونه آزمایشی هدف

پیوست



شکل (۱ پ): ۵۰ ولتاموگرام چرخه‌ای متوالی در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار با pH=۵/۰ در سطح MWCNT/GCE با سرعت روبش 100 mVs^{-1} .

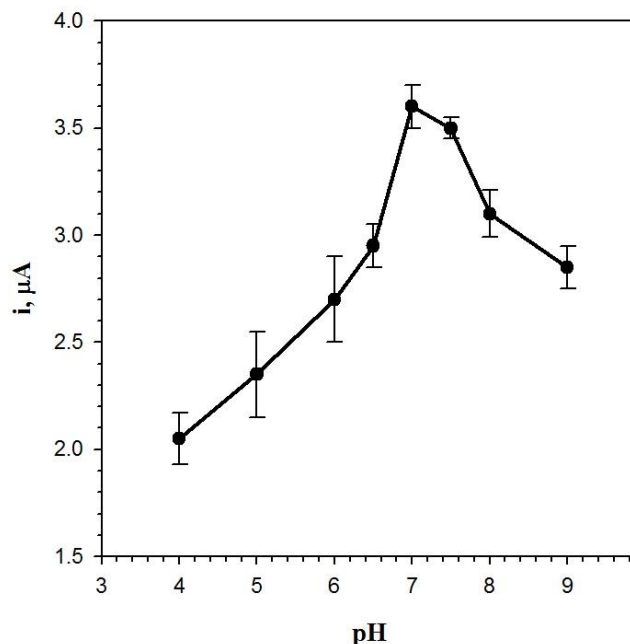


شکل (۲ پ): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای GCE در محلول $1/0 \text{ mM K}_4\text{Fe(CN)}_6$ حاوی $0/10 \text{ M KCl}$ در سرعت روبش‌های مختلف: (الف تا ج) مربوط به سرعت‌های روبش ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و 150 mVs^{-1} می‌باشند. (ب) نمودار تغییرات شدت جریان دماغه آندی بر حسب جذر سرعت روبش.

جدول (۱) نتایج به دست آمده از شدت جریان دماغه اکسایش ۱۰/۰ میکرومولار دوپامین در محلول حاوی بافر فسفاتی با pH های مختلف در سطح الکترود MT/MCPE به روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی

pH	سیگنال تجزیه‌ای* (μA)
۴/۰	$2/05 \pm 0/12$
۵/۰	$2/35 \pm 0/20$
۶/۰	$2/70 \pm 0/20$
۶/۵	$2/95 \pm 0/10$
۷/۰	$3/60 \pm 0/10$
۷/۵	$3/50 \pm 0/05$
۸/۰	$3/10 \pm 0/11$
۹/۰	$2/85 \pm 0/10$

* میانگین سه اندازه‌گیری



شکل (۳) نمودار تغییرات جریان آنودی بر حسب pH برای محلول ۱۰/۰ میکرومولار دوپامین. تمامی اندازه‌گیری‌ها در محلول ۰/۰۲۷ مولار بافر فسفاتی و در سطح الکترود خمیر کربن اصلاح شده با متیل تیوراسیل. سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه، پتانسیل انباشت: -۰/۲ ولت، زمان انباشت: ۱۲۰ ثانیه و زمان استراحت: ۲۰ ثانیه، ارتفاع پالس ۷۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه.

جدول (۲ پ): نتایج حاصل از بررسی حجم‌های متفاوت بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار در pH=۷/۰ در محلول ۱۰/۰ میکرومولار دوپامین در سطح الکترود MT/MCPE به روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی

انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)	سیگنال تجزیه‌ای* (μA)	سیگنال شاهد* (μA)	حجم بافر (mL)
۰/۰۵	۲/۶۰	۳/۵۰	۲/۰
۰/۰۷	۳/۳۰	۲/۵۰	۳/۰
۰/۱۱	۳/۶۰	۱/۴۰	۴/۰
۰/۱۱	۳/۶۰	۱/۴۰	۵/۰
۰/۰۵	۳/۵۸	۱/۳۵	۶/۰
۰/۱۰	۳/۵۹	۱/۳۰	۸/۰

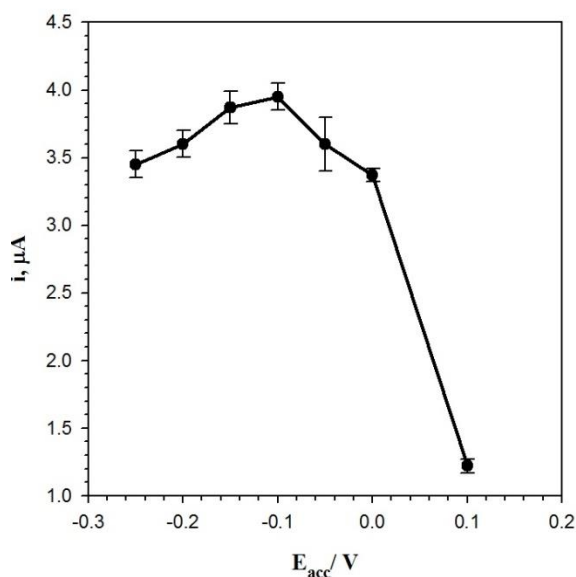
* میانگین سه اندازه‌گیری

جدول (۳ پ): نتایج حاصل از بررسی پتانسیل‌های انباشت متفاوت در محلول بافر فسفات 0.027 مولار $pH=7.0$ حاوی $10/0$ میکرومولار دوپامین در سطح الکتروده MT/MCPE به روش ولتامتری پالس تفاضلی

جذب سطحی

پتانسیل انباشت (mV)	سیگنال تجزیه‌ای* (μA)	انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)
-0.25	3.45	0.10
-0.20	3.60	0.11
-0.15	3.87	0.12
-0.10	3.95	0.10
-0.050	3.60	0.21
0.0	3.37	0.05
0.10	1.22	0.05

* میانگین سه اندازه‌گیری

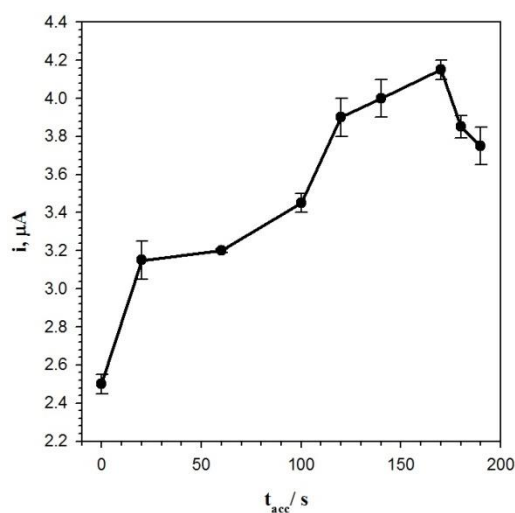


شکل (۴ پ): تاثیر پتانسیل انباشت بر روی شدت جریان دماغه دوپامین با غلظت $10/0$ میکرومولار در محلول بافر فسفات $pH=7.0$. سرعت روبش 50 میلی ولت بر ثانیه، زمان انباشت: 120 ثانیه و زمان استراحت: 20 ثانیه، ارتفاع پالس 70 میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس 50 میلی ثانیه.

جدول (۴ پ): نتایج حاصل از بررسی زمان‌های انباشت متفاوت در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار $\text{pH}=7/0$ حاوی ۱۰/۰ میکرومولار دوپامین در سطح الکتروُد MT/MCPE به روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی

انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)	سیگنال تجزیه‌ای* (μA)	زمان انباشت (s)
۰/۰۵	۲/۵۰	۰/۰
۰/۱۰	۳/۱۵	۲۰
۰/۱۱	۳/۲۰	۶۰
۰/۰۵	۳/۴۵	۱۰۰
۰/۱۰	۳/۹۰	۱۲۰
۰/۱۰	۴/۰۰	۱۴۰
۰/۰۵	۴/۱۵	۱۷۰
۰/۰۶	۳/۸۵	۱۸۰
۰/۱۰	۳/۷۵	۱۹۰

* میانگین سه اندازه‌گیری

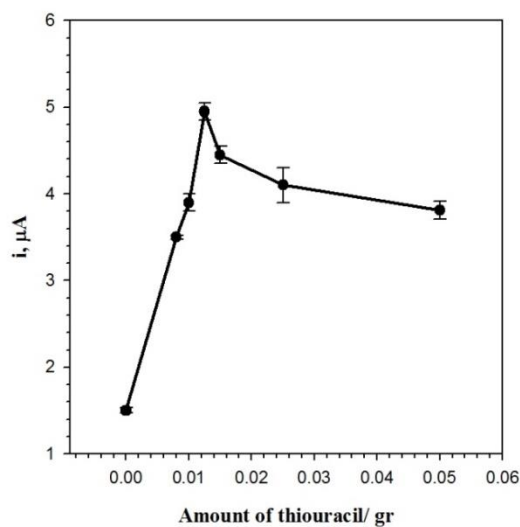


شکل (۵ پ): تاثیر زمان انباشت بر روی شدت جریان دماغه دوپامین با غلظت ۱۰/۰ میکرومولار در محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=7/0$ سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه، پتانسیل انباشت: ۰/۱- ولت و زمان استراحت: ۲۰ ثانیه، ارتفاع پالس ۷۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه.

جدول (۵) نتایج حاصل از بررسی مقدار متیل تیوراسیل در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار pH=۷/۰ حاوی ۱۰/۰ میکرومولار دوپامین به روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی

متیل تیوراسیل (g)	سیگنال شاهد* (μA)	سیگنال تجزیه‌ای* (μA)	انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)
۰/۰	۰/۸۵۰	۱/۵۰	۰/۰۳
۰/۰۰۸۰۰	۰/۹۵۰	۳/۵۰	۰/۰۲
۰/۰۱۰۰	۱/۱۵	۳/۹۰	۰/۱۰
۰/۰۱۲۵	۱/۲۰	۴/۹۵	۰/۱۰
۰/۰۱۵۰	۱/۳۰	۴/۴۵	۰/۱۰
۰/۰۲۵۰	۱/۵۵	۴/۱۰	۰/۲۰
۰/۰۵۰۰	۱/۵۷	۳/۸۱	۰/۱۰

* میانگین سه اندازه‌گیری

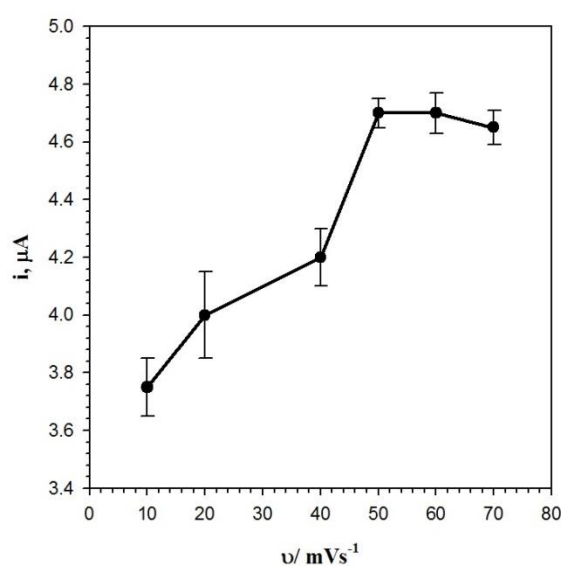


شکل (۶) تاثیر مقدار اصلاحگر روی شدت جریان دماغه دوپامین با غلظت ۱۰/۰ میکرومولار در محلول بافر فسفاتی با pH=۷/۰ سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه، پتانسیل انباشت: ۰/۱- ولت، زمان انباشت: ۱۷۰ ثانیه و زمان استراحت: ۲۰ ثانیه، ارتفاع پالس ۷۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه.

جدول (۶ پ): نتایج حاصل از بررسی سرعت روبش در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار pH=۷/۰ حاوی ۱۰/۰ میکرومولار دوپامین در سطح الکتروود MT/MCPE به روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی

انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)	سیگنال تجزیه‌ای* (μA)	سیگنال شاهد* (μA)	سرعت روبش (mVs ⁻¹)
۰/۱۰	۳/۷۵	۱/۳۰	۱۰
۰/۱۵	۴/۰۰	۱/۳۵	۲۰
۰/۱۰	۴/۲۰	۱/۴۰	۴۰
۰/۰۵	۴/۸۵	۱/۸۰	۵۰
۰/۰۷	۴/۹۰	۱/۹۰	۶۰
۰/۰۶	۴/۹۳	۲/۰۰	۷۰

* میانگین سه اندازه‌گیری

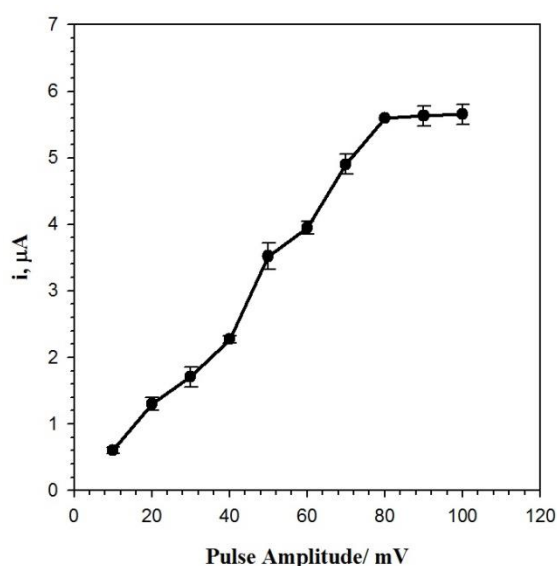


شکل (۷ پ): تاثیر سرعت روبش روی شدت جریان دماغه دوپامین با غلظت ۱۰/۰ میکرومولار در محلول بافر فسفاتی با pH=۷/۰. پتانسیل انباشت: ۰/۱- ولت، زمان انباشت: ۱۷۰ ثانیه و زمان استراحت: ۲۰ ثانیه، ارتفاع پالس ۷۰ میلی ولت و مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه.

جدول (۷ پ): نتایج حاصل از بررسی ارتفاع پالس در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار pH=۷/۰ حاوی ۱۰/۰ میکرومولار دوپامین در سطح الکتروود MT/MCPE به روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی

ارتفاع پالس (mV)	سیگنال تجزیه‌ای* (μA)	انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)
۱۰	۰/۶۰	۰/۰۵
۲۰	۱/۳۰	۰/۱۰
۳۰	۱/۷۱	۰/۱۵
۴۰	۲/۲۷	۰/۰۵
۵۰	۳/۵۲	۰/۲۰
۶۰	۳/۹۵	۰/۱۰
۷۰	۴/۹۰	۰/۱۵
۸۰	۵/۶۰	۰/۰۱
۹۰	۵/۶۳	۰/۱۵
۱۰۰	۵/۶۷	۰/۱۵

* میانگین سه اندازه‌گیری

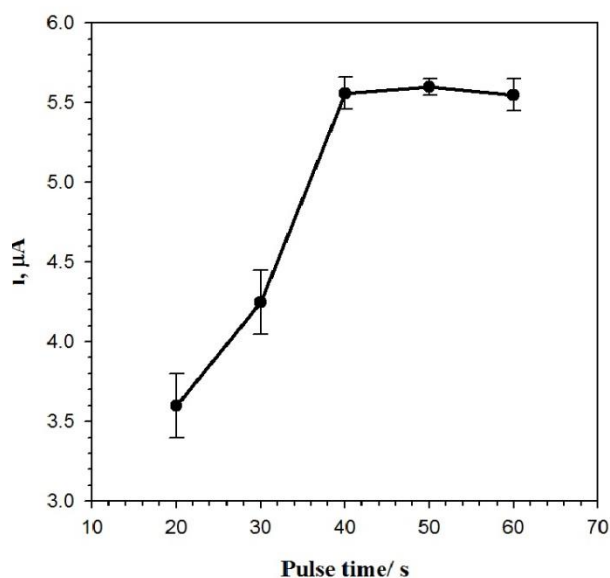


شکل (۸ پ): تاثیر ارتفاع پالس روی شدت جریان دماغه دوپامین با غلظت ۱۰/۰ میکرومولار در محلول بافر فسفاتی با pH=۷/۰. سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه، پتانسیل انباشت: -۰/۱ ولت، زمان انباشت: ۱۷۰ ثانیه و زمان استراحت: ۲۰ ثانیه، مدت زمان اعمال پالس ۵۰ میلی ثانیه.

جدول (۸ پ): نتایج حاصل از بررسی مدت زمان اعمال پالس در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۲۷ مولار pH=۷/۰ حاوی ۱۰/۰ میکرومولار دوپامین در سطح الکتروود MT/MCPE به روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی

مدت زمان اعمال پالس (s)	سیگنال تجزیه‌ای* (μA)	انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (μA)
۲۰	۳/۶۰	۰/۲۰
۳۰	۴/۲۵	۰/۲۱
۴۰	۵/۵۶	۰/۱۰
۵۰	۵/۶۰	۰/۰۵
۶۰	۵/۵۵	۰/۱۰

* میانگین سه اندازه‌گیری



شکل (۹ پ): تاثیر مدت زمان اعمال پالس روی شدت جریان دماغه دوپامین با غلظت ۱۰/۰ میکرومولار در محلول بافر فسفاتی با pH=۷/۰. سرعت روبش ۵۰ میلی ولت بر ثانیه، پتانسیل انباشت: ۱/۰- ولت، زمان انباشت: ۱۷۰ ثانیه و زمان استراحت: ۲۰ ثانیه، ارتفاع پالس ۸۰ میلی ولت.

جدول (۹ پ) ماتریس طراحی آزمایش پلاکت-برمن و نتایج سیگنال‌های تجزیه‌ای مربوط به هر آزمایش برای غلظت ۱۰/۰ میکرومولار دوپامین در محلول بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار pH=۷/۰ در سطح الکتروود MT/MCPE

به روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی

pH	E_{acc} (v)	t_{acc} (sec)	W_m (g)	v (mV s ⁻¹)	جریان* (μA)
۷/۶	۰/۰	۱۸۰	۰/۰۱۰۰	۶۰	۶/۸ (۱), ۷/۱ (۷)
۴/۰	۰/۰	۱۸۰	۰/۰۱۰۰	۶۰	۴/۲ (۲), ۴/۱ (۱۶)
۷/۶	۰/۰	۶۰	۰/۰۲۵۰	۶۰	۲/۶ (۳), ۲/۸ (۲۳)
۴/۰	۰/۰	۱۸۰	۰/۰۲۵۰	۲۰	۱/۵ (۴), ۱/۳ (۲۰)
۷/۶	-۰/۲	۱۸۰	۰/۰۲۵۰	۲۰	۴/۰ (۵), ۳/۶ (۸)
۴/۰	-۰/۲	۶۰	۰/۰۱۰۰	۲۰	۳/۴ (۲۲), ۳/۲ (۶)
۴/۰	-۰/۲	۶۰	۰/۰۲۵۰	۶۰	۱/۶ (۹), ۱/۴ (۱۸)
۷/۶	-۰/۲	۱۸۰	۰/۰۱۰۰	۲۰	۶/۸ (۱۰), ۶/۴ (۱۱)
۴/۰	-۰/۲	۱۸۰	۰/۰۲۵۰	۶۰	۱/۹ (۱۲), ۱/۶ (۲۱)
۷/۶	۰/۰	۶۰	۰/۰۲۵۰	۲۰	۲/۴ (۱۳), ۲/۳ (۱۷)
۷/۶	-۰/۲	۶۰	۰/۰۱۰۰	۶۰	۶/۹ (۱۴), ۶/۰ (۱۹)
۴/۰	۰/۰	۶۰	۰/۰۱۰۰	۲۰	۲/۸ (۱۵), ۲/۹ (۲۴)

*اعداد موجود در پرانتز ترتیب انجام آزمایش را نشان می‌دهد.

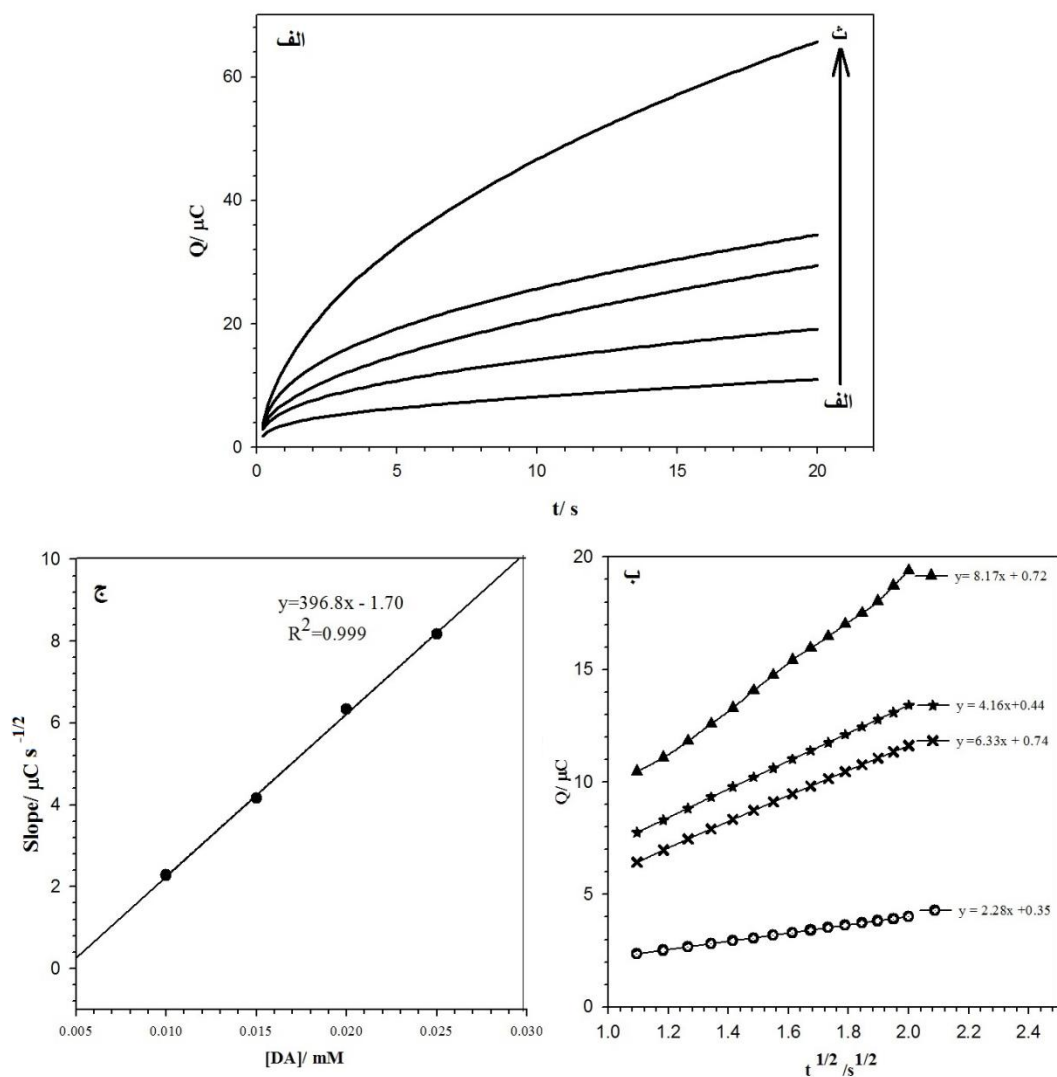
جدول (۱۰) ماتریس طراحی آزمایش مکعب مرکزی مرکز وجوه پر و نتایج سیگنال‌های تجزیه‌ای مربوط به هر آزمایش برای غلظت ۱۰/۰ میکرومولار دوپامین در محلول بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار pH=۷/۰ در سطح الکتروود MT/MCPE به روش ولتامتری پالس تفاضلی جذب سطحی

pH	E_{acc} (v)	t_{acc} (sec)	W_m (g)	v (mV s ⁻¹)	جریان* (μA)
۷/۶	۰/۰	۱۸۰	۰/۰۲۵۰	۶۰	۲/۱ (۱), ۲/۹ (۹)
۷/۶	-۰/۲	۶۰	۰/۰۲۵۰	۶۰	۳/۰ (۲), ۳/۶ (۳۰)
۴/۰	-۰/۲	۶۰	۰/۰۱۰۰	۶۰	۲/۱ (۳), ۲/۸ (۵۰)
۵/۸	۰/۰	۱۲۰	۰/۰۱۷۵	۴۰	۲/۵ (۴), ۳/۱ (۱۶)
۷/۶	-۰/۲	۱۸۰	۰/۰۲۵۰	۲۰	۳/۲ (۵), ۴/۰ (۲۳)
۴/۰	-۰/۲	۶۰	۰/۰۲۵۰	۲۰	۱/۴ (۶), ۱/۲ (۴۴)
۷/۶	-۰/۲	۱۸۰	۰/۰۱۰۰	۶۰	۷/۱ (۷), ۶/۳ (۱۴)
۷/۶	۰/۰	۶۰	۰/۰۲۵۰	۲۰	۲/۴ (۸), ۳/۳ (۲۶)
۵/۸	-۰/۱	۶۰	۰/۰۱۷۵	۴۰	۲/۵ (۱۰), ۱/۹ (۲۵)
۴/۰	۰/۰	۶۰	۰/۰۱۰۰	۲۰	۲/۹ (۱۱), ۳/۶ (۴۷)
۷/۶	۰/۰	۱۸۰	۰/۰۱۰۰	۲۰	۳/۴ (۱۲), ۴/۳ (۳۵)
۵/۸	-۰/۱	۱۲۰	۰/۰۱۷۵	۴۰	۲/۸ (۱۳), ۳/۸ (۱۹)
۵/۸	-۰/۱	۱۲۰	۰/۰۱۷۵	۴۰	۳/۵ (۲۲), ۳/۳ (۵۲)
۴/۰	-۰/۱	۱۲۰	۰/۰۱۷۵	۴۰	۲/۰ (۱۵), ۲/۷ (۱۷)
۵/۸	-۰/۲	۱۲۰	۰/۰۱۷۵	۴۰	۳/۴ (۱۸), ۴/۲ (۳۸)
۵/۸	-۰/۱	۱۲۰	۰/۰۲۵۰	۴۰	۳/۵ (۲۰), ۳/۱ (۴۰)
۴/۰	۰/۰	۶۰	۰/۰۲۵۰	۶۰	۱/۴ (۲۱), ۱/۰ (۵۱)
۴/۰	-۰/۲	۱۸۰	۰/۰۲۵۰	۶۰	۲/۵ (۲۴), ۱/۹ (۳۶)
۵/۸	-۰/۱	۱۲۰	۰/۰۱۷۵	۲۰	۳/۴ (۲۷), ۲/۸ (۳۳)
۴/۰	۰/۰	۱۸۰	۰/۰۲۵۰	۲۰	۱/۶ (۲۸), ۱/۹ (۴۱)
۷/۶	-۰/۲	۶۰	۰/۰۱۰۰	۲۰	۴/۱ (۲۹), ۳/۹ (۵۳)
۴/۰	۰/۰	۱۸۰	۰/۰۱۰۰	۶۰	۴/۴ (۳۱), ۴/۰ (۴۲)
۷/۶	-۰/۱	۱۲۰	۰/۰۱۷۵	۴۰	۳/۰ (۳۲), ۳/۷ (۵۵)
۵/۸	-۰/۱	۱۲۰	۰/۰۱۷۵	۶۰	۲/۷ (۳۴), ۳/۲ (۵۶)
۵/۸	-۰/۱	۱۲۰	۰/۰۱۰۰	۴۰	۵/۸ (۳۷), ۶/۴ (۴۶)
۴/۰	-۰/۲	۱۸۰	۰/۰۱۰۰	۲۰	۲/۸ (۳۹), ۳/۴ (۴۹)
۷/۶	۰/۰	۶۰	۰/۰۱۰۰	۶۰	۳/۳ (۴۳), ۳/۹ (۵۴)
۵/۸	-۰/۱	۱۸۰	۰/۰۱۷۵	۴۰	۲/۷ (۴۵), ۳/۴ (۴۸)

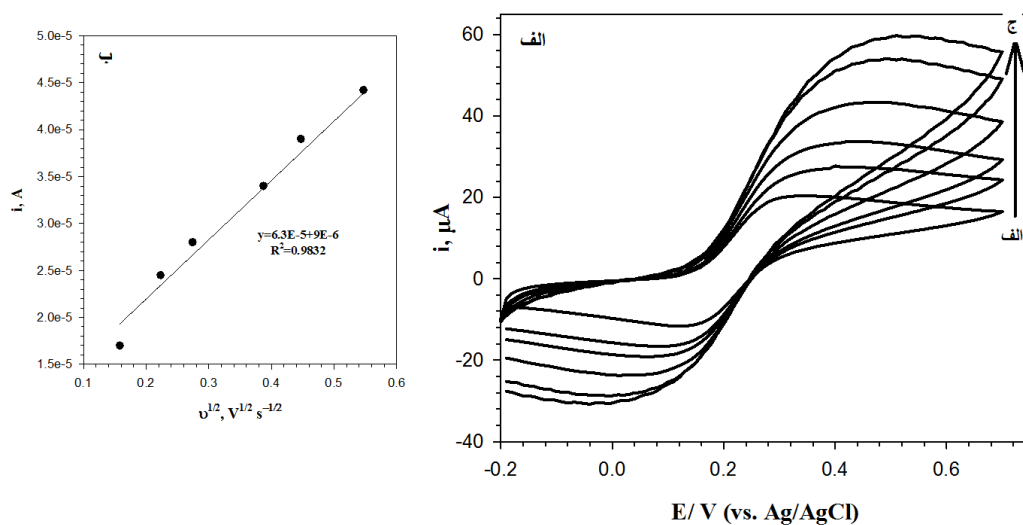
*اعداد موجود در پرانتز ترتیب انجام آزمایش را نشان می‌دهد.

جدول (۱۱) ضرایب حاصل از طرح مرکب مرکزی برای اندازه‌گیری دوپامین در محلول بافر فسفات ۰/۰۲۷ مولار pH=۷/۰ حاوی ۱۰/۰ میکرومولار دوپامین در سطح الکتروود MT/MCPE به روش ولتامتری پالس

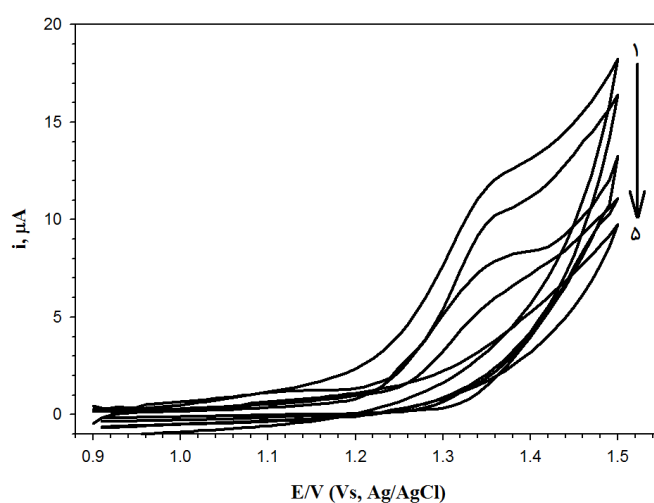
تفاضلی جذب سطحی			
عبارت	ضرایب	خطای استاندارد	P
A	۰/۶۷۴	۰/۰۷۵۸	۰/۰۰۰
B	-۰/۲۴۵	۰/۰۷۵۸	۰/۰۰۳
C	۰/۳۷۷	۰/۰۷۵۸	۰/۰۰۰
D	-۰/۸۴۷	۰/۰۷۵۸	۰/۰۰۰
E	۰/۱۳۴	۰/۰۷۵۸	۰/۰۱۶
A ²	-۰/۵۲۲	۰/۲۰۵	۰/۰۱۶
B ²	-۰/۰۳۸۲	۰/۲۰۵	۰/۸۵۳
C ²	-۰/۷۱۶	۰/۲۰۵	۰/۰۰۱
D ²	۱/۳۴۴	۰/۲۰۵	۰/۰۰۰
E ²	-۰/۳۰۶	۰/۲۰۵	۰/۱۴۶
AB	-۰/۳۸۱	۰/۰۸۰۴	۰/۰۰۰
AC	-۰/۰۱۴۵	۰/۰۸۰۴	۰/۸۵۸
AD	۰/۰۴۰۸	۰/۰۸۰۴	۰/۶۱۵
AE	۰/۰۶۳۶	۰/۰۸۰۴	۰/۴۳۴
BC	-۰/۱۹۷	۰/۰۸۰۴	۰/۰۲۰
BD	-۰/۰۵۴۵	۰/۰۸۰۴	۰/۰۵۰۲
BE	-۰/۱۷۸	۰/۰۸۰۴	۰/۰۳۳
CD	-۰/۱۹۲	۰/۰۸۰۴	۰/۰۲۳
CE	۰/۲۵۴	۰/۰۸۰۴	۰/۰۰۳
DE	-۰/۱۹۷	۰/۰۸۰۴	۰/۰۱۹



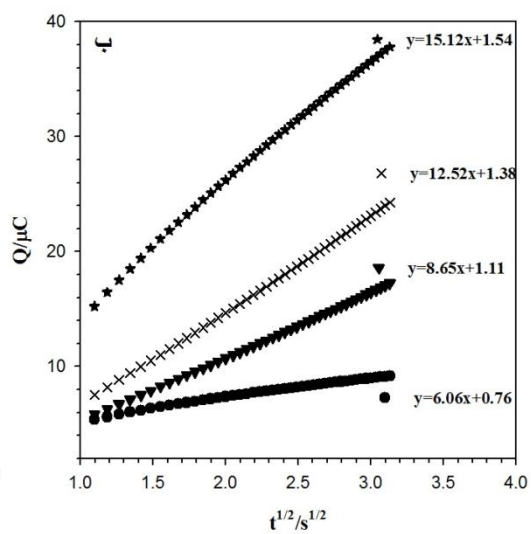
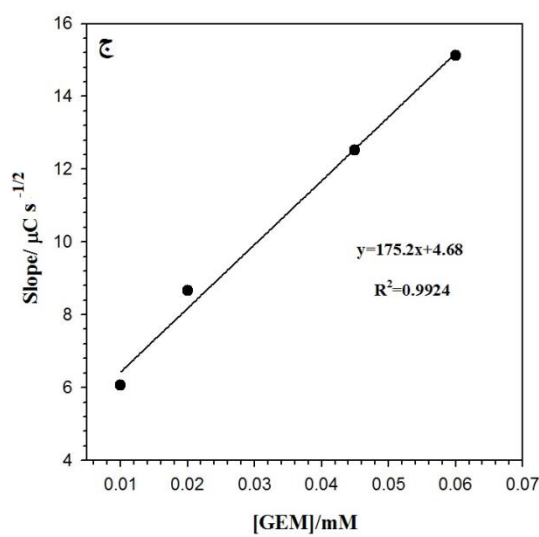
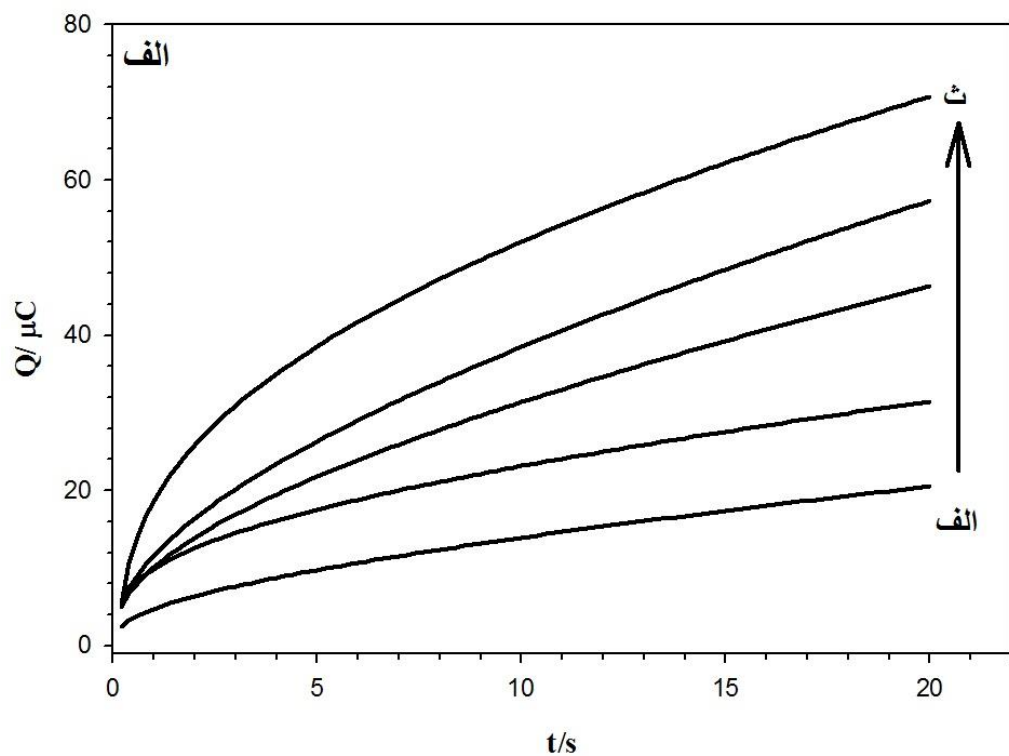
شکل (۱۰ پ): (الف) کروئوکولوگرام های CPE در محلول بافر فسفاتنی با $pH=7.0$ حاوی غلظت های متفاوت دوپامین (الف) غیاب (ب) $10/0$ ، (پ) $15/0$ ، (ت) $20/0$ و (ث) $25/0$ میکرو مولار. پله پتانسیل آندی در 0.4 ولت نسبت به الکترود شاهد می باشد. پتانسیل انباشت: -0.2 ولت، زمان انباشت: 160 ثانیه و زمان استراحت: 20 ثانیه. (ب) نمودار تغییرات $Q-t^{1/2}$ به دست آمده از کروئوکولوگرام های ب-ث بعد از کم کردن نقطه به نقطه از زمینه است. (ج) نمودار شیب خطوط $Q-t^{1/2}$ بر حسب غلظت دوپامین.



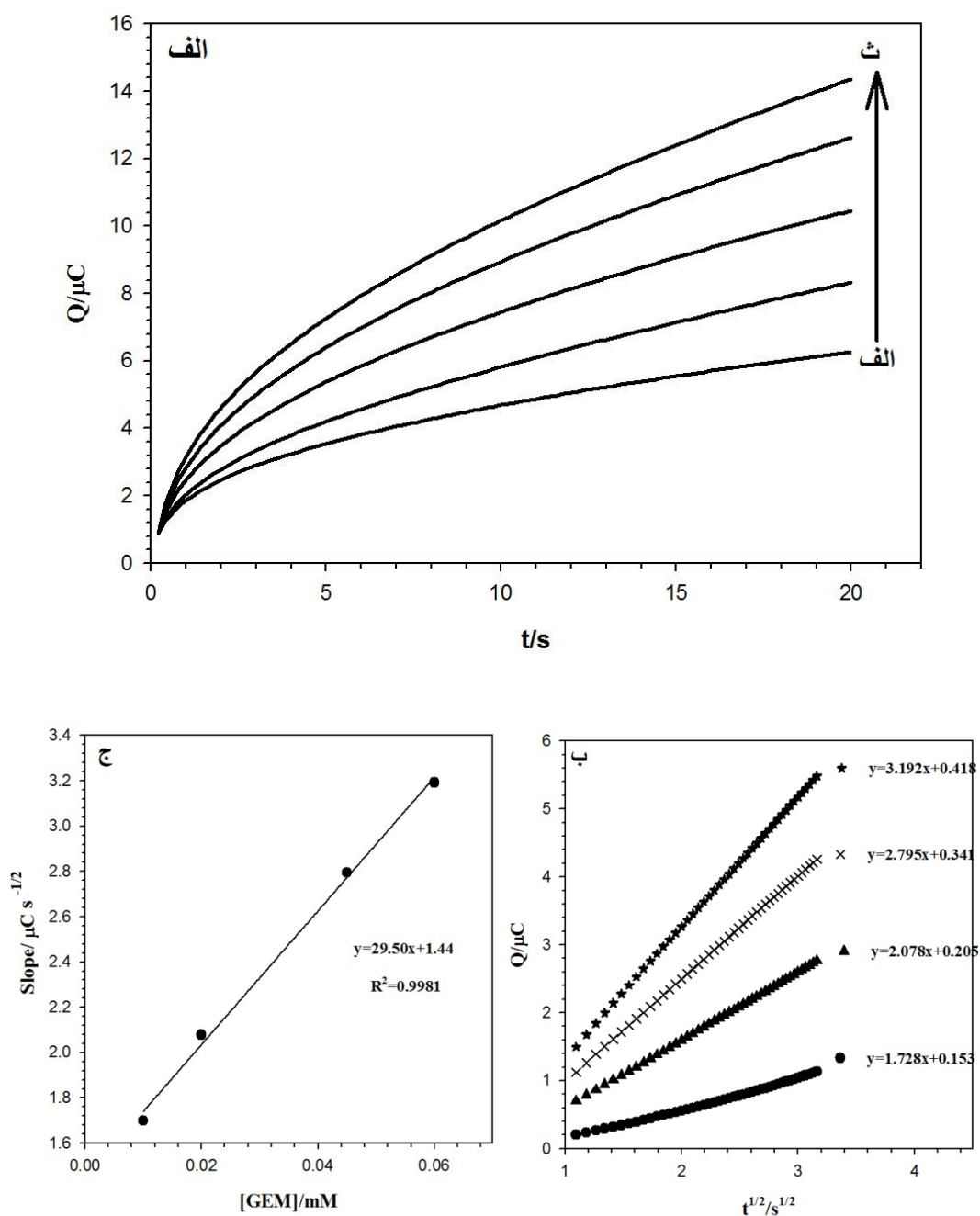
شکل (۱۱ پ): (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای MWCNT/GCE در محلول $0.1 \text{ mM K}_4\text{Fe(CN)}_6$ حاوی 0.1 M KCl در سرعت روبش‌های مختلف: (الف تا ج) مربوط به سرعت‌های روبش ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی ولت بر ثانیه می‌باشند. (ب) نمودار تغییرات شدت جریان دماغه آندی بر حسب جذر سرعت روبش.



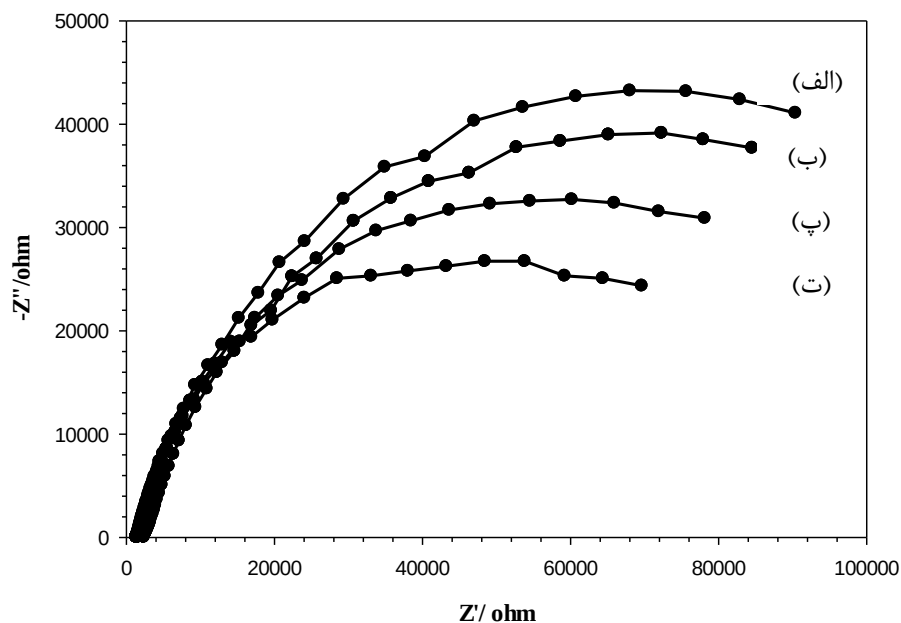
شکل (۱۲ پ): ولتاموگرام‌های چرخه‌ای Au/MWCNT/GCE در محلول بافر فسفات 0.27 M با $\text{pH}=3.0$ برای از بین بردن اثر حافظه جم فیبروزیل در سطح الکترود با سرعت روبش 100 mVs^{-1} .



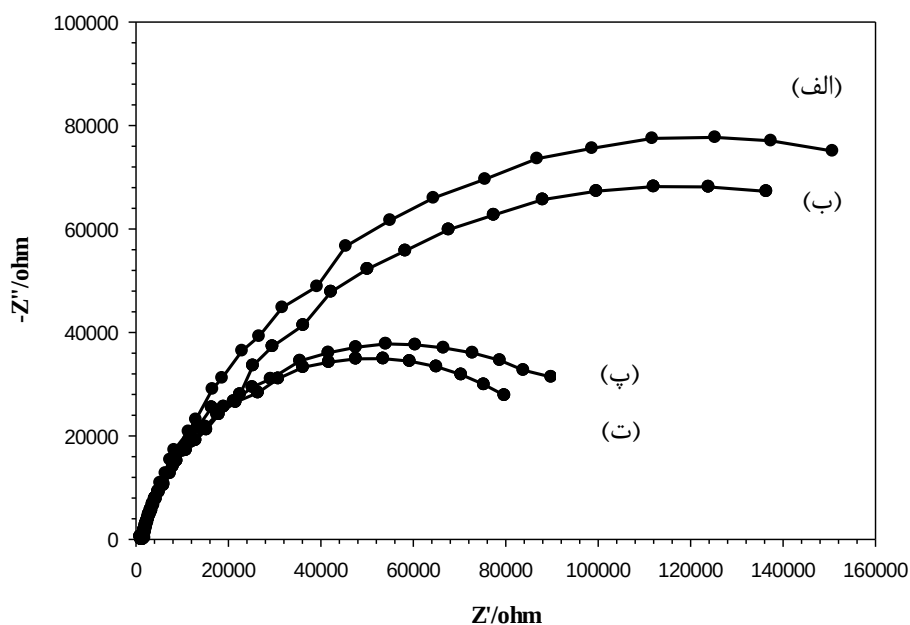
شکل (۱۳ پ): (الف) کروئوکولوگرام های MWCNT/GCE در محلول بافر فسفاتی با pH=۳/۰ حاوی غلظت های متفاوت جم فیبروزیل (الف) غیاب (ب) ۱۰/۰، (پ) ۲۰/۰، (ت) ۴۵/۰ و (ث) ۶۰/۰ میکرو مولار. پله پتانسیل آندی در ۱/۴۵ ولت نسبت به الکتروود شاهد می باشد. زمان انباشت: ۵۰ ثانیه و زمان استراحت: ۱۰ ثانیه. (ب) نمودار تغییرات $Q-t^{1/2}$ به دست آمده از کروئوکولوگرام های ب-ث بعد از کم کردن نقطه به نقطه از زمینه است. (ج) نمودار شیب خطوط $Q-t^{1/2}$ بر حسب غلظت جم فیبروزیل.



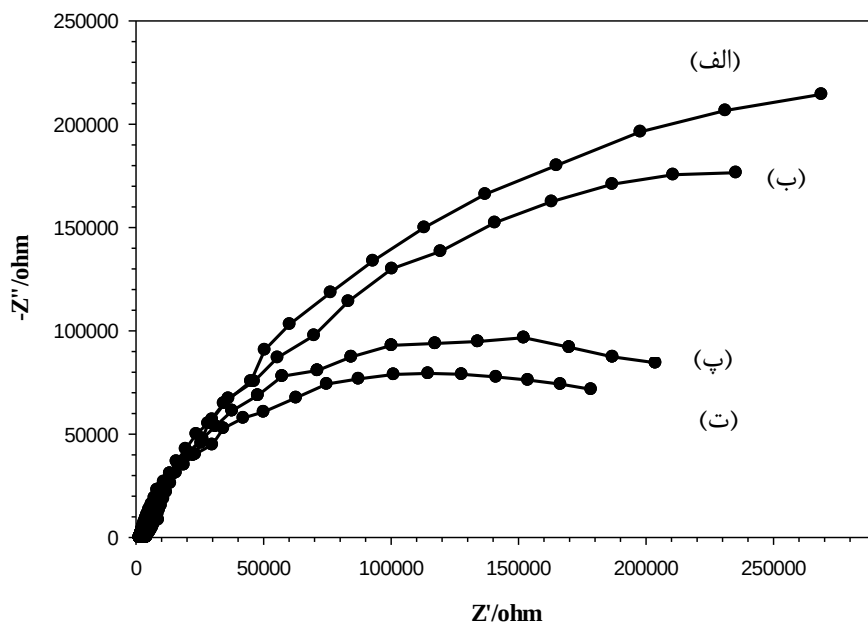
شکل (۱۴ پ): (الف) کروئوکولوگرام های GCE در محلول بافر فسفات با $pH=3.0$ حاوی غلظت های متفاوت جم فیبروزیل (الف) غیاب (ب) $10/0$ ، (پ) $20/0$ ، (ت) $45/0$ و (ث) $60/0$ میکرو مولار. پله پتانسیل آندی در $1/45$ ولت نسبت به الکتروود شاهد می باشد. زمان انباشت: 50 ثانیه و زمان استراحت: 10 ثانیه. (ب) نمودار تغییرات $Q-t^{1/2}$ به دست آمده از کروئوکولوگرام های ب-ث بعد از کم کردن نقطه به نقطه از زمینه است. (ج) نمودار شیب خطوط $Q-t^{1/2}$ بر حسب غلظت جم فیبروزیل.



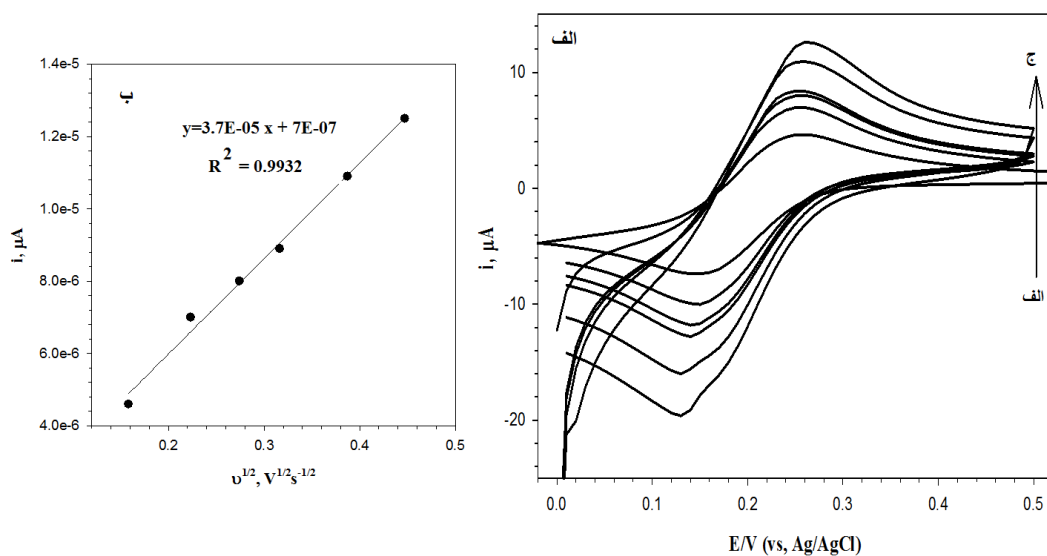
شکل (۱۵ پ): نمودار نایکوئیست مربوط به نمونه کپسول در سطح Au/MWCNT/GCE در غیاب (الف) و حضور (ب) ۵/۰۰ (پ) ۱۰/۰ و (ت) ۲۰/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در بافر فسفاتی $\text{pH}=3/0$, $E_{dc}=1/34$ ولت و فرکانس ۰/۱ تا ۱۰۰۰۰۰ هرتز. زمان انباشت ۵۰ ثانیه و زمان استراحت ۱۰ ثانیه.



شکل (۱۶ پ): نمودار نایکوئیست مربوط به نمونه آب شهر در سطح Au/MWCNT/GCE در غیاب (الف) و حضور (ب) ۰/۵۰ (پ) ۲/۰ و (ت) ۳/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در بافر فسفاتی $\text{pH}=3/0$, $E_{dc}=1/34$ ولت و فرکانس ۰/۱ تا ۱۰۰۰۰۰ هرتز. زمان انباشت ۵۰ ثانیه و زمان استراحت ۱۰ ثانیه.



شکل ۱۷ پ): نمودار نایکوئیست مربوط به نمونه سرم در سطح Au/MWCNT/GCE در غیاب (الف) و حضور (ب) ۴/۰۰ (پ) ۸/۰۰ و (ت) ۱۲/۰ میکرومولار جم فیبروزیل در بافر فسفاتی ۳/۰، pH=۳/۴، $E_{dc}=1/34$ ولت و فرکانس ۰/۱ تا ۱۰۰۰۰۰ هرتز. زمان انباشت ۵۰ ثانیه و زمان استراحت ۱۰ ثانیه.



شکل ۱۸ پ): ولتاموگرامهای چرخهای PARS /GCE در محلول ۱/۰ mM $K_4Fe(CN)_6$ حاوی ۰/۱۰ M KCl در سرعت روبشهای مختلف: (الف تا ج) مربوط به سرعتهای روبش ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی ولت بر ثانیه می باشند. (ب) نمودار تغییرات شدت جریان دماغه آندی بر حسب جذر سرعت روبش.

- (1) Brunetti B., Valdés-Ramírez G., Litvan I. and Wang J. (2014) "A disposable electrochemical biosensor for L-DOPA determination in undiluted human serum" **Electrochem. Commun.**, **48**, pp 28-31.
- (2) Nayak D. S. and Shetti N. P. (2016) "Electrochemical oxidation of provitamin B5,D-panthenol and its analysis in spiked human urine" **J. Anal. Sci. Technol.**, **7**, **12**, pp 1-8.
- (3) Hart J. P., Crew A., Crouch E., Honeychurch K. C. and Pemberton R. M. (2004) "Some recent designs and developments of screen-printed carbon electrochemical sensors/biosensors for biomedical, environmental, and industrial analyses" **Anal. lett.**, **37**, **5**, pp 789-830.
- (4) Salimi A., Compton R. G. and Hallaj R. (2004) "Glucose biosensor prepared by glucose oxidase encapsulated sol-gel and carbon-nanotube-modified basal plane pyrolytic graphite electrode" **Anal. biochem.**, **333**, **1**, pp 49-56.
- (5) Wang J. (1999) "Amperometric biosensors for clinical and therapeutic drug monitoring: a review" **J. Pharm. Biomed. Anal.**, **19**, **1**, pp 47-53.
- (6) Wang J. (2006), "**Analytical electrochemistry**"; 2nd Edition, John Wiley & Sons.
- (7) Sanghavi B.J., Wolfbeis O.S., Hirsch T. and Swami N.S. (2015) "Nanomaterial-based electrochemical sensing of neurological drugs and neurotransmitters" **Microchim. Acta**, **182**, **1**, pp 1-41.
- (8) Jadon N., Jain R., Sharma S. and Singh K. (2016) "Recent trends in electrochemical sensors for multianalyte detection – A review" **Talanta**, **161**, **1**, pp 894-916.
- (9) Edmonds T. (2013), "**Chemical sensors**"; Vol., Springer Science & Business Media, pp
- (10) Baldwin R. P., Christensen J. K. and Kryger L. (1986) "Voltammetric determination of traces of nickel (II) at a chemically modified electrode based on dimethylglyoxime-containing carbon paste" **Anal. Chem.**, **58**, **8**, pp 1790-1798.
- (11) Geno P. W., Ravichandran K. and Baldwin R. P. (1985) "Chemically modified carbon paste electrodes: Part IV. Electrostatic binding and electrocatalysis at poly (4-vinylpyridine)-containing electrodes" **J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.**, **183**, 1-2, pp 155-166.
- (12) Halbert M. K. and Baldwin R. P. (1985) "Electrocatalytic and analytical response of cobalt phthalocyanine containing carbon paste electrodes toward sulfhydryl compounds" **Anal. Chem.**, **57**, **3**, pp 591-595.
- (13) Koval C. A. and Anson F. C. (1978) "Electrochemistry of the ruthenium (3+, 2+) couple attached to graphite electrodes" **Anal. Chem.**, **50**, **2**, pp 223-229.
- (14) Miller L. L. and Van de Mark M. R. (1978) "Electrode surface modification via polymer adsorption" **J. Am. Chem. Soc.**, **100**, **2**, pp 639-640.
- (15) Oyama N. and Anson F. C. (1979) "Facile attachment of transition metal complexes to graphite electrodes coated with polymeric ligands. Observation and control of metal-ligand coordination among reactants confined to electrode surfaces" **J. Am. Chem. Soc.**, **101**, **3**, pp 739-741.
- (16) Gomathi H. and Rao G. P. (1985) "Chemical and electrochemical modification of the glassy carbon surface with quinhydrone" **J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.**, **190**, **1**, pp 85-94.

- (17) Larochelle J. and Johnson D. (1978) "Chromatographic determination of chromium (VI) with coulometric detection based on the electrocatalysis by adsorbed iodine of the reduction at platinum electrodes in acidic solutions" **Anal. Chem.**, **50**, 2, pp 240-243.
- (18) Taylor L. R. and Johnson D. C. (1974) "Determination of antimony using forced-flow liquid chromatography with a coulometric detector" **Anal. Chem.**, **46**, 2, pp 262-266.
- (19) Nowak R., Schultz F., Umana M., Abruna H. and Murray R. W. (1978) "Chemically modified electrodes: Part XIV. Attachment of reagents to oxide-free glassy carbon surfaces. Electroactive RF polymer films on carbon and platinum electrodes" **J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.**, **94**, 3, pp 219-225.
- (20) Jannakoudakis A., Missaelidis N. and Theodoridou E. (1985) "Chemical modification of electrochemically oxidized and partially rereduced carbon fibre electrodes" **Synth. Met.**, **11**, 2, pp 101-108.
- (21) Lennox J. C. and Murray R. W. (1977) "Chemically modified electrodes: VI. Binding and reversible electrochemistry of tetra-(aminophenyl) porphyrin on glassy carbon" **J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.**, **78**, 2, pp 395-401.
- (22) Lindsey S. and Street G. (1984) "Conductive composites from polyvinyl alcohol and polypyrrole" **Synth. Met.**, **10**, 1, pp 67-69.
- (23) Noufi R. (1983) "The Incorporation of Ruthenium Oxide in Polypyrrole Films and the Subsequent Photooxidation of Water at n-GaP Photoelectrode" **J. Electrochem. Soci.**, **130**, 10, pp 2126-2128.
- (24) Pfluger P. and Street G. (1984) "Chemical, electronic, and structural properties of conducting heterocyclic polymers: a view by XPS" **J. Chem. Phys.**, **80**, 1, pp 544-553.
- (25) Roullier L. and Waldner E. (1985) "The electrochemical behaviour of vinylferrocene and N-vinylcarbazole copolymer modified electrodes in aqueous and nonaqueous media" **J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.**, **187**, 1, pp 97-107.
- (26) Tourillon G., Dartyge E., Dexpert H., Fontaine A., Jucha A., Lagarde P. and Sayers D. (1984) "Electrochemical inclusion of metallic clusters in organic conducting polymers An in situ dispersive x-ray absorption study" **J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.**, **178**, 2, pp 357-366.
- (27) La Salle A. L. G., Limoges B., Anizon J., Degrand C. and Brossier P. (1993) "Utilization of a Nafion®-modified electrode in a competitive homogeneous electrochemical immunoassay involving a redox cationic labelled hapten—phenytoin" **J. Electroanal. Chem.**, **350**, 1-2, pp 329-335.
- (28) Ghorbani-Bidkorbeh F., Shahrokhian S., Mohammadi A. and Dinarvand R. (2010) "Simultaneous voltammetric determination of tramadol and acetaminophen using carbon nanoparticles modified glassy carbon electrode" **Electrochim. Acta**, **55**, 8, pp 2752-2759.
- (29) Wang J. (2005) "Carbon-nanotube based electrochemical biosensors: A review" **Electroanalysis**, **17**, 1, pp 7-14.
- (30) Gan Z.-H., Zhao Q., Gu Z.-N. and Zhuang Q.-K. (2004) "Electrochemical studies of single-wall carbon nanotubes as nanometer-sized activators in enzyme-catalyzed reaction" **Anal. Chim. Acta**, **511**, 2, pp 239-247.
- (31) Gooding J. J., Chou A., Liu J., Losic D., Shapter J. G. and Hibbert D. B. (2007) "The effects of the lengths and orientations of single-walled carbon

nanotubes on the electrochemistry of nanotube-modified electrodes” **Electrochem. Commun.**, **9**, 7, pp 1677-1683.

(32) Antiochia R. and Gorton L. (2007) “Development of a carbon nanotube paste electrode osmium polymer-mediated biosensor for determination of glucose in alcoholic beverages” **Biosens. Bioelectron.**, **22**, 11, pp 2611-2617.

(33) Ensafi A. A., Karimi-Maleh H., Mallakpour S. and Rezaei B. (2011) “Highly sensitive voltammetric sensor based on catechol-derivative-multiwall carbon nanotubes for the catalytic determination of captopril in patient human urine samples” **Colloids Surf., B**, **87**, 2, pp 480-488.

(34) Fagan-Murphy A., Allen M. C. and Patel B. A. (2015) “Chemically modified multiwall carbon nanotube composite electrodes: An assessment of fabrication strategies” **Electrochim. Acta**, **152**, pp 249-254.

(35) Teymourian H., Salimi A. and Khezrian S. (2013) “Fe₃O₄ magnetic nanoparticles/reduced graphene oxide nanosheets as a novel electrochemical and bioelectrochemical sensing platform” **Biosens. Bioelectron.**, **49**, pp 1-8.

(36) Kroto H. W., Heath J. R., O'Brien S. C., Curl R. F. and Smalley R. E. (1985) “C₆₀: buckminsterfullerene” **Nature**, **318**, 6042, pp 162-163.

(37) Iijima S. (1991) “Helical microtubules of graphitic carbon” **Nature**, **354**, 6348, pp 56-58.

(38) Britto P., Santhanam K. and Ajayan P. (1996) “Carbon nanotube electrode for oxidation of dopamine” **Bioelectrochem. Bioenerg.**, **41**, 1, pp 121-125.

(39) Harris P. J. and Harris P. J. F. (2001), “Carbon nanotubes and related structures: new materials for the twenty-first century”; Cambridge university press.

(40) Raoof J.-B., Ojani R. and Hosseini S. R. (2011) “A novel, effective and low cost catalyst for methanol oxidation based on nickel ions dispersed onto poly (o-toluidine)/Triton X-100 film at the surface of multi-walled carbon nanotube paste electrode” **J. Power Sources**, **196**, 4, pp 1855-1863.

(41) Rivas G. A., Rubianes M. D., Rodriguez M. C., Ferreyra N. F., Luque G. L., Pedano M. L., Miscoria S. A. and Parrado C. (2007) “Carbon nanotubes for electrochemical biosensing” **Talanta**, **74**, 3, pp 291-307.

(42) Britto P. J., Santhanam K. S., Rubio A., Alonso J. A. and Ajayan P. M. (1999) “Improved charge transfer at carbon nanotube electrodes” **Adv. Mat.**, **11**, 2, pp 154-157.

(43) Mohan P., Shinta R., Fujiwara J., Takahashi H., Mott D., Matsumura Y., Mizutani G., Iwami K., Umeda N. and Maenosono S. (2012) “Boehmite nanorod/gold nanoparticle nanocomposite film for an easy-to-use optical humidity sensor” **Sens. Actuator, B**, **168**, pp 429-435.

(44) Sanghavi B. J. and Srivastava A. K. (2013) “Adsorptive stripping voltammetric determination of imipramine, trimipramine and desipramine employing titanium dioxide nanoparticles and an Amberlite XAD-2 modified glassy carbon paste electrode” **Analyst**, **138**, 5, pp 1395-1404.

(45) Fung K. H. and Chan C. T. (2008) “A computational study of the optical response of strongly coupled metal nanoparticle chains” **Optics commun.**, **281**, 4, pp 855-864.

(46) Arvand M. and Gholizadeh T. M. (2013) “Gold nanorods-graphene oxide nanocomposite incorporated carbon nanotube paste modified glassy carbon electrode for voltammetric determination of indomethacin” **Sens. Actuator, B**, **186**, pp 622-632.

- (47) Li J. and Lin X. (2007) "Electrocatalytic oxidation of hydrazine and hydroxylamine at gold nanoparticle—polypyrrole nanowire modified glassy carbon electrode" **Sens. Actuator, B**, **126**, 2, pp 527-535.
- (48) Tan Y., Li Y. and Zhu D. (2002) "Fabrication of gold nanoparticles using a trithiol (thiocyanuric acid) as the capping agent" **Langmuir**, **18**, 8, pp 3392-3395.
- (49) Fukushima M., Yanagi H., Hayashi S., Suganuma N. and Taniguchi Y. (2003) "Fabrication of gold nanoparticles and their influence on optical properties of dye-doped sol-gel films" **Thin Solid Films**, **438**, pp 39-43.
- (50) El-Deab M. S., Okajima T. and Ohsaka T. (2003) "Electrochemical reduction of oxygen on gold nanoparticle-electrodeposited glassy carbon electrodes" **J. Electrochem. Soci.**, **150**, 7, pp A851-A857.
- (51) Finot M. O., Braybrook G. D. and McDermott M. T. (1999) "Characterization of electrochemically deposited gold nanocrystals on glassy carbon electrodes" **J. Electroanal. Chem.**, **466**, 2, pp 234-241.
- (52) Wang P., Mai Z., Dai Z., Li Y. and Zou X. (2009) "Construction of Au nanoparticles on choline chloride modified glassy carbon electrode for sensitive detection of nitrite" **Biosens. Bioelectron.**, **24**, 11, pp 3242-3247.
- (53) Brown K. R., Fox A. P. and Natan M. J. (1996) "Morphology-dependent electrochemistry of cytochrome c at Au colloid-modified SnO₂ electrodes" **J. Am. Chem. Soc.**, **118**, 5, pp 1154-1157.
- (54) Castañeda M. e. T., Alegret S. and Merkoci A. (2007) "Electrochemical sensing of DNA using gold nanoparticles" **Electroanalysis**, **19**, 7-8, pp 743-753.
- (55) Tang H., Chen J., Nie L., Kuang Y. and Yao S. (2007) "A label-free electrochemical immunoassay for carcinoembryonic antigen (CEA) based on gold nanoparticles (AuNPs) and nonconductive polymer film" **Biosens. Bioelectron.**, **22**, 6, pp 1061-1067.
- (56) Carey F. A. and Sundberg R. J. (2007), "Advanced Organic Chemistry: Part A: Structure and Mechanisms"; Vol., Springer Science & Business Media.
- (57) Zeng C. C., Liu F. J., Ping D. W., Cai Y., Zhong R. and Becker J.Y. (2009) "Electrochemical oxidation of catechols in the presence of 4-amino-3-methyl-5-mercapto-1,2,4-triazole bearing two nucleophilic groups" **J. Electroanal. Chem**, **625**, pp 131-137.
- (58) Afkhami A., Nematollahi D., Madrakian T. and Khalafi L. (2005) "Investigation of the electrochemical behavior of some catecholamines in the presence of 4-aminobenzoic acid" **Electrochim. Acta**, **50**, 28, pp 5633-5640.
- (59) Yeh W.-L., Kuo Y.-R. and Cheng S.-H. (2008) "Voltammetry and flow-injection amperometry for indirect determination of dopamine" **Electrochem. Commun.**, **10**, 1, pp 66-70.
- (60) Ke N. J., Lu S.S. and Cheng S.H. (2006) "A strategy for the determination of dopamine at a bare glassy carbon electrode: p-Phenylenediamine as a nucleophile" **Electrochem. Commun.**, **8**, 9, pp 1514-1520.
- (61) Ameri M., Asghari A., Amoozadeh A., Daneshinejad H. and Nematollahi D. (2014) "Electrosynthesis of hydroquinonethioethers using electrochemical oxidation of hydroquinone in the presence of thiouracil derivatives" **Chin. Chem. Lett.**, **25**, 5, pp 797-801.
- (62) Arab Chamjangali M., Bakherad M. and Ameri M. (2015) "Electrochemical oxidation of catechol derivatives in the presence of 3-acetyldihydro-2 (3H)-furanone: efficient and green method for synthesis of new

- butyrolactone derivatives" **Monatshefte für Chemie**, **146**, **1**, pp 111-117.
- (63) Huang T. H., Kuwana T. and Warsinke A. (2002) "Analysis of thiols with tyrosinase-modified carbon paste electrodes based on blocking of substrate recycling" **Biosens. Bioelectron.**, **17**, **11**, pp 1107-1113.
- (64) Lawrence N. S., Davis J. and Compton R. G. (2001) "Electrochemical detection of thiols in biological media" **Talanta**, **53**, **5**, pp 1089-1094.
- (65) Roussel C., Rohner T. C., Jensen H. and Girault H. H. (2003) "Mechanistic Aspects of On-Line Electrochemical Tagging of Free L-Cysteine Residues during Electrospray Ionisation for Mass Spectrometry in Protein Analysis" **ChemPhysChem**, **4**, **2**, pp 200-206.
- (66) White P. C., Lawrence N. S., Tsai Y. C., Davis J. and Compton R. G. (2001) "Electrochemically driven derivatisation-detection of cysteine" **Microchim. Acta**, **137**, **1-2**, pp 87-91.
- (67) Gerard M., Chaubey A. and Malhotra B. (2002) "Application of conducting polymers to biosensors" **Biosens. Bioelectron.**, **17**, **5**, pp 345-359.
- (68) Bard A. J. and Faulkner L. R. (2001) "Fundamentals and applications" **Electrochemical Methods**, 2nd ed.; Wiley: New York.
- (69) Nicholson R. S. and Shain I. (1964) "Theory of stationary electrode polarography. Single scan and cyclic methods applied to reversible, irreversible, and kinetic systems" **Anal. Chem.**, **36**, **4**, pp 706-723.
- (70) Testa A. and Reinmuth W. (1961) "Stepwise reactions in chronopotentiometry" **Anal. Chem.**, **33**, **10**, pp 1320-1324.
- (71) Pletcher D., Greff R., Peat R., Peter L. and Robinson J. (2001), **"Instrumental methods in electrochemistry"**; Southampton Electrochemistry Group, Horwood Publishing.
- (72) Arabzadeh A. and Salimi A. (2015) "Novel voltammetric and impedimetric sensor for femtomolar determination of lysozyme based on metal-chelate affinity immobilized onto gold nanoparticles" **Biosens. Bioelectron.**, **74**, pp 270-276.
- (73) Plesu N., Kellenberger A., Taranu I., Taranu B. O. and Popa I. (2013) "Impedimetric detection of dopamine on poly (3-aminophenylboronic acid) modified skeleton nickel electrodes" **React. Funct. Polym.**, **73**, **5**, pp 772-778.
- (74) Rafiee B., Fakhari A. R. and Ghaffarzadeh M. (2015) "Impedimetric and stripping voltammetric determination of methamphetamine at gold nanoparticles-multiwalled carbon nanotubes modified screen printed electrode" **Sens. Actuator, B**, **218**, pp 271-279.
- (75) Cachet C., Saidani B. and Wiart R. (1988) "The kinetics of zinc deposition at low overpotentials in alkaline electrolytes" **Electrochim. Acta**, **33**, **3**, pp 405-416.
- (76) Cachet C., Saidani B. and Wiart R. (1991) "The Behavior of Zinc Electrode in Alkaline Electrolytes I. A Kinetic Analysis of Cathodic Deposition" **J. Electrochem. Soci.**, **138**, **3**, pp 678-687.
- (77) Cachet C., Saidani B. and Wiart R. (1989) "A model for zinc deposition in alkaline electrolytes: inhibition layer and activation mechanism" **Electrochim. Acta**, **34**, **8**, pp 1249-1250.
- (78) Danaee I. (2011) "Kinetics and mechanism of palladium electrodeposition on graphite electrode by impedance and noise measurements" **J. Electroanal. Chem.**, **662**, **2**, pp 415-420.
- (79) Esseghaier C., Helali S., Fredj H. B., Tlili A. and Abdelghani A. (2008)

“Polypyrrole–neutravidin layer for impedimetric biosensor” **Sens. Actuator, B**, **131**, 2, pp 584-589.

(80) Pejčic B. and De Marco R. (2006) “Impedance spectroscopy: Over 35 years of electrochemical sensor optimization” **Electrochim. Acta**, **51**, 28, pp 6217-6229.

(81) Rahman N. and Hoda M. (2002) “Spectrophotometric determination of verapamil hydrochloride in drug formulations with chloramine-T as oxidant” **Anal. Bioanal. Chem.**, **374**, 3, pp 484-489.

(82) Lien T. T., Takamura Y., Tamiya E. and Mun'delanji C. V. (2015) “Modified screen printed electrode for development of a highly sensitive label-free impedimetric immunosensor to detect amyloid beta peptides” **Anal. Chim. Acta**, **892**, pp 69-76.

(83) Bethell D., Brust M., Schiffrin D. and Kiely C. (1996) “From monolayers to nanostructured materials: an organic chemist's view of self-assembly” **J. Electroanal. Chem.**, **409**, 1, pp 137-143.

(84) Fisher R. A. (1971), “**The Design of Experiments**”; 8th ed. Hafner Publishing Co., New York.

(85) Montgomery D. C. (2008), “**Design and analysis of experiments**”; 7th ed John Wiley & Sons.

(86) Morgan E. D (1995), “**Chemometrics: experimental design**”; London, by J. Wiley.

(87) Myers R. H., Montgomery D. C. and Anderson-Cook C. M. (2016), “**Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments**”; 3rd ed, John Wiley & Sons.

(88) Ryan T. P. (2007), “**Modern experimental design**”; Wiley and sons, pp 447-474.

(89) Derringer G. (1980) “Simultaneous optimization of several response variables” **J. Qual. Technol.**, **12**, pp 214-219.

(90) Beck E., Sieber W. J. and Trejo R. (2005) “Management of cluster headache” **Am Fam Physician**, **71**, 4, pp 717-724.

(91) Rybalchenko V., Prevarskaya N., Van Coppenolle F., Legrand G., Lemonnier L., Le Bourhis X. and Skryma R. (2001) “Verapamil inhibits proliferation of LNCaP human prostate cancer cells influencing K⁺ channel gating” **Mol. Pharmacol.**, **59**, 6, pp 1376-1387.

(92) Tsuruo T., Iida H., Tsukagoshi S. and Sakurai Y. (1981) “Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo and in vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil” **Cancer Res.**, **41**, 5, pp 1967-1972.

(93) Zhang C., Lv F., Zhou L., Li X., Wu X.-X. and Hoffman R. M. (2009) “Effect of verapamil on the expression of EGFR and NM23 in A549 human lung cancer cells” **Anticancer Res.**, **29**, 1, pp 27-32.

(94) Patlak M. (2004) “From viper's venom to drug design: treating hypertension” **The FASEB Journal**, **18**, 3, pp 421e-421e.

(95) Asafu-Adjaye E. and Shiu G. K. (1998) “Solid-phase extraction–high-performance liquid chromatography determination of verapamil and norverapamil enantiomers in urine” **J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl.**, **707**, 1, pp 161-167.

(96) Ho P., Saville D. and Wanwimolruk S. (2000) “Simultaneous HPLC analysis of S-and R-verapamil and metabolites, S-and R-norverapamil in human

- plasma" **J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.**, **23**, **11**, pp 1711-1723.
- (97) Lau-Cam C. and Piemontese D. (1998) "Simplified reversed-phase HPLC method with spectrophotometric detection for the assay of verapamil in rat plasma" **J. Pharm. Biomed. Anal.**, **16**, **6**, pp 1029-1035.
- (98) Negrusz A., Wacek B., Toerne T. and Bryant J. (1997) "Quantitation of verapamil and norverapamil in postmortem and clinical samples using liquid-liquid extraction, solid phase extraction, and HPLC" **Chromatographia**, **46**, **3-4**, pp 191-196.
- (99) Yulan Z., Jie L., Caihui J. and Maonian Z. (1999) "High Performance Liquid Chromatographic Determination of Verapamil in Vitreous Body and Aqueous Humour" **J. Instrumental Anal.**, **18**, **6**, pp 76-78.
- (100) Hege H. (1978) "Gas chromatographic determination of verapamil in plasma and urine" **Arzneimittel-Forschung**, **29**, **11**, pp 1681-1684.
- (101) McAllister R., Tan T. and Bourne D. (1979) "GLC assay of verapamil in plasma: Identification of fluorescent metabolites after oral drug administration" **J. Pharm. Sci.**, **68**, **5**, pp 574-577.
- (102) Shin H.-S., Oh-Shin Y.-S., Kim H.-J. and Kang Y.-K. (1996) "Sensitive assay for verapamil in plasma using gas-liquid chromatography with nitrogen-phosphorus detection" **J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl.**, **677**, **2**, pp 369-373.
- (103) Walles M., Mullett W., Levsen K., Borlak J., Wünsch G. and Pawliszyn J. (2002) "Verapamil drug metabolism studies by automated in-tube solid phase microextraction" **J. Pharm. Biomed. Anal.**, **30**, **2**, pp 307-319.
- (104) McAllister R. and Howell S. (1976) "Fluorometric assay of verapamil in biological fluids and tissues" **J. Pharm. Sci.**, **65**, **3**, pp 431-432.
- (105) Kasim E. A., Ghandour M., El-Haty M. and Ahmed M. M. (2002) "Determination of verapamil by adsorptive stripping voltammetry in urine and pharmaceutical formulations" **J. Pharm. Biomed. Anal.**, **30**, **4**, pp 921-929.
- (106) Chen A., Tsao M.-J., Chuang J.-F. and Lin C.-H. (2013) "Electrochemical determination of Verapamil with a microchip embedded with gold nanoelectrode ensemble electrodes" **Electrochim. Acta**, **89**, pp 700-707.
- (107) Semaan F. S., Cavaleiro É. T. and Brett C. M. (2009) "Electrochemical behavior of verapamil at graphite-polyurethane composite electrodes: determination of release profiles in pharmaceutical samples" **Anal. lett.**, **42**, **8**, pp 1119-1135.
- (108) Demircan Ş., Kır S. and Ozkan S. (2007) "Electroanalytical characterization of verapamil and its voltammetric determination in pharmaceuticals and human serum" **Anal. lett.**, **40**, **6**, pp 1177-1195.
- (109) Oliveira G. G., Azzi D. C., Vicentini F. C., Sartori E. R. and Fatibello-Filho O. (2013) "Voltammetric determination of verapamil and propranolol using a glassy carbon electrode modified with functionalized multiwalled carbon nanotubes within a poly (allylamine hydrochloride) film" **J. Electroanal. Chem.**, **708**, pp 73-79.
- (110) Hasanzadeh M., Pournaghi-Azar M. H., Shadjou N. and Jouyban A. (2013) "A verapamil electrochemical sensor based on magnetic mobile crystalline material-41 grafted by sulfonic acid" **Electrochim. Acta**, **89**, pp 660-668.
- (111) Alkire R. C., Kolb D. M. and Lipkowski J. (2006), "**Advances in electrochemical science and engineering**"; Vol. 9, John Wiley & Sons.
- (112) Streeter I., Wildgoose G. G., Shao L. and Compton R. G. (2008) "Cyclic

voltammetry on electrode surfaces covered with porous layers: an analysis of electron transfer kinetics at single-walled carbon nanotube modified electrodes” **Sens. Actuator, B**, **133**, 2, pp 462-466.

(113) Xiao L., Wildgoose G. G. and Compton R. G. (2009) “Exploring the origins of the apparent “electrocatalysis” observed at C 60 film-modified electrodes” **Sens. Actuator, B**, **138**, 2, pp 524-531.

(114) Alothman Z. A., Bukhari N., Wabaidur S. M. and Haider S. (2010) “Simultaneous electrochemical determination of dopamine and acetaminophen using multiwall carbon nanotubes modified glassy carbon electrode” **Sens. Actuator, B**, **146**, 1, pp 314-320.

(115) Jose P. A., Eisner G. M. and Felder R. A. (2003) “Regulation of blood pressure by dopamine receptors” **Nephron Physiol.**, **95**, 2, pp p19-p27.

(116) Raj C. R., Okajima T. and Ohsaka T. (2003) “Gold nanoparticle arrays for the voltammetric sensing of dopamine” **J. Electroanal. Chem.**, **543**, 2, pp 127-133.

(117) Kumar S. A., Wang S.-F., Yang T. C.-K. and Yeh C.-T. (2010) “Acid yellow 9 as a dispersing agent for carbon nanotubes: Preparation of redox polymer–carbon nanotube composite film and its sensing application towards ascorbic acid and dopamine” **Biosens. Bioelectron.**, **25**, 12, pp 2592-2597.

(118) Alarcón-Angeles G., Pérez-López B., Palomar-Pardave M., Ramírez-Silva M., Alegret S. and Merkoci A. (2008) “Enhanced host–guest electrochemical recognition of dopamine using cyclodextrin in the presence of carbon nanotubes” **Carbon**, **46**, 6, pp 898-906.

(119) Franken I. H., Booij J. and van den Brink W. (2005) “The role of dopamine in human addiction: from reward to motivated attention” **Eur. J. Pharmacol.**, **526**, 1, pp 199-206.

(120) del Pozo M., Mejías J., Hernández P. and Quintana C. (2014) “Cucurbit [8] uril-based electrochemical sensors as detectors in flow injection analysis. Application to dopamine determination in serum samples” **Sens. Actuator, B**, **193**, pp 62-69.

(121) Seckin Z. E. and Volkan M. (2005) “Flow injection fluorescence determination of dopamine using a photo induced electron transfer (PET) boronic acid derivative” **Anal. Chim. Acta**, **547**, 1, pp 104-108.

(122) Virag L. and Whittington R. A. (2002) “Highly sensitive chromatographic assay for dopamine determination during in vivo cerebral microdialysis in the rat” **Journal of Chromatogr. B**, **772**, 2, pp 267-272.

(123) Zhao H.-X., Mu H., Bai Y.-H., Yu H. and Hu Y.-M. (2011) “A rapid method for the determination of dopamine in porcine muscle by pre-column derivatization and HPLC with fluorescence detection” **J. Pharm. Anal.**, **1**, 3, pp 208-212.

(124) Naccarato A., Gionfriddo E., Sindona G. and Tagarelli A. (2014) “Development of a simple and rapid solid phase microextraction-gas chromatography–triple quadrupole mass spectrometry method for the analysis of dopamine, serotonin and norepinephrine in human urine” **Anal. Chim. Acta**, **810**, pp 17-24.

(125) Khajehsharifi H., Pourbasheer E., Tavallali H., Sarvi S. and Sadeghi M. (2014) “The comparison of partial least squares and principal component regression in simultaneous spectrophotometric determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid in real samples” **Arab. J. Chem.**

- (126) Luo J., Jiang S., Zhang H., Jiang J. and Liu X. (2012) "A novel non-enzymatic glucose sensor based on Cu nanoparticle modified graphene sheets electrode" **Anal. Chim. Acta**, **709**, pp 47-53.
- (127) Yu X., Chen Y., Chang L., Zhou L., Tang F. and Wu X. (2013) "β-cyclodextrin non-covalently modified ionic liquid-based carbon paste electrode as a novel voltammetric sensor for specific detection of bisphenol A" **Sens. Actuator, B**, **186**, pp 648-656.
- (128) Liu S., Xing X., Yu J., Lian W., Li J., Cui M. and Huang J. (2012) "A novel label-free electrochemical aptasensor based on graphene-polyaniline composite film for dopamine determination" **Biosens. Bioelectron.**, **36**, **1**, pp 186-191.
- (129) Wang Y. (2011) "Simultaneous determination of uric acid, xanthine and hypoxanthine at poly (pyrocatechol violet)/functionalized multi-walled carbon nanotubes composite film modified electrode" **Colloids Surf., B**, **88**, **2**, pp 614-621.
- (130) Sun W., Yang M. and Jiao K. (2007) "Electrocatalytic oxidation of dopamine at an ionic liquid modified carbon paste electrode and its analytical application" **Anal. Bioanal. Chem.**, **389**, **4**, pp 1283-1291.
- (131) Zhu Z., Qu L., Guo Y., Zeng Y., Sun W. and Huang X. (2010) "Electrochemical detection of dopamine on a Ni/Al layered double hydroxide modified carbon ionic liquid electrode" **Sens. Actuator, B**, **151**, **1**, pp 146-152.
- (132) Sun C.-L., Lee H.-H., Yang J.-M. and Wu C.-C. (2011) "The simultaneous electrochemical detection of ascorbic acid, dopamine, and uric acid using graphene/size-selected Pt nanocomposites" **Biosens. Bioelectron.**, **26**, **8**, pp 3450-3455.
- (133) Yue Y., Hu G., Zheng M., Guo Y., Cao J. and Shao S. (2012) "A mesoporous carbon nanofiber-modified pyrolytic graphite electrode used for the simultaneous determination of dopamine, uric acid, and ascorbic acid" **Carbon**, **50**, **1**, pp 107-114.
- (134) Thomas T., Mascarenhas R. J. and Swamy B. K. (2012) "Poly (Rhodamine B) modified carbon paste electrode for the selective detection of dopamine" **J. Mol. Liq.**, **174**, pp 70-75.
- (135) Reddy S., Swamy B. K. and Jayadevappa H. (2012) "CuO nanoparticle sensor for the electrochemical determination of dopamine" **Electrochim. Acta**, **61**, pp 78-86.
- (136) Mahanthesh K., Swamy B. K., Chandra U., Shankar S. S. and Pai K. (2012) "Electrocatalytic oxidation of dopamine at murexide and TX-100 modified carbon paste electrode: a cyclic voltammetric study" **J. Mol. Liq.**, **172**, pp 119-124.
- (137) Shankar S. S., Swamy B. K. and Chandrashekar B. (2012) "Electrochemical selective determination of dopamine at TX-100 modified carbon paste electrode: A voltammetric study" **J. Mol. Liq.**, **168**, pp 80-86.
- (138) Thomas T., Mascarenhas R. J., Nethravathi C., Rajamathi M. and Swamy B. K. (2011) "Graphite oxide bulk modified carbon paste electrode for the selective detection of dopamine: A voltammetric study" **J. Electroanal. Chem.**, **659**, **1**, pp 113-119.
- (139) Sathisha T., Swamy B. K., Schell M. and Eswarappa B. (2014) "Synthesis and characterization of carbon nanoparticles and their modified carbon paste electrode for the determination of dopamine" **J. Electroanal. Chem.**, **720**, pp 1-8.

(140) گلابی س م، ۱۳۸۴، "مقدمه‌ای بر الکتروشیمی تجزیه‌ای". چاپ سوم، انتشارات دانشگاه تبریز، تبریز، ص ۳۶۴-۳۷۱.

(141) Shahrokhian S. and Saberi R.-S. (2007) "Differential pulse voltammetric determination of propylthiouracil and methylthiouracil using their catalytic effects on the electrochemical oxidation of catechol" **Int. J. Electrochem. Sci**, 2, 2, pp 158.

(142) Bockris J. O. M. and Reddy A. K. (2001), "**Modern Electrochemistry 2B: Electrodics in Chemistry, Engineering, Biology and Environmental Science**"; Vol. 2, Springer Science & Business Media.

(143) Niranjana E., Swamy B. K., Naik R. R., Sherigara B. and Jayadevappa H. (2009) "Electrochemical investigations of potassium ferricyanide and dopamine by sodium dodecyl sulphate modified carbon paste electrode: A cyclic voltammetric study" **J. Electroanal. Chem.**, 631, 1, pp 1-9.

(144) Tashkhourian J., Nezhad M. H., Khodavesi J. and Javadi S. (2009) "Silver nanoparticles modified carbon nanotube paste electrode for simultaneous determination of dopamine and ascorbic acid" **J. Electroanal. Chem.**, 633, 1, pp 85-91.

(145) Chitravathi S., Swamy B. K., Mamatha G. and Sherigara B. (2012) "Electrochemical behavior of poly (naphthol green B)-film modified carbon paste electrode and its application for the determination of dopamine and uric acid" **J. Electroanal. Chem.**, 667, pp 66-75.

(146) Shahrokhian S. and Zare-Mehrjardi H. R. (2007) "Cobalt salophen-modified carbon-paste electrode incorporating a cationic surfactant for simultaneous voltammetric detection of ascorbic acid and dopamine" **Sens. Actuator, B**, 121, 2, pp 530-537.

(147) Sathisha T. V., Swamy B. E. K., Reddy S., Chandrashekar B. N. and Eswarappa B. (2012) "Clay modified carbon paste electrode for the voltammetric detection of dopamine in presence of ascorbic acid" **J. Mol. Liq.**, 172, pp 53-58.

(148) Chandrashekar B., Swamy B. K., Pandurangachar M., Sathisha T. and Sherigara B. (2011) "Electropolymerisation of L-arginine at carbon paste electrode and its application to the detection of dopamine, ascorbic and uric acid" **Colloids Surf., B**, 88, 1, pp 413-418.

(149) Nasirizadeh N., Shekari Z., Zare H. R. and Makarem S. (2013) "Electrocatalytic determination of dopamine in the presence of uric acid using an indenedione derivative and multiwall carbon nanotubes spiked in carbon paste electrode" **Mat. Sci. Eng. C**, 33, 3, pp 1491-1497.

(150) Atta N. F., Ali S. M., Ekram H. and Galal A. (2014) "Nano-perovskite carbon paste composite electrode for the simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid" **Electrochim. Acta**, 128, pp 16-24.

(151) Ghoreishi S. M., Behpour M. and Fard M. H. M. (2012) "Electrochemical methods for simultaneous determination of trace amounts of dopamine and uric acid using a carbon paste electrode incorporated with multi-wall carbon nanotubes and modified with α -cyclodextrine" **J. Solid State Electrochem.**, 16, 1, pp 179-189.

(152) Shams E., Babaei A., Taheri A. R. and Kooshki M. (2009) "Voltammetric determination of dopamine at a zirconium phosphated silica gel modified carbon paste electrode" **Bioelectrochemistry**, 75, 2, pp 83-88.

(153) Vidya H. and Swamy B. K. (2015) "Voltammetric determination of

dopamine in the presence of ascorbic acid and uric acid at sodium dodecyl sulphate/reduced graphene oxide modified carbon paste electrode” **J. Mol. Liq.**, **211**, pp 705-711.

(154) Soltani N., Tavakkoli N., Ahmadi N. and Davar F. (2015) “Simultaneous determination of acetaminophen, dopamine and ascorbic acid using a PbS nanoparticles Schiff base-modified carbon paste electrode” **Comptes Rendus Chimie**, **18**, 4, pp 438-448.

(155) Afraz A., Rafati A. A. and Najafi M. (2014) “Optimization of modified carbon paste electrode with multiwalled carbon nanotube/ionic liquid/cauliflower-like gold nanostructures for simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid” **Mat. Sci. Eng. C**, **44**, pp 58-68.

(156) Rafati A. A., Afraz A., Hajian A. and Assari P. (2014) “Simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine, and uric acid using a carbon paste electrode modified with multiwalled carbon nanotubes, ionic liquid, and palladium nanoparticles” **Microchim. Acta**, **181**, 15-16, pp 1999-2008.

(157) Raghav R. and Srivastava S. (2013) “Core-shell gold-silver nanoparticles based impedimetric immunosensor for cancer antigen CA125” **Sens. Actuator, B**, **220**, pp 557-564.

(158) Daneshinejad H., Chamjangali M. A., Goudarzi N. and Roudbari A. (2016) “Application of a thin film of poly (solochrome black T) as a redox mediator for the electro-catalytic simultaneous determination of dopamine and acetaminophen in the pharmaceutical and biological samples” **Mat. Sci. Eng. C**, **58**, pp 532-540.

(159) Rashid M. H., Bhattacharjee R. R., Kotal A. and Mandal T. K. (2006) “Synthesis of spongy gold nanocrystals with pronounced catalytic activities” **Langmuir**, **22**, 17, pp 7141-7143.

(160) Guo S. and Wang E. (2007) “Synthesis and electrochemical applications of gold nanoparticles” **Anal. Chim. Acta**, **598**, 2, pp 181-192.

(161) Spencer C. M. and Barradell L. B. (1996) “Gemfibrozil” **Drugs**, **51**, 6, pp 982-1018.

(162) Craig C. R. and Stitzel R. E. (2004), “**Modern pharmacology with clinical applications**”; Lippincott Williams & Wilkins.

(163) Lilja J. J., Backman J. T. and Neuvonen P. J. (2005) “Effect of gemfibrozil on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of racemic warfarin in healthy subjects” **Br. J. Clin. Pharmacol.**, **59**, 4, pp 433-439.

(164) Todd P. A. and Ward A. (1988) “Gemfibrozil” **Drugs**, **36**, 3, pp 314-339.

(165) Panahi H. A., Feizbakhsh A., Karimpour M. and Moniri E. (2013) “Determination of gemfibrozil in drug matrix and human biological fluid by dispersive liquid-liquid microextraction with high performance liquid chromatography” **J Food Drug Anal**, **21**, 10.

(166) Ardila J. A., Oliveira G. G., Medeiros R. A. and Fatibello-Filho O. (2013) “Determination of gemfibrozil in pharmaceutical and urine samples by square-wave adsorptive stripping voltammetry using a glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes within a dihexadecyl hydrogen phosphate film” **J. Electroanal. Chem.**, **690**, pp 32-37.

(167) Li J., Xie H. and Chen L. (2011) “A sensitive hydrazine electrochemical sensor based on electrodeposition of gold nanoparticles on choline film modified glassy carbon electrode” **Sens. Actuator, B**, **153**, 1, pp 239-245.

- (168) Cliff G. and Lorimer G. W. (1975) "The quantitative analysis of thin specimens" **Journal of Microscopy**, **103**, 2, pp 203-207.
- (169) Yanni S. B. (2015) "**Translational ADMET for Drug Therapy, Distribution: Principle, Methods, and Applications**", John Wiley & Sons, Inc, pp 37-62.
- (170) Amjadi M., Manzoori J. L. and Farzampour L. (2008) "Development of a new analytical spectroscopic methodology based on the competitive aggregation in a dye-surfactant-drug system: Application to the determination of gemfibrozil" **J. Spect.**, **22**, 4, pp 309-317.
- (171) Dai X., Nekrassova O., Hyde M. E. and Compton R. G. (2004) "Anodic stripping voltammetry of arsenic (III) using gold nanoparticle-modified electrodes" **Anal. Chem.**, **76**, 19, pp 5924-5929.
- (172) Osteryoung J. G. and Osteryoung R. A. (1985) "Square wave voltammetry" **Anal. Chem.**, **57**, 1, pp 101A-110A.
- (173) Kamalzadeh Z. and Shahrokhian S. (2014) "Electrochemical determination of atorvastatin on nano-scaled polypyrrole film" **Bioelectrochemistry**, **98**, pp 1-10.
- (174) Abbar J. C. and Nandibewoor S. T. (2013) "Voltammetric oxidation and determination of atorvastatin based on the enhancement effect of cetyltrimethyl ammonium bromide at a carbon paste electrode" **Colloids Surf., B**, **106**, pp 158-164.
- (175) Razavi B., Song W., Cooper W. J., Greaves J. and Jeong J. (2009) "Free-radical-induced oxidative and reductive degradation of fibrate pharmaceuticals: kinetic studies and degradation mechanisms" **J. Phys. Chem. A**, **113**, 7, pp 1287-1294.
- (176) Frederix F., Bonroy K., Laureyn W., Reekmans G., Campitelli A., Dehaen W. and Maes G. (2003) "Enhanced performance of an affinity biosensor interface based on mixed self-assembled monolayers of thiols on gold" **Langmuir**, **19**, 10, pp 4351-4357.
- (177) Sun J., Guo A., Zhang Z., Guo L. and Xie J. (2011) "A conjugated aptamer-gold nanoparticle fluorescent probe for highly sensitive detection of rHuEPO- α " **Sensors**, **11**, 11, pp 10490-10501.
- (178) Han H., Wu X., Wu S., Zhang Q., Lu W., Zhang H. and Pan D. (2013) "Fabrication of alizarin red S/multi-walled carbon nanotube nanocomposites and their application in hydrogen peroxide detection" **J. Mat. Sci.**, **48**, 9, pp 3422-3427.
- (179) Habibi B., Abazari M. and Pournaghi-Azar M. H. (2012) "A carbon nanotube modified electrode for determination of caffeine by differential pulse voltammetry" **Chin. J. Catal.**, **33**, 11, pp 1783-1790.
- (180) Salimi A., Banks C. E. and Compton R. G. (2004) "Abrasive immobilization of carbon nanotubes on a basal plane pyrolytic graphite electrode: application to the detection of epinephrine" **Analyst**, **129**, 3, pp 225-228.
- (181) Valentini F., Amine A., Orlanducci S., Terranova M. L. and Palleschi G. (2003) "Carbon nanotube purification: preparation and characterization of carbon nanotube paste electrodes" **Anal. Chem.**, **75**, 20, pp 5413-5421.
- (182) Zhang W. and Silva S. R. P. (2010) "Raman and FT-IR studies on dye-assisted dispersion and flocculation of single walled carbon nanotubes" **Spectrochim. Acta Part A**, **77**, 1, pp 175-178.
- (183) Deng P., Fei J., Zhang J. and Li J. (2008) "Determination of trace copper

by adsorptive voltammetry using a multiwalled carbon nanotube modified carbon paste electrode” **Electroanalysis**, **20**, **11**, pp **1215-1219**.

(184) Deng P.-H., Zhang J., Liao S.-F. and Li J.-N. (2008) “Adsorption voltammetry of the zirconium-alizarin red S complex at a multi-walled carbon nanotubes modified carbon paste electrode” **Microchim. Acta**, **161**, 1-2, pp **123-128**.

(185) Schumacher S., Nagel T., Scheller F. W. and Gajovic-Eichelmann N. (2011) “Alizarin Red S as an electrochemical indicator for saccharide recognition” **Electrochim. Acta**, **56**, **19**, pp **6607-6611**.

(186) Liu H., Chen Y., Liu Y. and Yang Z. (2013) “A sensitive sensor for determination of l-tryptophan based on gold nanoparticles/poly (alizarin red S)-modified glassy carbon electrode” **J. Solid State Electrochem.**, **17**, **10**, pp **2623-2631**.

(187) Zhong H., Li N., Zhao F. and an Li K. (2004) “Determination of proteins with Alizarin Red S by Rayleigh light scattering technique” **Talanta**, **62**, **1**, pp **37-42**.

(188) Soriaga M. P. and Hubbard A. T. (1982) “Determination of the orientation of adsorbed molecules at solid-liquid interfaces by thin-layer electrochemistry: aromatic compounds at platinum electrodes” **J. Am. Chem. Soc.**, **104**, **10**, pp **2735-2742**.

(189) Brown A. P. and Anson F. C. (1977) “Cyclic and differential pulse voltammetric behavior of reactants confined to the electrode surface” **Anal. Chem.**, **49**, **11**, pp **1589-1595**.

Abstract

Applications of nanomaterials such as multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) and gold nanoparticles, electrochemical mediators such as methylthiouracil and poly alizarin red S were investigated for modifying the surface of glassy carbon and carbon paste electrodes for fabrication of electrochemical sensors for the determination of drug compounds such as verapamil, gemfibrozil and dopamine.

In this regard, the glassy carbon electrode was modified with multi-walled carbon nanotubes (MWCNT/GCE) and electrochemical oxidation and voltammetric determination of verapamil were studied at the surface of this modified electrode. The results revealed that oxidation of the mentioned compound at the surface of unmodified electrode exhibits an ill-defined oxidation peak; while at the surface of the modified electrode a sharp peak with significant current was observed. The linear calibration ranges of the method for determination of verapamil using cyclic and differential pulse voltammetry were 2.50-70.00 $\mu\text{mol L}^{-1}$; while the detection limits based on these methods were 2.00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and 1.60 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. The modified electrode as an electrochemical sensor has the capability for the determination of the verapamil in the pharmaceutical samples and also in the biological samples like human serum.

The carbon paste electrode was modified with methylthiouracil and was used for the determination of dopamine using voltammetric methods. Due to the presence of nucleophile agent as the modifier in the bulk of carbon paste electrode, the prepared electrochemical sensor shows high electrocatalytic activity towards the oxidation of dopamine through 1,4 Michael addition reaction. The electrochemical behavior of dopamine at the surface of methylthiouracil modified carbon paste electrode was studied using cyclic voltammetry and chronocoulometry. The more effective variables on the sensitivity of the electrode were screened by Plackett–Burman design and subsequently optimized using central composite design. Under the optimum conditions a linear calibration graph over the range of 0.20-15.00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ with a detection limit of 73.00 nmol L^{-1} was obtained using adsorptive stripping differential pulse voltammetry. The conducted studies confirmed the ability of the proposed sensor for dopamine determination in the pharmaceutical samples.

The glassy carbon electrode surface was modified with multi-walled carbon nanotubes. Afterward, gold nanoparticles were electrochemically immobilized at the MWCNT/GCE. Scanning electron microscopy (SEM), energy dispersive x-ray (EDX) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS) were used for characterization of the MWCNT/Au modified glassy carbon electrode (MWCNT/Au/GCE) surface. Determination of gemfibrozil was studied by adsorptive stripping square wave voltammetry as well as impedimetry. The linear calibration ranges for determination of gemfibrozil were 0.15-45.00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and 0.10-45.00 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively; while detection limits of voltammetry technique was 0.10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and for impedimetry it was 74.00 nmol L^{-1} , respectively. Finally, gemfibrozil determination in the pharmaceutical and biological samples was assessed at the surface of the proposed modified electrode.

An electrochemical sensor based on deposition of polymeric film by using electrochemical method on the surface of glassy carbon electrode was fabricated for determination of gemfibrozil using differential pulse voltammetry. For this purpose, Alizarin red S which is a dye was used in order to increase the dispersion ability of MWCNT in aqueous medium and this phenomenon took place by non-covalent interactions between the dye and MWCNT. The resulting composite was then electropolymerized at the surface of GCE by cyclic voltammetry method. Then the fabricated electrode was used for determination of gemfibrozil using differential pulse voltammetry technique and the linear concentration range and detection limit for the determination of this analyte at the surface of poly alizarin red S/MWCNT were 1.00-22.00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and 0.24 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. In addition, determination of the gemfibrozil was evaluated in real samples of human blood serum, water and capsules with differential pulse voltammetry.

Keywords: Multi-walled carbon nanotubes; Methylthiouracil; Gold nanoparticles; 1,4 Michael addition; Impedimetry; Alizarin red S; polymeric film; Electrochemical sensors.



Shahrood University of Technology

Faculty of Chemistry

Ph.D. Dissertation in Analytical Chemistry

**Design and Application of Chemically Modified
Electrodes for Voltammetric Determination of Some Drug
Compounds**

By:

Atiye Ahmadi Reskety

Supervisors:

Dr. Mansour Arab Chamjangali

Dr. Nasser Goudarzi

Advisor:

Dr. Ghadamali Bagherian Dehaghi

May 2017