

الحسين بن علي
عليه السلام

الإمام
عليه السلام
١٤٣٩



دانشکده شیمی

پایان نامه ارشد شیمی تجزیه

اصلاح الکتروود کربن شیشه‌ای به وسیله ۵،۱-دی فنیل کاربازون

دانشجو : مسعود سیوری

استاد راهنما:

دکتر فاطمه مصدرا لامور

استاد مشاور:

دکتر منصور عرب چم جنگلی

شهریور ۹۸

شماره: ۹۵۰۸۳۱۴
تاریخ: ۹۵/۶/۱۶

باسمه تعالی



مدیریت تحصیلات تکمیلی

فرم شماره (۳) صورتجلسه نهایی دفاع از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد

با نام و یاد خداوند متعال، ارزیابی جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد آقای مسعود سیوری با شماره دانشجویی ۹۵۰۸۳۱۴ رشته شیمی گرایش تجزیه تحت عنوان اصلاح الکتروکربن شیشه ای به وسیله ۵،۱-دی فنیل کاربازون که در تاریخ ۹۵/۶/۱۶ با حضور هیأت محترم داوران در دانشگاه صنعتی شاهرود برگزار گردید به شرح ذیل اعلام می گردد:

قبول (با درجه: ☒ خیر: ☐ نوع تحقیق: ☐ نظری ☒ عملی			
عضو هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنمای اول	دکتر فاطمه مصباح الامور	استادیار	
۲- استاد مشاور	دکتر منصور عرب چم جنگلی	استاد	
۳- نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر بهرام بهرامیان	دانشیار	
۴- استاد محقق اول	دکتر قدمعلی باقریان دهقی	دانشیار	
۵- استاد محقق دوم	دکتر ناصر گودرزی	استاد	



نام و نام خانوادگی رئیس دانشکده: دکتر مهدی میرزایی

تاریخ و امضاء و مهر دانشکده

تصوه: در صورتی که کسی مردود شود حداکثر یکبار دیگر (در مدت مجاز تحصیل) می تواند از پایان نامه خود دفاع نماید (دفاع مجدد نباید زودتر از ۴ ماه برگزار شود).

تقدیم بہ

پدر و مادر بزرگوارم

کہ راہ و رسم زندگی آموختند؛

آمان کہ مظهر صبر، ایمان، عشق و استقامت؛

خواہران عزیزم

کہ شوق پیمودن این راہ را در من زندہ کردند؛

و

ہر آن کہ حتی کلمہ ای بہ من آموخت.

خدایا نکویم دستم بگیر، عمریست گرفته‌ای، مبادارها کنی

پیش از هرچیز از خداوند یکتایی سپاسگزارم که مرا یاری نمود تا بتوانم گامی دیگر در مسیر زندگیم را با موفقیت پشت سر بگذارم.

پس از حمد و ثنای پروردگار، از پدر و مادر مهربان و فداکارم که راه و رسم زندگی را به من آموخته و در تک‌تک مراحل زندگی همواره یاور و پشتیبانم بودند قدردانی میکنم و صمیمانه بر دستان گرم و پرمهرشان بوسه مینرم.

پنچین از خواهران عزیزم که با همفکری و دلگرمی‌هایشان همیشه امید را در دلم زنده نگه داشتند، صمیمانه سپاسگزارم.

از استاد راهنمای بزرگوارم، سرکار خانم دکتر فاطمه مصدرالامور که در طول انجام این پروژه همواره مرا از حمایت و راهنمایی‌های ارزشمند علمی و اخلاقی بهره‌مند نموده اند، تشکر ویژه دارم.

از استاد ارجمندم جناب آقای دکتر منصور عرب‌چم جنجلی که همیشه مرا از مشاوره‌های سودمندشان بهره‌مند می‌ساختند، قدردانی میکنم.

از استادیگر ائمه آقاییان دکتر قدوسی باقریان، دهقی و دکتر ناصر کوردزی بابت قبول زحمت مطالعه و داوری این پایان‌نامه تشکر میکنم.

از آقایان مهندس امین یزدانی، مهندس امیر حسین مؤمنی و مهندس امید طاهری برای همکاری‌شان در انجام بخش پژوهشی این پروژه، صمیمانه تشکر میکنم.

در پایان از کلیه دوستان خوبم که در این دوره در کنارم بودند و یاریم کردند بخصوص آقایان و خانم‌ها دکتر آرماد مری، مهندس دانیال

آهنگری، مهندس رحمان غلامی و دکتر زینب مظفری و دکتر ناهید فرزانه تشکر ویژه دارم و برای تمامی آنها آرزوی موفقیت و سربلندی میکنم.

تعهد نامه

اینجانب مسعود سیوری دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته شیمی تجزیه دانشکده شیمی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه اصلاح الکتروود کربن شیشه‌ای به وسیله ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون تحت راهنمایی دکتر فاطمه مصدراامور 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 .

تاریخ

امضای دانشجو

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:

در این پایان نامه الکتروود کربن شیشه‌ای با ۵،۱-دی فنیل کاربازون اصلاح و برای اندازه‌گیری همزمان آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن به کار برده شد. این مطالعه نشان می‌دهد که الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با ۵،۱-دی فنیل کاربازون به عنوان اصلاح‌گر به کمک تکنیک ولتامتری چرخه‌ای به بستر متصل شده و عملکردی بهتر از الکتروود کربن شیشه‌ای برهنه نشان می‌دهد. پارامترهای متعددی شامل غلظت ۵،۱-دی فنیل کاربازون، محیط اصلاح، تعداد چرخه‌های اصلاح، pH، نوع بافر، حجم بافر، ارتفاع پالس و سرعت روبش مورد بررسی قرار گرفت و برای اندازه‌گیری آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن بهینه شد. نتایج حاصل نشان دهنده‌ی اثر الکتروکاتالیزوری ۵،۱-دی فنیل کاربازون در سطح الکتروود اصلاح شده می‌باشد. در شرایط بهینه، الکتروود اصلاح شده یک پاسخ خطی خوب به هر سه ترکیب در محدوده‌های غلظتی ۰/۵-۲۰۰/۰، ۰/۵-۲۰/۰ و ۰/۵-۲۰/۰ میکرومولار به ترتیب برای آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن نشان داد. حد تشخیص روش ۲/۸۰ میکرومولار برای آسکوربیک اسید، ۰/۰۴ میکرومولار برای دوپامین و ۰/۰۷ میکرومولار برای استامینوفن به دست آمد. اثر مزاحمت ترکیبات بیولوژیکی، آنیون‌ها، کاتیون‌ها و داروهای دیگر نیز در اندازه‌گیری سه ترکیب فوق مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که به دلیل گزینش‌پذیری الکتروود اصلاح شده، اکثر یون‌ها و داروهای مورد مطالعه در اندازه‌گیری همزمان سه آنالیت مزاحمتی ندارند. روش پیشنهادی برای تعیین همزمان سه ترکیب در نمونه قرص استامینوفن، قرص آسکوربیک اسید، آمپول دوپامین، سرم خون و آب شهری به کار گرفته شد.

کلمات کلیدی: الکتروود اصلاح شده، ۵،۱-دی فنیل کاربازون، آسکوربیک اسید، دوپامین، استامینوفن، ولتامتری چرخه‌ای.

- **Electroc-catalytic determination of dopamine at 1,5-Diphenylcarbazone modified electrode**

بیست و ششمین کنفرانس شیمی تجزیه انجمن شیمی ایران، دانشگاه سمنان – شهریور ۱۳۹۸

فهرست مطالب

۱- فصل اول- مقدمه و تئوری	۱
۱-۱- مقدمه	۲
۱-۲- مقدمه‌ای بر الکتروشیمی تجزیه‌ای	۲
۱-۳- فرایندهای الکتروشیمیایی	۲
۱-۴- سل الکتروشیمیایی	۴
۱-۵- حسگرهای الکتروشیمیایی	۴
۱-۶- جنس الکترودها	۵
۱-۶-۱- الکترودهای جامد	۶
۱-۶-۲- الکترود کربن شیشه‌ای	۶
۱-۷- الکترودهای اصلاح شده شیمیایی (CMEs)	۷
۱-۷-۱- روش‌های تهیه الکترودهای اصلاح شده شیمیایی	۷
۱-۸- مزایای الکترودهای اصلاح شده شیمیایی	۱۰
۱-۹- کاربرد الکترودهای اصلاح شده شیمیایی	۱۰
۱-۹-۱- کاتالیزورهای تسریع کننده انتقال الکترون	۱۱
۱-۹-۲- واسطه‌های انتقال الکترون	۱۱
۱-۱۰- مواد اصلاح کننده	۱۲
۱-۱۰-۱- کاربردها و کاربردهای آنها	۱۲
۱-۱۱- روش‌های متداول الکتروشیمی	۱۳
۱-۱۱-۱- ولتامتری	۱۴
۱-۱۱-۲- ولتامتری چرخه‌ای	۱۵

۱-۱۱-۳	روش ولتامتری پالس تفاضلی.....	۱۶
۱-۱۱-۴	کرونوآمپرومتری.....	۱۷
۱-۱۱-۵	اسپکتروسکوپی امپدانس IS.....	۱۹
۱-۱۱-۶	محاسبه‌ی پوشش سطحی (Γ).....	۲۱
۱-۱۲-۱۲	معرفی و اهمیت مواد ترکیبات دارویی بررسی شده در این پایان نامه.....	۲۲
۱-۱۲-۱	آسکوربیک اسید.....	۲۳
۱-۱۲-۲	دوپامین.....	۲۴
۱-۱۲-۳	استامینوفن.....	۲۴
۱-۱۳-۱۳	مروری بر کارهای انجام شده.....	۲۵
۱-۱۳-۱	اندازه‌گیری هم‌زمان آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن.....	۲۵
۲	فصل دوم بخش تجربی.....	۲۹
۲-۱	مقدمه.....	۳۰
۲-۲	دستگاه‌ها و تجهیزات.....	۳۰
۲-۳	مواد شیمیایی.....	۳۰
۲-۴	محلول‌های مورد نیاز.....	۳۱
۲-۵	تهیه الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون (DPCO).....	۳۲
۲-۶	مشخصه یابی الکترود اصلاح شده.....	۳۴
۲-۶-۱	بررسی مورفولوژی سطح الکترود.....	۳۴
۲-۶-۲	اسپکتروسکوپی امپدانس.....	۳۵
۲-۶-۳	اندازه‌گیری مساحت سطح الکترود اصلاح شده و مقایسه آن با الکترود برهنه کربن شیشه‌ای.....	۳۶

۲-۶-۴- بررسی رفتار الکتروشیمیایی الکتروود اصلاح شده در اندازه گیری همزمان آسکوربیک، دوپامین و استامینوفن	۳۸
۲-۷-۲- بررسی و بهینه سازی متغیرهای مؤثر بر اندازه گیری الکتروشیمیایی آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن .. ۴۰	
۲-۷-۱- بررسی غلظت ۵،۱-دی فنیل کاربازون	۴۱
۲-۷-۲- بررسی محیط اصلاح الکتروود	۴۳
۲-۷-۳- بررسی تعداد چرخه های اصلاح	۴۴
۲-۷-۴- بررسی اثر pH بر اکسایش آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن در سطح الکتروود اصلاح شده	۴۶
۲-۷-۵- بررسی اثر نوع بافر	۵۰
۲-۷-۶- بررسی اثر حجم بافر	۵۱
۲-۷-۷- بررسی ارتفاع پالس	۵۳
۲-۷-۸- بررسی سرعت روبش	۵۵
۲-۷-۹- شرایط بهینه	۵۷
۲-۸- منحنی کالیبراسیون	۵۸
۲-۹- بررسی های کروماتوگرافی	۷۳
۲-۱۰- دقت و صحت روش	۷۷
۲-۱۱- حد تشخیص	۷۹
۲-۱۲- بررسی تکرار پذیری، تکثیر پذیری و پایداری الکتروود اصلاح شده با ۵،۱-دی فنیل کاربازون	۸۰
۲-۱۲-۱- بررسی تکرار پذیری و تکثیر پذیری الکتروود اصلاح شده	۸۰
۲-۱۳- بررسی اثر مزاحمت ها	۸۴
۲-۱۴- آنالیز نمونه های حقیقی	۸۵
۲-۱۴-۱- نمونه قرص استامینوفن	۸۵

- ۸۷ ۲- ۱۴- ۲- نمونه قرص آسکوربیک اسید
- ۸۸ ۲- ۱۴- ۳- نمونه آمپول دوپامین
- ۸۹ ۲- ۱۴- ۴- نمونه سرم خون
- ۹۰ ۲- ۱۴- ۵- نمونه آب شهر
- ۹۱ ۳- فصل سوم بحث، نتیجه گیری و آینده نگری
- ۹۲ ۳- ۱- نتیجه گیری
- ۹۳ ۳- ۲- مقایسه روش پیشنهادی با سایر روش ها
- ۹۴ ۳- ۳- آینده نگری

فهرست جداول

جدول (۱-۲) مواد شیمیایی مورد استفاده در این کار تحقیقاتی.....	۳۱
جدول (۲-۲) نتایج حاصل از بررسی غلظت ۵،۱-دی فنیل کاربازون.....	۴۲
جدول (۳-۲) نتایج حاصل از بررسی نوع الکترولیت در محیط اصلاح الکتروود.....	۴۴
جدول (۴-۲) نتایج حاصل از بررسی تعداد چرخه اصلاح الکتروود.....	۴۵
جدول (۵-۲) نتایج حاصل از بررسی اثر pH.....	۴۹
جدول (۶-۲) نتایج حاصل از بررسی نوع بافر.....	۵۱
جدول (۷-۲) نتایج حاصل از بررسی اثر حجم بافر.....	۵۲
جدول (۸-۲) نتایج حاصل از بررسی ارتفاع پالس.....	۵۴
جدول (۹-۲) نتایج حاصل از بررسی سرعت روبش.....	۵۶
جدول (۱۰-۲) نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰۰ میکرومولار استامینوفن.....	۵۹
جدول (۱۱-۲) نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰۰ میکرومولار دوپامین.....	۶۰
جدول (۱۲-۲) نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۱۰/۰ تا ۲۰۰/۰ میکرومولار آسکوربیک اسید.....	۶۲
جدول (۱۳-۲) نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵ تا ۲۰/۰ میکرومولار استامینوفن.....	۶۳
جدول (۱۴-۲) نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۱۰/۰ تا ۲۰۰/۰ میکرومولار آسکوربیک اسید.....	۶۶
جدول (۱۵-۲) نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰ میکرومولار دوپامین.....	۶۷
جدول (۱۶-۲) نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۱۰/۰ تا ۲۰۰/۰ میکرومولار آسکوربیک اسید.....	۷۰
جدول (۱۷-۲) نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰ میکرومولار دوپامین.....	۷۱
جدول (۱۸-۲) نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰ میکرومولار استامینوفن.....	۷۲

جدول (۱۹-۲) نتایج حاصل از بررسی دقت و صحت روش پیشنهادی در اندازه‌گیری غلظت اسه آنالیت در مخلوط ۱.... ۷۸	۷۸
جدول (۲۰-۲) نتایج حاصل از بررسی دقت و صحت روش پیشنهادی در اندازه‌گیری سه آنالیت در مخلوط ۲. ۷۸	۷۸
جدول (۲۱-۲) نتایج حاصل از بررسی دقت و صحت روش پیشنهادی در اندازه‌گیری سه آنالیت در مخلوط ۳. ۷۹	۷۹
جدول (۲۲-۲) نتایج حاصل از تکرار پذیری و تکثیرپذیری الکتروود اصلاح شده برای اندازه‌گیری آسکوربیک‌اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار. ۸۱	۸۱
جدول (۲۳-۲) نتایج حاصل از تکرار پذیری و تکثیرپذیری الکتروود اصلاح شده برای اندازه‌گیری دوپامین با غلظت ۵/۰ میکرومولار. ۸۱	۸۱
جدول (۲۴-۲) نتایج حاصل از تکرار پذیری و تکثیرپذیری الکتروود اصلاح شده برای اندازه‌گیری استامینوفن با غلظت ۷/۰ میکرومولار. ۸۲	۸۲
جدول (۲۵-۲): جدول ANOVA ۸۲	۸۲
جدول (۲۶-۲) ANOVA برای آسکوربیک‌اسید. ۸۳	۸۳
جدول (۲۷-۲) ANOVA برای دوپامین ۸۳	۸۳
جدول (۲۸-۲) ANOVA برای استامینوفن ۸۳	۸۳
جدول (۲۹-۲) بررسی مزاحمت برخی گونه‌ها در اندازه‌گیری همزمان آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن ۸۵	۸۵
جدول (۳۰-۲) نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری استامینوفن در نمونه قرص استامینوفن (N=۳) ۸۶	۸۶
جدول (۳۱-۲) نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری آسکوربیک‌اسید در نمونه قرص آسکوربیک‌اسید (N=۳) ۸۷	۸۷
جدول (۳۲-۲) نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری دوپامین در نمونه آمپول دوپامین هیدروکلرید (N=۳) ۸۸	۸۸
جدول (۳۳-۲) نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن در نمونه سرم خون (N=۳). ۸۹	۸۹
جدول (۳۴-۲) نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن در نمونه آب شهر (N=۳). .. ۹۰	۹۰

فهرست تصاویر

- شکل (۱-۱) نمایشی از سل الکتروشیمیایی برای اندازه‌گیری های ولتامتری ۴
- شکل (۲-۱) مبادله الکترون بین الکتروود و گونه مورد نظر توسط واسطه انتقال الکترون [۱۵]..... ۱۲
- شکل (۳-۱) ساختار شیمیایی ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون ۱۳
- شکل (۴-۱) پروفیل‌های پتانسیل-زمان برای ولتامتری چرخه‌ای [۳۳] ۱۵
- شکل (۵-۱) ولتاموگرام چرخه‌ای برای فرایند برگشت‌پذیر [۳۳] ۱۵
- شکل (۶-۱) نمودار پتانسیل-زمان برای پالس پلاروگرافی تفاضل [۳۲]..... ۱۷
- شکل (۷-۱) ولتاموگرام جریان پتانسیل برای پلاروگرافی پالس تفاضلی [۳۲]..... ۱۷
- شکل (۸-۱) نمودار نایکونیست. قسمت نیم دایره نشان دهنده مقاومت انتقال بار و خط مستقیم نشان دهنده مقاومت انتقال جرم [۳۵]..... ۲۰
- شکل (۹-۱) مدار معادل برای یک سل الکتروشیمیایی، R_s مقاومت محلول، C_d خازن دولایه الکتریکی، Z_f فرکانس اعمالی به دستگاه، R_{ct} مقاومت انتقال بار و Z_w امپدانس واربرگ می‌باشد [۳۵]..... ۲۱
- شکل (۱۰-۱) واکنش الکتروشیمیایی اکسایش آسکوربیک‌اسید..... ۲۳
- شکل (۱۱-۱) ساختار مولکولی دوپامین..... ۲۴
- شکل (۱۲-۱) ساختار مولکولی استامینوفن..... ۲۵
- شکل (۱-۲) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای متوالی محلول حاوی ۰/۰۰۲ مولار ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون و ۰/۱۰ مولار سود، ۱۵ روبش متوالی در محدوده ۱/۵- تا ۱/۵+ ولت نسبت به الکتروود مرجع نقره/نقره کلرید در سطح GCE با سرعت ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه..... ۳۴
- شکل (۲-۲) تصاویر SEM (الف) NaOH/GCE و (ب) DPCO /GCE..... ۳۵
- شکل (۳-۲) (الف) نمودار نایکونیست مربوط به الکتروود GC، الکتروود GC/NaOH و الکتروود GC/DPCO. (ب) نمایش طرح نموداری مدار معادل شده..... ۳۶
- شکل (۴-۲) ولتاگرام چرخه‌ای الکتروود اصلاح شده با ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون در محلول ۰/۴ میلی‌مولار $K_3Fe(CN)_6$ در سرعت های روبش متفاوت..... ۳۷

شکل (۵-۲) ولتاگرام‌های پالس تفاضلی مربوط به الکتروده GC و الکتروده GC/NaOH و GC/DPCO در حضور آسکوربیک اسید (AA) ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین (DA) ۵۰/۰ میکرومولار و استامینوفن (AC) ۵۰/۰ میکرومولار در بافر فسفاتی pH = ۶/۰ سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه برای ولتامتری پالس تفاضلی روش تهیه GC/NaOH: ۲۰ چرخه در محدوده پتانسیل ۱/۵- تا ۱/۵ ولت در محلول ۰/۱ مولار سود. روش تهیه GC/DPCO: ۱۵ چرخه در محدوده پتانسیل ۱/۵- تا ۱/۵ در محلول ۰/۱ مولار سود و ۲/۰ میلی‌مولار ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون ۳۹

شکل (۶-۲) واکنش اکسایش الکتروشیمیایی الف) آسکوربیک اسید ب) دوپامین ج) استامینوفن [۶۵،۶۴] ۳۹

شکل (۷-۲) اثر غلظت ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون. شرایط اندازه‌گیری: آسکوربیک اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین و استامینوفن ۵۰/۰ میکرومولار، بافر فسفاتی pH=۶/۰، ارتفاع پالس ۸۰ میلی‌ولت و سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه، شرایط اصلاح الکتروده: محلول سدیم هیدروکسید ۰/۱ مولار و غلظت‌های متفاوت ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه ۴۲

شکل (۸-۲) بررسی اثر نوع الکترولیت در اصلاح الکتروده بر جریان اکسایشی گونه‌ها شرایط اندازه‌گیری: آسکوربیک اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین و استامینوفن ۵۰/۰ میکرومولار، بافر فسفاتی pH=۶/۰، ارتفاع پالس ۸۰ میلی‌ولت و سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه، شرایط اصلاح الکتروده: محلول الکترولیت‌های مختلف و ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون ۲/۰ میلی‌مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه ۴۴

شکل (۹-۲) اثر تعداد چرخه در اصلاح الکتروده با ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون بر سیگنال تجزیه‌ای. شرایط اندازه‌گیری: آسکوربیک اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین و استامینوفن ۵۰/۰ میکرومولار، بافر فسفاتی pH=۶/۰، ارتفاع پالس ۸۰ میلی‌ولت و سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه، شرایط اصلاح الکتروده: محلول سود ۰/۱ مولار و ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون ۲/۰ میلی‌مولار، تعداد چرخه متفاوت و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه ۴۵

شکل (۱۰-۲) جابه‌جایی پیک‌ها با تغییر pH ۴۸

شکل (۱۱-۲) اثر pH بر روی پتانسیل پیک الف) آسکوربیک اسید ب) دوپامین ج) استامینوفن در محلول ۰/۰۶۷ مولار بافر فسفاتی و ۵۰/۰ میکرومولار آسکوربیک اسید و ۵۰/۰ میکرومولار دوپامین و استامینوفن ۴۸

شکل (۱۲-۲) اثر pH بر سیگنال تجزیه‌ای در اندازه‌گیری اکسایش آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن. شرایط اندازه‌گیری: آسکوربیک اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین و استامینوفن ۵۰/۰ میکرومولار، بافر فسفاتی در pH مختلف،

ارتفاع پالس ۸۰ میلی‌ولت و سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه، شرایط اصلاح الکتروود: محلول سود ۰/۱ مولار و ۵،۱-
دی‌فنیل‌کاربازون ۲/۰ میلی‌مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه. ۴۹.....
شکل (۱۳-۲) بررسی اثر نوع بافر بر سیگنال تجزیه‌ای اکسایشی آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن، شرایط اندازه‌گیری:
آسکوربیک‌اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین و استامینوفن ۵/۰ میکرومولار، بافر های متفاوت با $\text{pH}=6/0$ ، ارتفاع
پالس ۸۰ میلی‌ولت و سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه، شرایط اصلاح الکتروود: محلول سود ۰/۱ مولار و ۵،۱-
دی‌فنیل‌کاربازون ۲/۰ میلی‌مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه. ۵۱.....
شکل (۱۴-۲) بررسی اثر حجم بافر بر جریان دماغه‌ی اکسایشی آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن، شرایط اندازه‌گیری:
آسکوربیک‌اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین و استامینوفن ۵/۰ میکرومولار، بافر فسفات با $\text{pH}=6/0$ ، ارتفاع پالس
۸۰ میلی‌ولت و سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه، شرایط اصلاح الکتروود: محلول سود ۰/۱ مولار و ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون
۲/۰ میلی‌مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه. ۵۳.....
شکل (۱۵-۲) بررسی اثر ارتفاع پالس بر جریان دماغه‌ی اکسایشی آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن، شرایط اندازه
گیری: آسکوربیک‌اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین و استامینوفن ۵/۰ میکرومولار، بافر فسفات با $\text{pH}=6/0$ ، ارتفاع
پالس‌های متفاوت و سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه، شرایط اصلاح الکتروود: محلول سود ۰/۱ مولار و ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون
۲/۰ میلی‌مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه. بررسی سرعت روبش. ۵۵.....
شکل (۱۶-۲) بررسی اثر سرعت روبش بر جریان دماغه‌ی اکسایشی آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن، شرایط اندازه
گیری: آسکوربیک‌اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین و استامینوفن ۵/۰ میکرومولار، بافر فسفات با $\text{pH}=6/0$ ، ارتفاع
پالس ۹۰ میلی‌ولت و سرعت روبش‌های مختلف، شرایط اصلاح الکتروود: محلول سود ۰/۱ مولار و ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون ۲/۰
میلی‌مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه. ۵۷.....
شکل (۱۷-۲) نمودار منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰۰ میکرومولار استامینوفن. ۵۹.....
شکل (۱۸-۲) نمودار منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰۰ میکرومولار دوپامین. ۶۰.....
شکل (۱۹-۲) ولتاگرام پالس تفاضلی آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن شرایط اصلاح الکتروود کربن شیشه اصلاح شده
با ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون ۲/۰ میلی‌مولار، سود ۰/۱ مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه، شرایط
اندازه‌گیری: در حضور ۴۰/۰ میکرومولار آسکوربیک‌اسید، غلظت‌های دوپامین و استامینوفن ۵/۰، ۱/۰۰، ۳/۰۰، ۵/۰۰،

۱۰/۰۰، ۱۵/۰۰ و ۲۰/۰۰ میکرومولار، بافر فسفاتی $\text{pH}=6/0$ و سرعت روبش ۲۰ میلی‌ولت بر ثانیه ارتفاع پالس ۹۰ میلی‌ولت.

۶۱

شکل (۲۰-۲) نمودار بررسی منحنی کالبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۱۰/۰ تا ۲۰۰/۰ میکرومولار آسکوربیک‌اسید. ۶۳

شکل (۲۱-۲) نمودار منحنی کالبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵ تا ۲۰/۰ میکرومولار استامینوفن. ۶۴

شکل (۲۲-۲) ولتاگرام پالس تفاضلی آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن، شرایط اصلاح: الکتروکربن شیشه اصلاح شده

با ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون ۲/۰ میلی‌مولار، سود ۰/۱ مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه، شرایط

اندازه‌گیری: در حضور ۱/۰ میکرومولار دوپامین، غلظت استامینوفن ۰/۵۰، ۱/۰۰، ۳/۰۰، ۵/۰۰، ۱۰/۰۰، ۱۵/۰۰ و ۲۰/۰۰ و

آسکوربیک‌اسید ۱۰/۰۰، ۲۰/۰۰، ۴۰/۰۰، ۸۰/۰۰، ۱۲۰/۰۰، ۱۵۰/۰۰، ۲۰۰/۰۰ میکرومولار، بافر فسفاتی $\text{pH}=6/0$ و سرعت

رویش ۲۰ میلی‌ولت بر ثانیه ارتفاع پالس ۹۰ میلی‌ولت. ۶۴

شکل (۲۳-۲) نمودار بررسی منحنی کالبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۱۰/۰۰ تا ۲۰۰/۰۰ میکرومولار آسکوربیک‌اسید. ۶۶

شکل (۲۴-۲) نمودار منحنی کالبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰۰ میکرومولار دوپامین. ۶۷

شکل (۲۵-۲) ولتاگرام پالس تفاضلی آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن، شرایط اصلاح: الکتروکربن شیشه اصلاح شده

با ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون ۲/۰ میلی‌مولار، سود ۰/۱ مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه، شرایط

اندازه‌گیری: در حضور ۱/۰ میکرومولار استامینوفن، غلظت دوپامین ۰/۵، ۱/۰، ۲/۰، ۳/۰، ۵/۰، ۱۰/۰، ۱۵/۰ و ۲۰/۰ و

آسکوربیک‌اسید ۱۰/۰، ۲۰/۰، ۴۰/۰، ۸۰/۰، ۱۲۰/۰، ۱۵۰/۰، ۲۰۰/۰ میکرومولار، بافر فسفاتی $\text{pH}=6/0$ و سرعت روبش ۲۰

میلی‌ولت بر ثانیه ارتفاع پالس ۹۰ میلی‌ولت. ۶۸

شکل (۲۶-۲) نمودار بررسی منحنی کالبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۱۰/۰۰ تا ۲۰۰/۰۰ میکرومولار آسکوربیک‌اسید. ۷۰

شکل (۲۷-۲) نمودار منحنی کالبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰۰ میکرومولار دوپامین. ۷۱

شکل (۲۸-۲) نمودار منحنی کالبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰۰ میکرومولار استامینوفن. ۷۲

شکل (۲۹-۲) ولتاگرام پالس تفاضلی آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن، شرایط اصلاح: الکتروکربن شیشه اصلاح شده

با ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون ۲/۰ میلی‌مولار، سود ۰/۱ مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه، شرایط

اندازه‌گیری غلظت‌های دوپامین و استامینوفن ۰/۵، ۱/۰، ۳/۰، ۵/۰، ۱۰/۰، ۱۵/۰ و ۲۰/۰ و آسکوربیک‌اسید ۱۰/۰، ۲۰/۰،

۴۰/۰، ۸۰/۰، ۱۲۰/۰، ۱۵۰/۰، ۲۰۰/۰ میکرومولار، بافر فسفاتی $\text{pH}=6/0$ و سرعت روبش ۲۰ میلی‌ولت بر ثانیه ارتفاع پالس

۹۰ میلی‌ولت. ۷۳

شکل (۳۰-۲) الف) کروماتوگرامهای محلول آسکوربیک اسید با غلظت‌های ۰/۰، ۵۰/۰، ۱۰۰/۰، ۱۵۰/۰ و ۲۰۰/۰ میکرومولار و بافر فسفاتی با $\text{pH} = ۶/۰$ در سطح الکترود کربن شیشه اصلاح شده با ۵،۱-دی فنیل کاربازون ۲/۰ میلی مولار، سود ۰/۱ مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه، در پتانسیل ۰/۰۳ ولت و زمان ۳۰ ثانیه. ب) نمودار جریان بر حسب $t^{-1/2}$ ج) نمودار شیب (منحنی جریان بر حسب $t^{-1/2}$) بر حسب غلظت آسکوربیک اسید. ۷۵.....

شکل (۳۱-۲) الف) کروماتوگرامهای محلول دوپامین با غلظت‌های ۰/۰، ۲/۰، ۴/۰، ۶/۰، ۱۰/۰ و ۱۲/۰ میکرومولار و بافر فسفاتی با $\text{pH} = ۶/۰$ در سطح الکترود کربن شیشه اصلاح شده با ۵،۱-دی فنیل کاربازون ۲/۰ میلی مولار، سود ۰/۱ مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه، در پتانسیل ۰/۰۳ ولت و زمان ۳۰ ثانیه. ب) نمودار جریان بر حسب $t^{-1/2}$ ج) نمودار شیب (منحنی جریان بر حسب $t^{-1/2}$) بر حسب غلظت دوپامین. ۷۶.....

شکل (۳۲-۲) الف) کروماتوگرامهای محلول استامینوفن با غلظت‌های ۰/۰، ۴/۰، ۶/۰، ۸/۰، ۱۰/۰ و ۱۲/۰ میکرومولار و بافر فسفاتی با $\text{pH} = ۶/۰$ در سطح الکترود کربن شیشه اصلاح شده با ۵،۱-دی فنیل کاربازون ۲/۰ میلی مولار، سود ۰/۱ مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه، در پتانسیل ۰/۰۴۵ ولت و زمان ۳۰ ثانیه. ب) نمودار جریان بر حسب $t^{-1/2}$ ج) نمودار شیب (منحنی جریان بر حسب $t^{-1/2}$) بر حسب غلظت استامینوفن. ۷۷.....

فصل اول - مقدمه و تئوری

۱-۱- مقدمه

در سال‌های اخیر، نیاز به روش‌هایی با حساسیت و انتخاب‌گری بالا برای تعیین مولکول‌ها و ترکیبات بیولوژیکی در حال افزایش است. این نیاز از پیشرفت‌های به دست آمده در زمینه تحقیقات پزشکی حاصل شده است. در این زمینه روش‌های تجزیه‌ای برای تعیین مقادیر فوق‌العاده کم ترکیبات در مایعات مختلف بدن انسان ضروری هستند.

۱-۲- مقدمه‌ای بر الکتروشیمی تجزیه‌ای

شیمی تجزیه، دانش شناسایی و اندازه‌گیری مواد با استفاده از اصول شیمیایی و فیزیکی است و الکتروشیمی تجزیه‌ای شاخه‌ای از این مجموعه‌ی وسیع است که روش‌های تجزیه‌ای کیفی و کمی را بر اساس فرآیندهای الکتروشیمیایی مورد بحث و بررسی قرار می‌دهد و به دلیل گزینش‌پذیری، حساسیت بالا، سهولت اجرا، سرعت عمل و همچنین صحت و دقت بالا، در ردیف حساس‌ترین و انتخابی‌ترین روش‌های تجزیه‌ای برای بررسی رفتار، تشخیص و تعیین مقدار مواد، قرار می‌گیرد. رشد الکتروشیمی در سال‌های اخیر به عنوان شاخه‌های با دو ویژگی بنیادی و کاربردی از شیمی تجزیه در مقایسه با اکثر شاخه‌های آن، بسیار وسیع و چشمگیر بوده است. این امر از یک سو به ماهیت تلفیق‌پذیری الکتروشیمی تجزیه با دیگر رشته‌های علوم و فناوری، مانند پزشکی، زیست‌شناسی و الکترونیک مربوط می‌شود و از سوی دیگر به برخورداری از ویژگی‌هایی مانند دقت و حساسیت بالا، سهولت اجرا، سرعت عمل و کم هزینه بودن در مقایسه با برخی روش‌های دیگر ناشی می‌شود [۱].

۱-۳- فرایندهای الکتروشیمیایی

الکتروشیمی، به مفهوم مطالعه پدیده‌های است که در نتیجه تماس یک هدایت‌کننده الکترونی (اکثر فلزات) و یک هدایت‌کننده یونی (الکتrolیت‌ها) رخ می‌دهد. روش‌های الکتروشیمیایی تجزیه‌ای، تاثیر متقابل شیمی و الکتریسیته، یعنی اندازه‌گیری کمیت‌های الکتریکی، مانند جریان، پتانسیل و بار و ارتباط

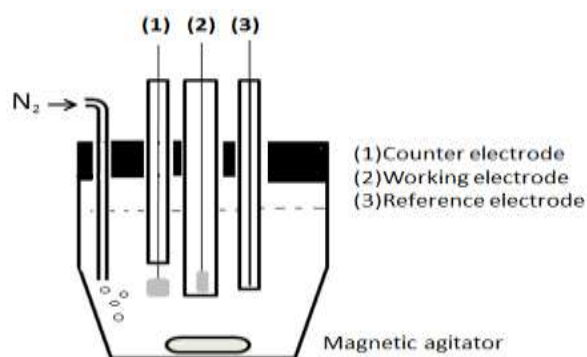
آن‌ها با پارامترهای شیمیایی را شامل می‌شود. برخلاف بسیاری از اندازه‌گیری‌های شیمیایی که در درون محلول‌های همگن انجام می‌گیرند، اغلب فرایندهای الکتروشیمیایی در حد فاصل الکترو-محلول، در داخل لایه‌ای به نام لایه دوگانه الکتریکی رخ می‌دهند. دانشمندان معتقدند که در فصل مشترک «الکترو-الکترولیت» به لایه دوگانه تشکیل می‌شود. تعادل ایجاد شده در مرز مشترک الکترو-محلول شبیه آنچه که در یک خازن مشاهده می‌گردد، از نوع الکترواستاتیک است. برهمکنش‌های الکترواستاتیکی باعث توزیع پتانسیل و ایجاد اختلاف پتانسیل می‌شود که در هنگام عبور جریان از مواد به عنوان نیروی محرکه واکنش شیمیایی عمل می‌کند. با افزایش مقدار پتانسیل اعمالی بین دو الکترو، اختلاف پتانسیل در مرز مشترک افزایش می‌یابد. شرح ریاضی رابطه بین اختلاف پتانسیل محلول – الکترو (تحت عنوان پتانسیل الکترو اندازه‌گیری می‌شود) و چگالی جریان، اساس سنتیک الکترو است [۲].

روش‌های الکتروشیمیایی دارای کاربرد وسیعی در تجزیه نمونه‌های مختلف و نیز در سنتز آلی و معدنی می‌باشند. در چند دهه اخیر استفاده از الکترودهای اصلاح شده شیمیایی گسترش زیادی پیدا کرده است، در این الکترودها یک سطح تغییر داده شده شیمیایی به کارگرفته می‌شود که این سطح خواص جدیدی را که موجب بهره‌برداری از آن‌ها برای اهداف الکتروشیمیایی می‌شود به وجود می‌آورد. شرط اصلی برای استفاده از آشکارسازهای الکتروشیمیایی در روش‌های تجزیه‌ای، قابلیت اکسایش یا کاهش گونه‌ی مورد نظر در پتانسیل نسبتاً پایین می‌باشند [۳، ۴].

اندازه‌گیری الکتروشیمیایی را برای هر ترکیبی که در سطح الکترو اکسید و یا کاهش می‌یابد، می‌توان اعمال کرد. هنگامی که در یک روش الکتروتجزیه‌ای نیاز به تشخیص غلظت گونه در محدوده‌ی کم مثل نانوگرم باشد، به‌ویژه هنگامی که گونه در ماتریس‌های پیچیده، مانند نمونه‌های محیطی یا مایعات بیولوژیکی وجود دارد، الکترو جامد برهنه معمولاً در سطح حساسیت مورد نیاز دارای تشخیص نیست از این رو با اصلاح شیمیایی سطح الکترو می‌توان حساسیت و گزینش‌پذیری را افزایش داد.

۴-۱- سل الکتروشیمیایی

معمولاً از سل‌های سه الکترودی در آزمایش‌های کنترل پتانسیل استفاده می‌شود. سل اغلب یک ظرف ۵ تا ۵۰ میلی لیتری است که شامل سه الکتروود (شناساگر، مرجع و کمکی) است که در محلول نمونه فرو برده شده‌اند (شکل ۱-۱).



شکل (۱-۱) نمای از سل الکتروشیمیایی برای اندازه‌گیری‌های ولتامتری

۵-۱- حسگرهای الکتروشیمیایی

از نظر تاریخی قدیمی‌ترین حسگر الکتروشیمیایی به دهه ۱۹۵۰ برمی‌گردد و مربوط به حسگرهای گازی است که در اندازه‌گیری اکسیژن موجود در هوا استفاده می‌شد. پس از آن و در اواسط دهه ۱۹۸۰ حسگرهای الکتروشیمیایی در ابعاد بسیار کوچک جهت شناسایی و اندازه‌گیری گازهای سمی مختلف با حساسیت و گزینش‌پذیری بالا طراحی شدند [۵].

به‌طور کلی حسگرهای الکتروشیمیایی را می‌توان به چهار دسته کلی زیر طبقه‌بندی کرد:

(۱) حسگرهای پتانسیومتری

(۲) حسگرهای آمپرومتری

(۳) مبدل‌های رسانایی سنجی

(۴) حسگرهای مبتنی بر ترانزیستورهای اثر میدان

در حسگرهای الکتروشیمیایی برای تسهیل انجام یک واکنش الکتروشیمیایی و در نتیجه بهبود پاسخ

تجزیه‌ای از اصلاحگرها استفاده می‌کنند. اصلاحگرها در حقیقت عنصر اصلی و کلیدی حسگرها بوده و اینکه یک حسگر به چه گونه‌ای پاسخ دهد (همان گزینش‌پذیری حسگر)، به خصوصیات اصلاحگر بستگی دارد. به طور کلی هر الکترودی که ساختار مولکولی سطح آن به نحوی اصلاح شده باشد که باعث بهبود پاسخ‌های الکتروتجزیه‌ای شود را می‌توان جزء حسگرهای الکتروشیمیایی دانست. یک الکترو اصلاح شده با قرار دادن یک ماده انتخابی در سطح الکترو به منظور تغییر و بهبود بعضی از ویژگی‌های آن الکترو ساخته می‌شود.

۱-۶- جنس الکترودها

کارایی فرآیند الکتروشیمیای بسیار تحت تاثیر جنس الکترو کار است. الکترو کار باید سیگنال به نویز بزرگی داشته باشد و پاسخ‌های تکرارپذیری بدهد. انتخاب الکترو کار به دو فاکتور مهم بستگی دارد: رفتار اکسایشی-کاهشی آنالیت مورد نظر و جریان زمینه در محدوده پتانسیل مورد استفاده برای آنالیز. سایر مواردی که در انتخاب الکترو باید مورد توجه قرار گیرد شامل موارد زیر است:

پنجره پتانسیل، هدایت الکتریکی، سطح تکرارپذیر، خصوصیات مکانیکی، قیمت مناسب، قابل دسترس بودن و سمی نبودن [۲]. جنس الکترودها می‌تواند شامل موارد زیر باشد:

فلزات جامد (مانند Pt, Au)، فلزات مایع (Hg, amalgams)، کربن (گرافیت) و نیمه رساناها (اکسید ایندیم-قلع، سیلیسیم) [۱].

متداول‌ترین الکترو کار، الکترو پلاتین است. پلاتین به این دلیل مورد استفاده قرار می‌گیرد که نسبتاً بی‌اثر است. در مواردی که پلاتین با محلول الکترولیت واکنش می‌نماید، الکترو طلا معمولاً به کار گرفته می‌شود. طلا از لحاظ فعالیت الکتروشیمیایی، بی‌اثرتر از پلاتین است. انواع مختلف کربن نیز به طور وسیعی به عنوان الکترودهای شناساگر مورد استفاده قرار می‌گیرند. زیرا که سرعت بسیاری از واکنش‌های اکسایشی-کاهش بر روی سطح کربن زیاد می‌باشد. برای تمیز کردن سطح یک الکترو معمولاً آن را به مدت کوتاه در نیتریک اسید غلیظ فرو برده و سپس بلافاصله با آب شستشو می‌دهند.

چندین فلز، نظیر Ag, Cu, Zn, Cd, Hg را می‌توان به عنوان الکترودهای شناساگر برای یون‌های خودشان در سنجش‌های پتانسیومتری، مورد استفاده قرار داد. لیکن اکثر فلزات برای این منظور نامناسب هستند. زیرا تعادل $M \rightarrow M^{n+} + ne^-$ به راحتی در سطح فلز برقرار نمی‌شود [۵].

الکترود مرجع برای تعیین پتانسیل‌های اکسایش و کاهش یک واکنشگر و همچنین برای الکترولیز در پتانسیل کنترل شده ضروری است. الکترودهای مرجع متداول و تجارتي، الکترود کالومل اشباع (SCE) و الکترود نقره-نقره کلرید (Ag/AgCl) می‌باشد. در برخی موارد الکترود کار چرخنده در تمیز نگه‌داشتن سطح الکترود در طی واکنش مفید می‌باشد.

۱-۶-۱ الکترودهای جامد

گستره وسیعی از مواد جامد به عنوان الکترود کار به کار گرفته می‌شوند. متداول‌ترین الکترودهای جامد بی اثر شامل الکترودهای کربن، کربن شیشه‌ای، طلا و پلاتین می‌باشند. به منظور دستیابی به نتایج یکسان با الکترودهای جامد، استفاده از شیوه‌های مناسب برای آماده‌سازی الکترود حائز اهمیت است. این امر، حالت اکسایش تکرارپذیر، ریخت‌شناسی سطح و عاری بودن از ناخالصی‌های جذب سطحی شده را تامین می‌کند و الکترودهای جامد بر خلاف الکترودهای جیوه‌ای، در ارتباط با فعالیت الکتروشیمیایی، سطح ناهمگنی را نشان می‌دهند [۶، ۷].

از آنجائیکه ما در کار خود از الکترود کربن شیشه‌ای استفاده کرده‌ایم به توضیح در مورد این الکترود می‌پردازیم:

۱-۶-۲ الکترود کربن شیشه‌ای

این نوع الکترود به علت خصوصیات مکانیکی و الکتریکی مطلوب، پنجره پتانسیل بزرگ، بی اثر بودن شیمیایی (در حلال حل نمی‌شود) و تکرارپذیری نسبی در عملکرد بسیار معمول می‌باشد [۸].

ماده سازنده این الکترود با یک برنامه حرارتی دقیق، از یک رزین پلیمری (فنل-فرمالدهید) در

اتم‌سفر بی‌اثر تهیه می‌شود[۸]. ساختمان کربن شیشه‌ای شامل نوارهای ظریف درهم پیچیده‌ای متشکل از صفحات شبیه گرافیتی با اتصال عرضی می‌باشد. به دلیل داشتن چگالی بالا و کوچک بودن منافذ به روش مخصوصی برای پر کردن منافذ نیاز ندارند. با این حال پیش تیمار سطح را معمولاً برای به‌وجود آوردن الکترودهای کربن شیشه‌ای فعال و تکرار پذیر و افزایش کارایی تجزیه‌ای آنها به کار می‌برند. روش‌های متفاوتی برای پیش تیمار این نوع از الکترودها وجود دارد که از جمله: پیش تیمار از طریق دادن سیقل دادن آن با استفاده از ذرات آلومینا، شستشوی آن با آب بدون یون و خشک کردن و یا استفاده از پیش تیمارهای الکتروشیمیایی، شیمیایی، گرمایی و لیزری است [۹، ۱۰].

۱-۷- الکترودهای اصلاح شده‌ی شیمیایی^۱ (CMEs)

الکترودهای اصلاح شده شیمیایی، نگرش جدیدی به سیستم‌های الکترودی است. این الکترودها به قرار دادن یک معرف بر روی سطح یا در بافت الکتروود با هدف بهبود رفتار الکتروود تهیه می‌شود. بنابراین، این چنین تعویض عمده‌ی سطوح الکتروودی، می‌تواند بسیاری از مشکلات الکتروشیمی تجزیه‌ای را از بین می‌برد و پایه‌ای را برای کاربردهای جدید تجزیه‌ای و وسایل حسی مختلف فراهم سازد [۱۱، ۱۲]. ترکیباتی که بر سطح الکترودها تثبیت می‌شوند، از موادی با خواص مبادله‌کنندگی سریع الکترون در لایه خارجی، کاتالیزوری جهت تسریع واکنش‌های وابسته به سوبستراهای مورد نظر، کمپلکس‌کنندگی برای جست و جمع آوری آثار مولکول‌ها و یا یون‌ها از محلول جهت اندازه‌گیری آنها می‌باشد [۱۳].

۱-۷-۱- روش‌های تهیه الکترودهای اصلاح شده شیمیایی

الکترودها معمولاً به چهار طریق جذب سطحی به روش شیمیایی^۲، پیوند کووالانسی^۳، لایه‌های پلیمری^۴

^۱. Chemically modified electrodes

^۲. Chemisorption

^۳. Covalent binding

^۴. Polymer coating

و ترکیبی^۱ اصلاح می‌شوند [۱۴-۱۶].

۱-۷-۱-۱ اصلاح الکتروُد به صورت شیمیایی

در این روش ماده اصلاح‌کننده به وسیله نیروهای والانسی شبیه نیروهای بین ملکولی که در تشکیل ترکیبات شیمیایی عمل می‌کنند، روی سطح الکتروُد به صورت برگشت‌ناپذیر جذب می‌شود. معمولاً طی این روش یک پوشش تک‌لایه (یا ناقص‌تر) به وجود می‌آید. ملکول‌های فاقد توانایی تشکیل نیروهای والانسی را نیز می‌توان با استفاده از فرایند خودآرایی^۲ روی سطوح الکتروودی قرار داد. در صورتی که جذب اصلاح‌کننده به خوبی صورت گرفته باشد، لایه پایدار و یکنواختی تشکیل می‌شود. از جمله ساده‌ترین روش‌ها، تشکیل تک‌لایه‌های خودآرایی‌شده روی سطح طلا می‌باشد. این تک‌لایه‌ها به سهولت با قرار دادن الکتروُد طلا در محلول‌های ترکیبات تیول‌دار (SH-) به وجود می‌آیند. مهمترین مزیتی که میتوان برای این روش ذکر کرد، سادگی تهیه آن نسبت به سایر الکتروودهای اصلاح‌شده شیمیایی است [۱۶].

۱-۷-۱-۲ اصلاح الکتروُد به صورت پیوند کووالانسی

با این روش می‌توان مواد اصلاح‌کننده را با اتصال قویتری نسبت به روش جذب سطحی روی سطح الکتروُد تثبیت کرد. گونه مورد نظر با پیوند کووالانسی به گروه‌های موجود یا تشکیل شده روی سطح متصل میشود، که به این گروه‌های سطحی عامل پیونددهنده^۳ می‌گویند. مشتقات گروه‌های عاملی موجود در سطح الکتروُد با استفاده از روش‌های شیمیایی یا الکتروشیمیایی در یک محیط مناسب ایجاد می‌شوند. سطوح کربنی، به دلیل داشتن گروه‌های عاملی متنوع، بازده بسیار زیاد برای ایجاد پیوندهای کووالانسی و امکان اتصال گروه‌های مختلف، کاربردهای وسیعی پیدا کرده‌اند.

^۱. Composite

^۲. Self-assembly

^۳. Binding agent

۱-۷-۱-۳- اصلاح الکتروود با لایه‌های بسپاری

در این روش پوسته‌های بسپاره‌ای هادی و غیر هادی توسط جذب شیمیایی یا الکتروشیمیایی و به علت حلالیت کم آنها (در محلول‌هایی در تماس با الکتروود) به خوبی روی سطح الکتروود نگهداشته می‌شوند. پوسته بسپاری می‌تواند آلی، آلی-فلزی و یا معدنی باشد. این بسپارها یا از قبل حاوی مواد اصلاح‌کننده شیمیایی بوده و یا اینکه مواد شیمیایی طی مراحل بعد (مرحله عامل‌دار کردن) درون ساختار پوسته بسپاری قرار می‌گیرند. از آنجایی که لایه‌های بسپاری ضخیم‌تر از موارد قبلی (جذب سطحی و پیوند کوالانسی) هستند لذا می‌توانند هزاران تک‌لایه از مواد اصلاح‌کننده را درون ساختار خود جای دهند. لایه‌های بسپاری را می‌توان با قراردادن الکتروود در محلول بسپار^۱ یا تکپار^۲ روی سطح الکتروود تشکیل داد.

۱-۷-۱-۴- الکتروودهای ترکیبی

در این روش، ماده اصلاح‌کننده به سادگی با مواد بافت الکتروود مخلوط می‌شود. به عنوان مثال می‌توان الکتروودهای خمیر کربن^۳ را نام برد که در آنها ماده اصلاح‌کننده با پودر گرافیت و روغن معدنی به روش فیزیکی مخلوط می‌شود. نمونه‌های دیگر از این نوع، بافت‌های الکتروودی نظیر الکتروود کربن سرامیکی^۴، الکتروودهای کربن مایع یونی^۵، خاک‌های رس^۶ و الک‌های مولکولی^۷ که حاوی ماده اصلاح‌کننده می‌باشند را نام برد [۱۸-۲۵].

^۱ polymer

^۲ Monomer

^۳ Carbon paste electrodes

^۴ Carbon ceramic electrodes

^۵ Carbon ionic liquid electrodes

^۶ Clays

^۷ Molecular sieves

۱-۸- مزایای الکترودهای اصلاح شده شیمیایی

الکترودهای اصلاح شده دارای مزیت‌های زیر می‌باشند [۱۷-۱۹]:

(۱) افزایش حساسیت در اندازه‌گیری

(۲) جریان زمینه‌ی خیلی کم

(۳) افزایش گزینش‌پذیری الکتروده

(۴) اندازه‌گیری چندین ماده در حضور هم

(۵) الکتروکاتالیزوری

(۶) ممانعت از اثرات پوششی و جذب سطحی

(۷) افزایش سرعت انتقال الکترون

۱-۹- کاربرد الکترودهای اصلاح شده شیمیایی

الکترودهای اصلاح شده شیمیایی در زمینه‌های مختلفی از جمله سنتز پلیمرهای فعال الکتروشیمیایی، مطالعات اساسی الکتروکاتالیز، سینتیک انتقال الکترون و نفوذ در غشای الکتروکرومیک (ایجاد خواص نوری در اثر تغییر پتانسیل) و فوتوالکتروشیمی مورد توجه قرار گرفته‌اند. در الکتروشیمی تجزیه‌ای از این الکترودها برای مقاصد نظیر الکتروکاتالیز^۱ [۱۷]، پیش‌تغلیظ^۲ [۱۸]، مایع یا سدغشایی^۳ [۱۹]، ساخت ریزالکترودها^۴ [۲۰] و رهاسازی الکتریکی^۵ [۲۱] استفاده می‌شود.

^۱ Electrocatalysis

^۲ Preconcentration

^۳ Membrane barrier

^۴ Micro-electrodes

^۵ Electro- releasing

۱-۹-۱ - کاتالیزورهای تسریع کننده انتقال الکترون

با تثبیت اصلاح کننده روی سطح الکتروود خواص الکتروود به گونه‌ای تغییر می‌کند که فعالیت الکتروشیمیایی سطح الکتروود نسبت به مبادله الکترون بین گونه الکتروفعال و الکتروود افزایش می‌یابد. از جمله این اصلاح کننده‌ها می‌توان به نانوذرات فلزی، نانولوله‌های کربنی^۱، نانو صفحات گرافیتی^۲ و الکتروودهای نانوحفره فلزی اشاره کرد [۲۲].

۱-۹-۲ - واسطه‌های انتقال الکترون

این نوع الکتروکاتالیزورها به عنوان واسطه انتقال الکترون بین گونه الکتروفعال و سطح الکتروود عمل می‌کنند [۲۳]. شکل (۱-۲) یک مثال نوعی از فرایند الکتروکاتالیزوری در حضور واسطه انتقال الکترون (M) را نشان می‌دهد. واسطه اکسایش-کاهش برگشت پذیر با پتانسیل استاندارد E_{ox}/E_{red} روی سطح الکتروود تثبیت می‌شود و واکنش برگشت ناپذیر $A \rightarrow B^+ + e$ را کاتالیز می‌کند [۱۵]. این شیوه کاتالیزوری نه تنها انتخابی و حساس بوده بلکه سریع و قابل استفاده مجدد نیز می‌باشد.

هگزاسیانوفرات‌های فلزات^۳ واسطه، پلی اکسومتالات‌ها^۴، پورفیرین‌ها^۵، فتالوسیانیین‌ها^۶، بنزوکینون‌ها^۷ و برخی از پلیمرهای رسانا مثال‌های بسیار معروف واسطه‌های انتقال الکترون می‌باشند [۲۲-۲۴]. امروزه پلیمرهای رسانا به عنوان اصلاح کننده‌های سطح الکتروود کاربرد فراوانی دارند، این اصلاح کننده‌ها باعث افزایش سطح و به عنوان واسطه‌های انتقال الکترون عمل می‌کنند.

^۱ Carbon nanotubes

^۲ Graphite nanosheet

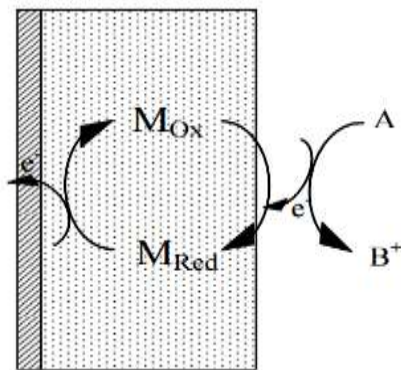
^۳ Metal Hexacyanoferrates

^۴ Polyoxometaltes

^۵ Porphyrins

^۶ Phtalcyanine

^۷ Benzoquinone



شکل (۲-۱) مبادله الکترون بین الکتروود و گونه مورد نظر توسط واسطه انتقال الکترون [۱۵].

۱-۱۰- مواد اصلاح کننده

از ترکیبات شیمیایی آلی و معدنی می‌توان جهت اصلاح سطوح الکتروودها استفاده کرد. در اغلب موارد این ترکیبات الکتروفعال می‌باشند. البته الکتروفعال بودن شرط لازم برای انتخاب یک معرف اصلاح کننده نبوده و در مواردی می‌توان از ترکیبات غیر الکتروفعال به عنوان اصلاح کننده بهره گرفت. در این حالت گونه آزمایشی مورد نظر بر اساس نفوذ انتخابی می‌تواند خود را به سطح الکتروود رسانده و در مبادله الکترون در سطح الکتروود شرکت نماید.

۱-۱۰-۱- کاربازیدها و کاربردهای آنها

کاربازیدها گروه‌هایی با ساختارهای شیمیایی $(RNH-NH(C=O)NH-NHR)$ هستند که کربوهیدرازید^۱ ساده‌ترین کاربازید است، یکی دیگر از کاربازیدهای معمول دی‌فنیل کربازیدها هستند که به عنوان یک واکنشگر مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۵].

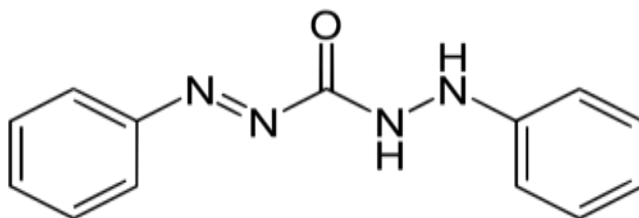
دی‌فنیل کاربازید (یا ۵،۱-دی‌فنیل کاربازید)^۲ مشتق شده از اوره است و در دمای اتاق به عنوان جامد

^۱ Carbohydrazide

^۲ 1,5-diphenylcarbazine

بی بو است و به مقدار کمی در آب حل می‌شود اما در حلال های آلی محلول است. ۵،۱-دی فنیل کاربازید (DPCI) و ۵،۱-دی فنیل کاربازون^۱ (DPCO) ترکیباتی هستند که به صورت گسترده در اهداف بیوشیمیایی و شیمیایی و الکتروشیمیایی مورد استفاده قرار گرفته‌اند، از ۵،۱-دی فنیل کاربازید و ۵،۱-دی فنیل کاربازون و محصول اکسیداسیون آنها ۵،۱-دی فنیل کاربادیازون^۲ برای شناسایی و اندازه گیری تجزیه‌ای یون های فلزی هم چون کروم [۲۶]، قلع [۲۷]، جیوه [۲۸] و اسمیم [۲۹] و ... مورد استفاده قرار گرفته‌اند. براساس واکنش-های پلاروگرافی و کرونوآمپرومتری ۵،۱-دی فنیل کاربازید به ۵،۱-دی فنیل کاربازون و سپس به ۵،۱-دی فنیل کاربادیازون اکسید می‌شود [۳۰].

اصلاحگر مورد استفاده در این مطالعه ۵،۱-دی فنیل کاربازون است (شکل (۳-۱)) که به گروه کاربازون-ها با ساختار (RN=N(C=O)NH-NHR) تعلق دارد و مانند ۵،۱-دی فنیل کاربازید و ۵،۱-دی فنیل کاربازیازون برای شناسایی فلزات [۲۶-۲۹] که در بالا ذکر شد مورد استفاده قرار گرفته است [۳۱].



شکل (۳-۱) ساختار شیمیایی ۵،۱-دی فنیل کاربازون

۱-۱۱- روش‌های متداول الکتروشیمی

روش‌های الکتروشیمیایی تجزیه‌ای به صورت‌های مختلف تقسیم بندی می‌شود. برخی روش‌ها به مطالعه رفتار توده محلول می‌پردازند و مبتنی بر پدیده‌هایی هستند که در داخل محلول اتفاق می‌افتد. در

^۱ 1,5-Diphenylcarbazone

^۲ 1,5-Diphenylcarbadiazone

حالیکه سایر روش‌ها به بررسی تغییراتی می‌پردازند که در فصل مشترک الکتروود و محلول اتفاق می‌افتد. روش‌های فصل مشترک محلول و الکتروود براساس وضعیت تعادلی سل الکتروشیمیایی و حضور یا عدم حضور جریان به دو دسته عمده روش‌های ایستا و پویا تقسیم بندی می‌شود. در روش‌های ایستا اندازه‌گیری اختلاف پتانسیل در یک جریان تقریباً صفر انجام می‌شود. این روش‌ها اطلاعات بسیار مفیدی در رابطه با ترکیب نمونه از طریق اندازه‌گیری پتانسیل ایجاد شده در غشا به دست می‌دهند. روش‌های ایستا شامل اندازه‌گیری‌های پتانسیل سنجی است که به علت گزینش پذیری و سرعت بالا دارای اهمیت هستند. این روش‌ها شامل روش‌های تیتراسیون پتانسیل سنجی و الکتروودهای یون‌گزین می‌باشند. امروزه حسگرهای پتانسیلی برای اندازه‌گیری مستقیم گونه‌های یونی متفاوتی مثل پروتون، کلسیم، فلوراید، پتاسیم و غیره به طور گسترده به کار می‌روند.

با اعمال پتانسیل مناسب در سطح الکتروود می‌توان بسیاری از واکنش‌های الکتروشیمیایی را بررسی کرد. اعمال پتانسیل به دو صورت پل‌های و شیب‌دار صورت می‌گیرد. روند تغییر پتانسیل شیب‌دار با گذشت زمان به صورت پلکانی یا پیوسته است. نحوه‌ی اعمال پتانسیل، نوع الکتروود و شرایط آزمایش روش‌های مختلف ولتامتری را ایجاد کرده است. در تمامی روش‌های ولتامتری، پتانسیل الکتروود کار در طول زمان و یا در هر لحظه دارای مقدار ثابتی می‌باشد، با استفاده از روش‌های متداول الکتروشیمیایی در این پروژه، به بیان اصول و تئوری برخی از این روش‌ها می‌پردازیم [۳۲].

۱-۱۱-۱ - ولتامتری

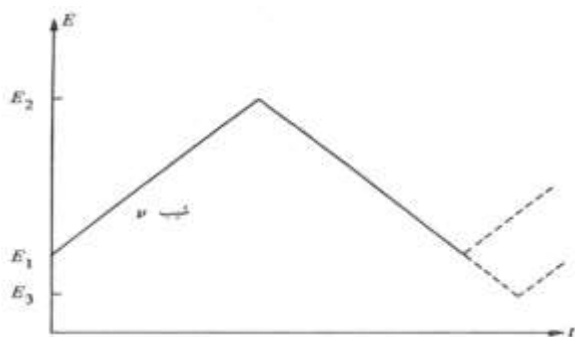
ولتامتری شامل گروهی از روش‌های الکتروشیمیایی تجزیه‌ای است که از اعمال پتانسیلی متغیر با آهنگ ثابت در طول زمان به یک الکتروود و ثبت جریان حاصل برحسب پتانسیل الکتروود به وجود می‌آید. در روش ولتامتری از سیستم سه الکتروودی استفاده می‌شود. ولتامتری جهت اهداف مختلف در شیمی تجزیه به کار برده می‌شود. یکی از کاربردهای مهم آن شناسایی کیفی یک مجهول می‌باشد. روش ولتامتری

بسیار متنوع است که در زیر به دو نوع از آن‌ها اشاره می‌شود.

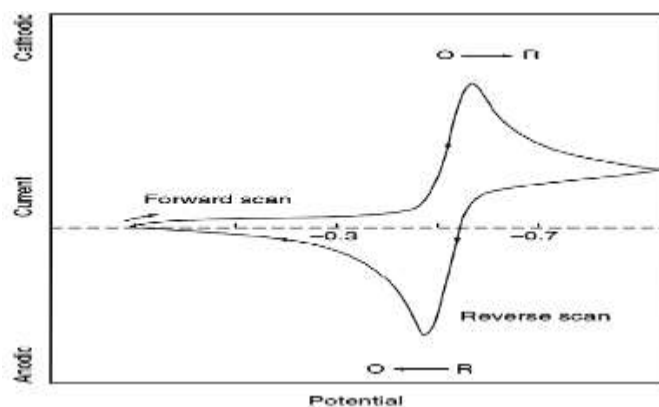
۱-۱۱-۲- ولتامتری چرخه‌ای

روش ولتامتری چرخه‌ای، یکی از بهترین شیوه‌ها در زمینه بررسی مکانیسم واکنش‌ها بر پایه روبش پتانسیل^۱ است. ولتامتری چرخه‌ای به دلیل این قابلیت‌ها تقریباً همیشه به عنوان یک روش مفید برای سیستم‌هایی که اولین بار مطالعه می‌شوند، به کار برده می‌شود [۳۳].

در روش ولتامتری چرخه‌ای پتانسیل از مقدار اولیه E_1 به E_2 روبش می‌شود و سپس مطابق شکل (۴-۱) جهت اعمال پتانسیل تا مقدار E_1 یا E_3 عکس می‌شود. پاسخ ولتامتری چرخه‌ای برای یک زوج برگشت‌پذیر در شکل (۵-۱) نشان داده شده است [۳۳].



شکل (۴-۱) پروفیل‌های پتانسیل-زمان برای ولتامتری چرخه‌ای [۳۳].



شکل (۵-۱) ولتاموگرام چرخه‌ای برای فرایند برگشت‌پذیر [۳۳].

^۱ Potential sweep

در این روش، برای تعیین مکانیسم واکنش‌ها، محدوده روبش پتانسیل و نیز جهت و سرعت آن را تغییر می‌دهند و از روی تاثیر آن بر شکل ولتاموگرام^۱ و پارامترهای وابسته به آن، به مکانیزم فرایند الکترودی پی می‌برند [۳۳].

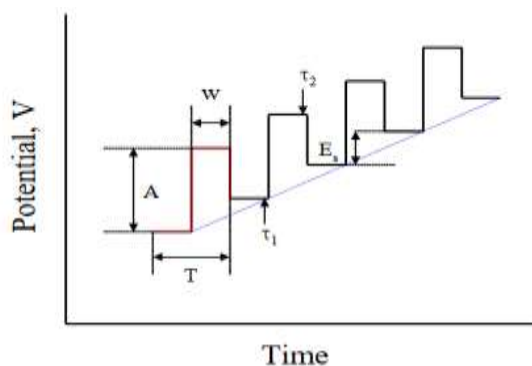
۱-۱۱-۳- روش ولتامتری پالس تفاضلی

ولتامتری با روبش خطی پتانسیل^۲ که با علامت اختصاری (L.S.V) مشخص می‌شود، روشی است که در آن، پتانسیل شیب‌داری را به الکتروود ساکن شناور در محلول ساکن اعمال می‌کنند و تغییرات جریان حاصل را نسبت به پتانسیل الکتروود ثبت می‌نمایند. منحنی به‌دست آمده ولتاموگرام روبش خطی و یا در حالت کلی ولتاموگرام نامیده می‌شود که شکل دماغه‌ای نامتقارنی دارد. در این روش که جزء روش‌های پتانسیواستاتی است از سه الکتروود کار، کمکی و مرجع استفاده می‌شود و بسته به جهت روبش پتانسیل، فرایند الکتروودی و جریان وابسته به آن ممکن است ماهیت آندی یا کاتدی داشته باشد. همچنین ممکن است برای افزایش حساسیت روش، پالس‌هایی را روی پتانسیل شیب‌دار سوار کنند. (شکل (۱-۶)) از شدت جریان قبل از اعمال پالس و پایان عمر پالس نمونه‌برداری می‌شود و تغییرات تفاضل این دو جریان برحسب پتانسیل شیب‌دار اعمال‌شده به الکتروود، ثبت می‌گردد. (شکل (۱-۷)) قبل از رخ دادن هرگونه واکنش فاراده‌ای، این اختلاف جریان مقداراندکی دارد تا اینکه پتانسیل به مقداری می‌رسد که گونه می‌تواند در واکنش فاراده‌ای شرکت کند. هر چه اختلاف شدت جریان قبل و بعد از اعمال پتانسیل بیشتر باشد، نشان دهنده‌ی مقدار حداکثری واکنش گونه‌ی الکتروفعال است. ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی به‌صورت دماغه ظاهر می‌شوند و ارتفاع و شکل دماغه برای استخراج اطلاعات کمی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این روش‌ها علاوه بر اینکه برای مقاصد تجزیه‌ای مناسب‌اند، در اندازه‌گیری سینتیکی نیز کاربرد دارند. ولی چون اندازه‌گیری جریان ۵۰ میلی‌ثانیه پس از اعمال پتانسیل انجام می‌شود، این روش‌ها فقط برای سینتیک‌های

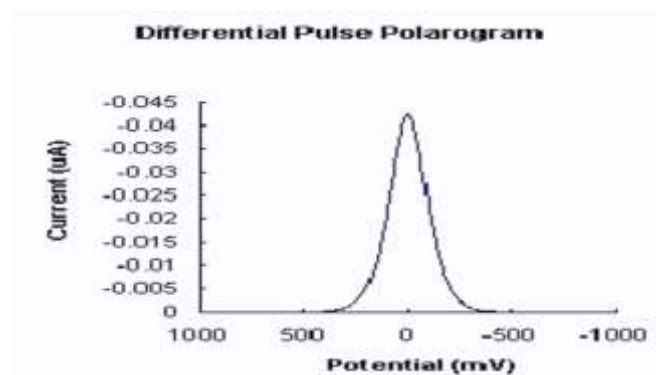
^۱ Voltamogram

^۲ Linear sweep voltammetry

کند مناسب‌اند [۳۲].



شکل (۶-۱) نمودار پتانسیل-زمان برای پالس پلاروگرافی تفاضلی [۳۲].



شکل (۷-۱) ولتاموگرام جریان پتانسیل برای پلاروگرافی پالس تفاضلی [۳۲].

۱-۱۱-۴- کروئوآمپرومتری^۱

در این روش پله پتانسیل را به الکتروود کار اعمال نموده و تغییرات جریان را در طول زمان اندازه می‌گیرند. ارتفاع پله پتانسیل معمولاً طوری انتخاب می‌شود که جریان اندازه‌گیری شده، ماهیت جریان انتشار حد را داشته باشد. در این روش از سه الکتروود کار، کمکی و مرجع استفاده می‌شود و اعمال پله پتانسیل ثابت با استفاده از یک پتانسیواستانجام می‌گیرد. الکتروودهای کار مورد استفاده در کروئوآمپرومتری شامل الکتروودهای جامد و الکتروود کروی قطره جیوه آویزان است [۳۲]. چنانچه فرض شود واکنش الکتروودی

^۱ Chronoamperometry

به وسیله معادله‌ی زیر توصیف شود و در ابتدای آزمایش فقط گونه O در محلول وجود داشته باشد:



آنگاه برنامه پتانسیل به الکتروود کار اعمال می‌شود. E_1 طوری انتخاب می‌شود که O کاهش نیابد یا در واقع هیچ واکنش الکتروودی اتفاق نیفتد. در زمان بعد از $t = 0$ پتانسیل در یک لحظه به مقدار جدید E_2 تغییر داده می‌شود تا سرعت کاهش O با انتشار کنترل گردد. طی چنین آزمایشی، رابطه‌ی جریان-زمان را می‌توان از روی برش‌های غلظت-زمان به دست آمده دریافت نمود. با توجه به این که غلظت سطحی O در پتانسیل حد، برابر صفر است گرادیان غلظتی در مجاورت سطح الکتروود برقرار می‌شود. منطقه‌ای که در آن، محلول از O تهی می‌گردد، به عنوان لایه‌ی انتشار شناخته شده و ضخامت آن با σ نمایش داده می‌شود. گرادیان غلظتی ابتدا شیب تندی دارد و لایه انتشار نازک است. با گذشت زمان، لایه‌ی انتشار گسترش می‌یابد و در نتیجه گرادیان غلظتی کاهش می‌یابد. باید توجه داشت که در این روش به دلیل بی حرکت بودن الکتروود و محلول، شار ترکیب الکترولیز شونده در اثر گسترش ضخامت لایه‌ی انتشار با گذشت زمان کاهش می‌یابد که به صورت کاهش جریان ظاهر می‌شود. در صورتی که شدت جریان اندازه‌گیری شده ماهیت انتشاری داشته باشد، تغییرات آن در طول زمان از معادله‌ی کاترل^۱ پیروی می‌کند.

$$I = nFAD^{1/2}C_b\pi^{-1/2}t^{-1/2} \quad \text{معادله (۲-۱)}$$

در این رابطه n ، F ، A ، D ، C و t به ترتیب عبارتند از: تعداد الکترون‌های شرکت کننده در واکنش اکسایش و کاهش، عدد فارادی (C)، مساحت سطح الکتروود اصلاح شده (cm^2)، ضریب نفوذ ($\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$)، غلظت آنالیت (mol/L) و زمان (s).

این معادله وابستگی شدت جریان را در هر لحظه به غلظت ترکیب آزمایشی، C_b ، نشان می‌دهد. بالاین حال از کرنوآمپرومتری به عنوان یک روش تجزیه‌ای استفاده نمی‌شود و معمولاً با رسم نمودار تغییرات

^۱ Cottrell Equation

$i-t^{-1/2}$ ، که به صورت خط راستی با عرض از مبدأ برابر صفر و شیب $nFAD^{1/2}C_0\pi^{-1/2}$ ظاهر می‌شود، ضریب انتشار D از روی شیب تعیین می‌کنند همچنین از کرنوآمپرومتری برای اندازه‌گیری ضریب انتشار گونه‌های فعال یا مساحت الکترود استفاده می‌شود [۳۲].

۱-۱۱-۵- اسپکتروسکوپی امپدانس IS

اسپکتروسکوپی امپدانس تکنیکی مؤثر جهت بررسی خصوصیات الکترودهای اصلاح شده می‌باشد. امپدانس مقاومت پیچیده‌ای است که به هنگام عبور جریان از یک مدار ایجاد شده است. تبدیلات الکتروشیمیایی انجام گرفته در سطح مشترک الکترو-محلول می‌تواند با استفاده از اجزای مدار معادل الکتریکی که به طیف امپدانس تجربی مربوط می‌شود، مدل سازی شود. آنچه که به ویژه برای مدل سازی پدیده‌های سطح مشترک مفید است، مدل مدار معادل الکتریکی راندلس و ارشلر^۱ می‌باشد.

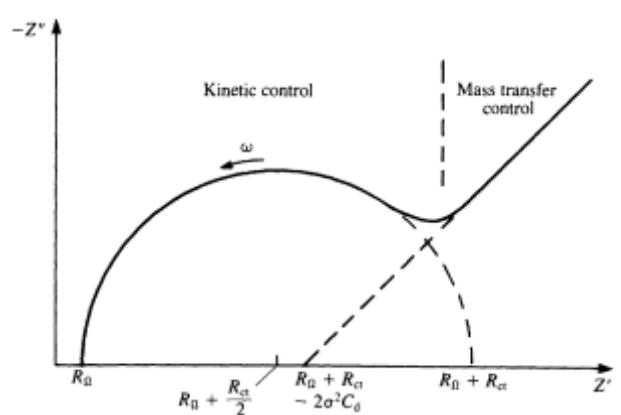
اسپکتروسکوپی امپدانس، متضمن اعمال یک ولتاژ سینوسی با دامنه کوچک به پیل الکتروشیمیایی و اندازه‌گیری جریان است. طیف‌های امپدانس حاصل، موسوم به نمودار نایکوئیست^۲، به وابستگی عدد مجازی به عدد حقیقی مربوط می‌شود و در برگیرنده‌ی اطلاعات وسیع درباره سطح مشترک باردار واکنش انتقال الکترون می‌باشد.

نمودارهای نایکوئیست معمولاً شامل یک نیم دایره‌ی قرار گرفته روی محور است که در ادامه به یک خط مستقیم وصل می‌شود. قسمت نیم دایره (مشاهده شده در فرکانس‌های بالا) به فرآیند محدود شده با انتقال الکترون مربوط می‌شود، در حالی که خط مستقیم (مختص محدوده فرکانس‌های پایین) نشان دهنده فرایند محدود شده با انتقال جرم می‌باشد. چنین طیف‌هایی می‌توانند برای استخراج سینتیک انتقال الکترون و ویژگی‌های انتشار مفید باشند.

^۱ Randless and Ershler

^۲ Nyquist

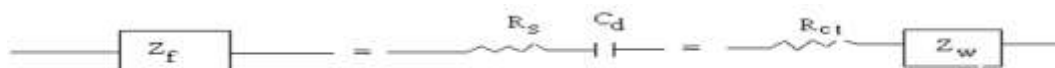
در حالت فرآیندهای با انتقال الکترون بسیار سریع، طیف امپدانس فقط شامل قسمت خطی است، در حالی که در فرآیندهای با انتقال الکترون بسیار کند، طیف با یک منطقه نیم دایره‌ای بزرگ مشخص می‌شود. قطر نیم دایره، برابر با محور Z_{re} ، نماینده مقدار مقاومت انتقال بار (R_s) می‌باشد [۳۴]. هر چه قطر نیم دایره بیشتر، مقاومت انتقال الکترون بیشتر است. مزیت دیگر این تکنیک آن است که می‌توان اطلاعات مقاومتی و خازنی که جز ماهیت هر سیستم الکتروشیمیایی است، را به دست آورد و بر مبنای آن راجع به پدیده‌های الکتروشیمیایی که بر سطح الکتروود انجام می‌پذیرند به بحث و بررسی پرداخت (شکل (۸-۱)). مثلاً خوردگی فلزات و تعیین مکانیزم واکنش‌هایی که مسئول خوردگی هستند با این تکنیک امکان پذیر است. همچنین این امکان وجود دارد که بتوان راجع به ماهیت انتقال بار و جرم در فصل مشترک الکتروود/محلول نیز مطالعه کرد و اگر الکتروود یک نیمه هادی باشد، نوع آن را تعیین نمود.



شکل (۸-۱) نمودار نایکوئیست. قسمت نیم دایره نشان دهنده مقاومت انتقال بار و خط مستقیم نشان دهنده مقاومت انتقال جرم [۳۵].

اساس کار این روش اعمال پتانسیل به سل الکتروشیمیایی و دریافت پاسخ به شکل جریان می‌باشد. اما باید توجه داشت که هر سل الکتروشیمیایی در واقع مجموعه‌ای از مقاومت‌ها (مقاومت محلول، مقاومت پوشش روی الکتروود و...) و خازن‌ها (خازن دو لایه الکتریکی و...) می‌باشد. بنابراین پتانسیل اعمال شده و جریان حاصل، در مدار توزیع می‌گردد و تکنیک امپدانس این توانایی را دارد که مدار معادل را تعیین کرده و هر یک از عناصر آن را مورد ارزیابی قرار دهد.

از مدار معادل برای نشان دادن اینکه چگونه مقاومت‌ها و خازن‌ها به یکدیگر متصل هستند و یک شبکه الکتریکی را به وجود می‌آورند، استفاده می‌شود. برای نمایش مدار معادل در ساده‌ترین حالت می‌توان شکل (۹-۱) را در نظر گرفت که شامل یک مقاومت اهمی برای محلول (R_s)، یک مقاومت انتقال بار (R_{ct}) و خازن دوگانه الکتریکی (C_d) است.



شکل (۹-۱) مدار معادل برای یک سل الکتروشیمیایی، R_s مقاومت محلول، C_d خازن دولایه الکتریکی، Z_f فرکانس اعمالی به دستگاه، R_{ct} مقاومت انتقال بار و Z_w امپدانس واربرگ^۱ می‌باشد [۳۵].

اسپکتروسکوپی امپدانس در محدوده فرکانسی ۱۰۰ kHz - ۰/۱ Hz انجام می‌پذیرد. برای اندازه‌گیری امپدانس لازم است که پتانسیل مستقیم (DC) نیز به سل اعمال شود، این پتانسیل برابر پتانسیلی است که در آن واکنش‌ها و پدیده‌های الکتروشیمیایی مورد نظر انجام می‌شوند [۳۵].

۱-۱۱-۶- محاسبه‌ی پوشش سطحی (Γ)

برای به دست آوردن پوشش سطحی (Γ) می‌توان از رابطه شارپ^۲ [۳۶] برای گونه‌های تثبیت شده در سطح الکترود اصلاح شده استفاده کرد.

$$I_p = n^2 F^2 A \Gamma \nu / 4 RT \quad \text{معادله (۳-۱)}$$

در این معادله R ثابت عمومی گازها ($R=8.314 \text{ J/molK}$)، F ثابت فارادی (96485 C/mol)، T دما برحسب کلوین، ν سرعت روبش پتانسیل برحسب V.s^{-1} ، n تعداد الکترون مبادله شده، I_p جریان دماغه، A مساحت سطح الکترود (cm^2) و Γ غلظت پوشش سطحی (mol.cm^{-2}) می‌باشند.

^۱ Warburg

^۲ Sharp

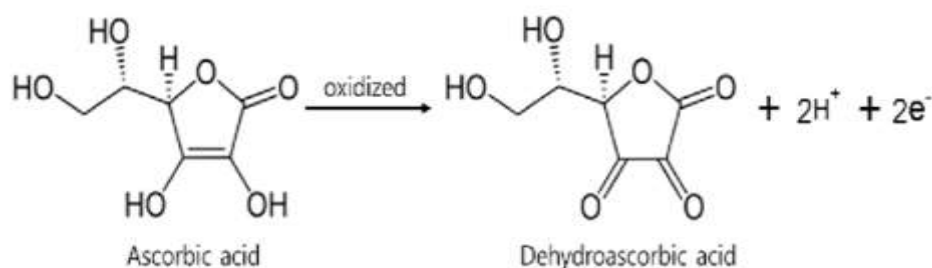
بدین منظور از شیب خط I_p نسبت به v در ولتاموگرام‌های گونه تثبیت شده، Γ تعیین می‌شود.

۱-۱۲- معرفی و اهمیت مواد ترکیبات دارویی بررسی شده در این پایان نامه

برای اندازه‌گیری ترکیبات دارویی تاکنون روش‌های متنوعی گزارش شده است. در این میان روش‌های مبتنی بر استفاده از حسگرهای الکتروشیمیایی دارای مزایایی مانند حساسیت بهتر، گزینش‌پذیری بالاتر، تکرارپذیری بیشتر، سرعت بالاتر و قیمت کمتر می‌باشند. علاوه بر این‌ها حسگرهای الکتروشیمیایی بر پایه الکترودهای اصلاح شده می‌توانند پیک‌های الکتروشیمیایی چند گونه موجود در محلول را از هم جدا کرده و شرایط اندازه‌گیری همزمان این گونه‌ها را فراهم آورند، در حالی که در سطح الکترودهای معمولی پاسخ الکتروشیمیایی این گونه‌ها در پتانسیل‌های نزدیک به هم قرار گرفته و پیک‌های تجزیه‌ای آن‌ها با یکدیگر همپوشانی دارند. در ادامه به معرفی ترکیبات دارویی بررسی شده در این تحقیق پرداخته و اهمیت اندازه‌گیری آن‌ها بیان می‌شود. همچنین روش‌های مختلفی که برای اندازه‌گیری این گونه‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند، معرفی می‌شوند. در میان روش‌های مختلف برای اندازه‌گیری این مواد، روش‌های الکتروشیمیایی انجام شده به وسیله الکترودهای اصلاح شده با جزئیات بیشتری مورد بررسی قرار می‌گیرند.

۱-۱۲-۱- آسکوربیک اسید

آسکوربیک اسید با نام آیوپاک (5R)-[(1S)-1,2-Dihydroxyethyl]-3,4-dihydroxyfuran-2(5H)-one یا (Vitamin C) و فرمول شیمیایی بسته‌ی $C_6H_8O_6$ می‌باشد. آسکوربیک اسید از کاهنده‌های قوی به شمار می‌رود و با از دست دادن دو اتم هیدروژن به دهیدروآسکوربیک اسید تبدیل می‌شود. شکل (۱۰-۱) واکنش الکتروشیمیایی آسکوربیک اسید را نشان می‌دهد.



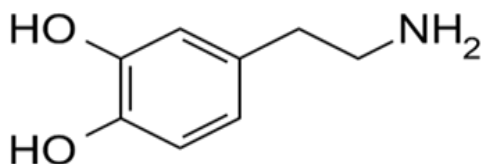
شکل (۱۰-۱) واکنش الکتروشیمیایی اکسایش آسکوربیک اسید.

آسکوربیک اسید از نظر شیمیایی از مشتقات قندها است و بیوسنتز آن از گلوکز و گالاکتوز و یا مشتقات آنها انجام می‌شود. ویتامین C یک ویتامین محلول در آب ضروری برای سنتز و نگهداری کلاژن و مواد داخل سلولی بافت‌های بدن، عروق خونی، غضروف، استخوان‌ها، دندان‌ها، پوست و تاندون‌ها می‌باشد. آسکوربیک اسید به طور گسترده‌ای در ترکیبات آلی طبیعی، غذاها، نوشیدنی‌ها وجود دارد و برای اهداف درمانی با خواص آنتی اکسیدانی استفاده می‌شود. این ترکیب از نیازهای غذایی انسان بوده و کمبود آن موجب بیماری آسکوربورت^۱ می‌شود. و نقش مهمی در پیشگیری و درمان بیماری‌هایی مانند سرطان، سرماخوردگی، آسکوری بیماری‌های روانی، ناباروری، ایدز و هیپاتیت ایفا می‌کند [۳۷].

^۱ Scurvy

۱-۱۲-۲- دوپامین^۱

دوپامین (شکل ۱-۱۱) یکی از مهمترین انتقال دهنده های عصبی است که متعلق به گروه کتکول آمین ها می باشد 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 [۳۸، ۳۹]. همورمون مغزی دوپامین به انسان توانایی و انرژی بیشتری می بخشد که کمبود آن باعث خستگی و بی حوصلگی در افراد می شود [۴۰]. دوپامین در درمان پارکینسون^۲ و اسکیزوفرنی موثر است [۴۱]. دوپامین روی همه فرآیندهای مغز مانند کنترل حرکتی، پاسخ های احساسی و توانایی احساس درد و لذت، تاثیر می گذارد. همچنین اختلال در حد نرمال این دارو ممکن است باعث بیماری های جدی مثل پارکینسون شود [۴۲].



شکل (۱-۱۱) ساختار مولکولی دوپامین

۱-۱۲-۳- استامینوفن

استامینوفن یا ۴-هیدروکسی استانیلید، (شکل (۱-۱۲)) یا پاراستامول^۳ یک مسکن غیرمخدر است که در موارد دردهای خفیف تا متوسط نظیر سردرد، دندان درد، درد خفیف استئوآرتریت (آرتروز^۴) و دردهای ناشی از جراحی های کوچک کاربرد دارد. استامینوفن همچنین تب را کاهش می دهد. مصرف زیاد استامینوفن

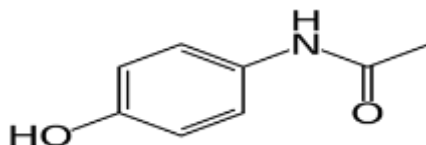
^۱ Dopamine

^۲ Parkinson

^۳ Paracetamol

^۴ Artroz

می‌تواند موجب آسیب کبد شود، در بعضی کشورها این دارو شایع‌ترین علت آسیب حاد کبدی است. استامینوفن یکی از شایع‌ترین داروهایی است که مصرف بیش از حد آن عوارض جدی در بدن به دنبال دارد. این دارو بدون نسخه پزشک قابل دسترس است [۴۳].



شکل (۱-۱۲) ساختار مولکولی استامینوفن

۱-۱۳- مروری بر کارهای انجام شده

۱-۱۳-۱- اندازه‌گیری همزمان آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن

اندازه‌گیری الکتروشیمیایی همزمان آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن به دلیل همپوشانی پیک‌های اکسایشی آن‌ها سخت و تمایز بین پیک‌های آن‌ها در بعضی مواقع غیر ممکن خواهد بود. بنابراین، تعیین الکتروشیمیایی جداگانه و یا همزمان آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن در الکترودهای برهنه بسیار دشوار است. برای این منظور تلاش‌های بسیاری با استفاده از الکترودهای مختلف برای تعیین مقدار دوپامین در حضور آسکوربیک اسید و یا استامینوفن شکل گرفته است، البته تا کنون اندازه‌گیری همزمان استامینوفن و دوپامین به روش‌های مختلفی انجام گرفته‌اند که می‌توان به روش‌های کروماتوگرافی [۴۴-۴۶]، اسپکتروفتومتری^۱ [۴۷، ۴۸]، اسپکترومتری جرمی^۲ [۴۹]، اسپکتروفلوریمتری^۳ [۵۰] و روش‌های الکتروشیمیایی [۵۱-۵۳] اشاره کرد.

^۱ Spectrophotometry

^۲ Mass spectrometry

^۳ spectro-fluorimetry

در این بخش خلاصه‌ای از کارهای انجام شده به روش الکتروشیمیایی آورده شده است.

در سال ۲۰۱۵ چن^۱ و همکارانش آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن را بصورت همزمان با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی بر سطح الکتروود اصلاح شده با گرافن دوپه شده با نیتروژن و نانوذرات اکسید روی و طلا اندازه‌گیری کردند. تحت شرایط بهینه دامنه‌خطی منحنی کالبراسیون و حد تشخیص به ترتیب 3.0×10^{-6} تا 1.3×10^{-3} مولار و 5×10^{-6} مولار برای آسکوربیک‌اسید و به ترتیب 3.0×10^{-6} تا 0.18×10^{-3} مولار و 0.4×10^{-6} مولار برای دوپامین و به ترتیب 5×10^{-6} تا 3×10^{-3} مولار و 0.8×10^{-6} مولار برای استامینوفن گزارش شده است [۵۴].

سلطانی^۲ و همکاران در سال ۲۰۱۴، با استفاده از الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانو ذرات سرب سولفید لایه لایه شده اندازه‌گیری همزمان آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن را از طریق ولتامتری پالس تفاضلی گزارش کردند. حد تشخیص آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن به ترتیب 0.02 ، 0.18 ، و 0.05 میکرومولار و دامنه خطی کالبراسیون آن‌ها به ترتیب $2/5 \times 10^{-6}$ تا $1/0.5 \times 10^{-3}$ ، $5/0 \times 10^{-8}$ تا $2/5 \times 10^{-4}$ و $3/30 \times 10^{-8}$ تا $1/58 \times 10^{-4}$ است [۵۵].

وانگ^۳ و همکارانش در سال ۲۰۰۶ از طریق ولتامتری چرخه‌ای و پالس تفاضلی به‌طور همزمان آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن را در ترکیبات دارویی اندازه‌گیری کردند. در این کار تحقیقاتی الکتروود کربن شیشه‌ای با کربن و نانو ذرات مغناطیسی نیکل اصلاح شد و برای اندازه‌گیری همزمان آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن استفاده شده است. دامنه خطی منحنی کالبراسیون و حد تشخیص به ترتیب $8/7 \times 10^{-6}$ تا $1/1 \times 10^{-4}$ مولار و $0/2$ میکرومولار برای استامینوفن و 4×10^{-6} تا $1/8 \times 10^{-4}$ مولار و $0/3$ میکرومولار برای دوپامین و $1/4 \times 10^{-4}$ تا $1/3 \times 10^{-3}$ و 41 میکرومولار برای آسکوربیک‌اسید به دست

^۱ Chen

^۲ Soltani

^۳ wang

آمد[۵۶].

وانگ و همکارانش در سال ۲۰۱۴، به کمک الکتروود کربن شیشه اصلاح شده با نانو ذرات طلا و گرافن اکساید اندازه‌گیری همزمان آسکوربیک‌اسید، دوپامین و اوریک‌اسید را از طریق ولتامتری پالس تفاضلی گزارش کردند، در این تحقیق دامنه خطی منحنی کالبراسیون و حد تشخیص به ترتیب $۲/۴ \times ۱۰^{-۴}$ تا $۱/۵ \times ۱۰^{-۳}$ مولار و $۵/۱ \times ۱۰^{-۵}$ مولار برای آسکوربیک‌اسید و $۶/۸ \times ۱۰^{-۶}$ تا $۴/۱ \times ۱۰^{-۵}$ تا $۱/۴ \times ۱۰^{-۶}$ مولار و دوپامین به دست آمد[۵۷].

لیو^۱ و همکارانش در سال ۲۰۱۳ از طریق ولتامتری چرخه‌ای و پالس تفاضلی به‌طور همزمان آسکوربیک‌اسید، دوپامین، استامینوفن و اوریک‌اسید را در ترکیبات دارویی اندازه‌گیری کردند. در این کار تحقیقاتی الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده نانوذرات فروسن تیولات و تثبیت شده با نانوذرات آهن(III)-اکسید و لایه‌های گرافن برای اندازه‌گیری همزمان آسکوربیک‌اسید، دوپامین، استامینوفن و اوریک‌اسید استفاده شده است. دامنه خطی منحنی کالبراسیون و حد تشخیص به ترتیب $۴/۰ \times ۱۰^{-۴}$ تا $۴/۰ \times ۱۰^{-۶}$ مولار و $۱/۰$ میکرومولار برای آسکوربیک‌اسید، $۰/۵ \times ۱۰^{-۶}$ تا $۵۰/۰ \times ۱۰^{-۶}$ مولار و $۰/۱$ میکرومولار برای دوپامین، $۰/۳۰ \times ۱۰^{-۶}$ تا $۲/۵ \times ۱۰^{-۴}$ و $۰/۰۵$ میکرومولار برای استامینوفن و $۱/۰ \times ۱۰^{-۶}$ تا $۳/۰ \times ۱۰^{-۴}$ و $۰/۲$ میکرومولار برای اوریک‌اسید به دست آمد[۵۸].

تایی^۲ و همکارانش در سال ۲۰۱۶ از طریق ولتامتری چرخه‌ای و پالس تفاضلی به‌طور همزمان آسکوربیک‌اسید، نوراپی‌نفرین، استامینوفن و تریپتوفان را در ترکیبات دارویی اندازه‌گیری کردند. در این کار تحقیقاتی الکتروود کربن شیشه‌ای با پلیمر تریپان آبی اصلاح و برای اندازه‌گیری همزمان آسکوربیک‌اسید، نوراپی‌نفرین، استامینوفن و تریپتوفان استفاده شده است. دامنه خطی منحنی کالبراسیون و حد تشخیص

^۱ Liu

^۲ Taei

به ترتیب $0/2 \times 10^{-6}$ تا $5/30 \times 10^{-4}$ مولار و $0/1$ میکرومولار برای استامینوفن، به $0/1 \times 10^{-6}$ تا $5/60 \times 10^{-4}$ مولار و $0/06$ میکرومولار برای نوراپی نفرین، $1/0 \times 10^{-6}$ تا $6/30 \times 10^{-6}$ و $0/1$ میکرومولار برای آسکوربیک اسید و $1/0 \times 10^{-6}$ تا $3/45 \times 10^{-6}$ و $0/8$ میکرومولار برای تریپتوفان به دست آمد [۵۹].

دانشی‌نژاد^۱ و همکاران در سال ۲۰۱۵، با استفاده از الکتروود کربن شیشه اصلاح شده با سلوکروم بلاک تی اندازه گیری همزمان دوپامین و استامینوفن به روش ولتامتری پالس تفاضلی را گزارش کردند. دامنه خطی منحنی و حد تشخیص به ترتیب $0/2 \times 10^{-6}$ تا $50/0 \times 10^{-6}$ مولار و $0/09 \times 10^{-6}$ مولار برای دوپامین و $0/5 \times 10^{-6}$ تا $50/0 \times 10^{-6}$ تا مولار و $0/14 \times 10^{-6}$ مولار برای استامینوفن به دست آمده است [۶۰]. لیو^۲ و همکارانش در سال ۲۰۱۶ از طریق ولتامتری چرخه‌ای و پالس تفاضلی به‌طور همزمان استامینوفن و دوپامین را در ترکیبات دارویی اندازه‌گیری کردند. در این کار تحقیقاتی الکتروود کربن شیشه‌ای با سولفیت آهن و نانو لایه‌های گرافن اکساید اصلاح و برای اندازه‌گیری همزمان دوپامین و استامینوفن استفاده شده است. دامنه خطی منحنی کالبراسیون و حد تشخیص به ترتیب $2/0 \times 10^{-6}$ تا $2/50 \times 10^{-4}$ مولار و $0/098$ میکرومولار برای دوپامین و $5/0 \times 10^{-6}$ تا $3/00 \times 10^{-4}$ و $0/18$ میکرومولار برای استامینوفن به دست آمد [۶۱].

اصلاح‌گر مورد استفاده در این مطالعه ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون است. گزارشی مبنی بر استفاده از این ترکیب به عنوان اصلاح‌گر در تحقیقات علمی یافت نشد. حسگر الکتروشیمیایی تهیه شده بعد از انجام مطالعات بهینه‌سازی برای اندازه‌گیری همزمان آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن مورد استفاده قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان دهنده تاثیر ویژه ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون، بر افزایش حساسیت اندازه‌گیری الکتروشیمیایی آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن و نیز بهبود حد تشخیص اندازه‌گیری این داروها می‌باشد.

^۱ Daneshinejad

^۲ Liu

فصل دوم بخش تجربی

۲-۱- مقدمه

در این مطالعه، یک حسگر الکتروشیمیایی حساس برای اندازه‌گیری همزمان آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن بر پایه‌ی الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با ۱،۵-دی‌فنیل‌کاربازون ساخته شد. پارامترهای شیمیایی و دستگاهی مورد بررسی قرار گرفت و برای اندازه‌گیری همزمان آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن بهینه شد. در نهایت توانایی این حسگر برای اندازه‌گیری آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن در نمونه‌های حقیقی مانند قرص، سرم خون و آب شهر توسط روش ولتامتری پالس تفاضلی مورد ارزیابی قرار گرفت.

در این فصل ابتدا دستگاه‌ها و مواد شیمیایی استفاده شده معرفی می‌گردد. سپس تهیه‌ی محلول‌ها و نیز روش اندازه‌گیری آنالیت‌ها در بررسی پارامترهای مختلف بیان می‌شود. در نهایت تهیه الکتروود و کاربرد الکتروود در اندازه‌گیری نمونه‌های حقیقی مورد بررسی قرار می‌گیرد.

۲-۲- دستگاه‌ها و تجهیزات

در این تحقیق اندازه‌گیری‌های الکتروشیمیایی با استفاده از دستگاه پتانسیواستات مدل Palm sens، ساخت کشور هلند و مجهز به سل سه الکتروودی شامل الکتروود مرجع نقره/نقره کلرید (اشباع)، الکتروود کمکی پلاتین و الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده به عنوان الکتروود کار انجام شده است. تمامی الکتروودها ساخت شرکت آذر الکتروود ایران می‌باشند. از pH متر مترآهم^۱ مدل ۷۸۰ مجهز به یک الکتروود مرکب شیشه-کالومل برای اندازه‌گیری pH و ترازوی تجزیه‌ای سارتوریوس^۲ مدل A200S برای توزین استفاده شد.

۲-۳- مواد شیمیایی

در این تحقیق، برای تهیه‌ی محلول‌های مورد نیاز و ساخت الکتروودها، کلیه واکنشگرها و مواد مورد

^۱ Metrohm

^۲ Sartorius analytic

استفاده با خلوص تجزیه‌ای از شرکت‌های تولید کننده معتبر خریداری شدند و در جدول (۱-۲) خلاصه شده است.

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

شرکت	فرمول شیمیایی	درصد خلوص	مواد
مرک ^۱	C ₈ H ₁₁ NO ₂	>۹۸	دوپامین هیدروکلراید
مرک	C ₈ H ₉ NO ₂	>۹۹	استامینوفن
مرک	C ₆ H ₈ O ₆	>۹۹	آسکوربیک اسید
مرک	K ₂ HPO ₄	۹۹	دی پتاسیم هیدروژن فسفات
مرک	KH ₂ PO ₄	۹۹	پتاسیم دی هیدروژن فسفات
مرک	K ₃ Fe(CN) ₆	>۹۹	پتاسیم هگزاسیانو فرات
مرک	K ₄ Fe(CN) ₆	>۹۹	پتاسیم هگزاسیانو فریت
مرک	KCl	۹۹	پتاسیم کلرید
مرک	CH ₃ OH	۹۶	اتانول
مرک	NaOH	۹۷	سدیم هیدروکسید
مرک	Al ₂ O ₃	—	پودر آلومینا
مرک	H ₃ PO ₄	۸۵	فسفریک اسید
مرک	H ₂ SO ₄	۹۸	سولفوریک اسید
مرک	C ₈ H ₅ KO ₄	۹۹/۹	پتاسیم هیدروژن فتالات
مرک	C ₁₃ H ₁₂ N ₄ O	>۹۹	۵،۱-دی فنیل کاربازون

۲-۴- محلول‌های مورد نیاز

بررسی‌ها در محلول بافر، به عنوان الکترولیت حامل و تنظیم کننده pH محیط (جهت کار در pH کنترل شده)، انجام گردید. برای تهیه تمام محلول‌ها از آب مقطر استفاده گردید. محلول‌های ساخته شده عبارتند از:

محلول بافر فسفات در pHهای مختلف (۳/۰-۸/۰)، از مخلوط کردن محلول‌های ۰/۰۶۷ مولار پتاسیم دی هیدروژن فسفات، دی پتاسیم هیدروژن فسفات و فسفریک اسید تهیه و تنظیم pH محلول‌های

^۱ Merck

بافر تهیه شده توسط دستگاه pH متر انجام شد.

محلول بافر سیتراتی ($pH = 5.0 - 6.0$) از مخلوط کردن حجم‌های لازم از سدیم سیترات 0.20 مولار و

استیک‌اسید 0.10 مولار تهیه و pH محلول‌های بافر تهیه شده توسط دستگاه pH متر انجام شد.

محلول بافر فتالاتی ($pH = 5.0 - 6.0$) از مخلوط کردن محلول 0.10 مولار پتاسیم هیدروفتالات و

محلول سدیم هیدروکسید 0.10 مولار تهیه و تنظیم pH محلول‌های بافر تهیه شده توسط دستگاه pH متر تنظیم گردید.

محلول مادر $10^{-3} \times 1/0$ مولار آسکوربیک‌اسید از حل کردن 0.176 گرم آسکوربیک‌اسید در یک بالن

حجمی $100/0$ میلی‌لیتری در آب مقطر به طور روزانه تهیه گردید.

محلول مادر $10^{-3} \times 1/0$ مولار استامینوفن از حل کردن 0.151 گرم استامینوفن در یک بالن حجمی

$100/0$ میلی‌لیتری در آب مقطر به طور روزانه تهیه گردید. محلول $10^{-4} \times 1/0$ مولار استامینوفن روزانه از رقیق‌سازی محلول مادر تهیه شد.

محلول مادر $10^{-3} \times 1/0$ مولار دوپامین هیدروکلراید از حل کردن 0.189 گرم دوپامین هیدروکلراید

در یک بالن حجمی $100/0$ میلی‌لیتری در آب مقطر به طور روزانه تهیه گردید. محلول $10^{-4} \times 1/0$ مولار دوپامین روزانه از رقیق‌سازی محلول مادر تهیه شد.

محلول مادر $10^{-3} \times 1/0$ مولار ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون از حل کردن 0.24 گرم ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون

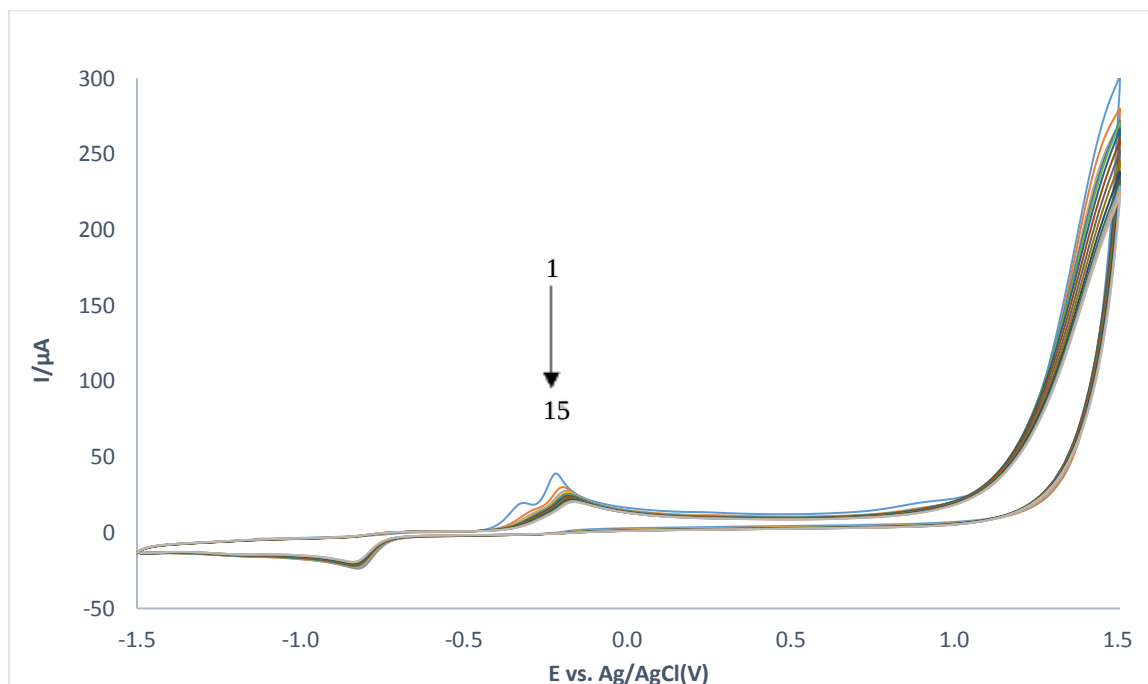
در یک بالن حجمی $100/0$ میلی‌لیتری در آب مقطر تهیه گردید.

۲-۵- تهیه الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون (DPCO)

برای تهیه الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون (GC/DPCO) بدین صورت

عمل شد: ابتدا، سطح الکتروود کربن شیشه‌ای (GCE) 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 سایش مخصوص الکتروُد، به طور مکانیکی آماده شد. بعد از این مرحله، برای برطرف کردن ذرات آلومینای روی سطح که از طریق فیزیکی جذب شده بودند، الکتروُد در مخلوط آب مقطر و اتانول وارد شده و به مدت ۵ دقیقه در حمام فراصوت قرار گرفت. در نهایت به منظور اصلاح سطح الکتروُد، الکتروُد به سل حاوی $5/0$ میلی لیتر مخلوط $2/0$ میلی مولار $5,1$ -دی فنیل کاربازون و $0/10$ مولار سود منتقل شد. تعداد ۱۵ چرخه متوالی به روش ولتامتری چرخه‌ای در محدوده $-1/5$ تا $+1/5$ ولت نسبت به الکتروُد مرجع نقره/نقره کلرید با سرعت 100 میلی ولت بر ثانیه صورت گرفت. سپس الکتروُد از محلول خارج و با آب مقطر شستشو داده شد تا هر گونه ناخالصی از سطح آن پاک شود و به منظور اطمینان از عدم حضور گونه‌های جذب سطحی شده در سطح و رسیدن به یک پاسخ نسبتاً ثابت الکتروُد کربن شیشه‌ای اصلاح شده در محلول سود $0/10$ مولار قرار داده شد و روبش پتانسیل در محدوده $-1/5$ تا $+1/5$ ولت به تعداد ۵ چرخه متوالی به روش ولتامتری چرخه‌ای انجام و این الکتروُد اصلاح شده GC/DPCO نام گذاری شد. ولتاموگرام‌های چرخه‌ای متوالی طی اصلاح الکتروُد کربن شیشه‌ای در شکل (۱-۲) نشان داده شده است. همان طور که در شکل دیده می شود یک دماغه اکسایش در $0/22$ - ولت طی فرایند اصلاح الکتروُد دیده می شود که می تواند مربوط به واکنش اکسایش گروه کاربازید باشد. روبش پتانسیل در چرخه‌های متوالی در محلول $5,1$ -دی فنیل کاربازون می تواند منجر به تشکیل لایه نازک از $5,1$ -دی فنیل کاربازون در سطح الکتروُد شود. [۳۱].



شکل (۱-۲) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای متوالی محلول حاوی ۰/۰۰۲ مولار ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون و ۰/۱۰ مولار سود، ۱۵ روبش متوالی در محدوده ۱/۵- تا ۱/۵+ ولت نسبت به الکترود مرجع نقره/نقره کلرید در سطح GCE با سرعت ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه.

به‌منظور مقایسه، سطح الکترود به‌صورت زیر با NaOH نیز اصلاح شد. به این صورت عمل شد که :

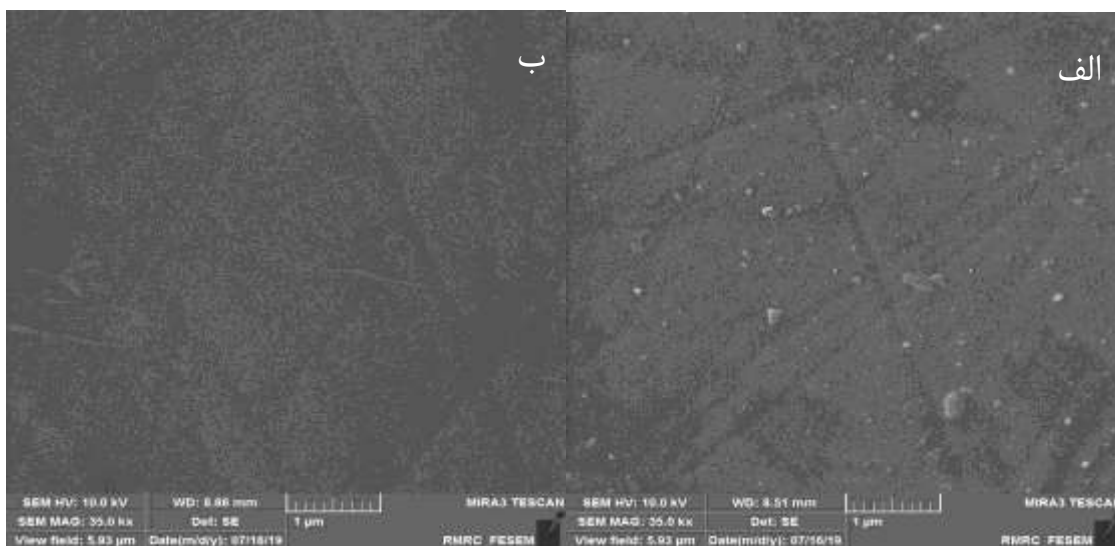
الکترود بعد از آماده‌سازی در محلول ۰/۱ مولار NaOH قرار داده شده و به روش ولتامتری چرخه‌ای الکترود طی ۲۰ چرخه متوالی در محدوده ۱/۵- تا ۱/۵+ تحت روش پتانسیل قرار گرفت، این الکترود GC/NaOH نامگذاری شد.

۲-۶- مشخصه یابی الکترود اصلاح شده

۲-۶-۱- بررسی مورفولوژی سطح الکترود

برای بررسی تغییرات ایجاد شده در سطح الکترود در نتیجه‌ی اصلاح سطح الکترود توسط لایه ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون، تصویر سطح الکترودهای کربن شیشه‌ای اصلاح‌شده با لایه نازک ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون و کربن شیشه‌ای برهنه (GCE) به روش تصویربرداری میکروسکوپ روبش الکترونی^۱ (SEM) ثبت گردید.

^۱ Scanning electron microscopy



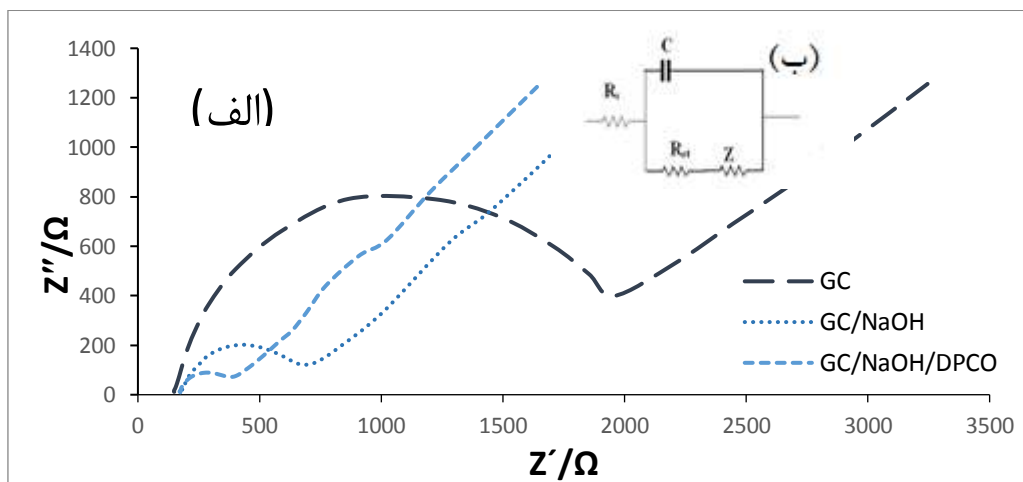
شکل (۲-۲) تصاویر SEM (الف NaOH/GCE و ب) DPCO /GCE.

همان‌طور که در شکل (۲-۲) مشاهده می‌شود سطح الکتروود برهنه کربن شیشه‌ای پس از الکتروشیمیای ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون به‌طور یکنواخت پوشانده شده است.

۲-۶-۲- اسپکتروسکوپی آمپدانس

به منظور تعیین میزان مقاومت انتقال بار بین واکنشگر و سطح الکتروود، آزمایش‌های اسپکتروسکوپی آمپدانس الکتروشیمیایی در پتانسیل مدار باز و از فرکانس‌های زیاد (۱۰۰ KHz) به کم (۰/۱ Hz) در محلول ۰/۱ مولار پتاسیم کلرید حاوی $K_2Fe(CN)_6$ ۵/۰ میلی‌مولار و $K_3Fe(CN)_6$ ۵/۰ میلی‌مولار انجام شد. شکل (۳-۲) نمودارهای نایکوئست مربوط به الکترودهای کربن شیشه‌ای و الکتروود کربن شیشه اصلاح شده با ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون را نشان می‌دهد که نمودار شامل دو قسمت نیم دایره و خط راست است که قطر نیم دایره نشان دهنده مقاومت انتقال بار (R_{ct}) و خط راست نشان دهنده مقاومت انتقال جرم می‌باشد [۳۵]. تفاوت واضحی بین قطرهای نیم دایره در فرکانس‌های بالا دیده می‌شود. مقدار مقاومت انتقال بار زوج $K_3Fe(CN)_6 / K_2Fe(CN)_6$ روی الکتروود برهنه کربن شیشه‌ای (۱۴۰۰ اهم) و الکتروود اصلاح شده به

وسیله‌ی سود (۴۶۷ اهم) و الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با ۵،۱-دی فنیل کاربازون (۱۹۱ اهم) می‌باشد، که نشان‌دهنده افزایش سرعت انتقال الکترون با اصلاح سطح الکتروود می‌باشد. کاهش میزان مقاومت انتقال بار در سطح الکتروود اصلاح شده نسبت به الکتروود برهنه را می‌توان به خاصیت الکتروکاتالیزوری ۵،۱-دی فنیل کاربازون در سطح الکتروود نسبت داد.



شکل (۲-۳) (الف) نمودار نایکونیست مربوط به الکتروود GC، الکتروود GC/NaOH و الکتروود GC/DPCO. (ب) نمایش طرح نموداری مدار معادل شده.

۲-۶-۳- اندازه‌گیری مساحت سطح الکتروود اصلاح شده و مقایسه آن با الکتروود

برهنه کربن شیشه‌ای

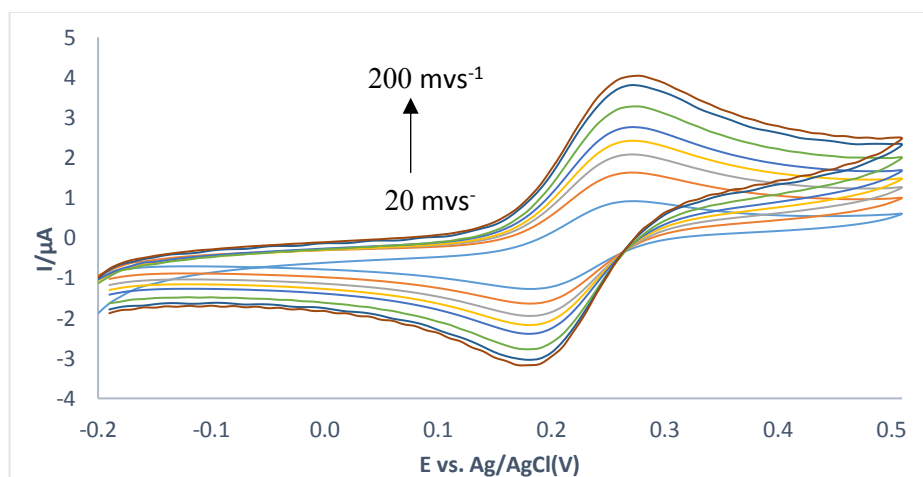
سطح واقعی الکتروود یکی از پارامترهایی است که به‌طور مستقیم روی جریان حاصل از یک واکنش الکتروودی اثر می‌گذارد. برای به‌دست آوردن سطح مؤثر و فعال الکتروود، ولتاگرام‌های چرخه‌ای محلول ۰/۴ میلی‌مولار پتاسیم فری سیانید $K_3Fe(CN)_6$ در سرعت روبش‌های مختلف در محدوده ۲۰۰ تا ۵۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه ثبت گردید. مساحت سطح فعال الکتروود با به‌کارگیری معادله راندلز - سویک^۱ (معادله ۲-۱) محاسبه گردید. در این معادله I_{pa} جریان دماغه آندی، n تعداد الکترون، A مساحت سطح الکتروود بر

^۱ Randles-sevcik

حسب cm^2 , D ضریب نفوذ گونه الکتروفعال بر حسب $\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$, C غلظت در توده محلول بر حسب مولار و v سرعت روبش می‌باشند.

$$I_{pa} = (2/687 \times 10^5) n^{3/2} A D^{1/2} C_{RV}^{1/2} \quad \text{معادله (۱-۲)}$$

از شیب خط نمودار I_{pa} بر حسب $v^{1/2}$ برای اندازه‌گیری مساحت سطح الکترود استفاده شد. D_R برای پتاسیم فری سیانید در غلظت $0/4$ میلی‌مولار برابر $4/41 \times 10^{-7}$ می‌باشد. شیب نمودار تغییرات جریان بر حسب جذر سرعت روبش برابر با $6/7 \times 10^{-5}$ به‌دست آمد. اندازه‌گیری سطح مؤثر الکترود با استفاده از این معادله نشان داد که سطح مؤثر الکترود در حضور اصلاح گر ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون $0/50$ سانتیمتر مربع می‌باشد. بررسی مشابهی در سطح الکترون کربن شیشه‌ای برهنه انجام شد و با استفاده از شیب نمودار تغییرات جریان بر حسب جذر سرعت روبش برابر با $3/4 \times 10^{-5}$ به‌دست آمد. مساحت سطح مؤثر الکترود کربن شیشه برابر با $0/24$ سانتی‌متر مربع محاسبه شد. نتایج به‌دست آمده نشان دهنده‌ی افزایش دوبرابری در مساحت سطح الکتروفعال الکترود اصلاح شده می‌باشد.

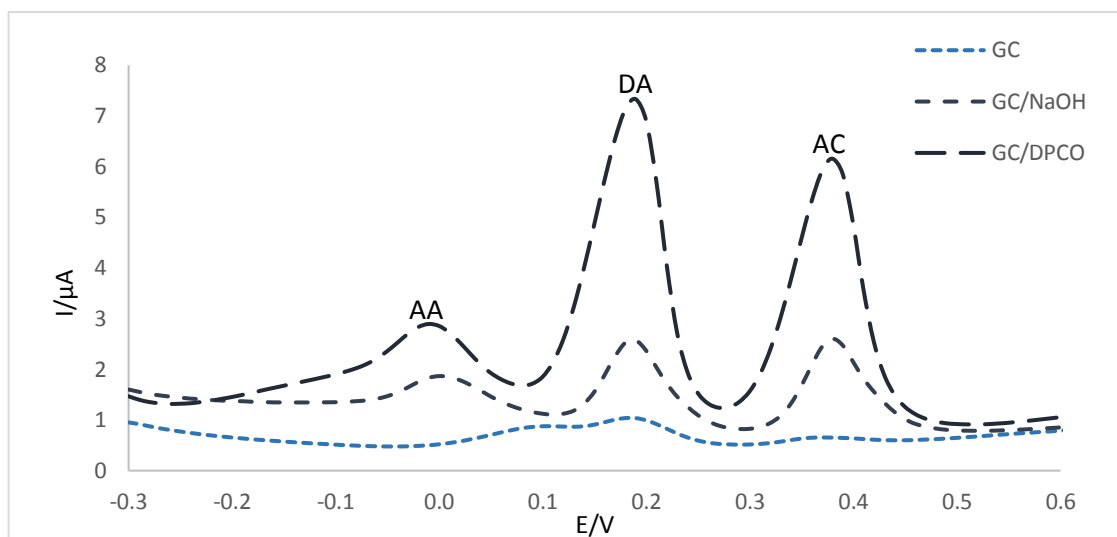


شکل (۴-۲) ولتاگرام چرخه‌ای الکترود اصلاح شده با ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون در محلول $0/4$ میلی‌مولار $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ در سرعت‌های روبش متفاوت.

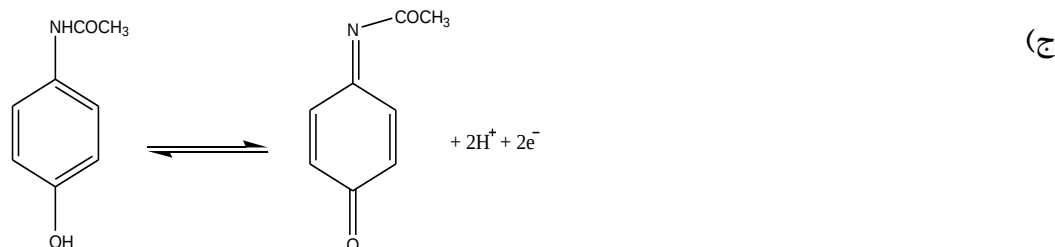
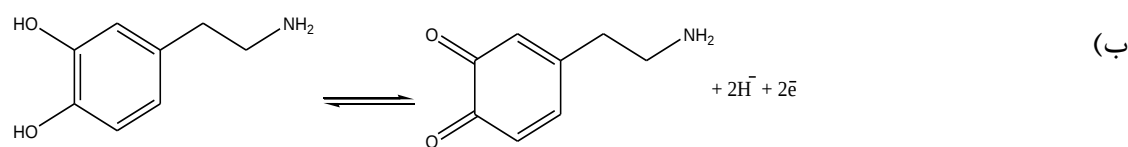
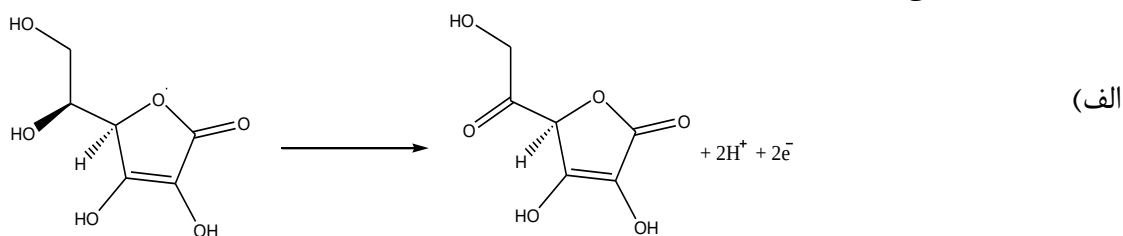
۲-۶-۴- بررسی رفتار الکتروشیمیایی الکتروود اصلاح شده در اندازه‌گیری همزمان

آسکوربیک، دوپامین و استامینوفن

ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی شکل (۵-۲) مربوط به الکتروود کربن شیشه‌ای برهنه (GC)، الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با سود (GC/NaOH) و اصلاح شده با ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون (GC/DPCO) در حضور آسکوربیک‌اسید ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین ۵/۰ میکرومولار و استامینوفن ۵/۰ میکرومولار را نشان می‌دهد. سه دماغه اکسایشی مشاهده شده در ۰/۱-، ۰/۱۹ و ۰/۳۸ ولت به ترتیب مربوط به آسکوربیک‌اسید (AA)، دوپامین (DA) و استامینوفن (AC) می‌باشد. همانطور که در شکل (۵-۲) مشاهده می‌شود، دماغه اکسایشی آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن در سطح الکتروود GC برهنه با حساسیت بسیار کمتری نسبت به الکتروود GC/NaOH و الکتروود GC/DPCO مشاهده می‌شود. همچنین پتانسیل اکسایشی آسکوربیک‌اسید در اثر اصلاح الکتروود با DPCO به سمت پتانسیل‌های منفی جابه‌جا می‌شود. افزایش جریان اکسایشی و جابه‌جایی در پتانسیل دماغه‌های آندی آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن را می‌توان به افزایش سطح مؤثر الکتروود و خاصیت الکتروکاتالیزری فیلم ایجاد شده در سطح الکتروود نسبت داد. واکنش‌های مربوط به اکسایش الکتروشیمیایی آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن در سطح الکتروود در شکل (۶-۲) نشان داده شده است [۵۹، ۶۰].



شکل (۲-۵) ولتاگرام‌های پالس تفاضلی مربوط به الکتروده GC و الکتروده GC/NaOH و GC/DPCO در حضور آسکوربیک اسید (AA) ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین (DA) ۵۰/۰ میکرومولار و استامینوفن (AC) ۵۰/۰ میکرومولار در بافر فسفاتی pH = ۶/۰. سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه برای ولتامتری پالس تفاضلی. روش تهیه GC/NaOH: ۲۰ چرخه در محدوده پتانسیل ۱/۵- تا ۱/۵ ولت در محلول ۰/۱ مولار سود. روش تهیه GC/DPCO: ۱۵ چرخه در محدوده پتانسیل ۱/۵- تا ۱/۵ ولت در محلول ۰/۱ مولار سود و ۲/۰ میلی‌مولار ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون



شکل (۲-۶) واکنش اکسایش الکتروشیمیایی (الف) آسکوربیک اسید (ب) دوپامین (ج) استامینوفن [۶۴، ۶۵].

۲-۷- بررسی و بهینه‌سازی متغیرهای مؤثر بر اندازه‌گیری الکتروشیمیایی

آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن

به منظور به دست آوردن بهترین حساسیت و در نتیجه بهترین حد تشخیص، متغیرهای مؤثر بر بزرگی جریان دماغه آندی آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن مورد بررسی قرار گرفتند. برای این منظور از روش بهینه‌سازی یک متغیر در یک زمان استفاده گردید. در این روش همه متغیرها ثابت در نظر گرفته می‌شود و فقط پارامتری که بایستی بهینه شود تغییر داده می‌شود.

پارامترهایی که در این پروژه مورد بررسی قرار گرفتند عبارتند از: غلظت اصلاح‌گر، تعداد چرخه‌های اصلاح، pH، نوع بافر، حجم بافر، ارتفاع پالس و سرعت روبش.

برای بهینه‌سازی پارامترها به صورت زیر عمل شد: به یک بالن ۵/۰ میلی‌لیتری، ۲/۰ میلی‌لیتر بافر فسفاتی با pH=۶/۰، ۲۵۰/۰ میکرولیتر از محلول آسکوربیک‌اسید با غلظت ۱۰۰۰/۰ میکرومولار، ۲۵۰/۰ میکرولیتر از محلول دوپامین با غلظت ۱۰۰/۰ میکرومولار و ۲۵۰/۰ میکرولیتر از محلول استامینوفن با غلظت ۱۰۰/۰ میکرومولار اضافه گردید. سپس با آب مقطر به حجم رسانده و محلول تهیه شده به سل الکتروشیمیایی منتقل شد. بعد از قرار دادن الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده در محلول، به روش ولتامتری پالس تفاضلی در ارتفاع پالس ۸۰ میلی‌ولت و با سرعت ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه در دامنه ۰/۳- تا ۰/۶ ولت، روبش پتانسیل به سمت پتانسیل‌های مثبت انجام و شدت جریان ثبت گردید. برای محلول شاهد همانند روش فوق عمل شد، با این تفاوت که به محلول شاهد گونه‌ای مورد اندازه‌گیری اضافه نگردید. هر آزمایش سه بار انجام شد و میانگین شدت سیگنال در پتانسیل‌های ۰/۱-، ۰/۱۹ و ۰/۳۸ ولت برای محلول‌های شاهد و نمونه ثبت گردید و اختلاف ($\Delta i = i_s - i_b$) آن‌ها به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در نظر گرفته شد. تمام آزمایش‌ها در دمای اتاق انجام شد.

۲-۷-۱- بررسی غلظت ۵،۱-دی فنیل کاربازون

برای بررسی اثر غلظت ۵،۱-دی فنیل کاربازون در تهیه الکتروود اصلاح شده بر شدت جریان دماغه آندی گونه‌های مورد نظر، غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۴/۰ میلی مولار این ترکیب مورد بررسی قرار گرفت. به صورت زیر عمل شد :

ابتدا الکتروود کربن شیشه‌ای با استفاده از سود ۰/۱ مولار طبق بخش ۲-۶-۴ اصلاح و سگینال تجزیه‌ای برای گونه‌های مورد اندازه‌گیری ثبت شد، سپس الکتروود کربن شیشه‌ای درون محلول ۵،۱-دی فنیل کاربازون با غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۴/۰ میلی مولار قرار گرفت و به کمک ولتامتری چرخه‌ای تعداد ۱۵ چرخه در دامنه‌ی ۱/۵- تا ۱/۵+ ولت نسبت به الکتروود مرجع (Ag/AgCl) و با سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه ثبت گردید تا الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با ۵،۱-دی فنیل کاربازون به روش الکتروشیمیایی تهیه شد. به یک بالن ۵/۰ میلی‌لیتری، ۲/۰ میلی‌لیتر بافر فسفاتی با $\text{pH}=6/0$ ، ۲۵۰/۰ میکرولیتر از محلول آسکوربیک اسید با غلظت ۱۰۰۰/۰ میکرومولار، ۲۵۰/۰ میکرولیتر از محلول دوپامین با غلظت ۱۰۰/۰ میکرومولار و ۲۵۰/۰ میکرولیتر از محلول استامینوفن با غلظت ۱۰۰/۰ میکرومولار اضافه گردید. سپس با آب مقطر به حجم رسانده و محلول تهیه شده به سل الکتروشیمیایی منتقل شد. بعد از قرار دادن الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده در محلول فوق، به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی در ارتفاع پالس ۸۰ میلی‌ولت و با سرعت ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه در دامنه ۰/۳- تا ۰/۶ ولت روبش پتانسل به سمت پتانسیل‌های مثبت انجام و شدت جریان ثبت گردید. برای محلول شاهد همانند روش فوق عمل شد، با این تفاوت که به محلول شاهد گونه‌ای مورد اندازه‌گیری اضافه نگردید.

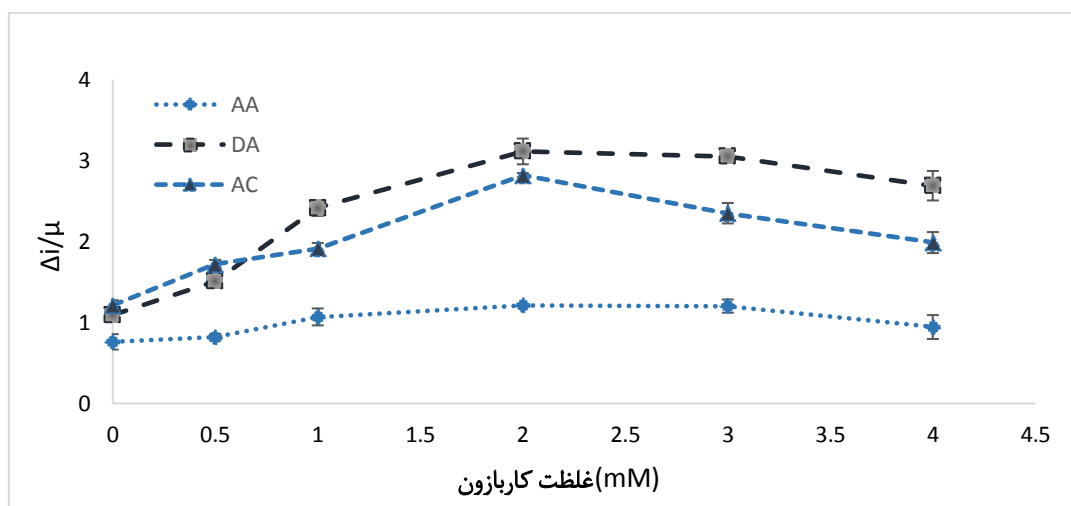
همانطور که در شکل (۲-۷) مشاهده می‌شود تا غلظت ۲/۰ میلی مولار ۵،۱-دی فنیل کاربازون سیگنال تجزیه‌ای افزایش و سپس کاهش می‌یابد، زیرا با افزایش غلظت ۵،۱-دی فنیل کاربازون تا ۲/۰ میلی مولار

پوشش سطح با اصلاحگر افزایش یافته و سیگنال تجزیه‌ای افزایش می‌یابد و در غلظت‌های بالاتر از ۲/۰ میلی‌مولار احتمالاً به دلیل افزایش ضخامت فیلم در سطح الکتروود و کاهش هدایت الکتریکی جریان تجزیه‌ای شروع به کاهش می‌کند. بنابراین، غلظت ۲/۰ میلی‌مولار به عنوان شرایط بهینه برای آزمایش‌های بعدی انتخاب شد.

جدول (۲-۲) نتایج حاصل از بررسی غلظت ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون.

غلظت اصلاح‌گر (mM)	سیگنال تجزیه‌ای آسکوربیک اسید* (μA)	سیگنال تجزیه‌ای دوپامین* (μA)	سیگنال تجزیه‌ای استامینوفن* (μA)
۰/۰۰	۰/۷۶	۱/۰۹	۱/۲۱
۰/۵	۰/۸۲	۱/۵۱	۱/۷۲
۱/۰	۱/۰۷	۲/۴۲	۱/۹۲
۲/۰	۱/۲۱	۳/۱۱	۲/۸۲
۳/۰	۱/۲۰	۳/۰۵	۲/۳۵
۴/۰	۰/۹۴	۲/۶۹	۱/۹۹

* میانگین سه اندازه‌گیری



شکل (۲-۷) اثر غلظت ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون. شرایط اندازه‌گیری: آسکوربیک‌اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین و استامینوفن ۵/۰ میکرومولار، بافر فسفاتی pH=۶/۰، ارتفاع پالس ۸۰ میلی‌ولت و سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه، شرایط اصلاح الکتروود: محلول سدیم هیدروکسید ۰/۱ مولار و غلظت‌های متفاوت ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه.

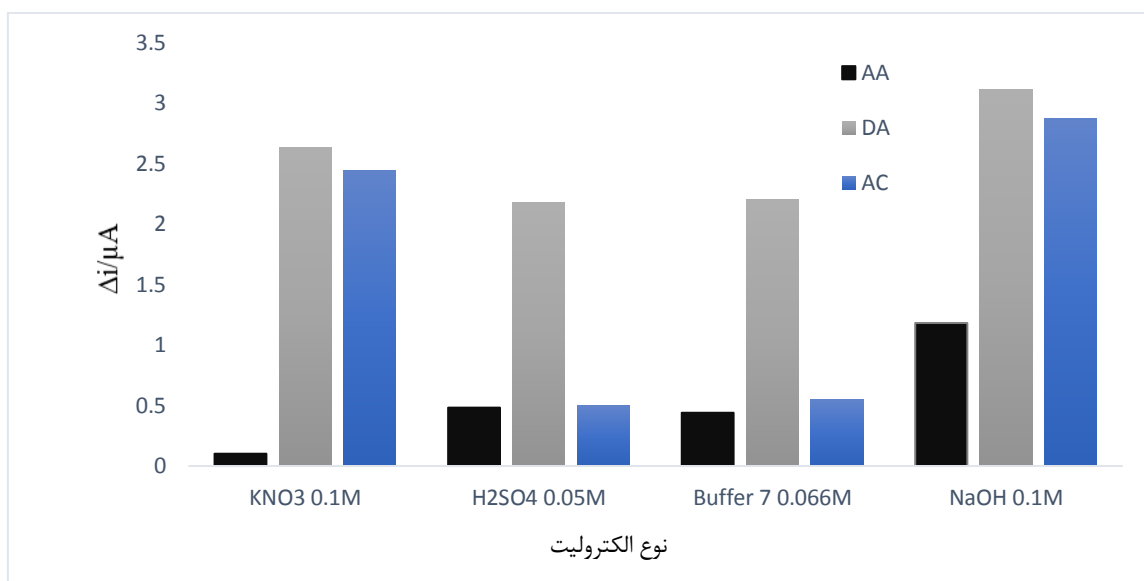
۲-۷-۲- بررسی محیط اصلاح الکتروود

برای اصلاح الکتروود به وسیله ی ۵،۱-دی فنیل کاربازون در الکتروولیت های مختلف شامل محلول های نیترات پتاسیم ۰/۱ مولار ، سدیم هیدروکسید ۰/۱ مولار و سولفوریک اسید ۰/۰۵ مولار و بافر فسفاتی با غلظت ۰/۰۶۷ مولار مورد بررسی قرار گرفت. اصلاح الکتروشیمیایی با الکتروولیت های مورد نظر طبق روش ارائه شده در بخش ۵-۲ انجام شد. به یک بالن ۵/۰ میلی لیتری، ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی با $\text{pH}=6/0$ ، ۲۵۰/۰ میکرولیتر از محلول آسکوربیک اسید با غلظت ۱۰۰۰/۰ میکرومولار، ۲۵۰/۰ میکرولیتر از محلول دوپامین با غلظت ۱۰۰/۰ میکرومولار و ۲۵۰/۰ میکرولیتر از محلول استامینوفن با غلظت ۱۰۰/۰ میکرومولار اضافه گردید. سپس با آب مقطر به حجم رسانده و محلول تهیه شده به سل الکتروشیمیایی منتقل شد. بعد از قرار دادن الکتروود کربن شیشه ای اصلاح شده در محلول فوق و به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی در ارتفاع پالس ۸۰ میلی ولت و با سرعت ۵۰ میلی ولت بر ثانیه در دامنه ۰/۳- تا ۰/۶ ولت روبش پتانسیل به سمت پتانسیل های مثبت انجام شده و شدت جریان ثبت گردید. نتایج در جدول (۲-۳) و شکل (۲-۸) نشان داده شده است. با توجه به نتایج، استفاده از سود در اصلاح الکتروود باعث افزایش حساسیت می شود (شکل (۲-۵))، مشاهده افزایش سیگنال تجزیه ای در محیط سود به عنوان الکتروولیت در اصلاح الکتروود با ۵،۱-دی فنیل کاربازون، می تواند به دلیل اثر هم افزایی سود و اصلاح گر باشد. بنابراین محلول ۰/۱ مولار سدیم هیدروکسید به عنوان الکتروولیت در اصلاح الکتروشیمیایی الکتروود، ۵،۱-دی فنیل کاربازون مورد استفاده قرار گرفت.

جدول (۳-۲) نتایج حاصل از بررسی نوع الکترولیت در محیط اصلاح الکتروُد.

نوع الکترولیت	سیگنال تجزیه‌ای آسکوربیک اسید (μA) [*]	سیگنال تجزیه‌ای دوپامین (μA) [*]	سیگنال تجزیه‌ای استامینوفن (μA) [*]
سدیم هیدروکسید	۱/۱۸	۳/۱۱	۲/۸۷
پتاسیم نیترات	۰/۱	۲/۶۳	۲/۴۴
اسید سولفوریک	۰/۴۸	۲/۱۸	۰/۵
بافر فسفاتی	۰/۴۴	۲/۲	۰/۵۵

* میانگین سه اندازه گیری



شکل (۳-۲) بررسی اثر نوع الکترولیت در اصلاح الکتروُد بر جریان اکسایشی گونه‌ها شرایط اندازه‌گیری: آسکوربیک اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین و استامینوفن ۵/۰ میکرومولار، بافر فسفاتی $pH=6/0$ ، ارتفاع پالس ۸۰ میلی‌ولت و سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه، شرایط اصلاح الکتروُد: محلول الکترولیت‌های مختلف و ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون ۲/۰ میلی‌مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه.

۳-۷-۲- بررسی تعداد چرخه‌های اصلاح

تعداد چرخه‌ی اصلاح الکتروُد به عنوان یک عامل موثر در تعیین میزان فعال سازی سطح الکتروُد و در نتیجه حساسیت روش مورد بررسی قرار گرفت. بنابراین به منظور بررسی اثر این پارامتر بر شدت جریان اکسایشی آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن، اصلاح الکتروشیمیایی با تعداد چرخه‌های روبش متوالی پتانسیل

در گستره ۵ تا ۲۵ چرخه و با سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه صورت گرفت. داده‌های حاصل در جدول (۲-۴) و شکل (۲-۹) به‌دست آمده است.

جدول (۲-۴) نتایج حاصل از بررسی تعداد چرخه اصلاح الکتروکود

تعداد چرخه	سیگنال تجزیه‌ای آسکوربیک اسید* (μA)	سیگنال تجزیه‌ای دوپامین* (μA)	سیگنال تجزیه‌ای استامینوفن* (μA)
۵	۰/۸۷	۱/۶۳	۱/۷۱
۱۰	۰/۹۶	۱/۹۹	۲/۰۵
۱۵	۱/۲۱	۳/۰۴	۲/۸۳
۲۰	۰/۹۶	۲/۷۱	۲/۳۰
۲۵	۰/۹۴	۲/۲۰	۲/۰۶

*میانگین سه اندازه گیری



شکل (۲-۹) اثر تعداد چرخه در اصلاح الکتروکود با ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون بر سیگنال تجزیه‌ای. شرایط اندازه‌گیری: آسکوربیک‌اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین و استامینوفن ۵/۰ میکرومولار، بافر فسفات $pH=6.0$ ، ارتفاع پالس ۸۰ میلی‌ولت و سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه، شرایط اصلاح الکتروکود: محلول سود ۰/۱ مولار و ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون ۲/۰ میلی‌مولار، تعداد چرخه متفاوت و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه.

نتایج به دست آمده نشان داد که شدت جریان دماغه اکسایشی آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن با افزایش تعداد چرخه‌ها تا ۱۵ چرخه افزایش پیدا می‌یابد، با افزایش تعداد چرخه، لایه اصلاح‌کننده در سطح الکتروده به خوبی تشکیل و با ایفای نقش واسطه‌گر انتقال الکترون باعث افزایش سیگنال تجزیه‌ای می‌شود، در حالیکه پس از آن با افزایش تعداد چرخه‌های اصلاح، شدت جریان کاهش پیدا می‌کند و با افزایش بیشتر تعداد چرخه‌های اصلاح الکتروده باعث ناپایدار شدن سطح الکتروده و افزایش ضخامت لایه فیلم ایجاد شده و در نتیجه باعث کاهش هدایت الکتریکی و کاهش سرعت انتقال الکترون در سطح الکتروده می‌شود. از این‌رو تعداد ۱۵ چرخه برای اصلاح الکتروده به روش الکتروشیمیایی به عنوان بهینه انتخاب شد.

شرایط بهینه برای اصلاح الکتروده، ۵،۱-دی فنیل کاربازون با غلظت ۲/۰ میلی مولار و الکترولیت سود با غلظت ۰/۱ مولار و تعداد ۱۵ چرخه برای اصلاح الکتروده انتخاب و برای پارامترهای دیگر مورد استفاده قرار گرفت.

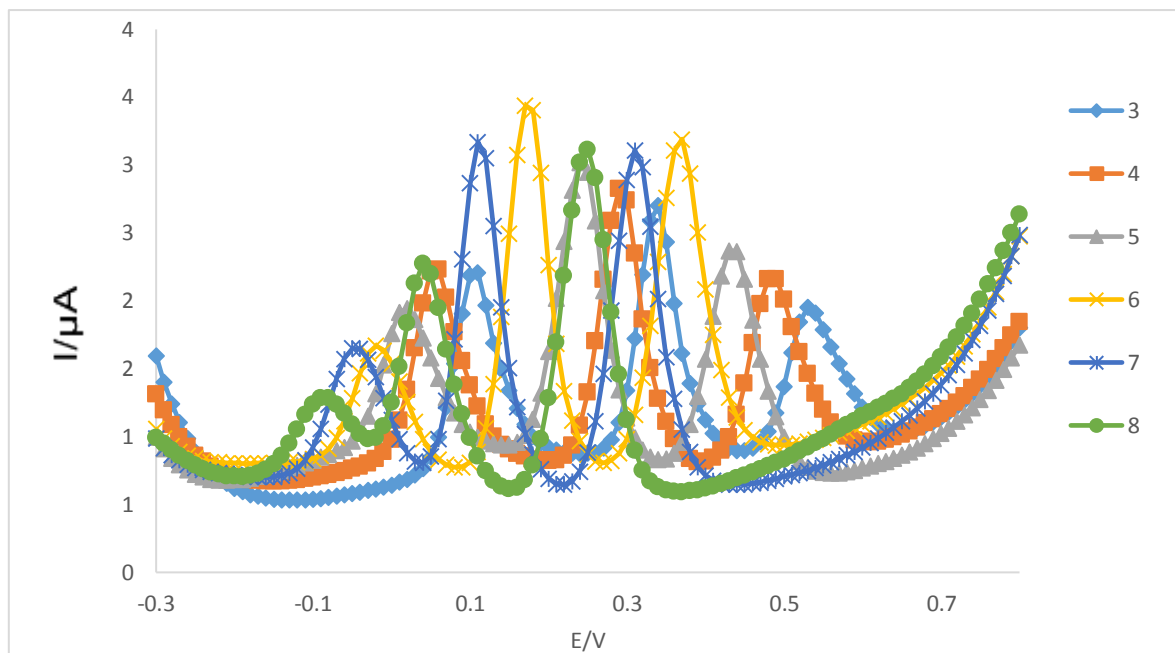
۲-۷-۴- بررسی اثر pH بر اکسایش آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن در

سطح الکتروده اصلاح شده

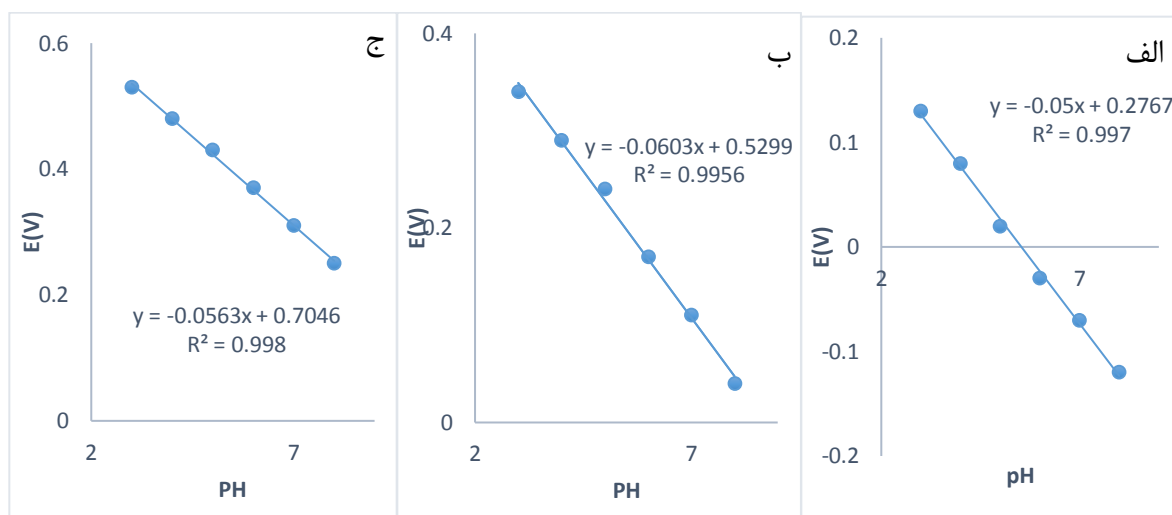
اکسایش الکتروشیمیایی آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن در بافر فسفات با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که در شکل (۲-۱۰) نشان داده شده است، پتانسیل دماغه اکسایشی آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن با افزایش pH به سمت پتانسیل‌های منفی جابه‌جا شده است که نشان دهنده شرکت پروتون در فرآیند اکسایش الکتروشیمیایی آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن می‌باشد. تغییرات پتانسیل دماغه اکسایش نسبت به تغییرات pH، به صورت خطی می‌باشد. شیب خط نمودار تغییرات خطی پتانسیل دماغه اکسایشی آنالیت‌ها بر حسب تغییرات pH برای آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن به ترتیب ۰/۵۰ و ۰/۶۰ و ۰/۵۶ به دست آمد. شیب‌های به دست آمده نزدیک به مقدار نرنستی (۵۹ میلی‌ولت)، می‌باشد که نشان می‌دهد تعداد الکترون و پروتون در فرآیند اکسایش الکتروشیمیایی آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن در سطح الکتروده اصلاح شده برابر

است (n=۲).

به منظور بررسی اثر pH، شدت جریان مربوط به دماغه اکسایشی آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن در بافر فسفاتی حاوی دوپامین با غلظت ۵/۰ میکرو مولار و استامینوفن با غلظت ۵/۰ میکرو مولار و آسکوربیک اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار مورد بررسی قرار گرفت. برای ثبت ولتاگرام شاهد ۲/۰ میلی لیتر از محلول بافر با pH مورد نظر به علاوه ی ۳/۰ میلی لیتر آب مقطر را به سل دستگاه منتقل کرده و سپس روبش پتانسیل در محدوده ی ۰/۳- تا ۰/۶ ولت، با سرعت ۵۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد. ولتاگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه با شاهد ثبت شد، با این تفاوت که به یک بالن ۵/۰ میلی لیتری، ۲/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی با pH های متفاوت، ۲۵۰/۰ میکرو لیتر از محلول آسکوربیک اسید با غلظت ۱۰۰۰/۰ میکرومولار، ۲۵۰/۰ میکرو لیتر از محلول دوپامین با غلظت ۱۰۰/۰ میکرومولار و ۲۵۰/۰ میکرو لیتر از محلول استامینوفن با غلظت ۱۰۰/۰ میکرومولار اضافه گردید. سپس با آب مقطر به حجم رسانده و محلول تهیه شده به سل الکتروشیمیایی منتقل شد. بعد از قرار دادن الکتروود کربن شیشه ای اصلاح شده در محلول فوق به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی در ارتفاع پالس ۸۰ میلی ولت و با سرعت ۵۰ میلی ولت بر ثانیه در دامنه ۰/۳- تا ۰/۸ ولت روبش به سمت پتانسیل های مثبت انجام و اختلاف بین جریان آندی نمونه و شاهد ($\Delta i = i_s - i_b$) در پتانسیلی که حداکثر جریان آندی در آن مشاهده گردید، به عنوان سیگنال تجزیه ای در نظر گرفته شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۲-۵) و شکل (۲-۱۱) ارائه شده است.



شکل (۲-۱۰) جابه‌جایی پیک‌ها با تغییر pH.

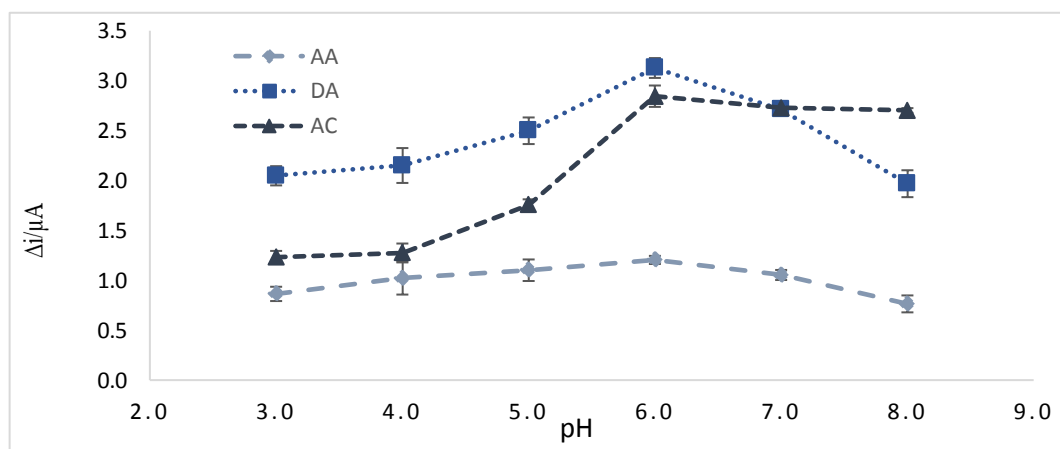


شکل (۲-۱۱) اثر pH بر روی پتانسیل پیک الف) آسکوربیک‌اسید (ب) دوپامین (ج) استامینوفن در محلول ۰/۰۶۷ مولار بافر فسفاتی و ۵۰/۰ میکرومولار آسکوربیک‌اسید و ۵۰/۰ میکرومولار دوپامین و استامینوفن.

جدول (۲-۵) نتایج حاصل از بررسی اثر pH.

pH	سیگنال تجزیه‌ای آسکوربیک اسید (μA)	سیگنال تجزیه‌ای دوپامین (μA)	سیگنال تجزیه‌ای استامینوفن (μA)
۳/۰	۰/۸۶	۲/۰۵	۱/۲۳
۴/۰	۱/۰۲	۲/۱۵	۱/۲۷
۵/۰	۱/۱۰	۲/۵۰	۱/۷۶
۶/۰	۱/۲۱	۳/۱۳	۲/۸۴
۷/۰	۱/۰۵	۲/۷۱	۲/۷۳
۸/۰	۰/۷۶	۱/۹۷	۲/۷۰

※ میانگین سه اندازه گیری



شکل (۲-۱۱) اثر pH بر سیگنال تجزیه‌ای در اندازه‌گیری اکسایش آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن. شرایط اندازه‌گیری: آسکوربیک اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین و استامینوفن ۵/۰ میکرومولار، بافر فسفاتی در pH مختلف، ارتفاع پالس ۸۰ میلی‌ولت و سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه، شرایط اصلاح الکتروود: محلول سود ۰/۱ مولار و ۵،۱-دی فنیل کاربازون ۲/۰ میلی‌مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه.

همانطور که نتایج نشان می‌دهد، با افزایش pH از ۳/۰ تا ۶/۰ سیگنال تجزیه‌ای افزایش می‌یابد و در pH‌های بالاتر از ۷/۰ می‌تواند کاهش سیگنال تجزیه‌ای مشاهده می‌شود. کاهش سیگنال تجزیه‌ای دوپامین در pH‌های بالاتر از ۷/۰ به دلیل واکنش‌های دیمریزاسیون و پلیمریزاسیون دوپامین می‌باشد و پایداری

بیشتر آسکوربیک اسید در $pH=6/0$ ، $pH=6/0$ به عنوان pH بهینه برگزیده شد.

۲-۷-۵- بررسی اثر نوع بافر

در سیستم الکتروشیمیایی الکترولیت حامل نقش هدایت الکترولیتی در محلول را ایفا می کند. محلول بافر علاوه بر ثابت نگه داشتن pH نقش الکترولیت حامل را در سل الکتروشیمیایی دارد، لذا بررسی نوع بافر حائز اهمیت می باشد. به منظور بررسی اثر نوع بافر بر شدت جریان دماغه‌ی آندی آنالیت، بافرهای فسفاتی، فتالاتی و سیتراتی با $pH=6/0$ و غلظت $0/067$ مولار مورد آزمایش قرار گرفتند. روش کار به صورت زیر بود:

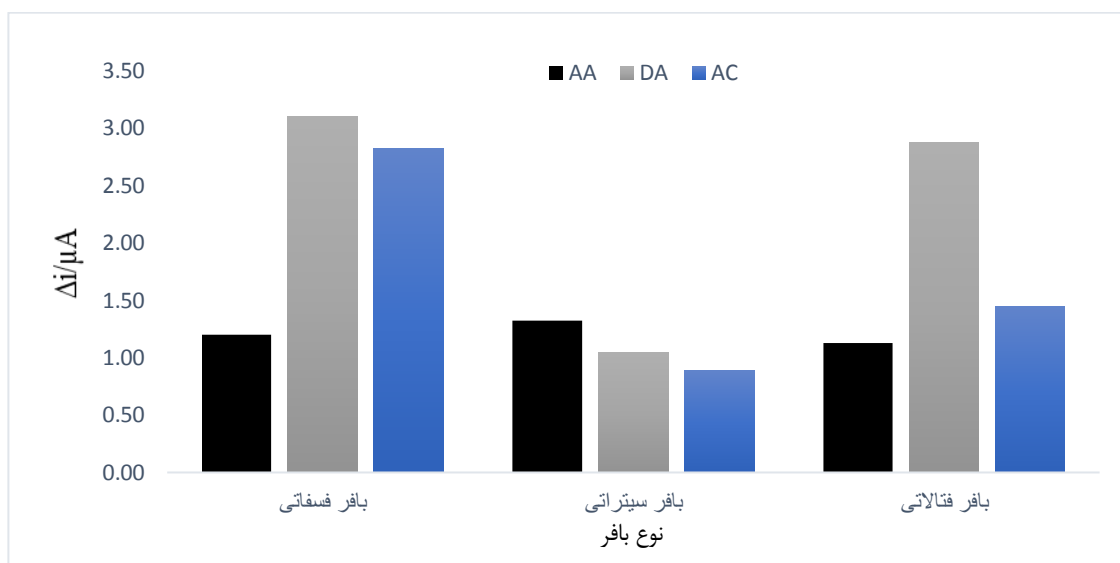
برای ثبت ولتاموگرام شاهد $2/0$ میلی لیتر بافر مورد نظر $pH=6/0$ ، $3/0$ میلی لیتر آب مقطر (به حجم نهایی $5/0$ میلی لیتر) به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده $-0/3$ تا $0/6$ ولت (نسبت به الکتروود مرجع $Ag/AgCl$)، در ارتفاع پالس 80 میلی ولت و با سرعت 50 میلی ولت بر ثانیه انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که به یک بالن $5/0$ میلی لیتری، $2/0$ میلی لیتر از بافرهای مختلف با $pH=6/0$ ، $250/0$ میکرولیتر از محلول آسکوربیک اسید با غلظت $1000/0$ میکرومولار، $250/0$ میکرولیتر از محلول دوپامین با غلظت $100/0$ میکرومولار و $250/0$ میکرولیتر از محلول استامینوفن با غلظت $100/0$ میکرومولار اضافه گردید. سپس با آب مقطر به حجم رسانده و محلول تهیه شده به سل الکتروشیمیایی منتقل شد. بعد از قرار دادن الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده در محلول فوق به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی در ارتفاع پالس 80 میلی ولت و با سرعت 50 میلی ولت بر ثانیه در دامنه $-0/3$ تا $0/6$ ولت روبش پتانسیل به سمت پتانسیل‌های مثبت انجام و اختلاف بین جریان آندی نمونه و شاهد ($\Delta i = i_s - i_b$) به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در نظر گرفته شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۲-۶) و شکل (۲-۱۲) ارائه شده است، داده‌های به دست آمده در جدول نشانگر حساسیت بالاتر اندازه‌گیری این ترکیب در بافر فسفاتی می باشد. کاهش سیگنال تجزیه‌ای برای بافرهای سیتراتی و فتالاتی احتمالاً به دلیل برهم‌کنش بین یون‌های بافر با آنالیت و یا سطح

الکتروود می‌باشد، از این‌رو در مطالعات بعدی از بافر فسفات استفاده گردید.

جدول (۶-۲) نتایج حاصل از بررسی نوع بافر

نوع بافر	سیگنال تجزیه‌ای آسکوربیک‌اسید (μA)	سیگنال تجزیه‌ای دوپامین (μA)	سیگنال تجزیه‌ای استامینوفن (μA)
فسفاتی	۱/۲۰	۳/۱۰	۲/۸۲
سیتراتی	۱/۳۲	۱/۰۴	۰/۸۹
فتالاتی	۱/۱۳	۲/۸۷	۱/۴۴

* میانگین سه اندازه گیری



شکل (۱۲-۲) بررسی اثر نوع بافر بر سیگنال تجزیه‌ای اکسایشی آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن، شرایط اندازه‌گیری: آسکوربیک‌اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین و استامینوفن ۵/۰ میکرومولار، بافر های متفاوت با $pH=6/0$ ، ارتفاع پالس ۸۰ میلی‌ولت و سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه، شرایط اصلاح الکتروود: محلول سود ۰/۱ مولار و ۵،۱- دی‌فنیل‌کاربازون ۲/۰ میلی‌مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه.

۲-۷-۶- بررسی اثر حجم بافر

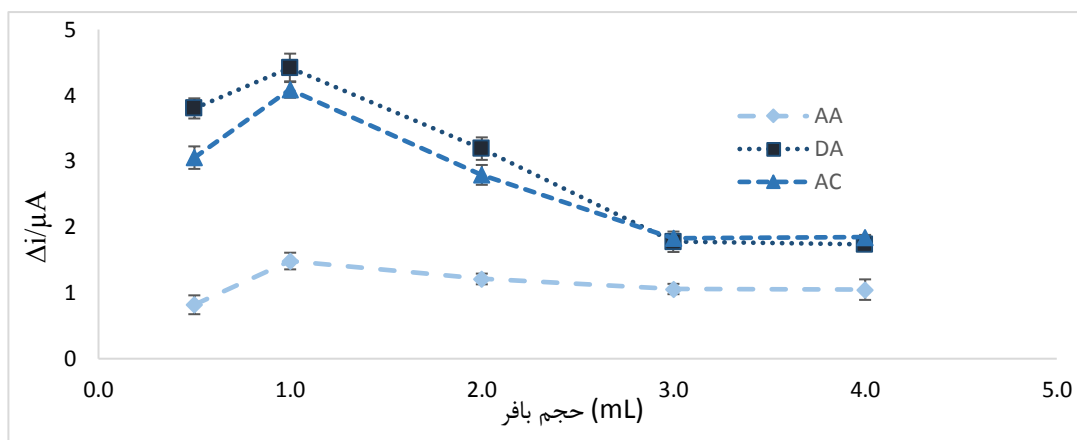
اثر حجم بافر فسفاتی با $pH=6/0$ بر شدت جریان دماغه اکسایشی آسکوربیک‌اسید، دوپامین و

استامینوفن مورد بررسی قرار گرفت. برای ثبت ولتاموگرام شاهد حجم‌های مختلفی از محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=6/0$ در گستره‌ی $0/5$ تا $4/0$ میلی‌لیتر و آب مقطر (به حجم نهایی $5/0$ میلی‌لیتر) به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده $0/3-0/6$ ولت (نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl)، با سرعت 50 میلی‌ولت بر ثانیه و ارتفاع پالس 80 میلی‌ولت انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که به یک بالن $5/0$ میلی‌لیتری، حجم‌های مختلف از بافر فسفاتی $\text{pH}=6/0$ ، $250/0$ میکرولیتر از محلول آسکوربیک‌اسید با غلظت $1000/0$ میکرومولار، $250/0$ میکرولیتر از محلول دوپامین با غلظت $100/0$ میکرومولار و $250/0$ میکرولیتر از محلول استامینوفن با غلظت $100/0$ میکرومولار اضافه گردید. سپس با آب مقطر به حجم رسانده و محلول تهیه شده به سل الکتروشیمیایی منتقل شد. بعد از قرار دادن الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده در محلول فوق به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی در ارتفاع پالس 80 میلی‌ولت و با سرعت 50 میلی‌ولت بر ثانیه در دامنه $0/3-0/6$ ولت روبش به سمت پتانسیل‌های مثبت انجام و اختلاف بین جریان آندی نمونه و شاهد $(\Delta i = i_s - i_b)$ ، به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در نظر گرفته شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۲-۷) و شکل (۲-۱۳) آمده است.

جدول (۲-۷) نتایج حاصل از بررسی اثر حجم بافر.

سیگنال تجزیه‌ای استامینوفن (μA)	سیگنال تجزیه‌ای دوپامین (μA)	سیگنال تجزیه‌ای آسکوربیک اسید (μA)	حجم بافر (mL)
$3/05^*$	$3/80$	$0/82$	$0/5$
$4/09$	$4/40$	$1/48$	$1/0$
$2/79$	$3/19$	$1/21$	$2/0$
$1/83$	$1/78$	$1/06$	$3/0$
$1/85$	$1/74$	$1/05$	$4/0$

*میانگین سه اندازه گیری



شکل (۲-۱۳) بررسی اثر حجم بافر بر جریان دماغه‌ی اکسایشی آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن، شرایط اندازه‌گیری: آسکوربیک اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین و استامینوفن ۵/۰ میکرومولار، بافر فسفاتی با $\text{pH}=6/0$ ، ارتفاع پالس ۸۰ میلی‌ولت و سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه، شرایط اصلاح الکتروود: محلول سود ۰/۱ مولار و ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون ۲/۰ میلی‌مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه.

با افزایش حجم بافر هدایت محلول زیاد شده و مقاومت درونی کاهش پیدا می‌یابد و در نتیجه جریان افزایش می‌یابد. با افزایش حجم بافر تا ۱/۰ میلی‌لیتر سیگنال تجزیه‌ای هم تا حجم ۱/۰ میلی‌لیتر افزایش می‌یابد و با افزایش بیشتر حجم سیگنال تجزیه‌ای کاهش می‌یابد. لذا در ادامه‌ی کار ۱/۰ میلی‌لیتر بافر فسفاتی به عنوان مقدار بهینه برای بررسی‌های بعدی انتخاب شد.

۲-۷-۷- بررسی ارتفاع پالس

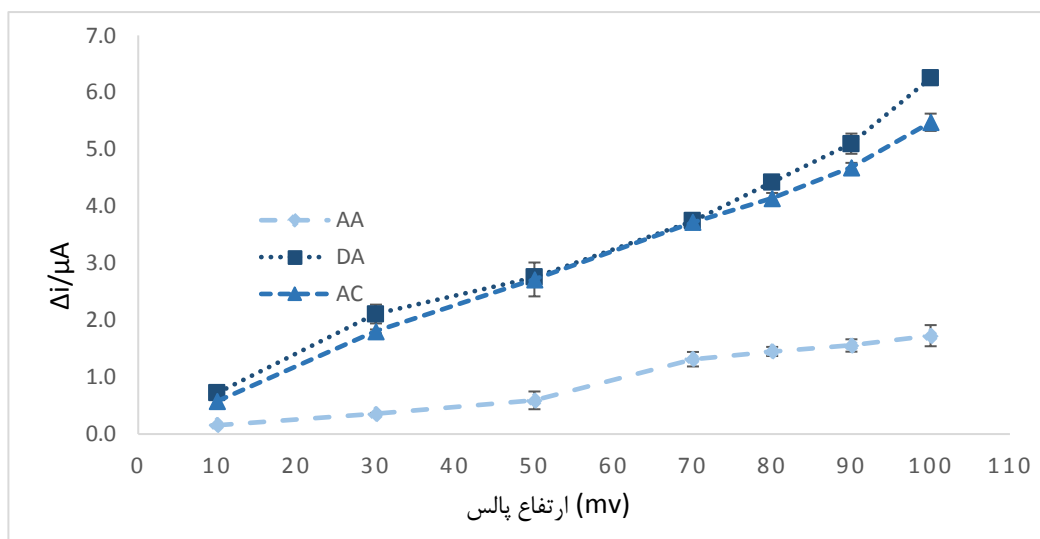
برای بررسی ارتفاع پالس بر شدت جریان اکسایشی آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن، ارتفاع پالس در گستره‌ی ۱۰ تا ۱۰۰ میلی‌ولت تغییر داده شد. برای ثبت ولتاموگرام شاهد ۱/۰ میلی‌لیتر بافر مورد نظر $\text{pH}=6/0$ ، ۴/۰ میلی‌لیتر آب مقطر (به حجم نهایی ۵/۰ میلی‌لیتر) به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۳- تا ۰/۶ ولت (نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl)، با سرعت ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه و با ارتفاع پالس‌های متفاوت انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که به یک بالن ۵/۰ میلی‌لیتری، ۱/۰ میلی‌لیتر از

بافر فسفاتی با $pH=6/0$ ، $250/0$ میکرولیتر از محلول آسکوربیک اسید با غلظت $1000/0$ میکرومولار، $250/0$ میکرولیتر از محلول دوپامین با غلظت $100/0$ میکرومولار و $250/0$ میکرولیتر از محلول استامینوفن با غلظت $100/0$ میکرومولار اضافه گردید. سپس با آب مقطر به حجم رسانده و محلول تهیه شده به سل الکتروشیمیایی منتقل شد. بعد از قرار دادن الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده در محلول فوق به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی در ارتفاع پالس‌های متفاوت و با سرعت 50 میلی‌ولت بر ثانیه در دامنه $0/3 -$ تا $0/6$ ولت روبش پتانسیل به سمت پتانسیل‌های مثبت انجام و اختلاف بین جریان آندی نمونه و شاهد $(\Delta i = i_s - i_b)$ به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در نظر گرفته شد. مشاهده شد که تا ارتفاع پالس 100 میلی‌ولت شدت جریان افزایش می‌یابد. با افزایش ارتفاع پالس حساسیت افزایش می‌یابد ولی در ارتفاع پالس بیشتر از 90 میلی‌ولت شکل دماغه پهن‌تر می‌شود و احتمال همپوشانی دماغه‌ها در غلظت‌های بالاتر بیشتر می‌شود، بنابراین ارتفاع پالس 90 میلی‌ولت به عنوان بهینه برای آزمایش‌های بعدی انتخاب شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۸-۲) و شکل (۱۴-۲) آمده است.

جدول (۸-۲) نتایج حاصل از بررسی ارتفاع پالس.

سیگنال تجزیه‌ای استامینوفن (μA)	سیگنال تجزیه‌ای دوپامین (μA)	سیگنال تجزیه‌ای آسکوربیک اسید (μA)	ارتفاع پالس (mV)
$0/58^*$	$0/72^*$	$0/16^*$	۱۰
۱/۸۰	۲/۱۱	۰/۳۶	۳۰
۲/۷۱	۲/۷۵	۰/۵۹	۵۰
۳/۷۲	۳/۷۴	۱/۳۱	۷۰
۴/۱۴	۴/۴۲	۱/۴۵	۸۰
۴/۶۸	۵/۱۰	۱/۵۶	۹۰
۵/۴۷	۶/۲۵	۱/۷۳	۱۰۰

* میانگین سه اندازه گیری



شکل (۲-۱۴) بررسی اثر ارتفاع پالس بر جریان دماغه‌ی اکسایشی آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن، شرایط اندازه‌گیری: آسکوربیک اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین و استامینوفن ۵/۰ میکرومولار، بافر فسفاتی با pH=۶/۰، ارتفاع پالس‌های متفاوت و سرعت روبش ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه، شرایط اصلاح الکترود: محلول سود ۰/۱ مولار و ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون ۲/۰ میلی‌مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه، بررسی سرعت روبش.

۲-۷-۸- بررسی سرعت روبش

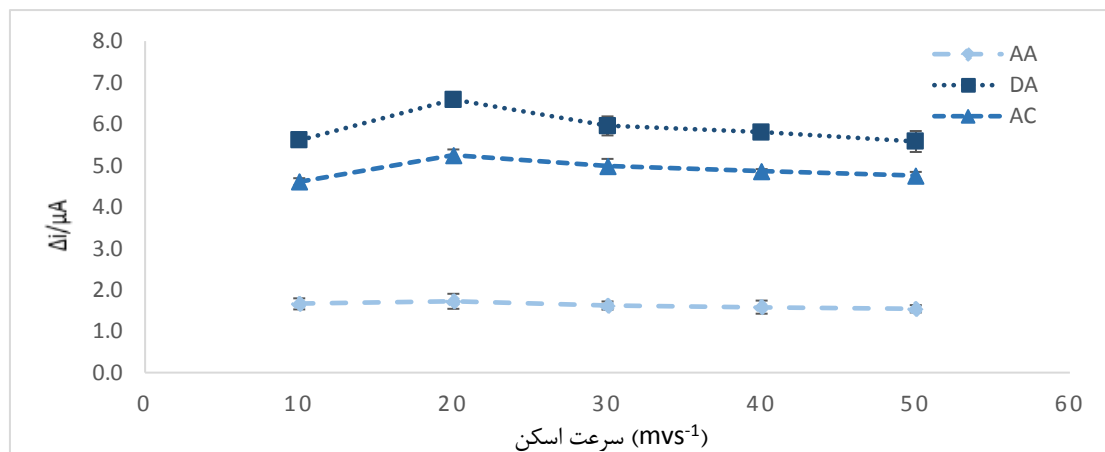
برای بررسی سرعت روبش بر شدت جریان اکسایشی آنالیت، سرعت روبش ۱۰ تا ۶۰ میلی‌ولت بر ثانیه انتخاب و به این صورت عمل شد که برای ثبت ولتاموگرام شاهد ۱/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی pH=۶/۰، ۴/۰ میلی لیتر آب مقطر (به حجم نهایی ۵/۰ میلی لیتر) به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۳- تا ۰/۶ ولت (نسبت به الکترود مرجع Ag/AgCl)، با سرعت‌های مختلف و با ارتفاع پالس ۹۰ میلی‌ولت انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که به یک بالن ۵/۰ میلی‌لیتری، ۱/۰ میلی لیتر از بافر فسفاتی با pH=۶/۰، ۲۵۰/۰ میکرولیتر از محلول آسکوربیک اسید با غلظت ۱۰۰۰/۰ میکرومولار، ۲۵۰/۰ میکرولیتر از محلول دوپامین با غلظت ۱۰۰/۰ میکرومولار و ۲۵۰/۰ میکرولیتر از محلول استامینوفن با غلظت ۱۰۰/۰ میکرومولار اضافه گردید. سپس با آب مقطر به حجم رسانده و محلول تهیه شده به سل الکتروشیمیایی منتقل شد. بعد

از قرار دادن الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده در محلول فوق به کمک روش ولتامتری پالس تفاضلی در ارتفاع پالس ۹۰ میلی‌ولت و با سرعت‌های مختلف در دامنه ۰/۳- تا ۰/۶ ولت روبش پتانسیل به سمت پتانسیل‌های مثبت انجام و اختلاف بین جریان آندی نمونه و شاهد ($\Delta i = i_s - i_b$) به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در نظر گرفته شد. شدت جریان اکسایشی آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن تا سرعت روبش ۲۰ میلی‌ولت بر ثانیه افزایش و سپس تقریباً ثابت می‌ماند، کاهش سیگنال مشاهده شده در سیگنال تجزیه‌ای دوپامین با افزایش سرعت روبش می‌تواند به دلیل ناپایداری سطح الکتروود و حساسیت بیشتر دوپامین در این اندازه‌گیری نسبت به آنالیت‌های دیگر می‌باشد. بنابراین، سرعت روبش ۲۰ میلی‌ولت بر ثانیه به عنوان شرایط بهینه برای آزمایش‌های بعدی انتخاب شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۲-۹) و شکل (۲-۱۵) آمده است.

جدول (۲-۹) نتایج حاصل از بررسی سرعت روبش.

سیگنال تجزیه‌ای استامینوفن (μA)	سیگنال تجزیه‌ای دوپامین (μA)	سیگنال تجزیه‌ای آسکوربیک اسید (μA)	سرعت رویش (mvs^{-1})
۴/۶۱*	۵/۶۱*	۱/۶۶*	۱۰
۴/۹۰	۶/۵۹	۱/۷۲	۲۰
۴/۸۱	۵/۹۵	۱/۶۲	۳۰
۴/۷۳	۵/۸۰	۱/۵۸	۴۰
۴/۶۷	۵/۵۸	۱/۵۴	۵۰

* میانگین سه اندازه‌گیری



شکل (۲-۱۵) بررسی اثر سرعت روبش بر جریان دماغه‌ی اکسایشی آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن، شرایط اندازه-گیری: آسکوربیک‌اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار، دوپامین و استامینوفن ۵/۰ میکرومولار، بافر فسفاتی با pH=۶/۰، ارتفاع پالس ۹۰ میلی‌ولت و سرعت روبش‌های مختلف، شرایط اصلاح الکتروود: محلول سود ۰/۱ مولار و ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون ۲/۰ میلی‌مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه.

۲-۷-۹- شرایط بهینه

با نتایج به‌دست آمده در بررسی و بهینه سازی پارامترهای مؤثر بر شدت جریان دماغه آندی آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن، شرایط بهینه زیر انتخاب شد و در رسم منحنی کالیبراسیون مورد استفاده قرار گرفت.

۱. غلظت ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون ۲/۰ میلی‌مولار.

۲. محیط الکترولیت سدیم هیدروکسید ۰/۱ مولار.

۳. تعداد چرخه‌ها برای اصلاح الکتروود ۱۵ چرخه.

۴. بافر فسفاتی.

۵. pH=۶/۰.

۶. حجم بافر ۱/۰ میلی‌لیتر.

۷. ارتفاع پالس ۹۰ میلی‌ولت.

۸. سرعت روبش پتانسیل ۲۰ میلی‌ولت بر ثانیه.

۲-۸- منحنی کالبراسیون

پس از دستیابی به شرایط مناسب برای اندازه‌گیری همزمان آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن، منحنی کالبراسیون رسم گردید. کالبراسیون مهم‌ترین مرحله در توسعه روش تجزیه‌ای می‌باشد. با استفاده از کالبراسیون، می‌توان رابطه‌ی مناسب بین غلظت نمونه مورد تجزیه و سیگنال ثبت شده در آشکارساز را به‌دست آورد. بررسی منحنی کالبراسیون در چهار حالت با هدف نمایش عدم برهم‌کنش آنالیت‌های حاضر در محلول مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور به چهار حالت زیر عمل گردید:

حالت اول: الکتروُد GC/DPCO در شرایط بهینه تهیه گردید. برای ثبت ولتاگرام شاهد ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=6/0$ و ۴/۰ میلی‌لیتر آب مقطر را به سل الکتروشیمیایی منتقل کرده و سپس روبش پتانسیل در محدوده‌ی ۰/۳- تا ۰/۶ ولت با ارتفاع پالس ۹۰ میلی‌ولت و سرعت ۲۰ میلی‌ولت بر ثانیه انجام شد. ثبت ولتاگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه با شاهد انجام شد با این تفاوت که در بالن ۵/۰ میلی‌لیتری محلول‌های استاندارد حاوی آنالیت‌ها به‌صورتی اضافه شدند که غلظت نهایی آسکوربیک‌اسید ۴۰/۰ میکرومولار و غلظت نهایی دوپامین و استامینوفن در گستره غلظتی ۲۰/۰-۰/۵ میکرومولار تغییر کند و با افزایش آب مقطر به حجم رسانده و به سل الکتروشیمیایی منتقل شد. اختلاف جریان شاهد و نمونه در پتانسیل پیک آندی مربوط به هر آنالیت به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در رسم منحنی کالبراسیون استفاده شد. نتایج حاصل در جدول‌های (۲-۱۰) و (۲-۱۱) و شکل‌های (۲-۱۶) و (۲-۱۷) آمده است. شکل (۲-۱۸) ولتاگرام‌های ثبت شده برای دوپامین و استامینوفن هر یک در محدوده‌ی غلظتی ۲۰/۰-۰/۵۰ میکرومولار و آسکوربیک‌اسید ۴۰/۰ میکرومولار را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که برای دوپامین و استامینوفن در گستره‌ی غلظتی ۲۰/۰-۰/۵ میکرومولار، بین سیگنال تجزیه‌ای و غلظت رابطه‌ی وجود دارد. با پردازش داده‌ها، معادله‌ی رگرسیون برای استامینوفن و دوپامین در گستره‌ی غلظتی ۲۰/۰-۰/۵

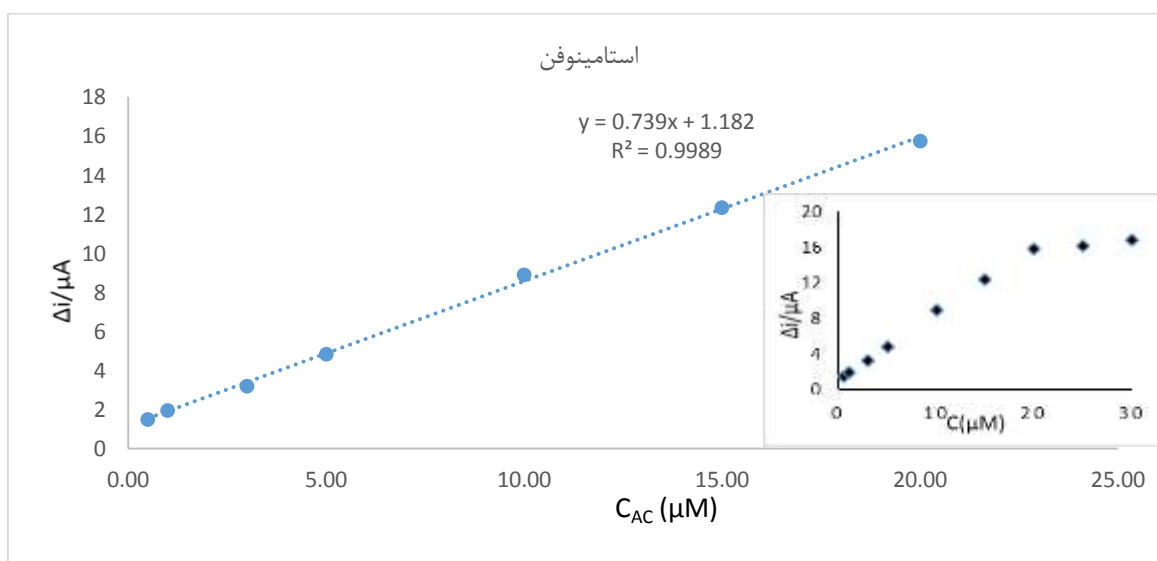
میکرومولار به صورت زیر محاسبه شد:

$$\Delta i_{DA} = 0.9172 C_{DA} + 1.876 \quad R^2 = 0.9984$$

$$\Delta i_{AC} = 0.7390 C_{AC} + 1.182 \quad R^2 = 0.9989$$

جدول (۱۰-۲) نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰۰ میکرومولار استامینوفن.

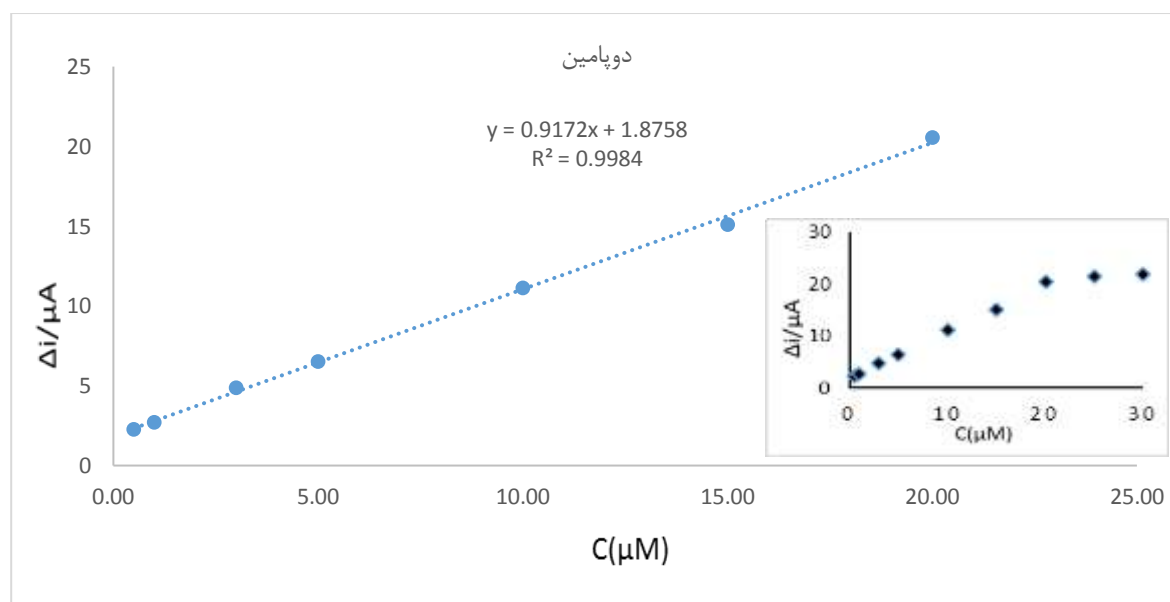
غلظت استامینوفن (μM)	سیگنال تجزیه‌ای (μA) در پتانسیل پیک آندی ۰/۳۸ ولت
۰/۵۰	۱/۵۰
۱/۰۰	۱/۹۶
۳/۰۰	۳/۲۱
۵/۰۰	۴/۸۵
۱۰/۰۰	۸/۹۲
۱۵/۰۰	۱۲/۳۳
۲۰/۰۰	۱۵/۷۷



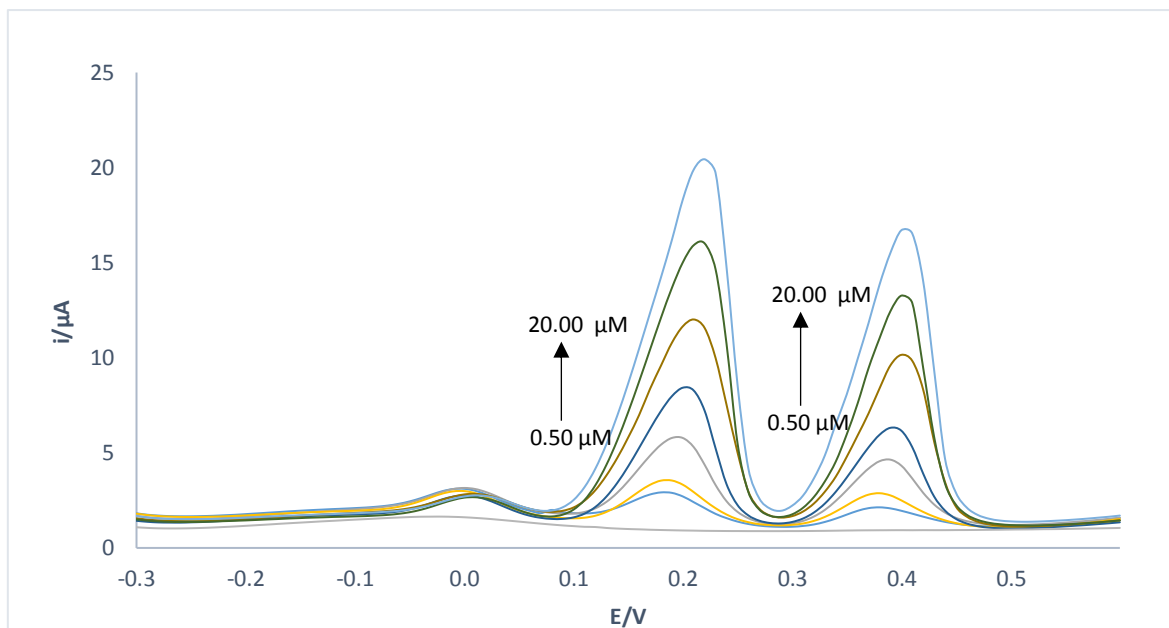
شکل (۱۶-۲) نمودار منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰۰ میکرومولار استامینوفن.

جدول (۱۱-۲) نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰۰ میکرومولار دوپامین.

غلظت دوپامین (μM)	سیگنال تجزیه‌ای (μA) در پتانسیل پیک آندی ۰/۱۹ ولت
۰/۵۰	۲/۲۸
۱/۰۰	۲/۷۲
۳/۰۰	۴/۸۵
۵/۰۰	۶/۵۱
۱۰/۰۰	۱۱/۱۱
۱۵/۰۰	۱۵/۱۱
۲۰/۰۰	۲۰/۵۴



شکل (۱۷-۲) نمودار منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰۰ میکرومولار دوپامین.



شکل (۲-۱۸) ولتاگرام پالس تفاضلی آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن شرایط اصلاح: الکتروکد کربن شیشه اصلاح شده با ۵،۱-دی فنیل کاربازون ۲/۰ میلی مولار، سود ۰/۱ مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه، شرایط اندازه گیری: در حضور ۴۰/۰ میکرومولار آسکوربیک اسید، غلظت های دوپامین و استامینوفن ۰/۵۰، ۱/۰۰، ۳/۰۰، ۵/۰۰، ۱۰/۰۰، ۱۵/۰۰ و ۲۰/۰۰ میکرومولار، بافر فسفاتی pH=۶/۰ و سرعت روبش ۲۰ میلی ولت بر ثانیه ارتفاع پالس ۹۰ میلی ولت.

حالت دوم: الکتروکد GC/DPCO در شرایط بهینه تهیه شد. برای ثبت ولتاگرام شاهد ۱/۰ میلی لیتر از محلول بافر فسفاتی با pH=۶/۰ و ۴/۰ میلی لیتر آب مقطر را به سل الکتروشیمیایی منتقل کرده و سپس روبش پتانسیل در محدوده ۰/۳- تا ۰/۶ ولت با ارتفاع پالس ۹۰ میلی ولت و سرعت ۲۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد. ثبت ولتاگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه با شاهد انجام شد با این تفاوت که در بالن ۵/۰ میلی لیتری محلول های استاندارد حاوی آنالیت ها به صورتی اضافه شدند که غلظت نهایی دوپامین ۱/۰ میکرومولار و غلظت نهایی آسکوربیک اسید و استامینوفن در گستره های غلظتی ۲۰/۰- ۰/۵۰ و ۲۰۰/۰- ۱۰/۰ میکرومولار تغییر کند و با افزایش آب مقطر به حجم رسانده و به سل الکتروشیمیایی منتقل شد. اختلاف جریان شاهد و نمونه در پتانسیل پیک آندی مربوط به هر آنالیت به عنوان سیگنال تجزیه ای در رسم منحنی کالبراسیون

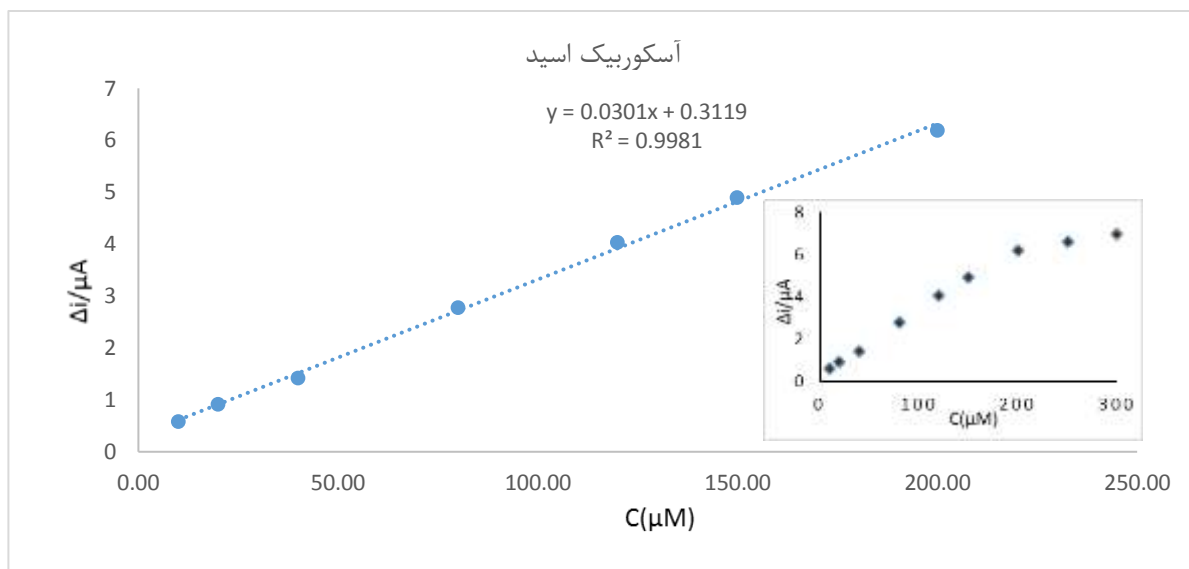
استفاده شد. نتایج حاصل در جدول های (۱۲-۲) و (۱۳-۲) و شکل های (۱۹-۲) و (۲۰-۲) آمده است. شکل (۲۱-۲) ولتاموگرام کالبراسیون آسکوربیک اسید و استامینوفن در محدوده ی غلظتی ۱۰/۰ - ۲۰۰/۰ و ۲۰/۰ - ۵/۰ میکرومولار و دوپامین ۱/۰ میکرومولار را نشان می دهد. نتایج نشان می دهد که در شرایط بهینه برای آسکوربیک اسید در گستره ی غلظتی ۱۰/۰ - ۲۰۰/۰ میکرومولار و استامینوفن در گستره ی غلظتی ۲۰/۰ - ۵/۰ میکرومولار رابطه ی خطی بین غلظت و سیگنال تجزیه ای وجود دارد. با پردازش داده ها، معادله ی رگرسیون برای آسکوربیک اسید در گستره ی غلظتی ۱۰/۰ - ۲۰۰/۰ میکرومولار و استامینوفن در گستره ی غلظتی ۲۰/۰ - ۵/۰ میکرومولار به صورت زیر به دست آمد:

$$\Delta i_{AA} = 0.0301 C_{AA} + 0.312 \quad R^2 = 0.9981$$

$$\Delta i_{AC} = 0.07174 C_{AC} + 1.104 \quad R^2 = 0.9980$$

جدول (۱۲-۲) نتایج حاصل از بررسی منحنی کالبراسیون در محدوده ی غلظتی ۱۰/۰ تا ۲۰۰/۰ میکرومولار آسکوربیک اسید.

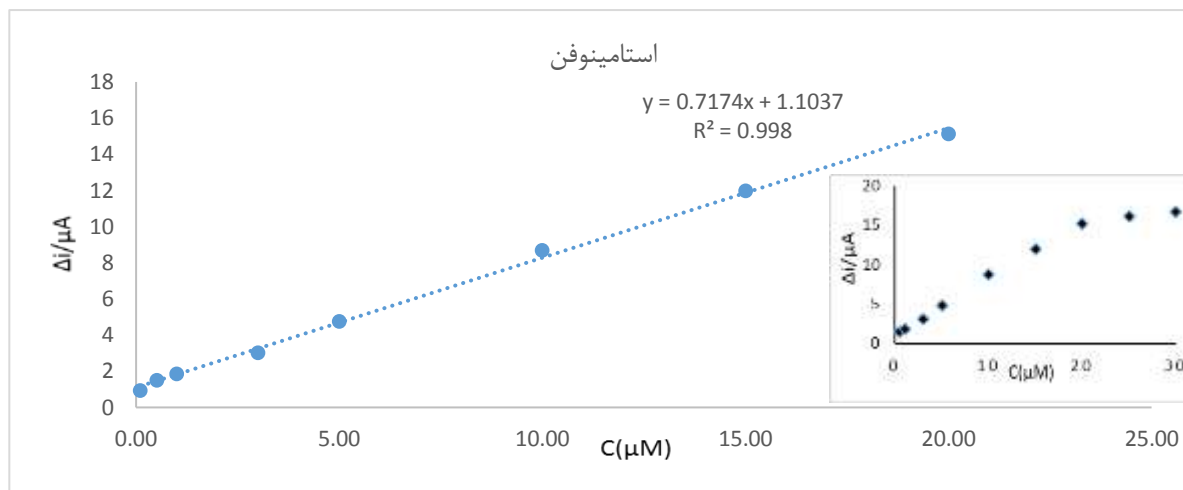
غلظت آسکوربیک اسید (μM)	سیگنال تجزیه ای (μA) در پتانسیل پیک آندی ۰/۰۱-ولت
۱۰/۰۰	۰/۵۸
۲۰/۰۰	۰/۹۱
۴۰/۰۰	۱/۴۳
۸۰/۰۰	۲/۷۷
۱۲۰/۰۰	۴/۰۴
۱۵۰/۰۰	۴/۹۰
۲۰۰/۰۰	۶/۱۹



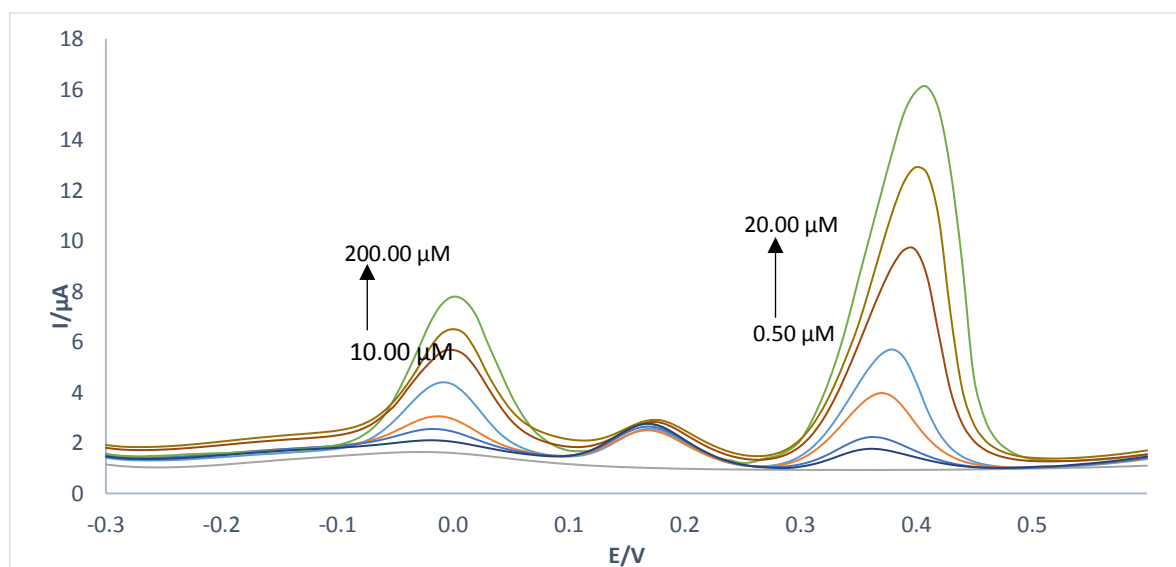
شکل (۱۹-۲) نمودار بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۱۰/۰ تا ۲۰۰/۰ میکرومولار آسکوربیک اسید.

جدول (۱۳-۲) نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵ تا ۲۰/۰ میکرومولار استامینوفن.

غلظت استامینوفن (μM)	سیگنال تجزیه‌ای (μA) در پتانسیل پیک آندی ۰/۳۸ ولت
۰/۵۰	۱/۵۳
۱/۰۰	۱/۸۷
۳/۰۰	۳/۱۰
۵/۰۰	۴/۷۷
۱۰/۰۰	۸/۷۱
۱۵/۰۰	۱۱/۹۸
۲۰/۰۰	۱۵/۱۶



شکل (۲-۲۰) نمودار منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵ تا ۲۰/۰ میکرومولار استامینوفن.



شکل (۲-۲۱) ولتاگرام پالس تفاضلی آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن، شرایط اصلاح: الکترود کربن شیشه اصلاح شده با ۵،۱-دی فنیل کاربازون ۲/۰ میلی مولار، سود ۰/۱ مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه، شرایط اندازه گیری: در حضور ۱/۰ میکرومولار دوپامین، غلظت استامینوفن ۰/۵۰، ۱/۰۰، ۳/۰۰، ۵/۰۰، ۱۰/۰۰، ۱۵/۰۰ و ۲۰/۰۰ و آسکوربیک اسید ۱۰/۰۰، ۲۰/۰۰، ۴۰/۰۰، ۸۰/۰۰، ۱۲۰/۰۰، ۱۵۰/۰۰، ۲۰۰/۰۰ میکرومولار، بافر فسفاتی pH=۶/۰ و سرعت روبش ۲۰ میلی ولت بر ثانیه ارتفاع پالس ۹۰ میلی ولت.

حالت سوم: الکترود GC/DPCO در شرایط بهینه تهیه شد. برای ثبت ولتاگرام شاهد ۱/۰ میلی لیتر از محلول

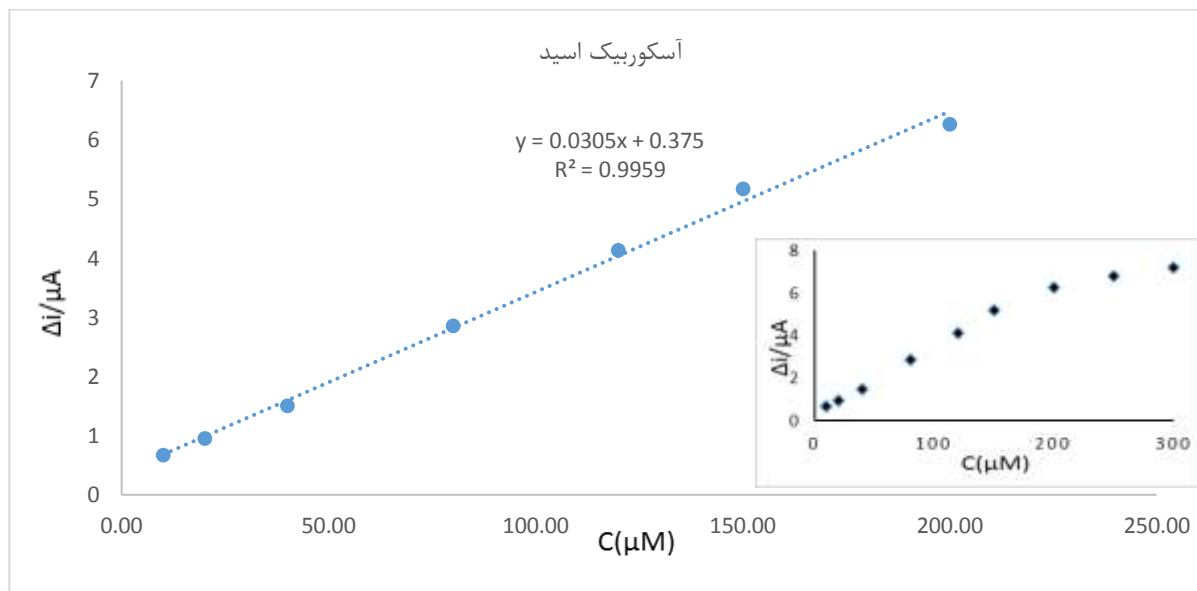
بافرسفاتی با $\text{pH}=6/0$ و $4/0$ میلی لیتر آب مقطر را به سل الکتروشیمیایی منتقل کرده و سپس روبش پتانسیل در محدوده $0/3-0/6$ ولت با ارتفاع پالس 90 میلی ولت و سرعت 20 میلی ولت بر ثانیه انجام شد. ثبت ولتاگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه با شاهد انجام شد با این تفاوت که در بالن $5/0$ میلی لیتری محلول های استاندارد حاوی آنالیت ها به صورتی اضافه شدند که غلظت نهایی استامینوفن $1/0$ میکرومولار و غلظت نهایی آسکوربیک اسید و دوپامین در گستره های غلظتی $10/0-200/0$ و $0/50-20/0$ میکرومولار تغییر کند و با افزایش آب مقطر به حجم رسانده و به سل الکتروشیمیایی منتقل شد. اختلاف جریان شاهد و نمونه در پتانسیل پیک آندی مربوط به هر آنالیت به عنوان سیگنال تجزیه ای در رسم منحنی کالبراسیون استفاده شد. نتایج حاصل در جدول های $(2-14)$ و $(2-15)$ و شکل های $(2-22)$ و $(2-23)$ آمده است. شکل $(2-24)$ ولتاموگرام کالبراسیون آسکوربیک اسید و دوپامین در محدوده ی غلظتی $10/0-200/0$ و $0/5-20/0$ میکرومولار و استامینوفن $1/0$ میکرومولار را نشان می دهد. نتایج نشان می دهد که در شرایط بهینه برای آسکوربیک اسید در گستره ی غلظتی $10/0-200/0$ میکرومولار و دوپامین در گستره ی غلظتی $0/5-20/0$ میکرومولار رابطه ی خطی بین غلظت و سیگنال تجزیه ای وجود دارد. با پردازش داده ها، معادله ی رگرسیون برای آسکوربیک اسید در گستره ی غلظتی $10/0-200/0$ میکرومولار و دوپامین در گستره ی غلظتی $0/5-20/0$ میکرومولار به صورت زیر به دست آمد:

$$\Delta i_{AA} = 0/305 C_{AA} + 0/375 \quad R^2 = 0/9959$$

$$\Delta i_{DA} = 0/9154 C_{DA} + 1/873 \quad R^2 = 0/9981$$

جدول (۱۴-۲) نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۱۰/۰۰ تا ۲۰۰/۰۰ میکرومولار آسکوربیک اسید.

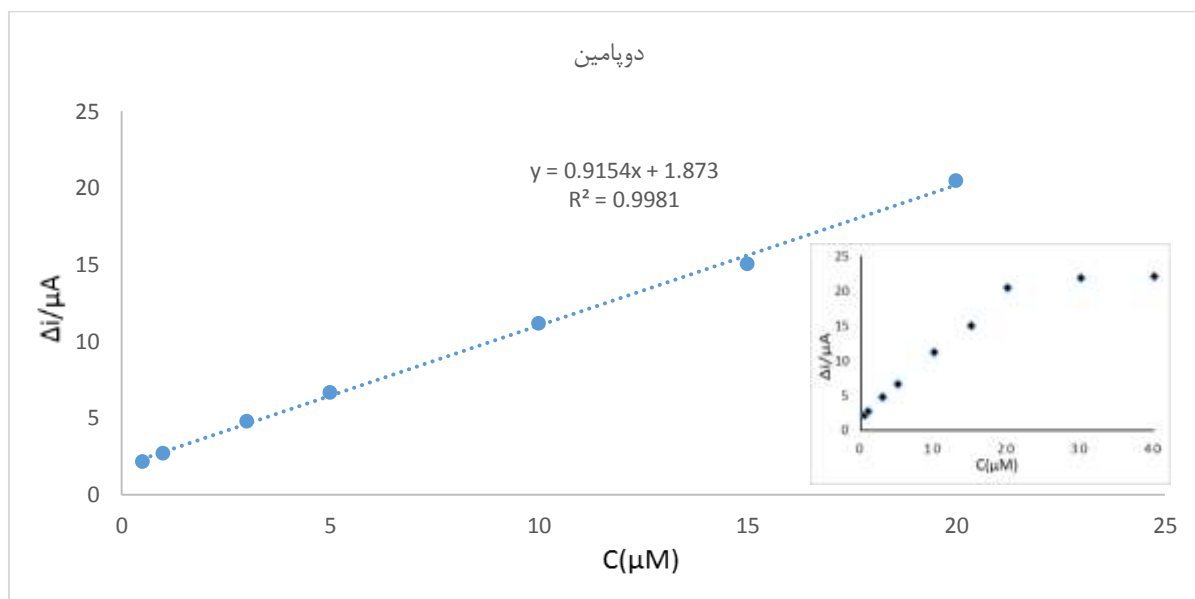
غلظت آسکوربیک اسید (μM)	سیگنال تجزیه‌ای (μA) در پتانسیل پیک آندی ۰/۰۱-ولت
۱۰/۰۰	۰/۶۶
۲۰/۰۰	۰/۹۵
۴۰/۰۰	۱/۴۹
۸۰/۰۰	۲/۸۵
۱۲۰/۰۰	۴/۱۳
۱۵۰/۰۰	۵/۱۷
۲۰۰/۰۰	۶/۲۶



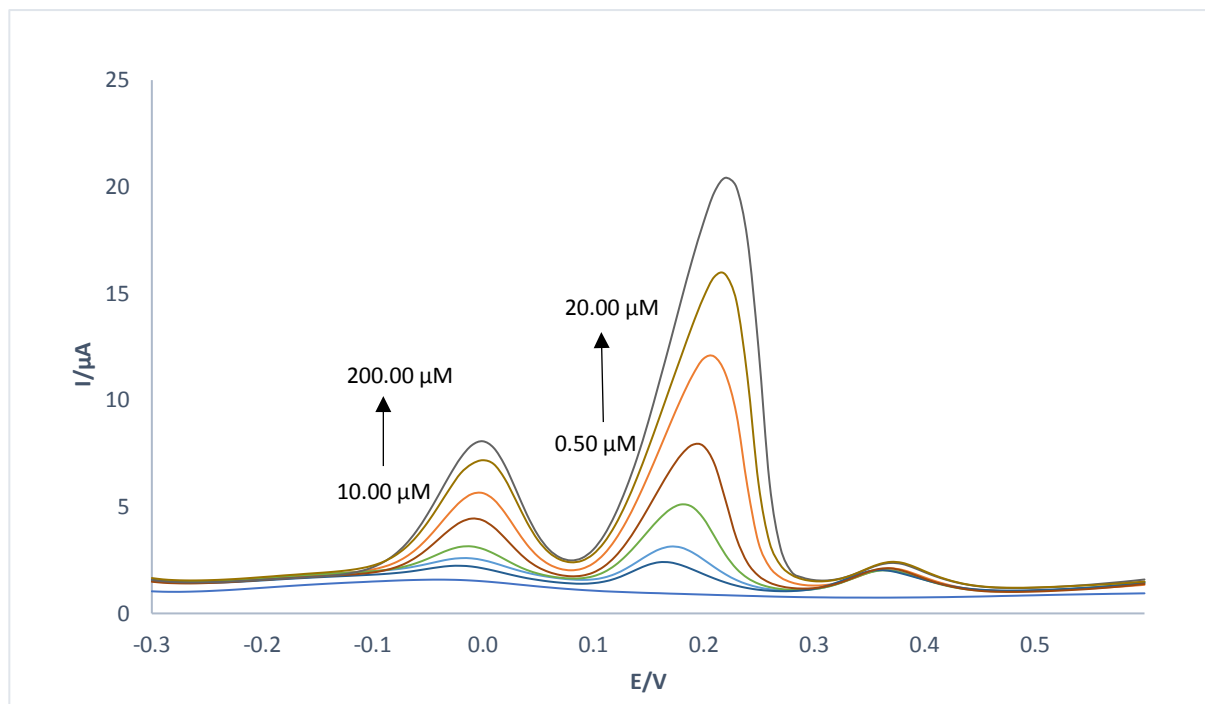
شکل (۲۲-۲) نمودار بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۱۰/۰۰ تا ۲۰۰/۰۰ میکرومولار آسکوربیک اسید.

جدول (۱۵-۲) نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰۰ میکرومولار دوپامین.

غلظت دوپامین (μM)	سیگنال تجزیه‌ای (μA) در پتانسیل پیک آندی ۰/۱۹ ولت
۰/۵۰	۲/۱۸
۱/۰۰	۲/۷۰
۳/۰۰	۴/۷۸
۵/۰۰	۶/۶۵
۱۰/۰۰	۱۱/۱۷
۱۵/۰۰	۱۵/۰۳
۲۰/۰۰	۲۰/۴۶



شکل (۲۳-۲) نمودار منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰۰ میکرومولار دوپامین.



شکل (۲-۲۴) ولتاگرام پالس تفاضلی آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن، شرایط اصلاح: الکترود کربن شیشه اصلاح شده با ۵،۱-دی فنیل کاربازون ۲/۰ میلی مولار، سود ۰/۱ مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه، شرایط اندازه گیری: در حضور ۱/۰ میکرومولار استامینوفن، غلظت دوپامین ۰/۵، ۱/۰، ۲/۰، ۳/۰، ۵/۰، ۱۰/۰، ۱۵/۰ و ۲۰/۰ و آسکوربیک اسید ۱۰/۰، ۲۰/۰، ۴۰/۰، ۸۰/۰، ۱۲۰/۰، ۱۵۰/۰، ۲۰۰/۰ میکرومولار، بافر فسفاتی pH=۶/۰ و سرعت روبش ۲۰ میلی ولت بر ثانیه ارتفاع پالس ۹۰ میلی ولت.

حالت چهارم: الکترود GC/DPCO در شرایط بهینه تهیه شد. برای ثبت ولتاگرام شاهد ۱/۰ میلی لیتر از محلول بافر فسفاتی با pH=۶/۰ و ۴/۰ میلی لیتر آب مقطر را به سل الکتروشیمیایی منتقل کرده و سپس روبش پتانسیل در محدوده ی ۰/۳- تا ۰/۶ ولت با ارتفاع پالس ۹۰ میلی ولت و سرعت ۲۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد. ثبت ولتاگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه با شاهد انجام شد با این تفاوت که در بالن ۵/۰ میلی لیتری محلول های استاندارد حاوی آنالیت ها به صورتی اضافه شدند که غلظت نهایی آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن به ترتیب در گستره های غلظتی ۲۰۰/۰-۱۰/۰، ۲۰/۰-۰/۵ و ۲۰/۰-۰/۵ میکرومولار تغییر کند و با افزایش آب مقطر به حجم رسانده و به سل الکتروشیمیایی منتقل شد. اختلاف جریان شاهد

و نمونه در پتانسیل پیک آندی مربوط به هر آنالیت به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در رسم منحنی کالبراسیون استفاده شد. نتایج حاصل در جدول‌های (۱۶-۲)، (۱۷-۲) و (۱۸-۲) و در شکل‌های (۲۵-۲)، (۲۶-۲) و (۲۷-۲) آمده است. نتایج نشان می‌دهد که در شرایط بهینه برای آسکوربیک‌اسید در گستره‌ی غلظتی ۰/۵-۲۰۰/۰ میکرومولار، دوپامین در گستره‌ی غلظتی ۰/۵-۲۰۰/۰ میکرومولار و استامینوفن در گستره‌ی غلظتی ۰/۵-۲۰۰/۰ بین غلظت و سیگنال تجزیه‌ای رابطه‌ی خطی وجود دارد. شکل (۲۸-۲) ولتاموگرام کالبراسیون آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن به ترتیب در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵-۲۰۰/۰، ۱۰/۰-۲۰۰/۰ و ۰/۵-۲۰۰/۰ میکرومولار را نشان می‌دهد.

با پردازش داده‌ها، معادله‌ی رگرسیون برای آسکوربیک‌اسید در گستره‌هایی غلظتی ۱۰/۰-۲۰۰/۰ میکرومولار، برای دوپامین در گستره‌ی غلظتی ۰/۵-۲۰۰/۰ میکرومولار و برای استامینوفن در گستره‌ی غلظتی ۰/۵-۲۰۰/۰ به صورت زیر محاسبه شد:

$$\Delta i_{AA} = 0.0304 C_{AA} + 0.329 \quad R^2 = 0.9972$$

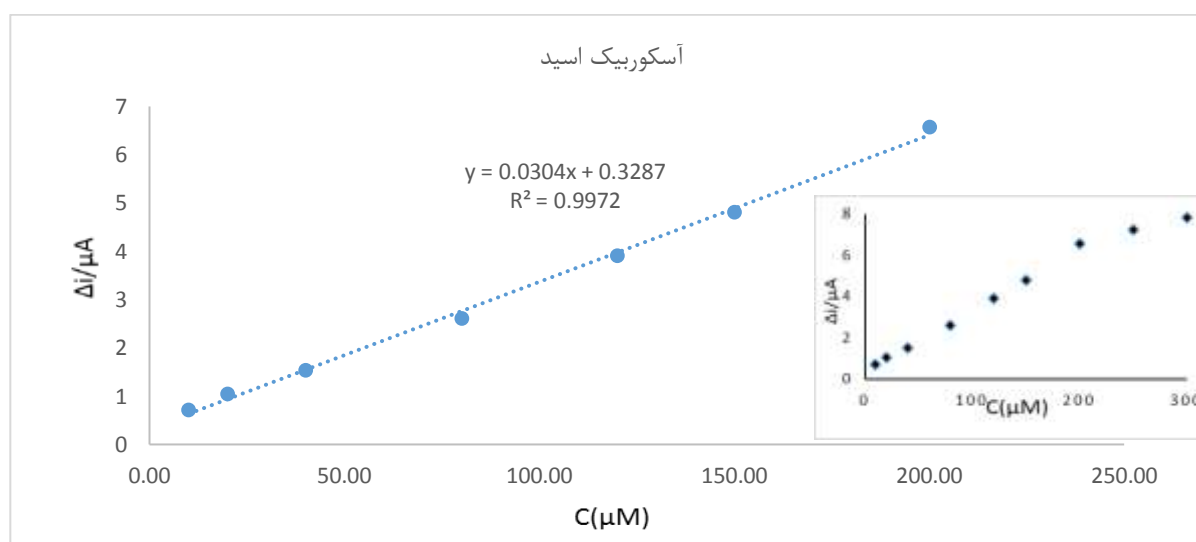
$$\Delta i_{DA} = 0.92667 C_{DA} + 1.764 \quad R^2 = 0.9983$$

$$\Delta i_{AC} = 0.7116 C_{AC} + 1.216 \quad R^2 = 0.9987$$

در این معادلات Δi اختلاف شدت جریان نمونه و شاهد (سیگنال تجزیه‌ای) بر حسب μA ، C_{AA} ، C_{DA} و C_{AC} به ترتیب غلظت آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن بر حسب مولار می‌باشند.

جدول (۱۶-۲) نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۱۰/۰۰ تا ۲۰۰/۰۰ میکرومولار آسکوربیک اسید.

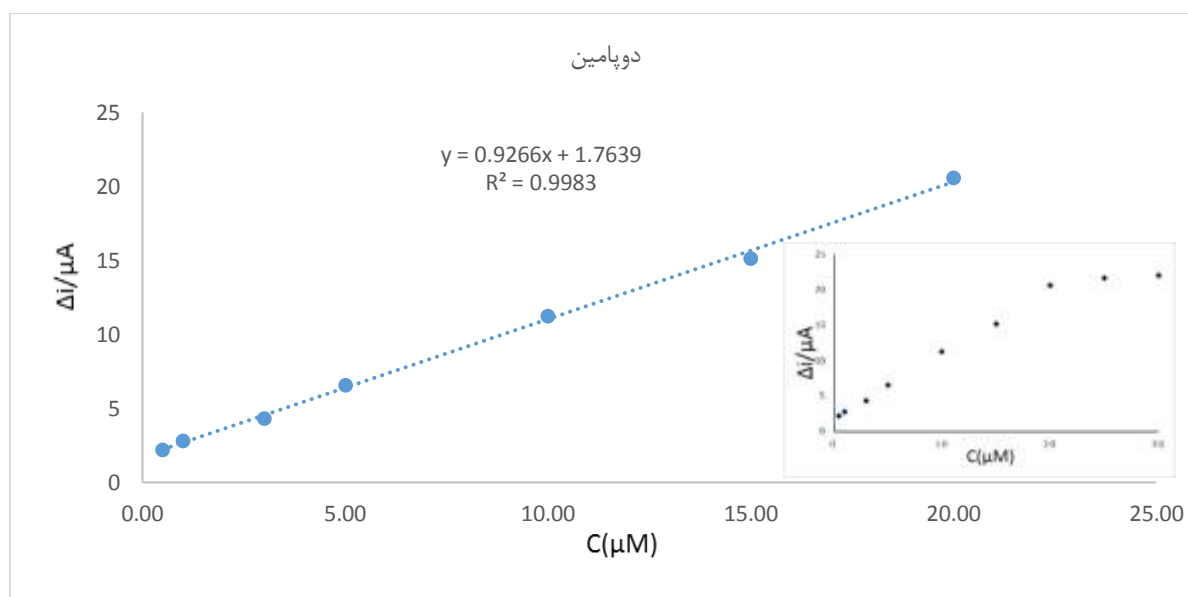
غلظت آسکوربیک اسید (μM)	سیگنال تجزیه‌ای (μA) در پتانسیل پیک آندی ۰/۰۱-ولت
۱۰/۰۰	۰/۷۰
۲۰/۰۰	۱/۰۳
۴۰/۰۰	۱/۵۲
۸۰/۰۰	۲/۶۰
۱۲۰/۰۰	۳/۹۵
۱۵۰/۰۰	۴/۹۲
۲۰۰/۰۰	۶/۵۶



شکل (۲۵-۲) نمودار بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۱۰/۰۰ تا ۲۰۰/۰۰ میکرومولار آسکوربیک اسید.

جدول (۱۷-۲) نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰۰ میکرومولار دوپامین.

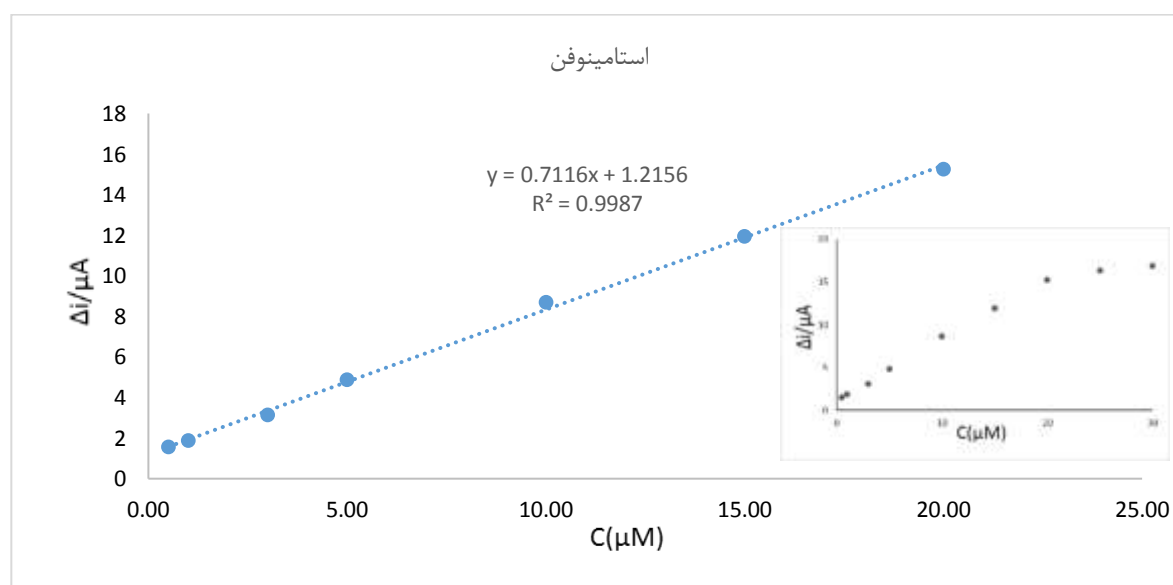
غلظت دوپامین (μM)	سیگنال تجزیه‌ای (μA) در پتانسیل پیک آندی ۰/۱۹ ولت
۰/۵۰	۲/۲۱
۱/۰۰	۲/۸۰
۳/۰۰	۴/۳۲
۵/۰۰	۶/۵۷
۱۰/۰۰	۱۱/۲۳
۱۵/۰۰	۱۵/۱۲
۲۰/۰۰	۲۰/۵۸



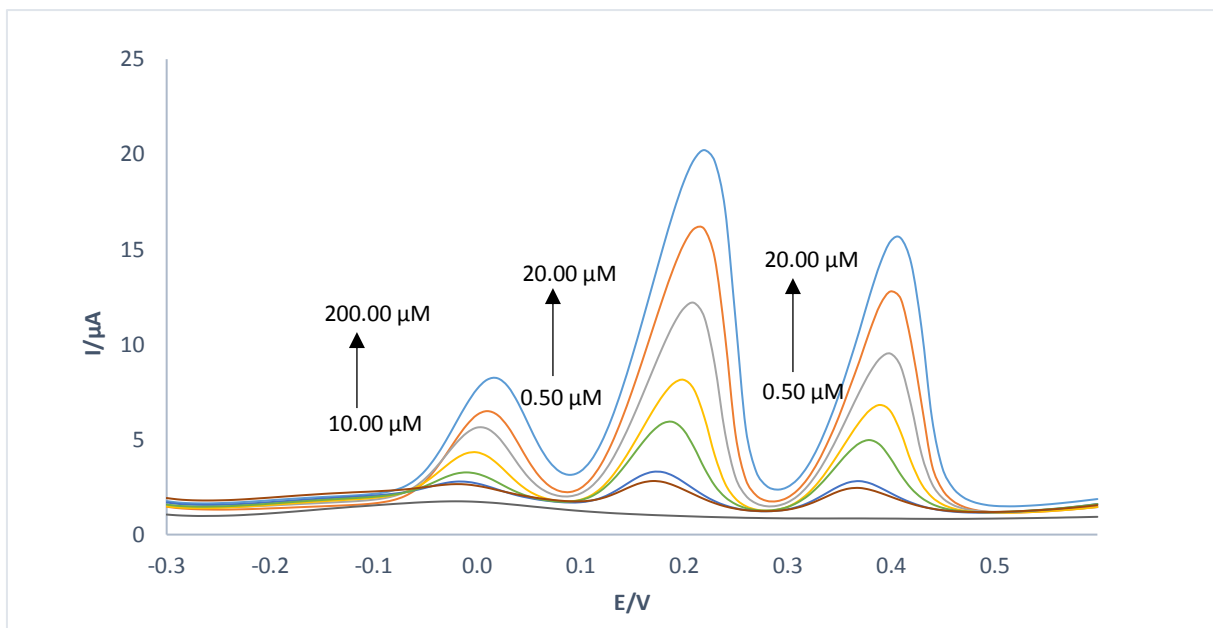
شکل (۲۶-۲) نمودار منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰۰ میکرومولار دوپامین.

جدول (۱۸-۲) نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰۰ میکرومولار استامینوفن.

غلظت استامینوفن (μM)	سیگنال تجزیه‌ای (μA) در پتانسیل پیک آندی ۰/۳۸ ولت
۰/۵۰	۱/۵۵
۱/۰۰	۱/۸۷
۳/۰۰	۳/۱۳
۵/۰۰	۴/۸۷
۱۰/۰۰	۸/۶۷
۱۵/۰۰	۱۱/۹۴
۲۰/۰۰	۱۵/۲۴



شکل (۲۷-۲) نمودار منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی ۰/۵۰ تا ۲۰/۰۰ میکرومولار استامینوفن.



شکل (۲-۲۸) ولتاگرام پالس تفاضلی آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن، شرایط اصلاح: الکتروکربن شیشه اصلاح شده با ۵،۱-دی فنیل کاربازون ۲/۰ میلی مولار، سود ۰/۱ مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه، شرایط اندازه گیری غلظت های دوپامین و استامینوفن ۰/۵، ۱/۰، ۳/۰، ۵/۰، ۱۰/۰، ۱۵/۰ و ۲۰/۰ و آسکوربیک اسید ۱۰/۰، ۲۰/۰، ۴۰/۰، ۸۰/۰، ۱۲۰/۰، ۱۵۰/۰، ۲۰۰/۰ میکرومولار، بافر فسفاتاتی pH=۶/۰ و سرعت روبش ۲۰ میلی ولت بر ثانیه ارتفاع پالس ۹۰ میلی ولت.

۲-۹- بررسی های کرونوآمپرومتری

به منظور مطالعه بیشتر رفتار الکتروشیمیایی آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن، الکتروکربن شیشه بهینه اصلاح شد و به کمک کرونوآمپرومتری، معادله کاترل و نمودار شدت جریان بر حسب $(t^{-1/2})$ ضریب نفوذ هر سه آنالیت محاسبه گردید. رابطه کاترل (معادله ۲-۱) رابطه بین شدت جریان و زمان را بیان می کند.

به این منظور کرونوآمپروگرام محلول آسکوربیک اسید با غلظت های ۰/۰۰، ۵۰/۰، ۱۰۰/۰، ۱۵۰/۰ و ۲۰۰/۰ میکرومولار، محلول دوپامین با غلظت های ۰/۰، ۲/۰، ۴/۰، ۶/۰، ۱۰/۰ و ۱۲/۰ میکرومولار و محلول استامینوفن با غلظت های ۰/۰، ۴/۰، ۶/۰، ۸/۰، ۱۰/۰، ۱۲/۰ میکرومولار در بافر فسفاتاتی pH=۶/۰ در پتانسیل های ۰/۰۳، ۰/۳ و ۰/۴۵ ولت به ترتیب برای آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن و مدت زمان

۳۰ ثانیه ثبت گردید. به دلیل جایه جایی پتانسیل‌ها با غلظت، پتانسیل‌های اکسایشی آنالیت‌ها مثبت‌تر انتخاب شده است. نتایج حاصل در شکل (۲-۲۹)، (۲-۳۰) و (۲-۳۱) آمده است.

$$I = \frac{nFAD^{1/2}C}{\pi^{1/2}} t^{-1/2} \quad \text{معادله (۲-۱)}$$

در این رابطه n ، F ، A ، D و t به ترتیب عبارتند از: تعداد الکترون‌های شرکت کننده در واکنش اکسایش و کاهش، عدد فارادی (C)، مساحت سطح الکتروود اصلاح شده (cm^2)، ضریب نفوذ ($\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$)، غلظت آنالیت (mol/L) و زمان (s).

با استفاده از معادله کاترل و شیب نمودار $I-t^{-1/2}$ در شکل‌های (۲-۲۹)، (۲-۳۰) و (۲-۳۱) ضریب نفوذ سه آنالیت از معادله (۲-۲) محاسبه شد.

$$\text{Slope} = \frac{nFAD^{1/2}C}{\pi^{1/2}} \quad \text{معادله (۲-۲)}$$

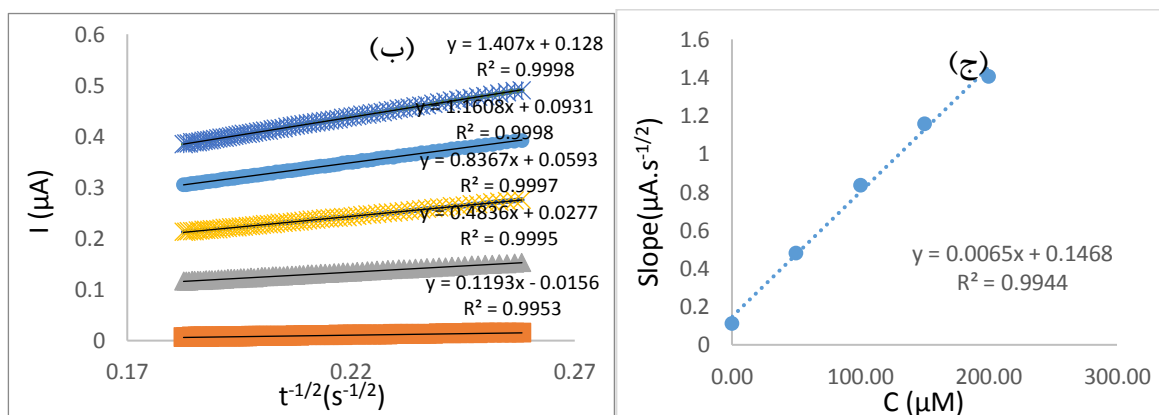
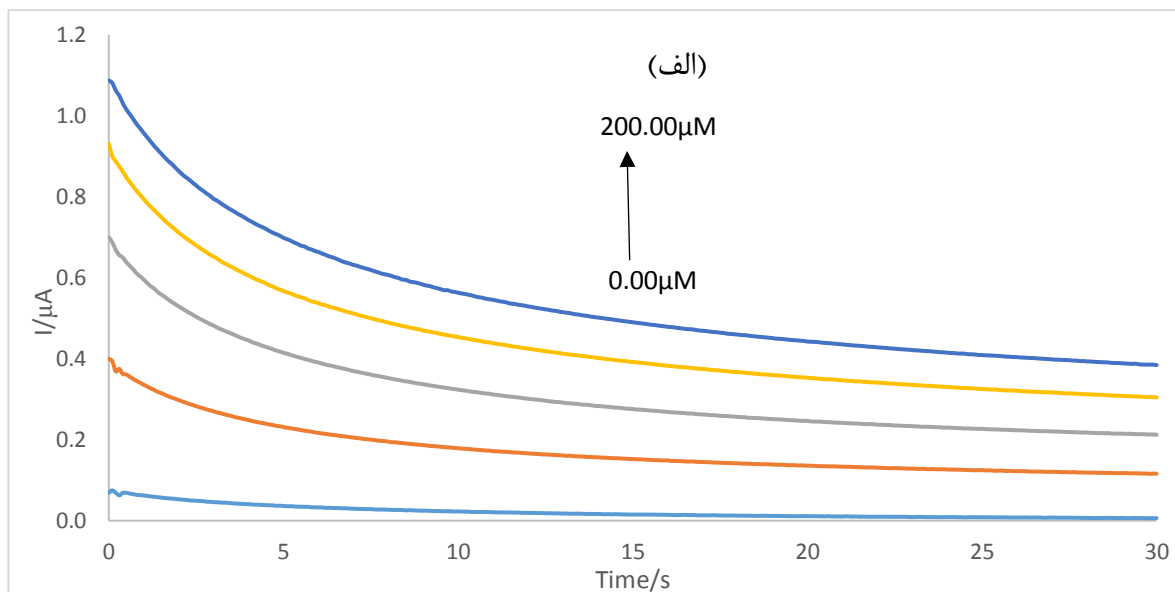
با توجه به این که برای هر سه آنالیت $n=2$ ، F ، A و π به ترتیب ۹۶۴۸۵، ۰/۰۵۰، ۳/۱۴ است ضریب نفوذ برای آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن به صورت زیر محاسبه شد:

مقادیر ضریب نفوذ محاسبه شده با مقادیر گزارش شده در مراجع در محیط‌های مختلف تقریباً هم‌خوانی دارد. [۶۲، ۶۳]

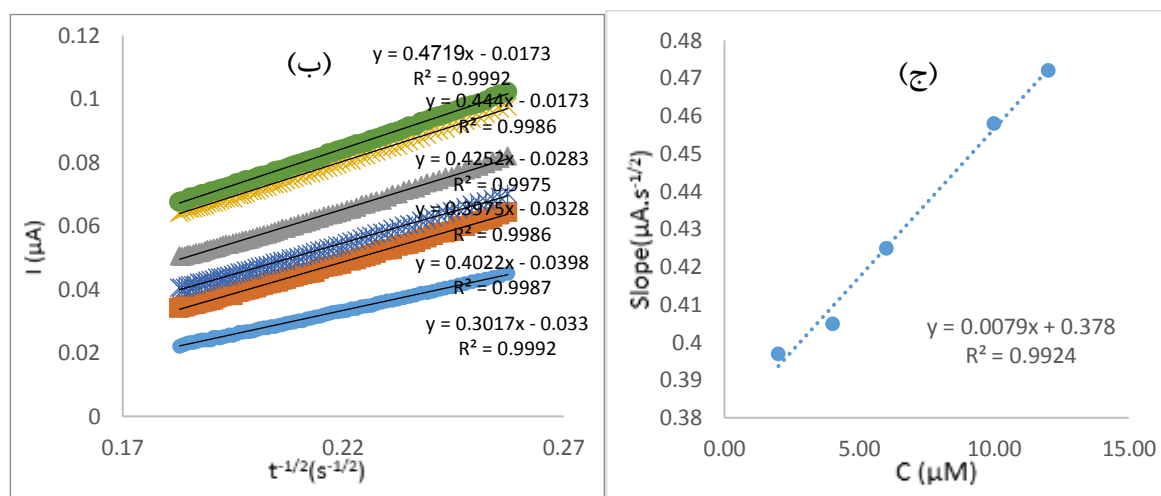
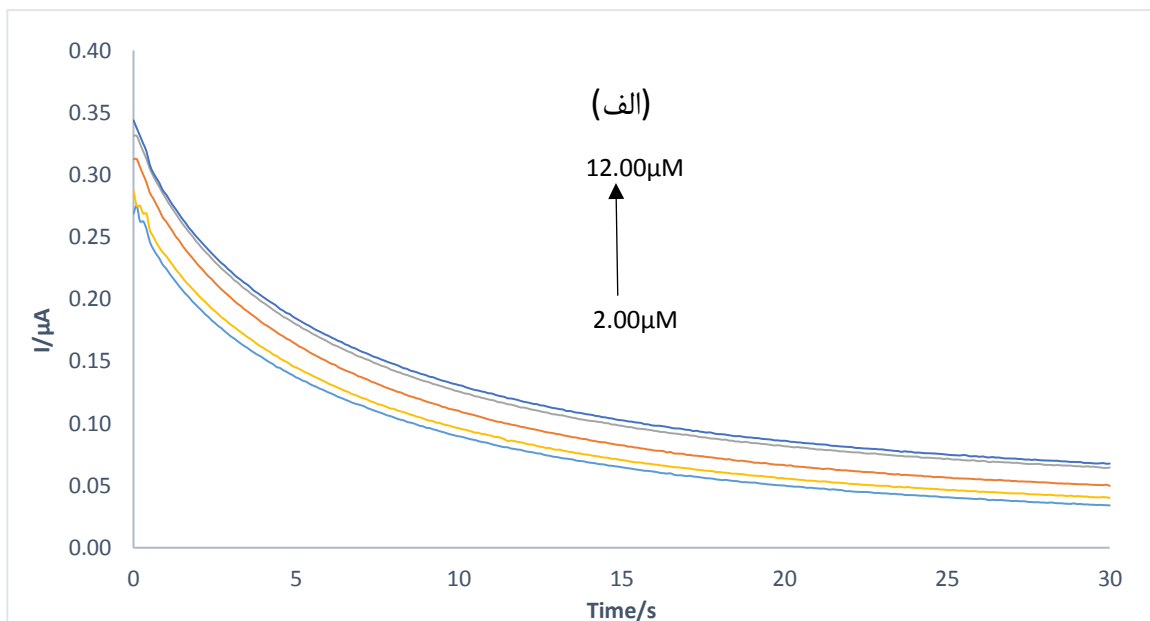
$$D_{AA}^{1/2} = (0/0065)(3/14)^{1/2} / 2(96485)(0/05) = 0/59 \times 10^{-6} \quad D_{AA} = 0/59 \times 10^{-7} \quad \text{cm}^2.\text{s}^{-1}$$

$$D_{DA}^{1/2} = (0/0079)(3/14)^{1/2} / 2(96485)(0/05) = 0/73 \times 10^{-6} \quad D_{DA} = 0/73 \times 10^{-7} \quad \text{cm}^2.\text{s}^{-1}$$

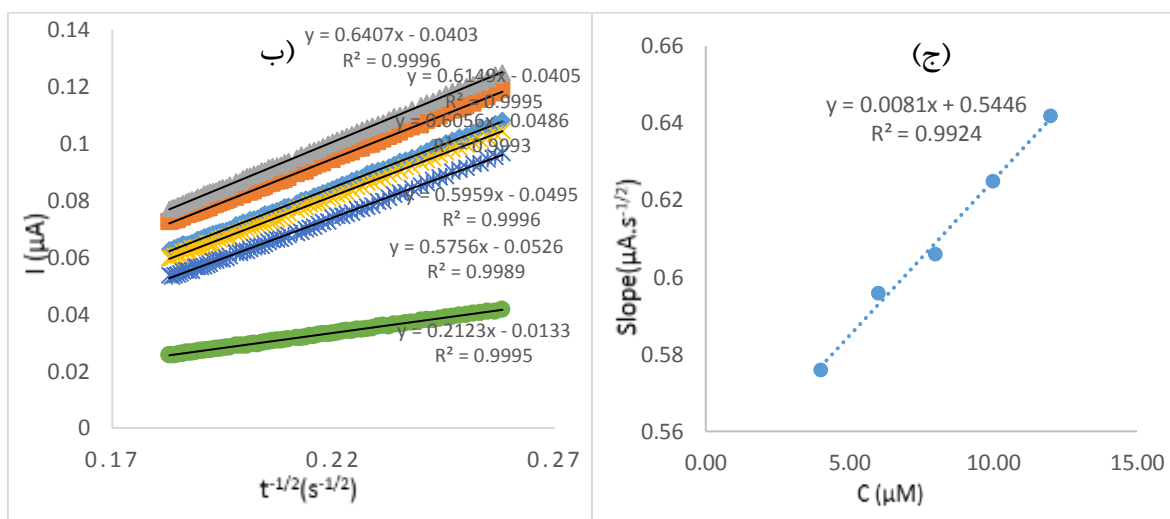
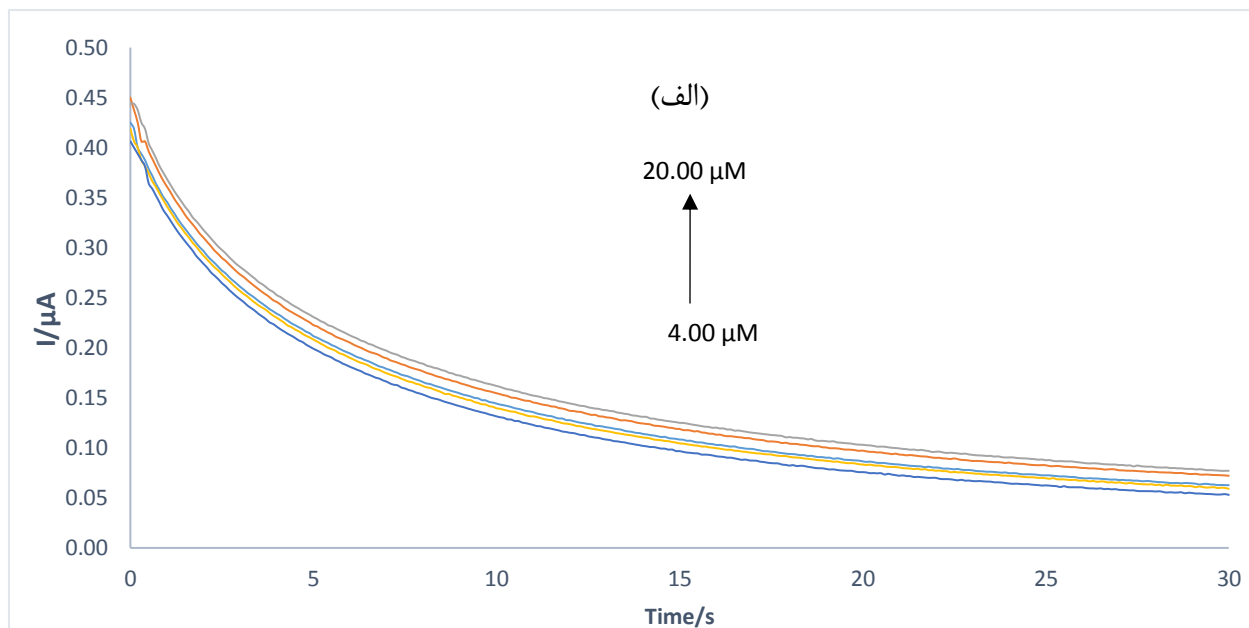
$$D_{AC}^{1/2} = (0/0081)(3/14)^{1/2} / 2(96485)(0/05) = 0/75 \times 10^{-6} \quad D_{AC} = 0/75 \times 10^{-7} \quad \text{cm}^2.\text{s}^{-1}$$



شکل (۲-۲۹) (الف) کرونوآمپروگرام‌های محلول آسکوربیک اسید با غلظت‌های ۰/۰، ۵۰/۰، ۱۰۰/۰، ۱۵۰/۰ و ۲۰۰/۰ میکرومولار و بافر فسفاتنی با $\text{pH} = 6/0$ در سطح الکترود کربن شیشه اصلاح شده با ۵،۱-دی فنیل کاربازون ۲/۰ میلی مولار، سود ۰/۱ مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه، در پتانسیل ۰/۰۳ ولت و زمان ۳۰ ثانیه. (ب) نمودار جریان بر حسب $t^{-1/2}$ (ج) نمودار شیب (منحنی جریان بر حسب $t^{-1/2}$) بر حسب غلظت آسکوربیک اسید.



شکل (۳۰-۲) (الف) کروئوآمپروگرام‌های محلول دوپامین با غلظت‌های ۰/۰، ۲/۰، ۴/۰، ۶/۰، ۱۰/۰ و ۱۲/۰ میکرومولار و بافر فسفات‌ی با pH=۶/۰ در سطح الکتروود کربن شیشه اصلاح شده با ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون ۲/۰ میلی‌مولار، سود ۰/۱ مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه، در پتانسیل ۰/۳ ولت و زمان ۳۰ ثانیه. (ب) نمودار جریان بر حسب $t^{-1/2}$ (ج) نمودار شیب (منحنی جریان بر حسب $t^{-1/2}$) بر حسب غلظت دوپامین.



شکل (۳۱-۲) الف) کروئوآمپروگرام‌های محلول استامینوفن با غلظت‌های ۰/۰، ۴/۰، ۶/۰، ۸/۰، ۱۰/۰ و ۱۲/۰ میکرومولار و بافر فسفات‌ی با $\text{pH} = ۶/۰$ در سطح الکترود کربن شیشه اصلاح شده با ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون ۲/۰ میلی‌مولار، سود ۰/۱ مولار، تعداد ۱۵ چرخه و سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه، در پتانسیل ۰/۴۵ ولت و زمان ۳۰ ثانیه. ب) نمودار جریان بر حسب $t^{-1/2}$ ج) نمودار شیب (منحنی جریان بر حسب $t^{-1/2}$) بر حسب غلظت استامینوفن.

۲-۱۰- دقت و صحت روش

برای مطالعه و بررسی دقت و صحت، سه غلظت از هر آنالیت در ابتدا، میانه و انتهای منحنی

کالیبراسیون انتخاب گردید و شش اندازه‌گیری تکراری برای هر غلظت در شرایط بهینه انجام شد و سیگنال‌های تجزیه‌ای ثبت گردید. با استفاده از منحنی کالیبراسیون غلظت معادل هر سیگنال به دست آمد و سپس میانگین و انحراف استاندارد اندازه‌گیری‌های تکراری روی هر غلظت محاسبه گردید.

برای محاسبه دقت روش از انحراف استاندارد نسبی و برای بررسی صحت روش از آزمون t استفاده شد.

مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای شش اندازه‌گیری تکراری ۲/۳ می‌باشد. بررسی آزمون t نشان می‌دهد که بین مقدار آنالیت اندازه‌گیری شده و مقدار واقعی موجود در محلول اختلاف معناداری وجود نداشته و روش خطای سیستماتیک ندارد. مقادیر RSD محاسبه شده و آزمون t نشان دهنده دقت و صحت خوب روش است. نتایج حاصل در جدول‌های (۲-۱۹)، (۲-۲۰) و (۲-۲۱) قابل مشاهده است.

جدول (۲-۱۹) نتایج حاصل از بررسی دقت و صحت روش پیشنهادی در اندازه‌گیری غلظت ۱ سه آنالیت در مخلوط ۱.

آنالیت	مقدار آنالیت موجود (μM)	مقدار آنالیت اندازه‌گیری شده (μM)	% بازیابی	RSD%	t
آسکوربیک اسید	۴۰/۰۰	$۳۹/۴۱ \pm ۰/۸۳^*$	۹۸/۵۲	۲/۱۱	۱/۷۶
دوپامین	۱/۰۰	$۱/۰۱ \pm ۰/۰۲^*$	۱۰۱/۸۰	۱/۹۸	۱/۰۹
استامینوفن	۱/۰۰	$۱/۰۱ \pm ۰/۰۳^*$	۱۰۱/۱۹	۲/۹۷	۱/۱۳

*مقدار میانگین $\pm$ انحراف استاندارد، مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای شش اندازه‌گیری تکراری ۲/۳ می‌باشد.

جدول (۲-۲۰) نتایج حاصل از بررسی دقت و صحت روش پیشنهادی در اندازه‌گیری سه آنالیت در مخلوط ۲.

آنالیت	مقدار آنالیت موجود (μM)	مقدار آنالیت اندازه‌گیری شده (μM)	% بازیابی	RSD%	t
آسکوربیک اسید	۱۰۰/۰۰	$۱۰۰/۵۴ \pm ۲/۳۹$	۱۰۰/۵۴	۲/۳۸	۰/۵۵
دوپامین	۷/۰۰	$۷/۱۹ \pm ۰/۲۳$	۱۰۳/۸۵	۳/۲۰	۲/۰۳
استامینوفن	۷/۰۰	$۷/۱۵ \pm ۰/۱۷$	۱۰۲/۲۱	۲/۳۸	۲/۲۱

*مقدار میانگین $\pm$ انحراف استاندارد، مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای شش اندازه‌گیری تکراری ۲/۳ می‌باشد.

جدول (۲۱-۲) نتایج حاصل از بررسی دقت و صحت روش پیشنهادی در اندازه‌گیری سه آنالیت در مخلوط ۳.

آنالیت	مقدار آنالیت موجود (μM)	مقدار آنالیت اندازه‌گیری شده (μM)	% بازیابی	RSD%	t
آسکوربیک‌اسید	۱۶۰/۰۰	۱۶۰/۱۹ ± ۲/۴۹	۱۰۰/۱۲	۱/۵۶	۰/۱۹
دوپامین	۱۵/۰۰	۱۵/۱۵ ± ۰/۳۵	۱۰۰/۹۹	۲/۳۱	۱/۰۲
استامینوفن	۱۵/۰۰	۱۴/۸۹ ± ۰/۱۷	۹۹/۲۶	۱/۱۴	۱/۵۵

*مقدار میانگین ± انحراف استاندارد، مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای شش اندازه‌گیری تکراری ۲/۳ می‌باشد.

۲-۱۱- حد تشخیص^۱

حد تشخیص تئوری یک روش را می‌توان از معادله (۳-۲) محاسبه کرد:

$$LOD = \frac{3S_{bl}}{m} \quad \text{معادله (۳-۲)}$$

برای تعیین حد تشخیص این روش از معادله‌ی معادله (۳-۲) استفاده شد. برای به‌دست آوردن انحراف استاندارد سیگنال شاهد در شرایط بهینه، ۱۰ اندازه‌گیری تکراری انجام شد. پس از اندازه‌گیری شدت جریان شاهد در پتانسیل‌های ۰/۰۱-، ۰/۱۹ و ۰/۳۸ ولت بر روی هر ولتاگرام، انحراف استاندارد و میانگین سیگنال شاهد به ترتیب، ۰/۰۲۸ و ۱/۳۴ میکروآمپر برای آسکوربیک‌اسید، ۰/۰۱۳ و ۰/۶۲ میکروآمپر برای دوپامین و ۰/۰۱۵ و ۰/۵۰ میکروآمپر برای استامینوفن به‌دست آمد که با توجه به شیب منحنی کالیبراسیون برای آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن (شکل‌های (۲-۲۵)، (۲-۲۶) و (۲-۲۷)) حد تشخیص ۲/۸۰ میکرومولار برای آسکوربیک‌اسید، ۰/۰۴ میکرومولار برای دوپامین و ۰/۰۷ میکرومولار برای استامینوفن با استفاده از معادله (۳-۲) به‌دست آمد.

^۱ Detection limit

۲-۱۲- بررسی تکرار پذیری، تکثیر پذیری و پایداری الکتروود اصلاح شده با ۵،۱-

دی فنیل کاربازون

در ساخت یک الکتروود اصلاح شده به منظور اندازه گیری های کمی، برخی خصوصیات الکتروود از جمله تکرار پذیری^۱، تکثیر پذیری^۲ و پایداری^۳ الکتروود اصلاح شده باید مورد بررسی قرار گیرد که در ادامه به مطالعه این خصوصیات پرداخته می شود.

۲-۱۲-۱- بررسی تکرار پذیری و تکثیر پذیری الکتروود اصلاح شده

تکرار پذیری و تکثیر پذیری الکتروود اصلاح شده، از خاصیت مهم الکتروودها می باشند. منظور از تکرار پذیری حسگر وجود شباهت ساختاری بین الکتروودهایی است که در یک دفعه به همراه همدیگر ساخته می شوند و منظور از تکثیر پذیری وجود شباهت ساختاری بین حسگرهایی است که در دفعات جداگانه ساخته می شوند.

تکرار پذیری و تکثیر پذیری از طریق اصلاح الکتروود در چهار روز در شرایط بهینه بررسی شد. الکتروود اصلاح شده در بافر فسفاتی $\text{pH} = 6.0$ قرار گرفته و ولتاگرام های ترکیبات مورد مطالعه به کمک ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ی -0.3 تا 0.6 میلی ولت، سرعت روبش 20 میلی ولت بر ثانیه و ارتفاع پالس 90 میلی ولت در محلول هایی با غلظت نهایی $5.0/0$ ، $7.0/0$ و میکرومولار به ترتیب نسبت به آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن ثبت گردید. با هر الکتروود اصلاح شده در شرایط بهینه 5 اندازه گیری تکراری انجام شد. نتایج حاصل در جدول های (۲-۲۲)، (۲-۲۳) و (۲-۲۴) آمده است.

^۱. Repeatability

^۲. Reproducibility

^۳. Stability

جدول (۲-۲۲) نتایج حاصل از تکرار پذیری و تکثیرپذیری الکتروود اصلاح شده برای اندازه‌گیری آسکوربیک‌اسید با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار.

%RSD	سیگنال تجزیه‌ای آسکوربیک‌اسید (μA)						الکتروود GC/DPCO
	میانگین	اندازه‌گیری پنجم	اندازه‌گیری چهارم	اندازه‌گیری سوم	اندازه‌گیری دوم	اندازه‌گیری اول	
۰/۸۶	۱/۷۴ ± ۰/۰۲*	۱/۷۳	۱/۷۵	۱/۷۳	۱/۷۱	۱/۷۴	روز اول
۱/۷۴	۱/۷۲ ± ۰/۰۳	۱/۷۰	۱/۷۴	۱/۷۶	۱/۶۸	۱/۷۲	روز دوم
۲/۲۹	۱/۷۴ ± ۰/۰۴	۱/۷۰	۱/۷۸	۱/۷۹	۱/۷۰	۱/۷۳	روز سوم
۲/۲۳	۱/۷۲ ± ۰/۰۴	۱/۷۶	۱/۷۱	۱/۶۸	۱/۷۰	۱/۷۶	روز چهارم

*انحراف استاندارد برای ۵ اندازه‌گیری تکراری

جدول (۲-۲۳) نتایج حاصل از تکرار پذیری و تکثیرپذیری الکتروود اصلاح شده برای اندازه‌گیری دوپامین با غلظت ۵۰/۰ میکرومولار.

%RSD	سیگنال تجزیه‌ای دوپامین (μA)						الکتروود GC/DPCO
	میانگین	اندازه‌گیری پنجم	اندازه‌گیری چهارم	اندازه‌گیری سوم	اندازه‌گیری دوم	اندازه‌گیری اول	
۰/۴۵	۶/۵۵ ± ۰/۰۳*	۶/۵۰	۶/۵۷	۶/۵۶	۶/۵۳	۶/۵۸	روز اول
۰/۹۱	۶/۵۷ ± ۰/۰۶	۶/۵۲	۶/۶۰	۶/۵۴	۶/۶۴	۶/۵۰	روز دوم
۱/۰۶	۶/۵۷ ± ۰/۰۷	۶/۵۷	۶/۵۲	۶/۶۰	۶/۶۶	۶/۵۰	روز سوم
۰/۹۱	۶/۵۸ ± ۰/۰۶	۶/۵۴	۶/۴۹	۶/۵۶	۶/۶۳	۶/۶۲	روز چهارم

*انحراف استاندارد برای ۵ اندازه‌گیری تکراری

جدول (۲-۲۴) نتایج حاصل از تکرار پذیری و تکثیرپذیری الکتروود اصلاح شده برای اندازه‌گیری استامینوفن با غلظت ۷/۰ میکرومولار.

%RSD	سیگنال تجزیه‌ای استامینوفن (μA)						الکتروود GC/DPCO
	میانگین	اندازه‌گیری پنجم	اندازه‌گیری چهارم	اندازه‌گیری سوم	اندازه‌گیری دوم	اندازه‌گیری اول	
۰/۵۰	۶/۰۵ ± ۰/۰۳*	۶/۰۴	۶/۰۷	۶/۰۸	۶/۰۴	۶/۰۱	روز اول
۰/۶۶	۶/۰۶ ± ۰/۰۴	۶/۰۹	۶/۰۶	۶/۰۷	۶/۰۰	۶/۰۹	روز دوم
۰/۸۳	۶/۰۳ ± ۰/۰۵	۶/۰۱	۶/۱۰	۵/۹۷	۵/۹۹	۶/۰۶	روز سوم
۰/۸۳	۶/۰۵ ± ۰/۰۵	۶/۱۱	۶/۰۳	۶/۰۸	۵/۹۸	۶/۰۶	روز چهار

*انحراف استاندارد برای ۵ اندازه‌گیری تکراری

به منظور اثبات عدم وجود اختلاف معنادار بین نتایج گزارش شده، از آزمون تحلیل واریانس^۱

(ANOVA) دو جانبه استفاده گردید. تحلیل واریانس بررسی می‌کند که آیا تفاوت بین میانگین‌ها ناشی از

خطای تصادفی است، نتیجه‌ی محاسبات به صورت زیر است.

جدول (۲-۲۵): جدول ANOVA

منبع تغییرات	مجموع مربعات ^۲ (SS)	درجه آزادی ^۳ (df)	میانگین مربعات ^۴ (MS)
بین نمونه‌ای ^۵	$SS_b = n \sum_i (\bar{x}_i - \bar{x})^2$	K - 1	$MS_b = \frac{SS_b}{K - 1}$
درون نمونه‌ای ^۶	$SS_w = n \sum_i \sum_j (\bar{x}_i - \bar{x})^2$	N - K	$MS_w = \frac{SS_w}{N - K}$

^۱ .Analysis of Variance

^۲ Sum of square

^۳ Degree of freedom

^۴ Mean square

^۵ Between-sample variation

^۶ Within-sample variation

جدول (۲-۲۶) ANOVA برای آسکوربیک اسید.

منبع تغییرات	مجموع مربعات (SS)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)	F
بین نمونه‌ای	۰/۰۰۱۴	۳	۰/۰۰۰۵	۰/۴۵
درون نمونه‌ای	۰/۰۱۷۹	۱۶	۰/۰۰۱۱	

جدول (۲-۲۷) ANOVA برای دوپامین

منبع تغییرات	مجموع مربعات (SS)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)	F
بین نمونه‌ای	۰/۰۰۱۳	۳	۰/۰۰۰۵	۰/۱۷
درون نمونه‌ای	۰/۰۴۸۰	۱۶	۰/۰۰۳۰	

جدول (۲-۲۸) ANOVA برای استامینوفن

منبع تغییرات	مجموع مربعات (SS)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)	F
بین نمونه‌ای	۰/۰۰۲۸	۳	۰/۰۰۰۹	۰/۵۲
درون نمونه‌ای	۰/۰۲۸۶	۱۶	۰/۰۰۱۸	

آزمون F در سطح اطمینان ۹۵٪ و درجات آزادی ۳ و ۱۶ طبق رابطه‌ی زیر به کار برده شد:

$$F_{\text{calculated}} = \frac{MS_b}{MS_w} \quad \text{معادله (۲-۴)}$$

با استفاده از رابطه‌ی فوق مقدار F محاسبه شد که نتایج حاصل از آن در جدول‌های (۲-۲۵)، (۲-۲۶)

و (۲-۲۷) گزارش شده است با توجه به مقدار F_{table} در سطح اطمینان ۹۵٪ که برابر با ۳/۲۴ می‌باشد، عدم

وجود اختلاف معنادار بین واریانس‌های محاسبه شده اثبات شد و این امر نشان می‌دهد الکترودها دارای

تکرارپذیری و تکثیرپذیری می‌باشند.

۲-۱۳- بررسی اثر مزاحمت‌ها

یکی از مهم‌ترین مراحل در توسعه یک روش تجزیه‌ای بررسی مزاحمت احتمالی گونه‌های مختلف در اندازه‌گیری گونه مورد نظر به منظور استفاده از آن در تجزیه نمونه‌های حقیقی است. برای تعیین میزان گزینش پذیری روش، اثر گونه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت و نحوه‌ی عمل به این صورت بود که ولتاگرام پالس تفاضلی در حضور آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن به ترتیب با غلظت‌های ۱۰/۰، ۱۰/۰ و ۱/۰ میلی گرم بر لیتر در بافر فسفاتی با $\text{pH}=6/0$ ، با سرعت روبش ۲۰ میلی‌ولت بر ثانیه در گستره‌ی ۰/۳- تا ۰/۶ ولت ثبت گردید. این اندازه‌گیری سه مرتبه تکرار شده و میانگین شدت جریان اکسایشی در پتانسیل‌های ۰/۱۹-، ۰/۱۹ و ۰/۳۸ ولت و انحراف استاندارد آن‌ها محاسبه شد. سپس محلول‌هایی با همان شرایط قبلی، ولی در حضور گونه‌های بالقوه مزاحم مورد بررسی قرار گرفت. گونه‌هایی که در حضور آن‌ها جریان آندی در محدوده‌ی $\Delta i \pm 3s$ قرار گرفت به عنوان گونه‌ی غیر مزاحم در نظر گرفته شدند و در غیر این‌صورت مزاحم بوده و آنقدر غلظت آن‌ها کاهش داده شد تا حد غلظتی آن‌ها بدون مزاحمت مشخص شود. در رابطه‌ی بالا Δi میانگین شدت جریان آندی مربوط به ۳ اندازه‌گیری تکراری در غلظت ۱۰/۰، ۱۰/۰ و ۱/۰ میلی گرم بر لیتر آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن و s انحراف استاندارد شدت جریان اندازه‌گیری شده در سه اندازه‌گیری تکراری می‌باشد. با توجه به نتایج به‌دست آمده در جدول (۲-۲۹)، بیشتر گونه‌های مورد بررسی در اندازه‌گیری همزمان آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن مزاحمت ایجاد نمی‌کنند. گونه‌های ویتامین ب ۱ و ویتامین ب ۶ به‌خاطر همپوشانی با دماغه اکسایشی تا ۵ برابر ایجاد مزاحمت می‌کنند. این نتایج نشان‌دهنده‌ی گزینش‌پذیری خوب روش پیشنهادی می‌باشد.

برای تهیه نمونه‌ی حقیقی استامینوفن از نمونه قرص ۳۰۰ میلی گرم شرکت داروسازی شفا استفاده شد. بدین منظور تعداد ۴ قرص در یک هاون چینی ساییده شده تا یک پودر همگن تشکیل گردد. سپس وزن مشخصی (یک چهارم) از این پودر همگن به بشر منتقل شد و ۱۰ میلی لیتر اتانول به آن اضافه گردید و به مدت ۵ دقیقه در حمام فراصوت قرار گرفت. مخلوط حاصل توسط کاغذ صافی واتمن نمره ۴۲ صاف و در بالن حجمی (۵۰۰ میلی لیتر) به حجم رسانده شد تا محلول نمونه حقیقی آماده گردید. سپس ۲/۵ میلی لیتر از این محلول در بالن ۱۰۰/۰ میلی لیتری رقیق شد. حجم مشخصی از این محلول (۰/۲۵ میلی لیتر) و حجم‌های مختلف از استانداردهای آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن و ۱/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی pH=۶/۰ اضافه و به بالن ۵/۰ میلی لیتر منتقل، سپس محتویات بالن به سل الکتروشیمیایی منتقل شد و از روش ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه گیری غلظت‌ها استفاده شد. هر اندازه گیری ۳ بار تکرار شد. نتایج حاصل از اندازه گیری‌ها در جدول (۲-۳۰) آورده شده است. مقادیر t (با در نظر گرفتن مقدار ۲/۷۸ برای t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای ۳ اندازه گیری) و درصد بازیابی نشان دهنده دقت و صحت خوب روش پیشنهادی برای اندازه گیری همزمان آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن می باشد. مقدار استامینوفن در هر قرص با روش پیشنهادی ۳۰۴/۰ میلی گرم به دست آمد.

جدول (۲-۳۰) نتایج حاصل از اندازه گیری ولتامتری استامینوفن در نمونه قرص استامینوفن (n=۳)

نمونه			مقدار اضافه شده (μM)			مقدار اندازه گیری شده انحراف استاندارد ± (μM)			مقدار t محاسبه شده			درصد بازیابی		
AC*	DA*	AA*	AC	DA	AA	AC	DA	AA	AC	DA	AA	AC	DA	AA
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	ND*	ND	ND**	۵/۰۵ ± ۰/۲۸	ND	ND*	-	-	-	-	-	-
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	ND	ND	ND	۱۱/۹۱ ± ۰/۱۵	ND	ND	۱/۵۸	-	-	۹۸/۱	-	-
۵۰/۰۰	۲/۰۰	۲/۰۰	۴۸/۳۱ ± ۱/۲۴	۲/۰۱ ± ۰/۰۹	۶/۸۸ ± ۰/۲۷	۲/۳۸	۰/۱۷	۱/۵۳	۹۶/۶	۱۰۰/۴	۹۵/۰	۱۰۲/۶	۱۰۲/۱	۹۷/۷
۱۰۰/۰۰	۵/۰۰	۵/۰۰	۹۷/۶۶ ± ۳/۹۲	۵/۱۰ ± ۰/۱۴	۱۰/۱۸ ± ۰/۲۳	۱/۰۳	۱/۳۵	۰/۹۹	۹۷/۷	۱۰۲/۱	۱۰۲/۶	۱۰۲/۶	۱۰۲/۱	۹۷/۷

*AA: آسکوربیک اسید، DA: دوپامین، AC: استامینوفن، ND: غیر قابل تشخیص. t در جدول برای درجه آزادی ۴ در سطح اطمینان ۹۵ درصد برابر ۲/۷۷ می باشد. ** انحراف استاندارد سه اندازه گیری تکراری.

۲-۱۴-۲- نمونه قرص آسکوربیک اسید

برای تهیه نمونه‌ی حقیقی آسکوربیک اسید از نمونه قرص ۲۵۰ میلی گرم شرکت داروسازی آوه سینا استفاده شد. بدین منظور طبق آماده‌سازی بخش (۲-۱۴-۱) انجام شد. سپس ۴۴/۰ میلی لیتر از این محلول در بالن ۲۵۰/۰ رقیق شد. حجم مشخصی از این محلول (۱/۰ میلی لیتر) و حجم‌های مختلف استانداردهای آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن به سل الکتروشیمیایی منتقل شده و ۱/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی pH=۶/۰ اضافه و به بالن ۵/۰ میلی لیتر منتقل، سپس محتویات بالن به سل الکتروشیمیایی منتقل شد و از روش ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه‌گیری غلظت‌ها استفاده شد. هر اندازه‌گیری ۳ بار تکرار شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری‌ها در جدول (۲-۳۱) آورده شده است. مقادیر t (با در نظر گرفتن مقدار ۲/۷۸ برای t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای ۳ اندازه‌گیری) و درصد بازیابی نشان دهنده دقت و صحت خوب روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری همزمان آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن می‌باشد. مقدار آسکوربیک اسید در هر قرص با روش پیشنهادی ۲۴۹/۶ میلی گرم به دست آمد.

جدول (۲-۳۱) نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری آسکوربیک اسید در نمونه قرص آسکوربیک اسید (n=۳)

نمونه			مقدار اضافه شده (μM)			مقدار اندازه‌گیری شده انحراف استاندارد ± (μM)			مقدار t محاسبه شده			درصد بازیابی		
			AC*	DA*	AA*	AC	DA	AA	AC	DA	AA	AC	DA	AA
قرص آسکوربیک اسید			۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۹۹/۸۵ ± ۲/۷۹	ND*	ND	-	-	-	-	-	-
			۰/۰۰	۰/۰۰	۱۰۰/۰۰	۱۹۷/۰۹ ± ۴/۹۰	ND	ND	۰/۹۷	-	-	-	-	۹۷/۲
			۲/۰۰	۲/۰۰	۵۰/۰۰	۱۴۹/۳۹ ± ۴/۷۱	۱/۹۶ ± ۰/۱۳	۲/۰۳ ± ۰/۱۰	۰/۱۷	۰/۵۳	۰/۵۵	۹۹/۱	۹۸/۲	۱۰۱/۶
			۵/۰۰	۵/۰۰	۸۰/۰۰	۱۷۷/۹۷ ± ۳/۸۴	۵/۰۴ ± ۰/۱۶	۵/۰۷ ± ۰/۱۳	۰/۸۵	۰/۴۴	۰/۸۸	۹۷/۷	۱۰۰/۸	۱۰۱/۴

AA*: آسکوربیک اسید، DA: دوپامین، AC: استامینوفن، ND: غیر قابل تشخیص. t در جدول برای درجه آزادی ۴ در سطح اطمینان ۹۵ درصد برابر ۲/۷۷ می‌باشد.

۲- ۱۴- ۳- نمونه آمپول دوپامین

برای تهیه‌ی نمونه‌ی حقیقی دوپامین از نمونه آمپول دوپامین هیدروکلرید (۲۰۰ میلی‌گرم در ۵ میلی‌لیتر) شرکت داروسازی رازی استفاده شد. برای تهیه نمونه حقیقی آمپول دوپامین، ۲/۴ میلی‌لیتر از آمپول (۴۰ mg/mL) در یک بالن حجمی ۱۰۰۰/۰ میلی‌لیتری توسط آب مقطر به حجم رسانده شد. ۴/۰ میلی‌لیتر از این محلول در بالن ۱۰۰/۰ میلی‌لیتری با آب مقطر رقیق شد. سپس ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول نهایی آمپول و حجم‌های متفاوت از استانداردهای استامینوفن، دوپامین و آسکوربیک‌اسید و ۱/۰ میلی‌لیتر بافر فسفاتی pH=۶/۰، اضافه و به بالن ۵/۰ میلی‌لیتر منتقل، سپس محتویات بالن به سل الکتروشیمیایی منتقل گردید. از روش ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه‌گیری غلظت‌ها استفاده شد. نتایج در جدول (۲-۳۲) آورده شده است. مقادیر t (با در نظر گرفتن مقدار ۲/۷۸ برای t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای سه اندازه‌گیری) و درصد بازیابی‌ها نشان دهنده دقت و صحت خوب روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری همزمان آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن می‌باشد. مقدار دوپامین در آمپول با روش پیشنهادی ۱۹۶/۷ میلی‌گرم در ۵ میلی‌لیتر به دست آمد.

جدول (۲-۳۲) نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری دوپامین در نمونه آمپول دوپامین هیدروکلرید (n=۳)

نمونه			مقدار اضافه شده (μM)			مقدار اندازه‌گیری شده انحراف استاندارد $\pm$ (μM)			مقدار t محاسبه شده			درصد بازیابی		
AC*	DA*	AA*	AC	DA	AA	AC	DA	AA	AC	DA	AA	AC	DA	AA
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	ND*			ND	$4/93 \pm 0/14$		-	-	-	-	-	-
۰/۰۰	۷/۰۰	۰/۰۰	ND			ND	$12/08 \pm 0/23$		-	۱/۱۲	-	۱۰۲/۱	-	-
۲/۰۰	۲/۰۰	۵۰/۰۰	$46/20 \pm 2/06$			$2/09 \pm 0/20$	$7/12 \pm 0/27$	$3/18$	۰/۸۶	۱/۱۹	۳/۱۸	۱۰۴/۷	۱۰۹/۵	۹۲/۳
۵/۰۰	۵/۰۰	۱۰۰/۰۰	$100/88 \pm 2/31$			$4/94 \pm 0/14$	$9/95 \pm 0/19$	۰/۶۶	۰/۷۳	۰/۲۱	۰/۶۶	۹۸/۸	۱۰۰/۴	۱۰۰/۸

AA*: آسکوربیک‌اسید، DA: دوپامین، AC: استامینوفن، ND: غیر قابل تشخیص. t در جدول برای درجه آزادی ۴ در سطح اطمینان ۹۵ درصد برابر ۲/۷۷ می‌باشد.

۲-۱۴-۴- نمونه سرم خون

نمونه سرم خون، تهیه شده، از آزمایشگاه رازی شهرستان شاهرود (فرد سالم) به عنوان نمونه حقیقی مورد بررسی قرار گرفت. به منظور آماده سازی نمونه سرم خون، ابتدا سرم جمع آوری شده که تا زمان آنالیز منجمد شده بود، در دمای اتاق ذوب شد و سپس ۲/۰ میلی لیتر از سرم و ۱/۰ میلی لیتر استونیتریل به منظور جدا کردن پروتئین های موجود در سرم و به مدت ۱۰/۰ دقیقه در سانتیفیوژ با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. سپس ۱/۰ میلی لیتر از محلول رویی سرم به سل الکتروشیمیایی منتقل شد و آنالیز نمونه با روش افزایش استاندارد انجام شد. به این صورت که ابتدا سیگنال محلول نمونه حاوی ۱/۰ میلی لیتر نمونه ی سرم و فاقد استاندارد تحت شرایط بهینه به دست آمد و در مراحل بعد حجم متفاوت از محلول های استاندارد آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن به محلول نمونه اضافه شد. هر اندازه گیری سه بار تکرار شد. نتایج در جدول (۲-۳۳) آورده شده است. مقادیر t (با در نظر گرفتن مقدار ۲/۷۷ برای t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای سه اندازه گیری) و درصد بازیابی ها نشان دهنده دقت و صحت خوب روش پیشنهادی برای اندازه گیری همزمان آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن می باشد.

جدول (۲-۳۳) نتایج حاصل از اندازه گیری ولتامتری آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن در نمونه سرم خون (n=۳).

نمونه			مقدار اضافه شده (μM)			مقدار اندازه گیری شده انحراف استاندارد $\pm$ (μM)			مقدار t محاسبه شده			درصد بازیابی		
			AC*	DA*	AA*	AC	DA	AA	AC	DA	AA	AC	DA	AA
			۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	ND	ND	ND*	-	-	-	-	-	-
			۲/۰۰	۲/۰۰	۴۰/۰۰	$1/96 \pm 0/21$	$1/93 \pm 0/22$	$39/45 \pm 1/82$	۰/۳۴	۰/۴۸	۰/۹۴	۹۷/۹	۹۶/۸	۹۸/۶
			۷/۰۰	۸/۰۰	۸۰/۰۰	$6/86 \pm 0/24$	$7/89 \pm 0/21$	$76/89 \pm 3/14$	۱/۰۲	۰/۹۴	۱/۷۲	۹۷/۹	۹۸/۶	۹۶/۱
			۱۲/۰۰	۱۵/۰۰	۱۸۰/۰۰	$11/95 \pm 0/18$	$14/98 \pm 0/29$	$179/44 \pm 3/22$	۰/۴۷	۰/۱۲	۰/۳۰	۹۹/۶	۹۹/۹	۹۹/۷

*AA: آسکوربیک اسید، DA: دوپامین، AC: استامینوفن، ND: غیر قابل تشخیص. t در جدول برای درجه آزادی ۴ در سطح اطمینان ۹۵ درصد برابر ۲/۷۷ می باشد.

۲- ۱۴- ۵- نمونه آب شهر

نمونه حقیقی آب شهر شاهرود نیز بعد از عبور از کاغذ صافی بدون آماده سازی بیشتر مورد استفاده قرار گرفت. ۱/۵ میلی لیتر آب شهر به سل الکتروشیمیایی منتقل شد و حجم های مختلف از استانداردهای آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن، ۱/۰ میلی لیتر بافر pH=۶/۰ به سل الکتروشیمیایی منتقل و به حجم نهایی ۵/۰ میلی لیتر رسانده شد. هر اندازه گیری سه بار تکرار شد. نتایج در جدول (۲-۳۳) آورده شده است. مقادیر t (با در نظر گرفتن مقدار ۲/۷۷ برای t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای سه اندازه گیری) و درصد بازیابی ها نشانگر صحت خوب روش ولتامتری پالس تفاضلی با استفاده از الکتروود GC/DPCO برای اندازه گیری همزمان آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن می باشد.

جدول (۲-۳۴) نتایج حاصل از اندازه گیری ولتامتری آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن در نمونه آب شهر (n=۳).

ردیف	مقدار اضافه شده (μM)			مقدار اندازه گیری شده انحراف استاندارد $\pm$ (μM)			مقدار t محاسبه شده			درصد بازیابی		
	AA*	DA*	AC*	AA	DA	AC	AA	DA	AC	AA	DA	AC
آب شهری	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	ND*	ND	ND	-	-	-	-	-	-
	۵۰/۰۰	۲/۰۰	۳/۰۰	$49/38 \pm 2/17$	$1/92 \pm 0/16$	$2/97 \pm 0/26$	۰/۵۰	۰/۷۹	۰/۱۷	۹۸/۸	۹۶/۴	۹۹/۲
	۱۰۰/۰۰	۱۰/۰۰	۸/۰۰	$96/94 \pm 3/39$	$9/95 \pm 0/21$	$7/92 \pm 0/16$	۱/۵۶	۰/۳۶	۰/۸۵	۹۶/۹	۹۹/۶	۹۹/۰
	۱۵۰/۰۰	۱۷/۰۰	۱۵/۰۰	$149/92 \pm 3/25$	$16/98 \pm 0/25$	$14/96 \pm 0/10$	۰/۰۴	۰/۰۸	۰/۶۱	۹۹/۹	۹۹/۹	۹۹/۸

*AA: آسکوربیک اسید، DA: دوپامین، AC: استامینوفن، ND: غیر قابل تشخیص. t در جدول برای درجه آزادی ۴ در سطح اطمینان ۹۵ درصد برابر ۲/۷۷ می باشد.

فصل سوم بحث، نتیجه گیری و آینده نگری

۳-۱- نتیجه گیری

در این مطالعه الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون تهیه شد و الکترواکسایش آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن در سطح آن به روش ولتامتری پالس تفاضلی بررسی شد. پتانسیل اکسایش آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن در سطح الکتروود اصلاح شده با ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون به ترتیب برابر با ۰/۰۱-، ۰/۱۹ و ۰/۳۸ ولت می‌باشد.

حضور ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون بر سطح الکتروود کربن شیشه‌ای باعث افزایش حساسیت تجزیه‌ای برای اندازه‌گیری ولتامتری این ترکیبات در مقایسه با الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح نشده می‌شود. همچنین حضور این اصلاحگر باعث جابه‌جایی پتانسیل اکسایش آسکوربیک‌اسید به سمت پتانسیل منفی‌تر شده و در نتیجه تفکیک پیک‌های آسکوربیک‌اسید و دوپامین از یکدیگر می‌گردد.

بررسی‌های SEM انجام شده نشان داد که پوشش نازکی و همواری از ۵،۱-دی‌فنیل‌کاربازون در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای ایجاد شده است.

آزمایش امیدانسی نشان داد که الکتروود GC/DPCO دارای مقاومت کمتری نسبت به الکتروود کربن شیشه‌ای برهنه بوده و انتقال الکترون در سطح آن سریع‌تر صورت می‌گیرد.

نتایج حاصل از آزمون ANOVA نشان داد که الکتروود GC/DPCO تهیه شده به صورت تکرار پذیر در اندازه‌گیری آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن عمل می‌کند.

همچنین با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی حد تشخیص برای آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن به ترتیب برابر با ۲/۸، ۰/۰۴ و ۰/۰۷ میکرومولار به دست آمد.

تجزیه نمونه‌های دارویی و بیولوژیکی به کار گرفته در این تحقیق، کارایی بالای حسگر پیشنهادی برای اندازه‌گیری آسکوربیک‌اسید، دوپامین و استامینوفن را در این نمونه‌ها تایید می‌کند.

۳-۲- مقایسه روش پیشنهادی با سایر روش‌ها

در این بخش روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری همزمان آسکوربیک اسید، دوپامین و استامینوفن با برخی از روش‌های دیگر که اندازه‌گیری مشابه انجام داده‌اند، مقایسه شده است. روش‌های مورد مقایسه در جدول (۱-۳) آمده است. روش پیشنهادی در مقایسه با بیشتر این روش‌ها ساده‌تر و سریع‌تر بوده و حد تشخیص آن از روش‌های ارائه شده در مراجع [۵۴, ۵۶, ۵۷, ۶۰] پایین‌تر است.

روش اندازه‌گیری	حد تشخیص آسکوربیک-اسید	حد تشخیص دوپامین	حد تشخیص استامینوفن	ناحیه خطی آسکوربیک-اسید	ناحیه خطی دوپامین	ناحیه خطی استامینوفن	مرجع
الکتروکد کربن شیشه اصلاح شده با طلا و روی-اکسید	۵/۰۰	۰/۴	۰/۸	۳۰-۱۳۰۰	۲-۱۸۰	۵-۳۱۰	[۵۴]
الکتروکد خمیر کربن اصلاح شده با نانو ذرات سرب سولفید	۰/۰۱۸	۰/۰۰۲	۰/۰۰۵	۲/۵-۱۰۵۰	۰/۰۵-۲۵۰	۰/۰۳-۱۸۷	[۵۵]
الکتروکد کربن شیشه اصلاح شده با کربن و نیکل	۴۱	۰/۳	۰/۲	۱۴۰-۱۳۰۰	۴-۱۸۰	۹-۱۱۰	[۵۶]
الکتروکد اصلاح شده با نانو ذرات طلا و گرافن اکساید	۵۱	۱/۴	-	۲۴۰-۱۵۰۰	۶/۸-۴۱	-	[۵۷]
الکتروکد اصلاح شده نانو ذرات فروسن	۱/۰	۰/۱	۰/۰۵	۴-۴۰۰	۰/۵-۵۰	۰/۳-۲۵۰	[۵۸]

							تیولات و نانو ذرات آهن(III) اکسید،
[۵۹]	۰/۲ - ۵۳۰	-	۱ - ۶۳۰	۰/۱	-	۰/۱	الکتروود اصلاح شده با پلیمر تریپان
[۶۰]	۰/۲ - ۵۰	۰/۲ - ۵۰	-	۰/۱۴	۰/۰۹	-	الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با سولوکروم بلاک تی
[۶۱]	۵ - ۳۰۰	۲ - ۲۵۰	-	۰/۱۸	۰/۰۹۸	-	الکتروود اصلاح شده با سولفیت آهن و لایه‌های گرافن اکساید
کار حاضر	۰/۵ - ۲۰	۰/۵ - ۲۰	۱۰ - ۲۰۰	۰/۰۷	۰/۰۴	۲/۸۰	الکتروود اصلاح شده با ۵،۱ دی فنیل - کاربازون

۳-۳- آینده نگری

✓ استفاده از ۵،۱-دی فنیل کاربازون به عنوان اصلاح کننده سطح الکتروود جهت اندازه گیری ترکیبات

دارویی دیگر.

✓ استفاده از دیگر کاربازیدها به عنوان واسطه گرهای انتقال الکترون برای تهیه الکترودهای کربن

شیشه‌ای اصلاح شده به منظور اندازه گیری الکترو شیمیایی برخی از ترکیبات مهم بیولوژیکی و

دارویی.

✓ اصلاح الکتروود با ۵،۱-دی فنیل کاربازون که می تواند نقش لیگاند برای تشکیل کمپلکس با یون های

فلزات سنگین به منظور اندازه گیری تجزیه ای آنها بازی کند.

✓ اصلاح الکتروود با برخی از نانو ذرات و کامپوزیت آنها با ۵،۱-دی فنیل کاربازون جهت ساخت

الکتروود اصلاح شده ی جدید و اندازه گیری برخی از ترکیبات بیولوژیکی مهم.

- [1] Bard, A.J., Faulkner, L.R., (2001), "Fundamentals and applications", **Electrochemical Methods**, 2, 482.
- [2] Wang, J., Zhang, Z., (2000), "Analytical chemistry", **Wiley, New York** ,
- [3] Murray, R.W., Ewing, A.G., Durst, R.A., (1987), "Chemically modified electrodes. Molecular design for electroanalysis", **Analytical Chemistry**, 59, 379A-390A.
- [4] Gilmartin, M.A., Hart, J.P., (1995), "Sensing with chemically and biologically modified carbon electrodes. A review", **Analyst**, 120, 1029-1045.
- [5] White, L.T" ,(٢٠٠١) ,**Hazardous gas monitoring: a guide for semiconductor and other hazardous occupancies**", William Andrew ,
- [6] Lasia, A., Electrochemical impedance spectroscopy and its applications, in: Modern aspects of electrochemistry, Springer, 2002, pp. 143-24.
- [7] Expert, A.A., "Androgens and Cardiovascular Disease in Men ,"
- [8] Bokros, J., (1977), "Carbon biomedical devices", **Carbon**, 15, 353-371.
- [9] Engstrom, R.C., (1982), "Electrochemical pretreatment of glassy carbon electrodes", **Analytical Chemistr**٢٣١٤-٢٣١٠ .
- [10] Fagan, D.T., Hu, I.F., Kuwana, T., (1985), "Vacuum heat-treatment for activation of glassy carbon electrodes", **Analytical chemistry**, 57, 2759-2763.
- [11] Kalcher, K., (1990), "Chemically modified carbon paste electrodes in voltammetric analysis", **Electroanalysis**, 2, 419-433.
- [12] Beilby, A.L., Mather, B.R., (1965), "Resistance effects of two types of carbon paste electrodes", **Analytical Chemistry**, 37, 766-768.
- [13] Murray, R.W., Gross, D.J., (1967), "Spherical-, shielding-, and streaming effects in current-reversal chronopotentiometry at the hanging mercury drop electrode", **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, 13, 132-136.
- [14] Alkire, R.C., Kolb, D.M., Gerischer, H., CHARLES, W.T., (2002), "**Advances in electrochemical science and engineering**", Wiley Online Library ,
- [15] Durst, R., (1997), "Chemically modified electrodes: Recommended terminology and definitions (IUPAC recommendations 1997)", **Pure and Applied Chemistry**, 69, 1317-1324.
- [16] Bard ,A.J., Faulkner, L.R., Leddy, J., Zoski, C.G., (1980), "**Electrochemical methods: fundamentals and applications**", wiley New York ,
- [17] Lyons, M.E., Smyth, M.R., Cunnane, V., (1994), "Foreword. Eirelec'93: electrochemistry to the year 2000, Adare, Co. Limerick, Ireland, 11–15 September, 1993. Two cultures revisited", **Analyst**, 119, 715-716.
- [18] Price, J.F., Baldwin, R.P., (1980), "Preconcentration and determination of ferrocenecarboxaldehyde at a chemically modified platinum electrode", **Analytical Chemistry**, 52, 1940-1944.
- [19] Nikaido, H., (1989), "Outer membrane barrier as a mechanism of antimicrobial resistance", **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 33, 1831.

- [20] Lacour, S.P., Benmerah, S., Tarte, E., FitzGerald, J., Serra, J., McMahon, S., Fawcett, J., Graudejus, O., Yu, Z., Morrison, B., (2010), "Flexible and stretchable micro-electrodes for in vitro and in vivo neural interfaces", **Medical & biological engineering & computing**, **48**, 945-954.
- [21] Lau, A.N., Miller, L.L., (1983), "Electrochemical behavior of a dopamine polymer. Dopamine release as a primitive analog of a synapse", **Journal of the American Chemical Society**, **105**, 5271-5277.
- [22] Luo, X., Morrin, A., Killard, A.J., Smyth, M.R., (2006), "Application of nanoparticles in electrochemical sensors and biosensors", **Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis**, **18**, 319-326.
- [23] Zen, J.M., Senthil Kumar, A., Tsai, D.M., (2003), "Recent updates of chemically modified electrodes in analytical chemistry", **Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis**, **15**, 1073-1087.
- [24] Campbell, F.W., Compton, R.G., (2010), "The use of nanoparticles in electroanalysis: an updated review", **Analytical and bioanalytical chemistry**, **396**, 241-259.
- [25] Crossley, H., (1936), "Diphenylcarbazide. An internal indicator for use in the titration of iron with dichromate", **Analyst**, **61**, 164-169.
- [26] Sanchez-Hachair, A., Hofmann, A., (2018), "Hexavalent chromium quantification in solution: comparing direct UV-visible spectrometry with 1, 5-diphenylcarbazide colorimetry", **Comptes Rendus Chimie**, **21**, 890-896.
- [27] Han, L., Mao, D., Huang, Y., Zheng, L., Yuan, Y., Su, Y., Sun, S., Fang, D., (2017), "Fabrication of unique Tin (IV) Sulfide/Graphene Oxide for photocatalytically treating chromium (VI)-containing wastewater", **Journal of cleaner production**, **168**, 519-525.
- [28] Saraydın, D., Yıldırım, E.Ş., Karadağ, E., Güven, O., (2018), "Radiation-Synthesized Acrylamide/Crotonic Acid Hydrogels for Selective Mercury (II) Ion Adsorption", **Advances in Polymer Technology**, **37**, 822-829.
- [29] Wang, J., Li, Z., Xu, Q., (1996), "Spectrophotometric determination of osmium using molybdate and Nile blue in the presence of polyvinyl alcohol",
- [30] Kaparwan, A.G., Singh, N.J., Sathe, P.A., (2011), "Electrochemical Study of Direct and Indirect Oxidation of 1, 5 Diphenylcarbazide in Water Mixed Solvent Systems by Differential Pulse Voltammetry", **Eurasian Journal of Analytical Chemistry**, **6**, 59-69.
- [31] Ramírez, M.T., Morales-Pérez, A., Rojas-Hernández, A., González, I., (1996), "Electrochemical study of 1, 5-diphenylcarbazide and 1, 5-diphenylcarbazone in 0.3 M HClO₄", **Journal of Electroanalytical Chemistry**, **410**, 203-212.
- [۳۲] گلابی، م.، (۱۳۹۲) "مقدمه-ای بر الکتروشیمی تجزیه"، چاپ هفتم، انتشارات ستوده.
- [۳۳] کوزه، م.م.، (۱۳۷۶) "روش‌های دستگاهی در الکتروشیمی"، انتشارات دانشگاه تربیت مدرس.
- [34] Heller, A., (1992), "Electrical connection of enzyme redox centers to electrodes", **The Journal of Physical Chemistry**, **96**, 3579-3587.

- [35] Orazem, M.E., Tribollet, B., (2011), "**Electrochemical impedance spectroscopy**", John Wiley & Sons ,
- [36] Sharp, M., Petersson, M., Edström, K., (1979), "Preliminary determinations of electron transfer kinetics involving ferrocene covalently attached to a platinum surface", **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, **95**, 123-130.
- [37] Yang, L., Liu, D., Huang, J., You, T., (2014), "Simultaneous determination of dopamine ,ascorbic acid and uric acid at electrochemically reduced graphene oxide modified electrode", **Sensors and Actuators B: Chemical**, **193**, 166-172.
- [38] Jose, P.A., Eisner, G.M., Felder, R.A., (2003), "Regulation of blood pressure by dopamine receptors", **Nephron Physiology**, **95**, p19-p27.
- [39] Raj, C.R., Okajima, T., Ohsaka, T., (2003), "Gold nanoparticle arrays for the voltammetric sensing of dopamine", **Journal of Electroanalytical Chemistry**, **543**, 127-133.
- [40] Kumar, S.A., Wang, S.-F., Yang, T.C.-K., 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", **Biosensors and Bioelectronics**, **25**, 2592-2597.
- [41] Habibi, B., Jahanbakhshi, M., Pournaghi-Azar, M.H., (2011), "Simultaneous determination of acetaminophen and dopamine using SWCNT modified carbon–ceramic electrode by differential pulse voltammetry", **Electrochimica Acta**, **56**, 2888-2894.
- [42] Kawagoe, K.T., Wightman, R.M., (1994), "Characterization of amperometry for in vivo measurement of dopamine dynamics in the rat brain", **Talanta**, **41**, 865-874.
- [43] Tyszczyk-Rotko, K., Jaworska, I., Jędruchiewicz, K., (2019), "Application of unmodified boron-doped diamond electrode for determination of dopamine and paracetamol", **Microchemical Journal**, **146**, 664-672.
- [44] Tsunoda, M., Aoyama, C., Nomura, H., Toyoda, T., Matsuki, N., Funatsu, T., (2010), "Simultaneous determination of dopamine and 3, 4-dihydroxyphenylacetic acid in mouse striatum using mixed-mode reversed-phase and cation-exchange high-performance liquid chromatography", **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, **51**, 712-715.
- [45] Ravisankar, S., Vasudevan, M., Gandhimathi, M., Suresh, B“ ,(١٩٩٨) „Reversed-phase HPLC method for the estimation of acetaminophen, ibuprofen and chlorzoxazone in formulations", **Talanta**, **46**, 1577-1581.
- [46] Wilson, J.M., Slattery, J.T., Forte, A.J., Nelson, S.D., (1982), "Analysis of acetaminophen metabolites in urine by high-performance liquid chromatography with UV and amperometric detection", **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, **227**, 453-462.
- [47] Mamiński, M., Olejniczak, M., Chudy, M., Dybko, A., Brzózka, Z., (2005), "Spectrophotometric determination of dopamine in microliter scale using microfluidic system based on polymeric technology", **Analytica chimica acta**, **540**, 153-157.
- [48] Hanaee, J., (1997), "Simultaneous determination of acetaminophen and codeine in pharmaceutical preparations by derivative spectrophotometry", **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, **72**, 239-241.

- [49] Curtius, H.C., Wolfensberger, M., Steinmann, B., Redweik, U., Siegfried, J., (1974), "Mass fragmentography of dopamine and 6-hydroxydopamine: application to the determination of dopamine in human brain biopsies from the caudate nucleus", **Journal of Chromatography A**, **99**, 529-540.
- [50] Wang, H.Y., Sun, Y., Tang, B., (2002), "Study on fluorescence property of dopamine and determination of dopamine by fluorimetry", **Talanta**, **57**, 899-907.
- [51] Yang, L., Huang, N., Lu, Q., Liu, M., Li, H., Zhang, Y., Yao, S., (2016), "A quadruplet electrochemical platform for ultrasensitive and simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine, uric acid and acetaminophen based on a ferrocene derivative functional Au NPs/carbon dots nanocomposite and graphene", **Analytica chimica acta**, **903**, 69-80.
- [52] Kumar, M., Swamy, B.K., Reddy, S., Zhao, W., Chetana, S., Kumar, V.G., (2019), "ZnO/functionalized MWCNT and Ag/functionalized MWCNT modified carbon paste electrodes for the determination of dopamine, paracetamol and folic acid", **Journal of Electroanalytical Chemistry**, **835**, 96-105.
- [53] Wang, M., Cui, M., Liu, W., Liu, X., (2019), "Highly dispersed conductive polypyrrole hydrogels as sensitive sensor for simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid", **Journal of Electroanalytical Chemistry**, **832**, 174-181.
- [54] Chen, X., Zhang, G., Shi, L., Pan, S., Liu, W., Pan, H., (2016), "Au/ZnO hybrid nanocatalysts impregnated in N-doped graphene for simultaneous determination of ascorbic acid, acetaminophen and dopamine", **Materials Science and Engineering: C**, **65**, 80-89.
- [55] Soltani, N., Tavakkoli, N., Ahmadi, N., Davar, F., (2015), "Simultaneous determination of acetaminophen, dopamine and ascorbic acid using PbS nanoparticle-decorated Schiff-base-modified carbon-paste electrode ,"
- [56] Wang, S.-F., Xie, F., Hu, R.-F., (2007), "Carbon-coated nickel magnetic nanoparticles modified electrodes as a sensor for determination of acetaminophen", **Sensors and Actuators B: Chemical**, **123**, 495-500.
- [57] Wang, C., Du, J., Wang, H., Zou, C.e., Jiang, F., Yang, P., Du, Y., (2014), "A facile electrochemical sensor based on reduced graphene oxide and Au nanoplates modified glassy carbon electrode for simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid", **Sensors and Actuators B: Chemical**, **204**, 302-309.
- [58] Liu, M., Chen, Q., Lai, C., Zhang, Y., Deng, J., Li, H., Yao, S., (2013), "A double signal amplification platform for ultrasensitive and simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine, uric acid and acetaminophen based on a nanocomposite of ferrocene thiolate stabilized Fe₃O₄@ Au nanoparticles with graphene sheet", **Biosensors and Bioelectronics**, **48**, 75-81.
- [59] Taei, M., Jamshidi, M.S., (2017), "A voltammetric sensor for simultaneous determination of ascorbic acid, noradrenaline, acetaminophen and tryptophan", **Microchemical Journal**, **130**, 108-115.
- [60] Daneshinejad, H., Chamjangali, M.A., Goudarzi, N., 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”, **Materials Science and Engineering: C**, **58**, 532-540.

[61] Liu, X., Shanguan, E., Li, J., Ning, S., Guo, L., Li, Q., (2017), “A novel electrochemical sensor based on FeS anchored reduced graphene oxide nanosheets for simultaneous determination of dopamine and acetaminophen”, **Materials Science and Engineering: C**, **70**, 628-636.

[62] Stamford, J.A., Kruk, Z.L., Palij, P., Millar, J., (1988), “Diffusion and uptake of dopamine in rat caudate and nucleus accumbens compared using fast cyclic voltammetry”, **Brain research**, **448**, 381-385.

[63] Falk, B., Garramone, S., Shivkumar, S., (2004), “Diffusion coefficient of paracetamol in a chitosan hydrogel”, **Materials Letters**, **58**, 3261-3265.

Abstract:

In this dissertation, glassy carbon electrode was successfully modified with a thin film of 1,5-diphenylcarbazone and applied for the sensitive and selective voltammetric simultaneous determination of ascorbic acid (AA), dopamine (DA) and acetaminophen (AC). This study, shows that 1,5-diphenylcarbazone as a modifier was bounded to the electrode surface using cyclic voltammetry technique. The effect of several parameters including concentration of 1,5--diphenylcarbazone, type of electrolyte, number of cycles, pH, type of buffer, volume of buffer, pulse amplitude and scan rate on the electrochemical determination of analytical were studied and optimized. The linear dynamic range of the proposed method were 10-200, 0.5-20 and 0.5-20 μM for AA, DA and AC, respectively under optimum conditions. Under the optimum conditions, The detection limits were 2.80, 0.04 and 0.07 $\mu\text{mol L}^{-1}$ for AA, DA and AC, respectively. The effects of interfering ions and other drugs were studied and it was found that due to the sensor selectivity, the sensor has least of interference from most of the common ions and drugs do not interfere in the determination of the analyte. The proposed sensor has been successfully used for the simultaneous determination of AA, DA and AC in AC and AA tablets, blood serum and tap water.

Keywords: 1-5diphenylcarbazone, ascorbic acid, dopamine, acetaminophen, cyclic voltammetry



Shahrood University of Technology

Faculty of chemistry

M.Sc. Thesis in Analytical Chemistry

Modification of Glassy Carbon Electrode with 1,5-Diphenylcarbazone

By: Masoud sivari

Supervisor:

Dr. Fatemeh masdar olomoor

Advisor:

Dr. Mansour Arab Chamjangali

September 2019