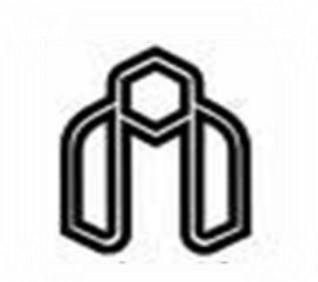


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه صنعتی شاهرود

دانشکده شیمی

اندازه‌گیری الکتروشیمیایی ساده و سریع کاپتوپریل و گلو تاتیون

دانشجو: محسن قلی‌نژاد ملک‌شاه

استاد راهنما:

دکتر قدمعلی باقریان دهقی

استاد مشاور:

دکتر منصور عرب‌چم‌جنگلی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

تعهد نامه

اینجانب محسن قلی‌نژاد ملکشاه دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته شیمی تجزیه دانشکده شیمی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه اندازه‌گیری الکتروشیمیایی ساده و سریع کاپتوپریل و گلوکاتینون تحت راهنمایی دکتر قدمعلی باقریان دهقی متعهد می‌شوم :

- 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 می‌باشد 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 می‌گردد.
- 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 می‌باشد . 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 نمی‌باشد.

* متن این صفحه نیز باید در ابتدای نسخه های تکثیر شده پایان نامه وجود داشته باشد

اندازه‌گیری الکتروشیمیایی ساده و سریع کاپتوپریل و گلوکاتینون

چکیده: در قسمت اول این پروژه، یک روش سریع و ساده برای اندازه‌گیری کاپتوپریل بر اساس اکسایش الکتروشیمیایی کاپتوپریل روی الکترود کربن شیشه‌ای با استفاده از ولتامتری چرخه‌ای پیشنهاد شده است. محلول کاپتوپریل در بافر عمومی با $\text{pH}=5/0$ در محدوده روبش پتانسیل بین $-0/5$ تا $0/50$ ولت و سرعت روبش 100 میلی‌ولت بر ثانیه در سطح الکترود کربن شیشه‌ای، یک پیک اکسایش برگشت‌ناپذیر را در $0/190$ ولت نسبت به الکترود مرجع Ag/AgCl $3/0$ مولار نشان می‌دهد. در شرایط بهینه، منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی $0/10$ تا $1/00$ میلی‌مولار کاپتوپریل خطی است. مقدار حد تشخیص روش نیز برابر $6/7$ میکرومولار است. کارایی روش در تجزیه نمونه حقیقی با اندازه‌گیری کاپتوپریل در نمونه‌های ادرار و قرص 25 میلی‌گرمی کاپتوپریل مورد بررسی قرار گرفت. در قسمت دوم این کار تحقیقاتی یک روش الکتروشیمیایی برای اندازه‌گیری گلوکاتینون بر اساس اکسایش $4,1$ -دی‌آمینوبنزن روی سطح الکترود کربن شیشه‌ای با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای ارائه شده است. گلوکاتینون هیچ پیک اکسایش یا کاهش مشخصی را در گستره روبش $0/3$ تا $1/0$ ولت نسبت به الکترود مرجع Ag/AgCl $3/0$ M، بر روی سطح الکترود کربن شیشه‌ای نشان نمی‌دهد ولی ولتاموگرام مربوط به $4,1$ -دی‌آمینوبنزن در بافر فسفات با $\text{pH}=6/0$ یک پیک اکسایش-کاهش برگشت‌پذیر را در حدود $0/25$ ولت نشان می‌دهد. در حضور گلوکاتینون، جریان اکسایشی مربوط به $4,1$ -دی‌آمینوبنزن متناسب با غلظت گلوکاتینون به طور خطی افزایش می‌یابد. بنابراین برای اندازه‌گیری گلوکاتینون از $4,1$ -دی‌آمینوبنزن به عنوان حد واسط استفاده شد. دامنه خطی روش 5 تا 600 میکرومولار به دست آمد. حد تشخیص روش نیز $3/8$ میکرومولار به دست آمد. کارایی روش در تجزیه نمونه حقیقی با اندازه‌گیری گلوکاتینون در نمونه ادرار مورد بررسی قرار گرفت.

کلمات کلیدی: ولتامتری چرخه‌ای، الکترود کربن شیشه‌ای، کاپتوپریل، گلوکاتینون، $4,1$ -دی-

آمینوبنزن

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه	۱
۱-۱- کاپتوپریل	۲
۲-۱- گلوکاتایون	۳
۳-۱- مروری بر کارهای انجام شده	۵
۱-۳-۱- مروری بر کارهای انجام شده بر روی کاپتوپریل	۵
۲-۳-۱- مروری بر کارهای انجام شده بر روی گلوکاتایون	۱۰
فصل دوم: تئوری	۱۴
۱-۲- مقدمه	۱۵
۲-۲- انواع روش های الکترو تجزیه ای	۱۶
۳-۲- ولتامتری	۱۸
۱-۳-۲- ولتامتری چرخه ای	۱۸
۴-۲- سیستم های برگشت پذیر	۲۰
۵-۲- سیستم های برگشت ناپذیر و شبه برگشت پذیر	۲۲
۶-۲- واکنش های همگن همراه	۲۴
۱-۶-۲- مکانیسم EC	۲۴
۲-۶-۲- مکانیسم ECE	۲۶
۷-۲- الکترودهای مورد استفاده در روش های ولتامتری	۲۸
۱-۷-۲- الکترو د کار	۲۸
۲-۷-۲- الکترودهای جامد	۲۹
۳-۷-۲- الکترو د کربن شیشه ای	۲۹
فصل سوم: بخش تجربی	۳۱
۱-۳- دستگاه های مورد استفاده	۳۲
۲-۳- مواد و محلول های مورد نیاز	۳۳
۳-۳- اندازه گیری کاپتوپریل	۳۴
۱-۳-۳- بررسی رفتار الکتروشیمیایی کاپتوپریل به روش ولتامتری چرخه ای	۳۴
۲-۳-۳- بررسی پارامترها و بهینه سازی متغیرهای مؤثر بر پیک آندی کاپتوپریل	۳۶

۳۶	۳-۲-۱- بررسی اثر pH
۴۰	۳-۲-۲- بررسی تأثیر نوع بافر بر پیک اکسایش کاپتوپریل
۴۱	۳-۲-۳- بررسی اثر حجم بافر
۴۲	۳-۲-۴- بررسی تأثیر سرعت روبش پتانسیل
۴۵	۳-۳-۳- منحنی کالیبراسیون
۴۷	۳-۳-۴- دقت، صحت و حد تشخیص
۴۸	۳-۳-۵- بررسی اثر مزاحمت ها
۴۹	۳-۳-۶- آنالیز نمونه های حقیقی
۵۱	۳-۴-۱- اندازه گیری گلوکاتایون
۵۱	۳-۴-۱- انتخاب سیستم برای اندازه گیری گلوکاتایون
۵۳	۳-۴-۲- بررسی پارامترها و بهینه سازی متغیرهای مؤثر در اندازه گیری گلوکاتایون
۵۳	۳-۲-۱- بررسی اثر pH
۵۷	۳-۲-۲- بررسی تأثیر نوع بافر
۵۸	۳-۲-۳- بررسی اثر حجم بافر
۶۰	۳-۲-۴- بررسی تأثیر غلظت ۴،۱-دی آمینوبزن
۶۲	۳-۲-۵- بررسی تأثیر سرعت روبش پتانسیل
۶۶	۳-۴-۳- منحنی کالیبراسیون
۶۸	۳-۴-۴- دقت، صحت و حد تشخیص
۶۹	۳-۴-۵- بررسی اثر مزاحمت ها
۷۰	۳-۴-۶- آنالیز نمونه حقیقی
۷۲	فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری
۷۳	۴-۱- اندازه گیری کاپتوپریل
۷۳	۴-۱-۱- بررسی سیستم شیمیایی به کار برده شده
۷۳	۴-۱-۲- نتایج حاصل از بهینه سازی شرایط
۷۴	۴-۱-۳- ارقام شایستگی روش
۷۵	۴-۱-۴- تجزیه نمونه های حقیقی
۷۵	۴-۱-۵- مقایسه روش پیشنهادی با سایر روش ها

۷۶	۴-۱-۶- آینده نگری
۷۷	۴-۲- اندازه گیری گلوکاتیون
۷۷	۴-۲-۱- بررسی سیستم شیمیایی به کار برده شده
۸۰	۴-۲-۲- نتایج حاصل از بهینه سازی شرایط
۸۱	۴-۲-۳- ارقام شایستگی روش
۸۲	۴-۲-۴- تجزیه نمونه حقیقی
۸۲	۴-۲-۵- آینده نگری

فهرست شکل‌ها

- شکل (۱-۱) ساختار شیمیایی کاپتوپریل ۲
- شکل (۲-۱) ساختار شیمیایی گلوکاتینون ۳
- شکل (۱-۲) پروفیل های پتانسیل-زمان برای ولتامتری چرخه ای ۱۹
- شکل (۲-۲) ولتاموگرام چرخه ای برای فرایند برگشت پذیر ۱۹
- شکل (۳-۲) ولتاموگرام چرخه ای برای فرایند برگشت پذیر توصیف شده با معادله (۱-۲) ۲۰
- شکل (۴-۲) ولتاموگرام های چرخه ای برای فرایندهای ردوکس (A) برگشت ناپذیر و (B) شبه برگشت پذیر ۲۳
- شکل (۱-۳) شمای کلی یک سل آزمایش برای سیستم سه الکترودی ۳۲
- شکل (۲-۳) ولتاموگرام های چرخه ای مربوط به بافر تنها (A)، و غلظت های $3/0 \times 10^{-4}$ ، $4/0 \times 10^{-4}$ و $5/0 \times 10^{-4}$ مولار کاپتوپریل ۳۵
- شکل (۳-۳) ولتاموگرام چرخه ای مربوط به محلول $0/5 \text{ mM}$ کاپتوپریل در بافر عمومی با $\text{pH}=5/0$. سرعت روبش پتانسیل 100 mVs^{-1} ۳۵
- شکل (۴-۳) ولتاموگرام های چرخه ای مربوط به محلول شاهد (a) و محلول کاپتوپریل $0/50$ میلی مولار (b). A, B, C, D, E, F, G, H به ترتیب متناظر با pH های $2/0$ ، $3/0$ ، $4/0$ ، $5/0$ ، $5/5$ ، $6/0$ ، $7/0$ ، $8/0$ ۳۸
- شکل (۵-۳) بررسی اثر pH بر پاسخ تجزیه ای در غلظت $0/5$ میلی مولار کاپتوپریل ۳۹
- شکل (۶-۳) بررسی تأثیر pH بر پتانسیل پیک اکسایش کاپتوپریل ۴۰
- شکل (۷-۳) بررسی اثر حجم بافر بر بزرگی پیک اکسایش کاپتوپریل ۴۲
- شکل (8-3) ولتاموگرام های مربوط به غلظت $0/50$ میلی مولار کاپتوپریل در محلول بافر در سرعت های اسکن ۵۰ تا 140 mVs^{-1} ۴۳
- شکل (۹-۳) نمودار تغییرات شدت جریان پیک آندی مربوط به کاپتوپریل با جذر سرعت اسکن ۴۴
- شکل (۱۰-۳) ولتاموگرام های مربوط به گستره غلظتی $0/1$ تا $1/0$ میلی مولار کاپتوپریل ۴۵
- شکل (۱۱-۳) منحنی کالبراسیون در گستره غلظتی $0/1$ تا $1/0$ میلی مولار کاپتوپریل ۴۶
- شکل (۱۲-۳) ساختار شیمیایی ۴-دی آمینوبنزن ۵۲
- شکل (۱۳-۳) ولتاموگرام های چرخه ای مربوط به (A) بافر فسفات با $\text{pH}=6/0$ ، (B) غلظت $2/5 \times 10^{-4}$ مولار گلوکاتینون در بافر فسفات با $\text{pH}=6/0$ در عدم حضور ۴-دی آمینوبنزن، (C) شاهد (غلظت $3/5 \times 10^{-4}$ مولار ۴-دی آمینوبنزن) در بافر فسفات با $\text{pH}=6/0$ و (D) غلظت $2/5 \times 10^{-4}$ مولار گلوکاتینون در حضور غلظت $3/5 \times 10^{-4}$ مولار ۴-دی آمینوبنزن در بافر فسفات با $\text{pH}=6/0$ ۵۲

- شکل (۳-۱۴) ولتاموگرام های چرخه ای مربوط به (a) محلول ۱،۴-دی آمینوبنزن ۰/۳۵mM (شاهد) و (b) محلول ۴،۱-دی آمینوبنزن ۰/۳۵mM در حضور گلوکاتایون ۵۵
- شکل (۳-۱۵) بررسی اثر pH بر پاسخ تجزیه ای. غلظت ۰/۲۵mM گلوکاتایون و غلظت ۰/۳۵mM ۴،۱-دی آمینوبنزن ۵۶
- شکل (۳-۱۶) بررسی تأثیر pH بر پتانسیل اکسایش ۴،۱-دی آمینوبنزن با غلظت ۰/۳۵mM ۵۷
- شکل (۳-۱۷) بررسی اثر حجم بافر بافر فسفات ۵۹
- شکل (۳-۱۸) بررسی اثر غلظت اصلاحگر بر پاسخ تجزیه ای در اندازه گیری گلوکاتایون ۶۱
- شکل (۳-۱۹) ولتاموگرام های چرخه ای مربوط به (a) محلول ۴،۱-دی آمینوبنزن با غلظت های مختلف (شاهد) و (b) محلول ۴،۱-دی آمینوبنزن با غلظت های مختلف در حضور گلوکاتایون ۶۲
- شکل (۳-۲۰) ولتاموگرام های چرخه ای مربوط به محلول ۴،۱-دی آمینوبنزن ۰/۳۵mM در سرعت های روبش ۲۰ تا 200 mVs^{-1} ۶۳
- شکل (۳-۲۱) نمودار تغییرات شدت جریان پیک آندی مربوط به ۴،۱-دی آمینوبنزن با $v^{1/2}(\text{mVs}^{-1})^{1/2}$ ۶۴
- شکل (۳-۲۲) ولتاموگرام های چرخه ای مربوط به محلول ۴،۱-دی آمینوبنزن ۰/۳۵mM در حضور گلوکاتایون با غلظت ۰/۲۵mM در سرعت های روبش ۲۰ تا 200 mVs^{-1} ۶۴
- شکل (۳-۲۳) نمودار تغییرات شدت جریان پیک آندی مربوط به ۴،۱-دی آمینوبنزن در حضور گلوکاتایون با غلظت ۰/۲۵mM، با $v^{1/2}(\text{mVs}^{-1})^{1/2}$ ۶۵
- شکل (۳-۲۴) ولتاموگرام های مربوط به گستره غلظتی ۰/۰۰۵ تا ۰/۶۰ میلی مولار گلوکاتایون ۶۷
- شکل (۳-۲۵) منحنی کالبراسیون در گستره غلظتی ۰/۰۰۵۰ تا ۰/۱۰۰ میلی مولار گلوکاتایون ۶۷
- شکل (۳-۲۶) منحنی کالبراسیون در گستره غلظتی ۰/۱۰۰ تا ۰/۶۰۰ میلی مولار گلوکاتایون ۶۸
- شکل (۴-۱) مکانیسم اکسایش ۴،۱-دی آمینوبنزن در حضور گلوکاتایون (RSH) ۷۸
- شکل (۴-۲) تغییرات | IPC / IPA | با سرعت روبش پتانسیل ۷۹

فهرست جدول‌ها

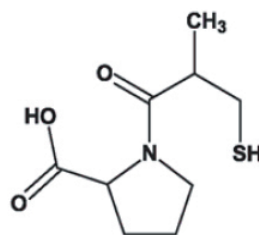
- جدول (۱-۲) انواع روش‌های الکتروشیمی. کمیت‌های اندازه‌گیری شده داخل پرانتزها عبارتند از: ۱۶
- جدول (۲-۲) آزمون‌های تشخیص برای ولتاموگرام‌های چرخه‌ای فرایندهای برگشت پذیر در دمای 25°C ۲۱
- جدول (۳-۲) آزمون‌های تشخیص برای سیستم‌های کاملاً برگشت ناپذیر در دمای 25°C ۲۲
- جدول (۴-۲) آزمونهای تشخیص برای سیستم‌های شبه برگشت پذیر ۲۳
- جدول (۵-۲) آزمونهای تشخیصی برای واکنش‌های EC ۲۶
- جدول (۶-۲) آزمونهای تشخیصی برای واکنشهای ECE ۲۷
- جدول (۱-۳) مواد شیمیایی به گرفته شده در این کار تحقیقاتی ۳۴
- جدول (۲-۳) بررسی اثر pH بر جریان آندی و پتانسیل اکسایش کاپتوپریل در غلظت 0.50 میلی مولار ۳۹
- جدول (۳-۳) بررسی تأثیر نوع بافر بر بزرگی جریان پیک آندی کاپتوپریل ۴۱
- جدول (۴-۳) بررسی اثر حجم بافر بر بزرگی پیک اکسایش کاپتوپریل ۴۱
- جدول (۵-۳) بررسی تأثیر سرعت روبش پتانسیل بر تغییرات شدت جریان اکسایشی کاپتوپریل با غلظت 0.5mM ۴۴
- جدول (۶-۳) اطلاعات مربوط به منحنی کالبراسیون در ناحیه غلظتی 0.10 تا 1.0 میلی مولار کاپتوپریل در سرعت روبش 100 mVs^{-1} ۴۶
- جدول (۷-۳) بررسی دقت و صحت روش در شرایط بهینه ۴۷
- جدول (۸-۳) بررسی مزاحمت برخی گونه‌ها در اندازه‌گیری کاپتوپریل در غلظت 0.05 میلی مولار کاپتوپریل ۴۹
- جدول (۹-۳) نتایج حاصل از آنالیز نمونه ادرار، سطح اطمینان 95% ۵۱
- جدول (۱۰-۳) نتایج حاصل از آنالیز قرص کاپتوپریل 25 میلی گرمی. سطح اطمینان 95% ۵۱
- جدول (۱۱-۳) بررسی اثر pH بر بزرگی پاسخ تجزیه‌ای (در غلظت 0.25 میلی مولار گلوکاتایون و 0.35 میلی مولار 401 -دی آمینوبنزن) و پتانسیل متناظر با جریان اکسایشی ماکسیمم ۵۶
- جدول (۱۲-۳) بررسی تأثیر نوع بافر بر بزرگی پاسخ تجزیه‌ای برای اندازه‌گیری گلوکاتایون ۵۸
- جدول (۱۳-۳) بررسی اثر حجم بافر بافر فسفات با $\text{pH}=6.0$ ۵۹
- جدول (۱۴-۳) بررسی اثر غلظت اصلاحگر بر پاسخ تجزیه‌ای در اندازه‌گیری گلوکاتایون ۶۱
- جدول (۱۵-۳) بررسی تأثیر سرعت روبش پتانسیل بر شدت جریان اکسایشی شاهد و نمونه در اندازه‌گیری گلوکاتایون ۶۵
- جدول (۱۶-۳) اطلاعات مربوط به منحنی کالبراسیون در ناحیه غلظتی 0.050 تا 0.600 میلی مولار گلوکاتایون در سرعت روبش 100 میلی ولت بر ثانیه ۶۶

- جدول (۳-۱۷) بررسی دقت و صحت روش در شرایط بهینه. ۶۹
- جدول (۳-۱۸) بررسی مزاحمت برخی گونه ها در اندازه گیری گلوکاتیون در غلظت ۰/۲۵ میلی مولار گلوکاتیون. ۷۰
- جدول (۳-۱۹) نتایج حاصل از آنالیز نمونه ادرار. سطح اطمینان ۹۵٪. ۷۱
- جدول (۴-۱) مقایسه روش پیشنهادی با روش های ولتامتری گزارش شده برای تعیین مقدار کاپتوپریل. ۷۶
- جدول (۴-۲) بررسی تأثیر سرعت اسکن بر شدت جریان اکسایشی و کاهش در اندازه گیری گلوکاتیون. ۷۹

فصل اول: مقدمه

۱-۱- کاپتوپریل^۱

کاپتوپریل با نام آیوپاک، ۱-[(۲S)-۳-مرکاپتو-۲-متیل پروپیونیل]-L-پرولین^۲ (شکل ۱-۱) ماده‌ای با فرمول تجربی $C_9H_{15}NO_3S$ و جرم مولی ۲۱۷/۳ گرم بر مول است. این ماده در دمای اتاق به صورت پودر سفید رنگ وجود دارد. این ترکیب در آب، کلروفرم، دی‌کلرومتان و اتانول ۹۶٪ محلول است و نقطه ذوب آن ۱۰۵-۱۰۸ درجه سانتیگراد است. pK_1 (مربوط به از دست دادن هیدروژن گروه اسیدی) برابر ۳/۷ و pK_2 (مربوط به از دست دادن هیدروژن گروه تیولی) برابر ۹/۸ می‌باشد.



شکل (۱-۱) ساختار شیمیایی کاپتوپریل

کاپتوپریل برای درمان فشار خون بالا (به خصوص در نارسایی قلب) به کار می‌رود. امروزه این دارو در بیماران دچار ایسکمی قلبی^۳ نیز استفاده می‌شود.

کاپتوپریل با مهار آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین^۴، از تبدیل آنژیوتانسین I به آنژیوتانسین II جلوگیری می‌کند. آنژیوتانسین II یک میانجی پر قدرت است که موجب تنگ شدن رگ‌های خونی و احتباس سدیم و آب در بدن می‌شود. بنابراین کاپتوپریل با جلوگیری از تنگ شدن رگ‌ها و احتباس مایع در آن‌ها، فشار داخل رگ‌های خونی و بار کاری قلب را کاهش می‌دهد [۱].

جذب کاپتوپریل در بدن پانزده دقیقه بعد از مصرف آغاز می‌شود و دو تا دوازده ساعت در بدن باقی می‌ماند و پس از متابولیزه شدن در کبد از طریق کلیه دفع می‌شود.

مقدار مصرف این دارو در بزرگسالان جهت پایین آوردن فشار خون، ۲۵ میلی‌گرم (دو یا سه بار در روز) می‌باشد که در صورت نیاز، پس از یک یا دو هفته مقدار مصرف آن را می‌توان به ۵۰ میلی‌گرم

¹ Captopril

² 1-[(2S)-3-mercapto-2-methylpropionyl]-L-proline

³ Ischemic heart

⁴ Angiotensin

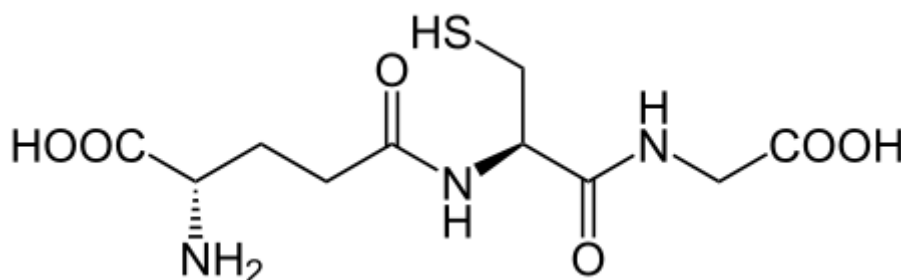
(دو یا سه بار در روز) افزایش داد. مقدار مصرفی کاپتوپریل در کودکان ۰/۳ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در سه نوبت در روز است [۲].

کاهش زیاد فشارخون، سرگیجه، سرفه خشک، هایپرکالمی^۱، ناتوانی جنسی، شب ادراری، تکرر ادرار، از دست دادن قدرت چشایی، تهوع، استفراغ، خشکی دهان و بی خوابی از عوارض جانبی مصرف این دارو است [۱].

با توجه به مطالبی که گفته شد می توان دریافت که اندازه گیری مقدار کاپتوپریل اهمیت دارد.

۲-۱- گلوتاتیون^۲

این ماده داری فرمول تجربی $C_{10}H_{17}N_3O_6S$ و جرم مولی ۳۰۷/۳۲ گرم بر مول است. نام شیمیایی آن ۵-L-گلوتامیل-L-سیستینیل گلايسين^۳ است. ساختار آن در شکل (۲-۱) نشان داده شده است.



شکل (۲-۱) ساختار شیمیایی گلوتاتیون

این ماده در دمای اتاق به صورت پودر سفید رنگ وجود دارد. این ترکیب در آب و اتانول محلول است و نقطه ذوب آن ۱۹۵-۱۹۲ درجه سانتیگراد است.

گلوتاتیون یک پپتید سه تایی^۱ (تری پپتید) است. گلوتاتیون دارای پیوند پپتیدی غیر عادی است بطوریکه در آن گروه آمین سیستین با گروه کربوکسیل^۲ جانبی گلو تامات^۳ پیوند داده است.

^۱ Hyperkalaemia

^۲ Glutathione

^۳ 5-L-Glutamyl-L-cysteinylglycine

گلوتاتیون یک آنتی اکسیدانت^۴ قوی است و باعث محافظت سلول‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد^۵ می‌شود. ترکیبات سمی دارای رادیکال آزاد، معمولاً با گلوتاتیون ترکیب شده و از بدن خارج می‌شوند. معمولاً گروه تیول^۶ در گلوتاتیون بصورت کاهیده^۷ می‌باشد [۳].

گلوتاتیون فراوانترین ترکیب تیول دار غیر پروتئینی با جرم مولکولی پایین می باشد که نقش اصلی را در دفاع سلولی علیه استرس اکسیداتیو به عهده دارد؛ همچنین گلوتاتیون در تنظیم بیان ژن^۸، انتقال سیگنال، تکثیر و مرگ سلولی، تولید سیتوکین‌ها^۹ و پاسخ ایمنی دخیل می باشد. غلظت گلوتاتیون داخل سلولی در حدود ۱-۱۰ میلی مولار می‌باشد که قسمت اعظم آن به فرم گلوتاتیون احیا می باشد. نسبت گلوتاتیون احیا به گلوتاتیون اکسید مهمترین شاخص کارایی و سلامتی یک سلول می باشد. کمبود گلوتاتیون در فرایند پیری و پاتوژنز^{۱۰} بسیاری از بیماریها شامل بیماریهای قلبی- عروقی، دیابت، ایدز، بیماریهای سیستم عصبی و تنفسی نقش ایفا می کند. استفاده از مواد پروتئینی حاوی پیش سازهای سنتز گلوتاتیون و دوری از عوامل اکسیدان خارجی مانند اشعه های یونیزه کننده، سیگار، ورزشهای شدید و مصرف بی رویه داروها همگی می توانند راهکارهای مناسبی در جهت جلوگیری از تهی شدن سلول ها از منابع گلوتاتیون باشند [۴].

¹ Tripeptide

² Carboxyl group

³ Glutamate

⁴ Antioxidant

⁵ Free radicals

⁶ Thiol group

⁷ Reduced

⁸ Gene

⁹ Cytokines

¹⁰ Pathogens

۱-۳-۳- مروری بر کارهای انجام شده

۱-۳-۱- مروری بر کارهای انجام شده بر روی کاپتوپریل

تا کنون کاپتوپریل به روش‌های مختلفی تعیین مقدار شده است که از آن جمله می‌توان به روش‌های اسپکتروفتومتری [۵-۱۰]، کروماتوگرافی [۱۱-۱۳]، کولومتری [۱۵]، آمپرومتری [۱۶]، پتانسیومتری [۱۴، ۱۷] و ولتامتری [۱۸-۲۹] اشاره کرد. در این بخش خلاصه‌ای از کارهای انجام شده به روش ولتامتری آورده شده است.

در سال ۱۹۸۷ پاسامونتی^۱ و همکارانش کاپتوپریل را با استفاده از روش ولتامتری عاری‌سازی پالس تفاضلی جذبی^۲ بر سطح الکتروود قطره جیوه آویزان اندازه‌گیری کردند. در این روش کاپتوپریل به طور مستقیم بر سطح قطره جیوه جذب سطحی شده و توسط پیمایش پتانسیل از طریق پالس تفاضلی، احیا می‌گردد. دامنه خطی منحنی کالیبراسیون تحت شرایط بهینه $9/0 \times 10^{-10}$ تا $3/0 \times 10^{-6}$ مولار گزارش شده است [۱۸].

سیانگپروه^۳ و همکارانش در سال ۲۰۰۳ کاپتوپریل را از طریق الکتروشیمیایی به کمک الکتروود فیلم نازک الماس غنی شده با بور^۴ در سیستم تزریق در جریان پیوسته اندازه‌گیری کردند. ولتاموگرام چرخه‌ای کاپتوپریل در بافر فسفات با $\text{pH}=9/0$ با سرعت اسکن ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه ثبت گردید و در ۰/۸ ولت، یک پیک اکسایش برگشت ناپذیر مشاهده گردید. در این کار تحقیقاتی از چندین روش الکتروشیمیایی مانند ولتامتری چرخه‌ای، ولتامتری هیدرودینامیکی^۵، و آمپرومتری استفاده شده است. دامنه خطی منحنی کالیبراسیون ۵۰ میکرومولار تا ۳ میلی‌مولار و حد تشخیص ۲۵ میکرومولار با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای به دست آمد. انجام واکنش به روش تزریق در جریان پیوسته و

¹ Passamonti

² Adsorptive differential pulse stripping voltammetry

³ Siangproh

⁴ Boron-doped diamond thin film electrode

⁵ Hydrodynamic Voltammetry

آشکارسازی آمپرومتری دارای گستره خطی ۰/۵ تا ۱۰۰ میکرومولار و حد تشخیص ۱۰ نانومولار بوده است [۱۹].

اوآیندز^۱ و همکارانش در سال ۲۰۰۳ از طریق ولتامتری عاری سازی جذبی کاتدی موج مربعی^۲ کاپتوپریل را در ترکیبات دارویی تعیین مقدار کردند. در این کار تحقیقاتی ابتدا به مدت ۱۲۰ ثانیه در پتانسیل ۰/۲ ولت پیش تغلیظ^۳ روی الکتروود قطره آویزان جیوه انجام شد و سپس ولتاموگرام موج مربعی در محدوده ۰/۲ تا ۰/۶- ولت ثبت گردید و یک پیک کاتدی در ۰/۲- ولت مشاهده گردید. دامنه خطی منحنی کالبراسیون ۰/۵ تا ۱۸۰ میکروگرم بر لیتر (وابسته به زمان پیش تغلیظ) و حد تشخیص روش با زمان پیش تغلیظ ۳۰۰ ثانیه، ۰/۵ میکروگرم بر لیتر به دست آمد. انحراف استاندارد روش با زمان پیش تغلیظ ۱۲۰ ثانیه و $n=9$ ، ۳/۲٪ می باشد [۲۰].

در سال ۲۰۰۴ پرهام و همکارانش با استفاده از روش ولتامتری موج مربعی کاپتوپریل را تعیین مقدار کردند. در این روش از الکتروود قطره جیوه ایستا به عنوان الکتروود کار استفاده شد. ولتاموگرام محلول کاپتوپریل در ناحیه ۰/۵- تا ۱/۰- ولت، یک پیک کاتدی واضح را در ۰/۶۵- ولت نشان داد. اساس تعیین مقدار کاپتوپریل در این روش همین پیک کاتدی است. ناحیه خطی و حد تشخیص به ترتیب ۰/۵ تا ۵۰/۰ میکروگرم بر میلی لیتر و ۶/۲۸ نانوگرم بر میلی لیتر و انحراف استاندارد نسبی برای هشت اندازه گیری ۱/۲ درصد گزارش شده است [۲۱].

در سال ۲۰۰۵ زیاتدینوا^۴ و همکارانش با استفاده از روش ولتامتری عاری سازی کاتدی روی الکتروود پلاتین، کاپتوپریل را تعیین مقدار کردند. ابتدا اکسایش کاپتوپریل در پتانسیل ۱/۲ ولت نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl اشباع روی الکتروود کار پلاتین در محلول نیتریک اسید ۰/۱ مولار انجام شد. سپس روبش پتانسیل از ۰/۸ ولت تا ۰/۰ ولت انجام شد که در آن یک پیک کاتدی واضح مشاهده گردید. با استفاده از این پیک کاتدی کاپتوپریل تعیین مقدار شد. ناحیه خطی و حد تشخیص

¹ Ioannides

² Square wave cathodic adsorptive stripping voltammetry

³ preconcentration

⁴ Ziyatdinova

به ترتیب ۱/۲ میکرومولار تا ۰/۳۲ میلی مولار و ۰/۹۲ میکرومولار و انحراف استاندارد نسبی بین ۱/۰ تا ۴/۰ درصد گزارش شده است [۲۲].

شاهرخیان و همکارانش در سال ۲۰۰۵ یک حسگر بر پایه ولتامتری جهت اندازه گیری کاپتوپریل از طریق اصلاح الکتروود خمیر کربن^۱ با کبالت-۵-نیترو سالفون^۲ ساختند. الکتروود ساخته شده یک فعالیت الکتروکاتالیتیکی ایده آل جهت اکسیداسیون کاپتوپریل نشان داده است. در حضور این الکتروود اصلاح شده به عنوان الکتروود کار ولتاموگرام چرخه ای کاپتوپریل در بافر استات با pH=۵/۰ با سرعت اسکن ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه ثبت گردید و در ۰/۶ ولت یک پیک اکسایش برگشت ناپذیر مشاهده گردید. ناحیه خطی این روش بین $4/0 \times 10^{-6}$ تا $1/1 \times 10^{-4}$ مولار و حد تشخیص $1/1 \times 10^{-6}$ مولار، با استفاده از روش ولتامتری پالسی تفاضلی حاصل شد. حسگر ساخته شده برای اندازه گیری کاپتوپریل در ترکیبات دارویی و سرم خون به کار برده شد. با این روش درصد بازیابی و انحراف استاندارد نسبی به ترتیب ۹۷/۴ تا ۱۰۸ درصد و ۲/۵ درصد گزارش شده است [۲۳].

هاگگ^۳ و همکارانش در سال ۲۰۰۸ کاپتوپریل را به کمک عامل مشتق ساز ۴-کلرو-۷-نیترو-۱و۲-بنزواکسادیازول^۴ با استفاده از سیستم اسپکتروفوتومتری و پلاروگرافی پالسی تفاضلی اندازه گیری کردند. وجود گروه الکتروفعال نیترو در عامل مشتق ساز باعث ایجاد یک پیک احیا در پلاروگراف در حدود ۰/۸- ولت می شود. شدت این پیک متناسب با غلظت عامل مشتق ساز و همچنین کاپتوپریل است. ناحیه خطی ۲/۴ تا ۱۶/۸ میکروگرم بر میلی لیتر و حد تشخیص ۰/۰۳ میکروگرم بر میلی لیتر و انحراف استاندارد نسبی ۰/۶۸٪، با روش اسپکتروفوتومتری گزارش شده است. ناحیه خطی ۰/۲۴ تا ۱/۶۸ میکروگرم بر میلی لیتر و حد تشخیص ۰/۰۲۴ میکروگرم بر میلی لیتر و انحراف استاندارد نسبی ۰/۷۷٪، با روش ولتامتری پالسی تفاضلی گزارش شده است [۲۴].

¹ Carbon paste electrode

² Cobalt-5-nitrosalophen

³ Haggag

⁴ 4-Chloro-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazole

انصافی و همکارانش در سال ۲۰۰۸ کاپتوپریل را با استفاده از روش ولتامتری عاری سازی جذبی کاتدی و روبش پالسی تفاضلی پتانسیل، بر روی الکتروده قطره جیوه در ترکیبات دارویی و خون اندازه‌گیری کردند. این اندازه‌گیری بر اساس تشکیل کمپلکس مس(I)-کاپتوپریل روی سطح الکتروده قطره جیوه آویزان انجام شد. به این ترتیب که در محلولی از Cu(II) با غلظت بهینه در بافر عمومی pH=۳/۵ با اعمال پتانسیل -۰/۱ ولت به مدت ۹۰ ثانیه Cu(II) به Cu(I) احیا شده و روی سطح الکتروده جیوه جمع می‌شود، در حضور کاپتوپریل کمپلکس مس(I)-کاپتوپریل تشکیل می‌گردد. این کمپلکس در -۰/۱۵ ولت نسبت به الکتروده مرجع Ag/AgCl یک پیک کاتدی نشان می‌دهد که به غلظت کاپتوپریل وابسته است. ناحیه خطی و حد تشخیص به ترتیب ۰/۵ تا ۱۰۰ نانومولار و ۰/۳ نانومولار است. برای غلظت ۲۰ نانومولار انحراف استاندارد نسبی (n=۲۰) ۲/۵٪ گزارش شده است [۲۵].

رضایی و همکارانش در سال ۲۰۰۸ کاپتوپریل را با استفاده از ولتامتری چرخه‌ای، به کمک الکتروده کربن شیشه‌ای اصلاح شده با ذرات نانولوله کربنی چند دیواره^۱، اندازه‌گیری کردند. در این روش هگزاسیانوفرات(II)^۲، به عنوان الکتروکاتالیست، به طریق الکتروشیمیایی روی سطح الکتروده کربن شیشه‌ای اصلاح شده با ذرات نانوتیوب کربنی چند دیواره قرار داده شد و از این الکتروده برای اندازه‌گیری کاپتوپریل استفاده شد. کاپتوپریل در محیط اسیدی یک پیک اکسایش پهن در پتانسیل حدود ۰/۸ ولت نسبت به الکتروده مرجع Ag/AgCl، ۳/۰ مولار، روی سطح الکتروده کربن شیشه‌ای نشان می‌دهد که نمی‌توان از این پیک برای تعیین مقدار کاپتوپریل استفاده کرد. با اصلاح الکتروده به روشی که توضیح داده شد، یک پیک اکسایش واضح و با شدت بیشتر برای کاپتوپریل مشاهده گردید. در این کار تحقیقاتی از این پیک اکسایش برای تعیین مقدار کاپتوپریل استفاده شد. ناحیه خطی و حد تشخیص روش به ترتیب ۰/۵ تا ۶۰۰ میکرومولار و ۰/۲ میکرومولار و انحراف استاندارد نسبی کمتر از ۳٪ (غلظت ۰/۱ میلی‌مولار، n=۸) گزارش شده است [۲۶].

¹ multi-walled carbon nanotubes

² hexacyanoferrate(II)

در سال ۲۰۰۹ کریمی‌مله و همکارانش با استفاده از روش ولتامتری با الکتروُد خمیر کربن اصلاح شده با فروسن‌دی‌کربوکسیلیک‌اسید^۱ کاپتوپریل را تعیین مقدار کردند. برای ساخت الکتروُد، عامل اصلاحگر، پودر گرافیت و پارافین بایکدیگر مخلوط شدند. با حضور الکتروُد مذکور به عنوان الکتروُد کار، ولتاموگرام چرخه‌ای محلول کاپتوپریل در بافر عمومی با $\text{pH}=7/0$ ، یک پیک اکسایش واضح را در $0/49$ ولت نسبت به الکتروُد مرجع Ag/AgCl نشان می‌دهد. با توجه به اکسایش کاپتوپریل روی سطح این الکتروُد اصلاح شده، تعیین مقدار کاپتوپریل به روش ولتامتری موج مربعی انجام شد. ناحیه خطی و حد تشخیص به ترتیب $3/0 \times 10^{-7}$ تا $1/4 \times 10^{-4}$ مولار و $9/1 \times 10^{-8}$ مولار و انحراف استاندارد نسبی $1/0$ درصد (غلظت $5/0$ میکرومولار و $n=10$) گزارش شده است [۲۷].

در سال ۲۰۱۰ آرمیجو^۲ و همکارانش کاپتوپریل را در نمونه‌های دارویی با استفاده از روش ولتامتری موج مربعی اندازه‌گیری کردند. در این روش از الکتروُد قلع (IV) اکسید غنی شده با فلورین به عنوان الکتروُد کار استفاده شد. در ولتاموگرام ثبت شده محلول کاپتوپریل در بافر عمومی با $\text{pH}=2/0$ یک پیک اکسایش برگشت‌ناپذیر در $0/375$ ولت نسبت به الکتروُد مرجع Ag/AgCl مشاهده گردید. ناحیه خطی و حد تشخیص به ترتیب $0/2$ تا $1/1$ میلی‌مولار و $0/084$ میلی‌مولار و انحراف استاندارد نسبی $3/1$ درصد (غلظت $1/0$ میلی‌مولار و $n=10$) گزارش شده است [۲۸].

در سال ۲۰۱۱ انصافی و همکارانش به روش ولتامتری با الکتروُد خمیر کربن اصلاح شده کاپتوپریل را تعیین مقدار کردند. الکتروُد خمیر کربن اصلاح شده در این روش از مخلوط کردن گرافیت، نانولوله کربنی، پارافین و $\text{N-(3,4-dihydroxyphenethyl)-3,5-dinitrobenzamide}$ (۳،۴-دی‌هیدروکسی‌فن‌اتیل)-۵،۳-دی‌نیتروبنزامید^۳ به عنوان کاتالیزور ساخته شد. اساس این روش اکسایش کاتالیزور مذکور و سپس واکنش فرم اکسید شده کاتالیزور با کاپتوپریل و در نتیجه اکسایش کاپتوپریل در این واکنش است. ناحیه خطی و حد

¹ Ferrocene dicarboxylic acid

² Armijo

³ N-(3,4-dihydroxyphenethyl)-3,5-dinitrobenzamide

تشخیص به ترتیب $6/4 \times 10^{-8}$ تا $3/2 \times 10^{-4}$ مولار و $3/4 \times 10^{-8}$ مولار و انحراف استاندارد نسبی $1/6$ درصد (غلظت $1/0$ میلی مولار) گزارش شده است [۲۹].

در این کار تحقیقاتی کاپتوپریل با استفاده از الکتروود کربن شیشه‌ای عریان اندازه‌گیری شده است. تا کنون در هیچ کدام از کارهای انجام شده، کاپتوپریل با استفاده از الکتروود کربن شیشه‌ای عریان و بدون استفاده از حد واسط اندازه‌گیری نشده است.

۱-۳-۲- مروری بر کارهای انجام شده بر روی گلو تاتیون

گلو تاتیون به روش‌های مختلفی تعیین مقدار شده است که از آن جمله می‌توان به روش‌های اسپکتروفلوریمتری [۳۱، ۳۰]، کولومتری [۳۲]، آمپرومتری [۳۴، ۳۳]، الکتروفرورز [۳۵]، استخراج فاز جامد [۳۶]، شیمی لومینسانس [۳۷]، کروماتوگرافی [۳۹، ۳۸] و ولتامتری [۴۵-۴۰] اشاره کرد. در این بخش خلاصه‌ای از کارهای انجام شده بر اساس روش ولتامتری آورده شده است.

در سال ۲۰۰۳ واسک^۱ و همکارانش با استفاده از روش ولتامتری پالسی تفاضلی روی سطح الکتروود قطره جیوه گلو تاتیون را تعیین مقدار کردند. اساس این روش تشکیل کمپلکس گلو تاتیون (RSH) با کبالت (II) است. کمپلکس تشکیل شده (RS_2Co)، یک پیک کاتدی در $1/15$ - ولت نسبت به الکتروود مرجع $Ag/AgCl$ نشان می‌دهد. ناحیه خطی در این روش ۱۰ تا ۱۰۰ میکرومولار گزارش شده است [۴۰].

در سال ۲۰۰۳ بودنیکوف^۲ و همکارانش به روش ولتامتری با روبش خطی پتانسیل روی سطح الکتروود پلاتین به عنوان الکتروود کار، گلو تاتیون را اندازه‌گیری کردند. ولتاموگرام خطی محلول گلو تاتیون در اسید سولفوریک $0/05$ مولار، یک پیک اکسایش را در پتانسیل $0/95$ ولت نسبت به الکتروود مرجع کالومل نشان می‌دهد. شدت جریان این پیک اکسایش به طور خطی با افزایش غلظت گلو تاتیون افزایش می‌یابد. ناحیه خطی منحنی کالیبراسیون و حد تشخیص این روش به ترتیب برابر با

¹ Vacek

² Budnikov

$9/15 \times 10^{-5}$ تا $2/14 \times 10^{-3}$ مولار و $1/9 \times 10^{-5}$ مولار گزارش شده است. انحراف استاندارد نسبی ۵ اندازه

گیری تکراری در غلظت ۱/۹ میلی مولار گلوکاتینون ۶ درصد گزارش شده است [۳۲].

در سال ۲۰۰۴ کالوو-مارزال^۱ و همکارانش گلوکاتینون را به روش آمپرومتری با الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با کمپلکس TTF-TCNQ اندازه گیری کردند. با حضور این الکتروود به عنوان الکتروود کار در ولتاموگرام محلول گلوکاتینون در $pH=7/0$ یک پیک اکسایش واضح در حدود ۰/۲ ولت و یک پیک احیا در حدود ۰/۱- ولت نسبت به الکتروود مرجع کالومل مشاهده شد. دامنه خطی منحنی کالیبراسیون در این روش ۲۰ تا ۳۰۰ میکرومولار و حد تشخیص آن، ۴/۲ میکرومولار گزارش شده است. انحراف استاندارد نسبی برای ده اندازه گیری مختلف ۵/۱٪ به دست آمد [۳۳].

در سال ۲۰۰۵ تانگ^۲ و همکارانش به روش ولتامتری موج مربعی گلوکاتینون را اندازه گیری کردند. در این روش گلوکاتینون به صورت مستقیم روی سطح یک الکتروود ساخته شده از گرافیت و نانولوله کربنی اکسید شد. با استفاده از این الکتروود به عنوان الکتروود کار، ولتاموگرام چرخه ای محلول گلوکاتینون در بافر عمومی با $pH=7/0$ یک پیک اکسایش واضح در پتانسیل ۰/۶۵ ولت نسبت به الکتروود مرجع کالومل نشان می دهد. ناحیه خطی و حد تشخیص به ترتیب ۰/۴ تا ۱۶/۴ میکرومولار و ۰/۲ میکرومولار گزارش شده است [۴۱].

در سال ۲۰۰۶ چن^۳ و همکارانش با استفاده از روش ولتامتری با میکروالکتروود پودری^۴، گلوکاتینون را اندازه گیری کردند. میکروالکتروود پودری استفاده شده در این روش، با قطر ۱۰۰ میکرومتر و از جنس استیلن سیاه^۵ (AB) است. ولتاموگرام چرخه ای محلول گلوکاتینون در بافر عمومی با $pH=7/0$ یک پیک اکسایش واضح در پتانسیل ۰/۰۵ ولت نسبت به الکتروود مرجع کالومل نشان

¹ Calvo-Marzal

² Tang

³ Chen

⁴ powder microelectrode

⁵ Acetylene black

می‌دهد. ناحیه خطی و حد تشخیص به ترتیب ۰/۱ تا ۲/۸ میلی‌مولار ۱۰ میکرومولار و انحراف استاندارد نسبی $\pm 7\%$ درصد گزارش شده است [۴۲].

در سال ۲۰۰۸ اندامانیشا^۱ و همکارانش با روش آمپرومتری، گلووتاتیون را اندازه‌گیری کردند. در این روش از الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با OMC^۲ به عنوان الکتروود کار استفاده شد. ولتاموگرام چرخه‌ای محلول گلووتاتیون در بافر فسفات با pH=۷/۱۶، دو پیک اکسایش و کاهش را به ترتیب در پتانسیل ۰/۱۵ و ۰/۱- ولت نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl اشباع نشان می‌دهد. اندازه‌گیری آمپرومتری در پتانسیل ۰/۱۵ ولت انجام شد. حد تشخیص این روش، ۰/۰۹ میکرومولار گزارش شده است [۴۳].

در سال ۲۰۰۹ رئوف و همکارانش گلووتاتیون و تریپتوفان^۳ را به طور همزمان، با استفاده از الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانوذرات TiO₂ و فروسن کربوکسیلیک اسید^۴ به عنوان الکتروود کار، به روش ولتامتری چرخه‌ای و ولتامتری پالسی تفاضلی اندازه‌گیری کردند. ولتاموگرام ثبت شده در محلول بافر فسفات با pH=۷/۰ یک پیک اکسایش برگشت‌پذیر را در حدود ۰/۳ ولت نشان داد. شدت جریان این پیک اکسایش در حضور گلووتاتیون افزایش قابل توجهی یافت. ناحیه خطی منحنی کالبراسیون در این روش به مقدار عامل اصلاحگر در بافت خمیر کربن وابسته است. همچنین حد تشخیص^۵ $9/8 \times 10^{-8}$ مولار برای این روش گزارش شده است [۴۴].

در سال ۲۰۱۱ چی^۵ و همکارانش با استفاده از الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانوذرات اکسید نیکل(II)^۶، به روش ولتامتری پالسی تفاضلی گلووتاتیون را اندازه‌گیری کردند. ولتاموگرام پالسی تفاضلی یک پیک اکسایش را در پتانسیل ۰/۶ ولت نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl نشان می‌دهد. ناحیه خطی منحنی کالبراسیون در این روش ۰/۲ تا ۶/۰ میلی‌مولار گزارش شده است [۴۵].

¹ Ndamanisha

² Ordered mesoporous carbon

³ Tryptophan

⁴ Ferrocene carboxylic acid

⁵ Chee

⁶ Nickel(II) oxide

در این کار تحقیقاتی از حد واسط همگن ۴،۱-دی آمینوبنزن برای اندازه گیری گلو تاتیون با استفاده از الکترو د کربن شیشه ای عریان استفاده شد. در هیچ کدام از کارهای انجام شده قبلی، گلو تاتیون با استفاده از الکترو د کربن شیشه ای و حد واسط همگن ۴،۱-دی آمینوبنزن اندازه گیری نشده است.

فصل دوم: تئوری

۲-۱- مقدمه

شیمی تجزیه شامل جداسازی، شناسایی و تعیین مقدار نسبی اجزای سازنده یک نمونه از ماده است. تجزیه کیفی، هویت شیمیایی گونه‌ها را در نمونه آشکار می‌سازد. تجزیه کمی، مقدار نسبی یک یا چند گونه یا آنالیت^۱ را به صورت عددی معلوم می‌دارد. پیش از انجام تجزیه کمی، ابتدا لازم است اطلاعات کیفی به دست آید. شیمی تجزیه، یا هنر تشخیص مواد مختلف و تعیین اجزای سازنده آن نقش اول را در کاربردهای مختلف علوم دارد [۴۶].

شیمی الکتروآنالیتیکی گروهی از روش‌های تجزیه کمی را در بر می‌گیرد که بر اساس خواص الکتریکی محلولی از آنالیت که قسمتی از یک سلول الکتروشیمیایی را تشکیل می‌دهد، استوارند. فنون الکتروآنالیتیکی قادرند حدود آشکارسازی بسیار پایین و گنجینه‌ای از اطلاعات مشخصه توصیف سیستم‌های نشانی‌پذیر شیمیایی را در اختیار قرار دهند. این گونه اطلاعات عبارت‌اند از استوکیومتری^۲ و سرعت انتقال بار بین دو سطح، سرعت انتقال جرم، میزان جذب سطحی یا جذب سطحی شیمیایی و سرعت و ثابت تعادل برای واکنش‌های شیمیایی.

روش‌های الکتروآنالیتیکی در مقایسه با سایر روش‌ها مزایای کلی خاصی دارند. اولاً اندازه‌گیری‌های الکتروآنالیتیکی اغلب برای یک حالت خاص اکسایش عنصر ویژه‌اند. مثلاً، روش‌های الکتروشیمیایی امکان تعیین غلظت هر یک از گونه‌ها در مخلوطی از سریم (III) و سریم (IV) را فراهم می‌آورند در حالی که اکثر روش‌های تجزیه‌ای دیگر قادرند تنها کل غلظت سریم را به دست دهند. دومین حسن مهم روش‌های الکتروشیمیایی ارزانی نسبی دستگاه‌وری آن است. ویژگی سوم برخی روش‌های الکتروشیمیایی که می‌تواند حسن یا عیب تلقی شود این است که این روش‌ها به جای غلظت، داده‌هایی در رابطه با فعالیت گونه‌ها در اختیار می‌گذارند [۴۷].

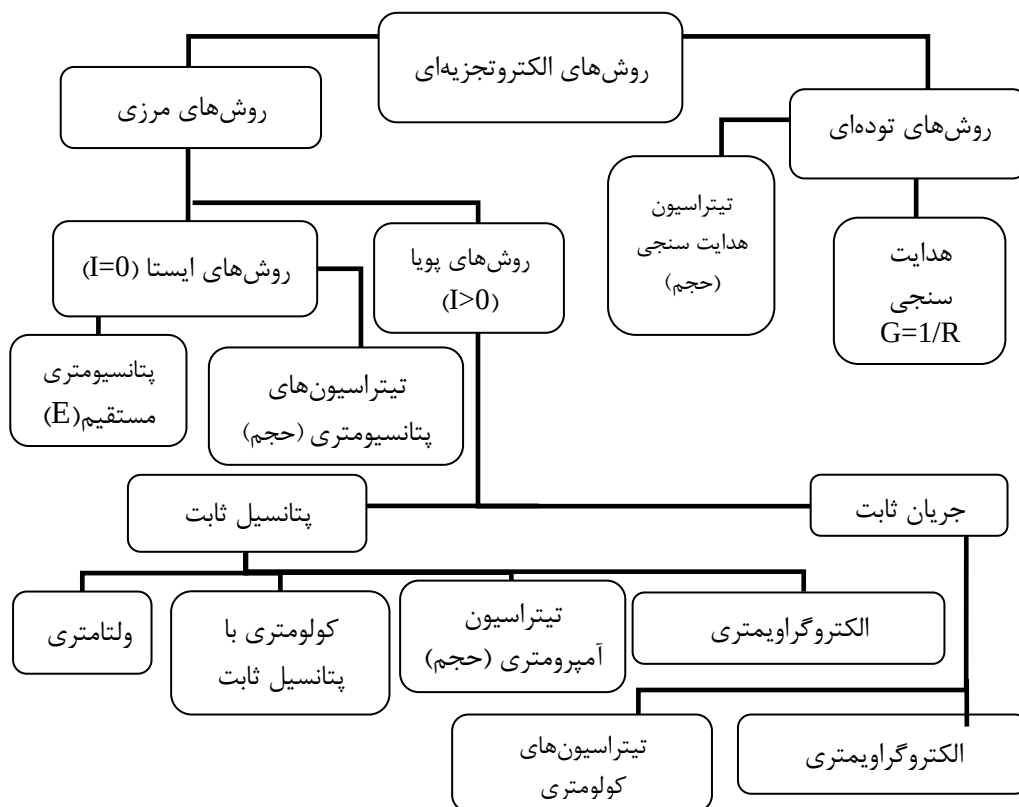
¹ Analyte

² Stoichiometry

۲-۲- انواع روش‌های الکتروتجزیه‌ای

انواع زیادی از روش‌های الکتروتجزیه‌ای پیشنهاد شده است. روش‌هایی که به نسبت کاربرد عمومی دارند در جدول (۱-۲) نشان داده شده است. این روش‌ها به دو دسته، روش‌های در سطح مشترک (مرزی)^۱ و روش‌های توده‌ای^۲ تقسیم می‌شوند که کاربرد روش‌های در سطح مشترک بسیار گسترده‌تر است.

جدول (۱-۲) انواع روش‌های الکتروشیمی. کمیت‌های اندازه‌گیری شده داخل پرانتزها عبارتند از:
(I = جریان، E = پتانسیل، t = زمان) [۴۸]



روش‌های در سطح مشترک مبتنی بر پدیده‌هایی هستند که در سطح مشترک بین سطوح الکتروود و لایه نازک محلول مجاور این سطوح تحقق می‌یابند. در مقابل روش‌های توده‌ای مبتنی بر پدیده‌هایی‌اند که در توده محلول تحقق می‌یابند [۴۸]. روش‌های سطح مشترک را بر مبنای اینکه

¹ Interfacial methods

² Bulk methods

سلول الکتروشیمیایی در غیاب و یا حضور جریان عمل کند، می‌توان به دو گروه عمده ایستا^۱ و دینامیک^۲ تقسیم کرد. روش‌های ایستا که اندازه‌گیری اختلاف پتانسیل در یک جریان تقریباً صفر انجام می‌شود. روش‌های پویا که در آن جریان نقش اساسی دارد به دو دسته تقسیم بندی می‌شوند: روش‌های جریان ثابت و پتانسیل کنترل شده. معمول‌ترین این روش‌ها عبارتند از: ولتامتری^۳، پلاروگرافی^۴، آمپرومتری^۵، کولن‌سنجی^۶، وزن‌سنجی^۷، هدایت‌سنجی^۸ و طیف‌سنجی الکتروشیمی^۹. هر دو روش ایستا و پویا حداقل به دو الکتروود (هادی) و یک محلول در تماس با الکتروودها (الکترولیت) نیاز دارند تا پیل الکتروشیمیایی را تشکیل دهند[۴].

روش‌های با پتانسیل کنترل‌شده (پتانسیواستایی) بر وضعیت‌های پویا (جریان غیر صفر) استوارند. در این روش، پتانسیل الکتروود برای انجام یک واکنش انتقال الکترون به کار می‌رود و جریان حاصل اندازه‌گیری می‌شود. نقش پتانسیل همانند نقش طول موج در اندازه‌گیری‌های نوری است[۵]. یکی از راه‌های انجام واکنش‌های الکتروشیمیایی، اعمال پتانسیلی متفاوت از پتانسیل تعادل به یک الکتروود شناور در محلول (الکتروود کار^{۱۰}) است. چنانچه پتانسیل اعمال شده در طول زمان ثابت بماند، آن را به نام پله پتانسیل^{۱۱} می‌نامند. در صورتی که این پتانسیل با آهنگی ثابت و متناسب با گذشت زمان تغییر کند، به نام پتانسیل شیب‌دار^{۱۲} نامیده می‌شود. در نوع اخیر، روند تغییر پتانسیل در طول زمان ممکن است حالت پیوسته یا پلکانی^{۱۳} داشته باشد.

¹ Static methods

² Dynamic methods

^۳ Voltammetry

⁴ Polarography

^۵ Amperometry

⁶ Coulometry

⁷ Electrogravimetry

⁸ Conductometry

⁹ Spectroelectrochemistry

¹⁰ Working electrode

¹¹ Step voltage

¹² Ramp voltage

¹³ Staircase voltage

در تمام موارد بالا، پتانسیل اعمال شده به الکتروود از گستره معینی برخوردار است که بسته به شرایط آزمایش تعیین می‌شود. تغییر پتانسیل الکتروود از پتانسیل تعادل موجب پیدایش واکنش الکتروشیمیایی در سطح مشترک الکتروود - محلول و بروز جریانی می‌شود که بسته به شکل هندسی و جنس الکتروود به کار رفته و نیز نمایش تغییرات جریان بر حسب زمان یا پتانسیل اعمال شده، روش-های تجزیه‌ای گوناگونی به وجود می‌آیند که هر کدام از ویژگی‌های خاص برخوردارند. در حالت کلی تمام روش‌های مذکور را به نام روش‌های پتانسیواستایی می‌نامند زیرا در تمام آن‌ها پتانسیل الکتروود کار در طول زمان و یا در هر لحظه از زمان دارای مقدار ثابتی است [۵۱].

۲-۳- ولتامتری

ولتامتری شامل گروهی از روش‌های الکتروشیمیایی تجزیه‌ای است که اطلاعات مربوط به آنالیت از طریق اندازه‌گیری جریان به صورت تابعی از پتانسیل اعمال شده، تحت شرایطی که قطبش الکتروود نشان‌دهنده^۱ یا کار را ترغیب می‌کند به دست می‌آید. به طور کلی، برای افزایش قطبش، الکتروودهای کار در ولتامتری، ریزالکتروودهایی با مساحت سطحی حداکثر چند میلی‌متر مربع و در برخی کاربردها چند میکرومتر مربع‌اند [۴۹]. در ولتامتری، الکتروود پشتیبان جهت کاهش مقاومت محلول، حذف جریان مقاومت و اطمینان از حمل کامل جریان به وسیله پدیده نفوذ استفاده می‌شود [۵۲].

۲-۳-۱- ولتامتری چرخه‌ای^۲

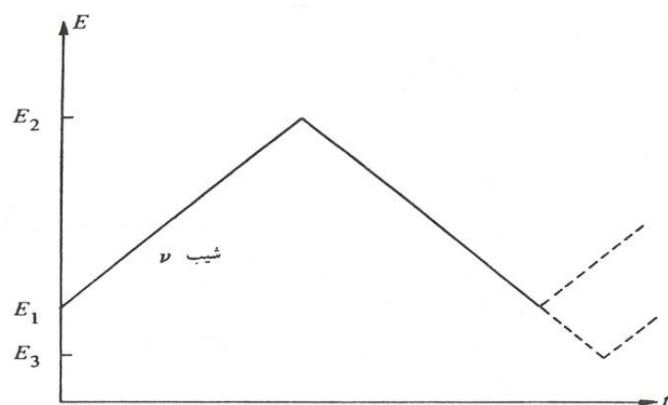
روش ولتامتری چرخه‌ای، یکی از بهترین شیوه‌ها در زمینه بررسی مکانیسم واکنش‌ها بر پایه روبش پتانسیل^۳ است. ولتامتری چرخه‌ای به دلیل این قابلیت‌ها تقریباً همیشه به عنوان یک روش مفید برای سیستم‌هایی که اولین بار مطالعه می‌شوند، به کار برده می‌شود.

¹ Indicator electrode

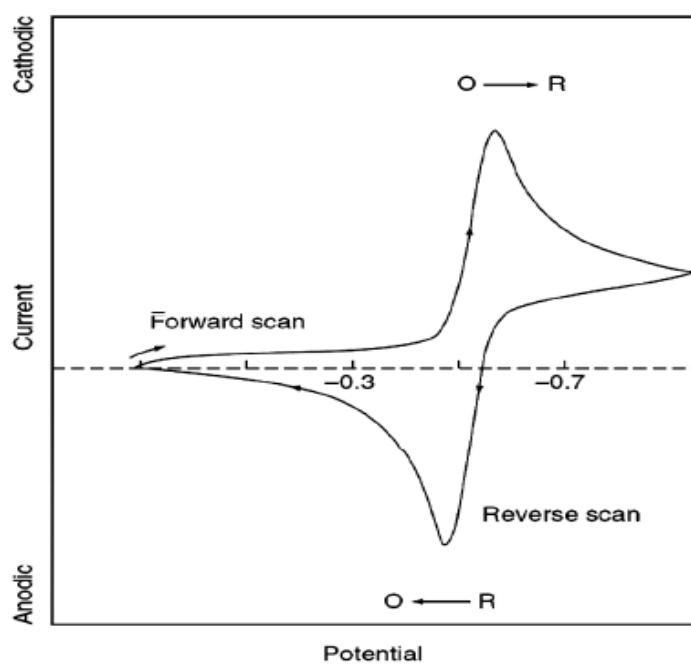
² Cyclic voltammetry

³ Potential sweep

در روش ولتامتری چرخه‌ای پتانسیل از مقدار اولیه E_1 به E_2 روبش می‌شود و سپس مطابق شکل (۱-۲) جهت اعمال پتانسیل تا مقدار E_1 یا E_3 عکس می‌شود. پاسخ ولتامتری چرخه‌ای برای یک زوج برگشت‌پذیر در شکل (۲-۲) نشان داده شده است [۵۲].



شکل (۱-۲) پروفیل‌های پتانسیل-زمان برای ولتامتری چرخه‌ای [۵۲].



شکل (۲-۲) ولتاموگرام چرخه‌ای برای فرایند برگشت‌پذیر [۵۰].

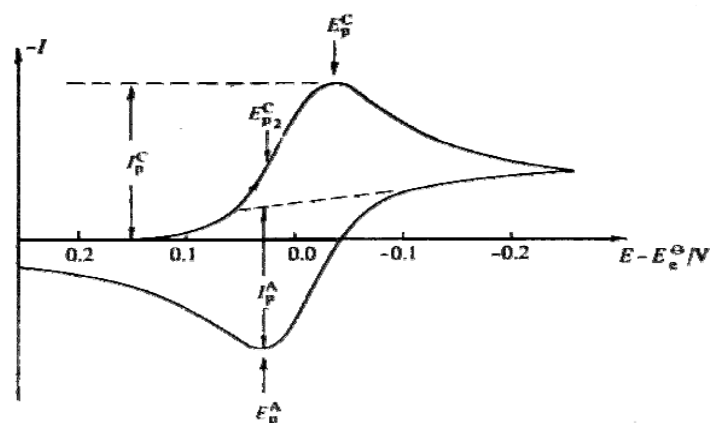
در ولتامتری چرخه‌ای نیز از انواع الکترودهای جامد و یا قطره جیوه آویزان^۱ به عنوان الکتروود کار استفاده می‌شود. در این روش، برای تعیین مکانیزم واکنش‌ها، محدوده روبش پتانسیل و نیز جهت و سرعت آن را تغییر می‌دهند و از روی تاثیر آن بر شکل ولتاموگرام^۲ و پارامترهای وابسته به آن، به مکانیزم فرایند الکتروودی پی می‌برند [۵۳].

۲-۴- سیستم‌های برگشت پذیر^۳

فرض می‌کنیم واکنش الکتروودی به وسیله معادله (۱-۱) توصیف می‌شود و در ابتدای واکنش فقط O در محلول وجود دارد:



آنگاه روبش خطی آهسته‌ای از پتانسیل به چنین سیستمی اعمال می‌شود. هنگامی که پتانسیل به E^0 مربوط به فرایند ردوکس می‌رسد جریان کاتدی افزایش می‌یابد تا اینکه در E_p به بیشترین مقدار خود یعنی I_p می‌رسد و بعد از این ماکسیمم با گذشت زمان جریان متناسب با $t^{-1/2}$ کاهش می‌یابد که به آن افت کاترلی^۴ می‌گویند. شکل (۲-۳) یک ولتاموگرام برگشت‌پذیر برای سیستمی که در ابتدا فقط O در محلول موجود است را نشان می‌دهد [۵۲].



شکل (۲-۳) ولتاموگرام چرخه‌ای برای فرایند برگشت‌پذیر توصیف شده با معادله (۱-۲) [۵۲].

¹ Hanging mercury drop electrode

² Voltamogram

³ Reversible systems

⁴ Cottrell decay

جریان متناظر با E_p از رابطه راندلس-سوسیک^۱ پیروی می کند که در زیر آورده شده است.

$$I_p = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} ACD^{1/2} \nu^{1/2} \quad \text{معادله (۲-۲)}$$

که در آن n تعداد الکترون ها، A مساحت الکتروود بر حسب سانتی متر مربع، C غلظت بر حسب مول بر سانتی مترمکعب، D ضریب انتشار بر حسب سانتی مترمربع بر ثانیه، ν سرعت روبش پتانسیل بر حسب ولت بر ثانیه می باشد. بر اساس این رابطه، شدت جریان وابستگی مستقیم با جذر سرعت روبش دارد. از دیگر خصوصیات سیستم های برگشت پذیر این است که نسبت جریان دماغه های رفت و برگشت، $\frac{i_{p,a}}{i_{p,c}}$ برابر یک است [۵۰].

ولتامتری چرخه ای یک روش مناسب برای شناسایی برگشت پذیری واکنش است. یک آزمون برای بررسی برگشت پذیری سیستم این است که آیا نمودار تغییرات I_p بر حسب $\nu^{1/2}$ خطی است و از مبدا مختصات می گذرد (یا به جای آن $\frac{I_p}{\nu^{1/2}}$ مقدار ثابتی است) یا نه؟ در صورت مثبت بودن پاسخ به آزمون های تشخیص بیشتری نیاز است که همه این آزمون ها در مورد سیستم برگشت پذیر باید صادق باشد. فهرست کاملی از آزمون ها در جدول (۲-۲) ذکر شده است. نشانه های به کار رفته در این جدول، در جدول (۱-۲) تعریف شده است [۵۲]. $E_{p/2}$ ، پتانسیل در نصف جریان پیک است.

جدول (۲-۲) آزمون های تشخیص برای ولتاموگرام های چرخه ای فرایندهای برگشت پذیر در دمای 25°C [۵۲].

$\Delta E_p = E_p^A - E_p^C = (59/n)\text{mV}$	۱
$ E_p - E_{p/2} = (59/n)\text{mV}$	۲
$ I_p^A / I_p^C = 1$	۳
E_p مستقل از ν است	۴
در پتانسیل های بیشتر از E_p ، $I^{-2} \propto t$	۵

¹ Randles-Sevcik equation

۲-۵- سیستم‌های برگشت ناپذیر و شبه برگشت پذیر^۱

عبور از برگشت پذیری وقتی اتفاق می‌افتد که سرعت نسبی انتقال الکترون نسبت به سرعت انتقال جرم برای نگهداری تعادل در سطح الکتروود کافی نباشد. شکل ولتاموگرام نیز تغییر خواهد کرد. بارزترین خصوصیت سیستم‌های برگشت ناپذیر کند بودن واکنش مبادله الکترون یا به عبارتی کوچک بودن k^0 (ثابت سرعت ناهمگن انتقال الکترون) در این سیستم‌ها است. در این حالت جریان به وجود آمده در دماغه (E_p) از رابطه زیر تبعیت می‌کند. در این رابطه α ضریب انتقال^۲ است.

$$I_p = 2.99 \times 10^5 n [n_\alpha (1 - \alpha)]^{1/2} A C D^{1/2} v^{1/2} \quad \text{معادله (۲-۳)}$$

احتمالاً خصوصیت بارز ولتاموگرام چرخه‌ای برای سیستم برگشت ناپذیر، ظاهر نشدن دماغه برگشت است. اما این خصوصیت به تنهایی لزوماً دلیلی بر وجود فرایند انتقال الکترون برگشت ناپذیر نیست بلکه ممکن است مربوط به واکنش شیمیایی موخر سریع باشد [۵۲].

جدول (۲-۳) آزمون‌های تشخیص برای سیستم‌های کاملاً برگشت ناپذیر در دمای 25°C [۵۲].

۱	دماغه برگشت مشاهده نمی‌شود
۲	$I_p^C \propto v^{1/2}$
۳	E_p^C به اندازه $-30/\alpha_c n_\alpha$ میلی ولت به ازای ده برابر افزایش در v ، جا به جا می‌شود
۴	$ E_p - E_{p/2} = (48/\alpha_c n_\alpha) \text{mV}$

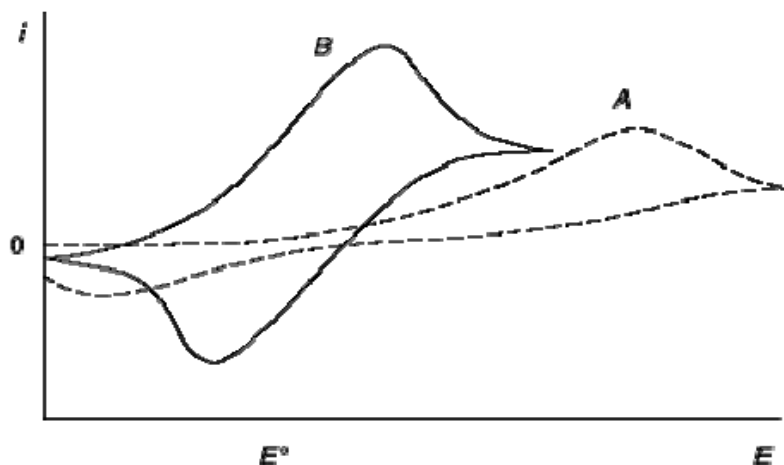
در ناحیه شبه برگشت پذیر هر دو واکنش رفت و برگشت در جریان مشاهده شده سهیم هستند و این ناحیه عموماً دارای محدوده زیر است [۵۲].

$$0.3v^{1/2} \geq k^0 \geq 2 \times 10^{-5} v^{1/2} \text{ cm.s}^{-1}$$

¹ Irreversible and Quasi-reversible systems

² Transfer coefficient

برای سیستم‌های شبه برگشت‌پذیر، جریان با هر دو عامل انتقال بار و انتقال جرم کنترل می‌شود. ولتاموگرام یک سیستم شبه برگشت‌پذیر کشیده‌تر است و جدایی بیشتری را در پتانسیل‌های دماغه نسبت به یک سیستم برگشت‌پذیر نشان می‌دهد.



شکل (۴-۲) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای برای فرایندهای ردوکس (A) برگشت‌ناپذیر و (B) شبه برگشت‌پذیر [۵۰].
آزمون‌های تشخیص برای سیستم در ناحیه شبه برگشت‌پذیر در جدول (۴-۲) ارائه شده است.

جدول (۴-۲) آزمون‌های تشخیص برای سیستم‌های شبه برگشت‌پذیر [۵۲].

۱	I_p با $v^{1/2}$ افزایش میابد ولی متناسب با آن نیست.
۲	$ I_p^A / I_p^C = 1$ مشروط بر اینکه: $\alpha_A = \alpha_C = 0.5$
۳	ΔE_p بزرگ‌تر از $0.59/n$ میلی‌ولت است و با افزایش v افزایش می‌یابد.
۴	E_p^C با افزایش v ، در جهت منفی جابجا می‌شود.

۲-۶- واکنش‌های همگن همراه

گونه‌های تشکیل شده به وسیله انتقال الکترون ممکن است در محیط الکترولیز پایدار نباشند و فقط حد واسطی باشند که با تغییر شیمیایی به محصول نهایی تبدیل می‌شوند. این واکنش‌های همراه می‌توانند همگن و یا غیر همگن باشند. یک واکنش شیمیایی به طور کلی وقتی همگن است که محصول حاصل از انتقال الکترون، (R در حالت احیا) از سطح الکتروود دور شود و اگر گونه R به سطح الکتروود جذب سطحی شود فرایند غیر همگن است.

ولتامتری چرخه‌ای شاید قوی‌ترین روش برای بررسی واکنش‌های شیمیایی همراه باشد. با اینکه روش‌های دیگری مانند الکتروود صفحه چرخان برای به دست آوردن داده‌های سینتیکی مناسب است، ولتامتری چرخه‌ای این مزیت را دارد که برای مطالعات اولیه مکانیسمی مانند تشخیص و شناسایی حد واسط‌های واکنش نیز مطلوب است [۵۲].

همراه شدن یک واکنش شیمیایی با یک واکنش اکسیداسیون-احیا می‌تواند با مکانیسم‌های مختلفی انجام شود. ما در اینجا به شرح دو مکانیسم EC و ECE خواهیم پرداخت. E نماد واکنش الکتروشیمیایی و C نماد واکنش شیمیایی است.

۲-۶-۱- مکانیسم EC

در این مکانیسم ابتدا یک واکنش اکسیداسیون-احیا انجام می‌شود (معادله ۲-۴) که منجر به تولید یک گونه فعال (R) خواهد شد که می‌تواند در یک واکنش شیمیایی شرکت کند (معادله ۲-۵).



در اینجا نیز واکنش شیمیایی می‌تواند به شکل‌های مختلفی انجام شود. واکنش شیمیایی می‌تواند برگشت پذیر یا برگشت ناپذیر و دارای درجات مختلف باشد که برای هر کدام از این حالات توجیهی

خاص وجود دارد. ساده‌ترین حالت، حالتی است که در آن واکنش الکترودی برگشت ناپذیر باشد در این حالت انجام یا عدم انجام واکنش شیمیایی هیچ تاثیری در شکل ولتاموگرام چرخه‌ای نخواهد داشت. حال به بررسی حالت‌های حدی می‌پردازیم.

ابتدا حالتی را در نظر می‌گیریم که مقدار k درواکنش شیمیایی بسیار کوچک باشد. در این حالت نیز واکنش شیمیایی تاثیر چندانی روی شکل ولتاموگرام‌های چرخه‌ای نخواهد داشت. البته در این حالت بسته به نوع واکنش الکترودی شکل این ولتاموگرام‌ها تغییر خواهد کرد. در حالت دوم واکنش شیمیایی یک واکنش برگشت ناپذیر با یک k خیلی بزرگ باشد، در این حالت واکنش الکترودی به هر شکلی چه برگشت پذیر باشد چه برگشت ناپذیر، باشد ما پیک برگشت را مشاهده نخواهیم کرد. در این حالت وقتی که گونه O به گونه R تبدیل می‌شود چون گونه R فرصتی برای انجام واکنش برگشت ندارد و سریعاً تبدیل به گونه Y می‌شود که گونه Y یک گونه الکترواکتیو نیست، بنابراین این حالت از ناحیه انتشاری دور و پیک برگشت در ناحیه سینتیکی وارد می‌شود. در حالت سوم مقدار k نه خیلی بزرگ باشد و نه خیلی کوچک. در اینجا نیز سرعت روبش پتانسیل کاملاً موثر بر شکل ولتاموگرام‌های چرخه‌ای است. اگر سرعت روبش پتانسیل کم باشد در اینجا گونه R فرصت کافی برای شرکت در واکنش شیمیایی را خواهد داشت، لذا در این حالت پیک برگشت دیده نمی‌شود. اگر سرعت روبش پتانسیل را افزایش دهیم مقداری از گونه R تبدیل به گونه Y خواهد شد و مقداری نیز در واکنش برگشت الکترودی شرکت خواهد کرد، که دیگر در این حالت شکل ولتاموگرام‌های چرخه‌ای با حالت‌های قبلی متفاوت خواهد بود و پیک برگشت کاملاً حذف نخواهد شد ولی نسبت شدت جریان پیک رفت به شدت جریان پیک برگشت دیگر برابر یک نخواهد شد. در این حالت پیک برگشت کاهش یافته و نسبت $I_{p(a)}/I_{p(c)}$ از یک کوچکتر است. وقتی سرعت روبش پتانسیل را به مقدار زیادی افزایش می‌دهیم به طوری که این افزایش سرعت به مقداری باشد که گونه R فرصت شرکت در انجام واکنش شیمیایی را نداشته باشد، یک ولتاموگرام چرخه‌ای دارای نسبت $I_{p(a)}/I_{p(c)}$ برابر یک

بدست می‌آید. البته شرط این حالت، برگشت پذیر بودن واکنش الکترودی خواهد بود [۴۸]. آزمون‌های تشخیص برای واکنش‌های EC در جدول (۵-۲) آورده شده است.

جدول (۵-۲) آزمون‌های تشخیصی برای واکنش‌های EC [۵۲].

۱	$ I_P^A / I_P^C $ کمتر از یک است، اما با افزایش V به یک میل می‌کند.
۲	$ I_P^C / V^{1/2} $ با افزایش V اندکی کاهش می‌یابد.
۳	مقدار E_P^C نسبت به حالت برگشت‌پذیر مثبت‌تر است.
۴	E_P^C با افزایش V ، در جهت منفی جا به جا می‌شود و در ناحیه سینتیکی محض به ازای ۱۰ برابر افزایش V به اندازه $30/n$ میلی ولت جا به جا می‌شود.

۲-۶-۲- مکانیسم ECE

در این مکانیسم ابتدا یک واکنش الکترودی انجام می‌شود (معادله ۶-۲) که منجر به تولید گونه (R) می‌شود که در یک فرآیند شیمیایی (معادله ۷-۲) تبدیل به گونه دیگری (O') می‌شود. (O') یک گونه الکترواکتیو دیگر می‌باشد که در یک واکنش الکترودی دیگر (معادله ۸-۲) شرکت می‌کند.



در این حالت دو پتانسیل وجود دارد که یکی مربوط به واکنش الکترودی اول و دیگری مربوط به واکنش الکترودی دوم می‌باشد که با توجه به مقدار این پتانسیل‌ها و نوع واکنش شیمیایی ولتاموگرام‌های چرخه‌ای شکل‌های مختلفی خواهند داشت. در یک دسته از این واکنش‌ها، واکنش الکترودی اول راحت‌تر از واکنش الکترودی دوم انجام می‌شود. در این شرایط شکل ولتاموگرام چرخه-

ای هیچ تفاوتی با مکانیسم EC ندارد فقط یک گونه الکترواکتیو دیگر تولید می‌شود که شکل آن وابسته به نوع واکنش الکتروودی می‌باشد. در واقع در این حالت یک مکانیسم EC یا EC همراه با یک مکانیسم E ایجاد می‌گردد.

دسته دیگر از این واکنش‌ها، آنهایی هستند که واکنش الکتروودی دوم راحت تر از واکنش الکتروودی اول انجام می‌شود. در این جا نسبت به حالت قبلی تفاوت‌هایی وجود دارند. در حالت رفت مربوط به چرخه اول یک پیک مشاهده می‌شود اما در حالت برگشت دو پیک مشاهده می‌شود، که پیک رفت در چرخه اول و پیک برگشتی که دارای پتانسیل نزدیک به همان پیک رفت در چرخه اول می‌باشد مربوط به گونه‌های درگیر در واکنش الکتروودی اول می‌باشد. حال اگر چرخه دوم به صورت متوالی با چرخه اول روبش را انجام دهد، در حالت رفت یک پیک دیگر ظاهر خواهد شد که این پیک با پیک برگشت نزدیک به آن مربوط به گونه‌های درگیر در واکنش الکتروودی دوم می‌باشد. در این مکانیسم با کاهش سرعت روبش پتانسیل جریان پیک آندی اول در واکنش الکتروودی اول کاهش پیدا می‌کند ولی جریان پیک آندی دوم در واکنش الکتروودی دوم افزایش پیدا می‌کند. هر چقدر سرعت روبش کاهش یابد این اختلاف بیشتر می‌شود تا این که جریان پیک واکنش اول کاملاً حذف می‌شود یعنی با کاهش سرعت، ورود به ناحیه سینتیکی اتفاق می‌افتد [۴۸]. آزمون‌های تشخیص برای واکنش‌های ECE در جدول (۶-۲) آورده شده است.

جدول (۶-۲) آزمون‌های تشخیصی برای واکنش‌های ECE [۵۲].

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

۲-۷- الکترودهای مورد استفاده در روش‌های ولتامتری

به طور کلی فرایندهای الکتروشیمیایی شامل انتقال الکترون‌ها بین یک هادی فلزی و سطوح انرژی مستقر در مولکول‌ها یا یون‌های مجاور سطح الکتروود می‌باشد. در روش‌های ولتامتری از سیستم‌های سه الکتروودی استفاده می‌شود [۴۹ و ۵۱] که این الکتروودها عبارت‌اند از:

۱- الکتروود مرجع^۱

۲- الکتروود مخالف یا کمکی^۲

۳- الکتروود کار

در ادامه توضیح مختصری در مورد الکترودهای کار آورده شده است.

۲-۷-۱- الکتروود کار

اجرای روش‌های ولتامتری به شدت تحت تاثیر جنس الکتروود کار قرار می‌گیرد. در واقع پتانسیل الکتروود کار نماینده فعالیت گونه معینی در محلول می‌باشد [۵۱]. الکتروود کار باید ویژگی‌هایی مانند نسبت پاسخ به نوفه^۳ بزرگ و نیز پاسخ تکرارپذیر^۴ را فراهم آورد. بنابراین انتخاب آن در وهله اول به دو عامل بستگی دارد: رفتار ردوکس ماده آزمایشی مورد نظر و جریان زمینه در محدوده پتانسیل لازم برای اندازه‌گیری. سایر موارد قابل ملاحظه شامل، گستره پتانسیل، هدایت الکتریکی، تکرارپذیری سطحی، خواص مکانیکی، هزینه، در دسترس بودن و سمیت می‌باشد. در تجزیه الکتروشیمیایی تعدادی از مواد به عنوان الکترودهای کار کاربرد پیدا کرده‌اند که مشهورترین آن‌ها جیوه، کربن و فلزات نجیب (به ویژه طلا و پلاتین) می‌باشند.

¹ Reference electrode

² Counter or Auxiliary electrode

⁵ Signal to noise

⁴ Reproducible

۲-۷-۲- الکترودهای جامد

محدود بودن میزان پتانسیل در قسمت آندی در الکترودهای جیوه، به کارگیری آن‌ها را برای ترکیبات اکسید شونده در پتانسیل‌های مثبت محدود می‌سازد. به این دلیل، الکترودهای جامد با گستره وسیع آندی در کارهای تجزیه‌ای قابل توجه بوده‌اند. از میان انواع متنوع مواد جامدی که می‌توانند به عنوان الکتروود کار مورد استفاده قرار گیرند، غالباً کربن، پلاتین، طلا، نقره، نیکل و همچنین مس برای کاربردهای مخصوص مورد استفاده قرار می‌گیرند [۵۰].

یک عامل مهم در استفاده از الکترودهای جامد، وابستگی پاسخ سیستم به چگونگی آماده‌سازی^۱ سطح الکتروود می‌باشد. بدین جهت، در استفاده از این الکتروودها لازم است آماده‌سازی دقیق الکتروود و صیقل دادن آن صورت گیرد تا جواب‌های تکرارپذیر به دست آید. صیقل دادن مکانیکی تا حد صاف شدن و چرخه‌زنی پتانسیلی به طور معمول برای الکترودهای فلزی به کار می‌روند. در حالی که روش‌های شیمیایی، الکتروشیمیایی و یا حرارتی سطح برای فعال کردن الکترودهای بر پایه کربن مورد استفاده قرار می‌گیرند [۵۰]. بر خلاف الکترودهای جیوه‌ای، الکترودهای جامد در ارتباط با فعالیت الکتروشیمیایی، سطح ناهمگنی را نشان می‌دهند. این چنین ناهمگنی سطح، موجب انحراف از رفتار پیش‌بینی شده برای سطوح یکنواخت می‌شود.

۲-۷-۳- الکتروود کربن شیشه‌ای^۲

تاکنون الکترودهای کربنی متعددی تهیه و به کار گرفته شده است که از آن جمله می‌توان به الکترودهای کربن شیشه‌ای، خمیر کربن، اپوکسی گرافیت، مغز مداد و الیاف کربن اشاره کرد. از آنجا که کار انجام شده در این پروژه بر روی الکتروود کربن شیشه‌ای انجام شده است، در ادامه توضیح مختصری در مورد الکتروود کربن شیشه‌ای ارائه شده است.

¹ Pretreatment

² Glassy carbon electrode

برای تهیه این الکتروُد ماده تشکیل دهنده آنرا به وسیله یک برنامه گرمایش کنترل شده از یک رزین پلیمری (فنول فرمالدهید) در اتمسفر بی‌اثر تهیه می‌کنند. فرآیند کربنی کردن در محدوده دمایی ۱۲۰۰-۳۰۰ درجه سانتی‌گراد به منظور اطمینان از حذف اکسیژن، نیتروژن و هیدروژن به آهستگی صورت می‌گیرد. ساختمان الکتروُد کربن شیشه‌ای، گرافیت با اتصال عرضی می‌باشد. استفاده از الکتروُد کربن شیشه‌ای به خاطر برخی خواص زیر صورت می‌گیرد:

۱- خواص مکانیکی و الکتریکی خوب

۲- گستره پتانسیل وسیع

۳- مقاومت شیمیایی (مقاومت در برابر حلال)

۴- خلل و فرج کم (نفوذپذیری کم نسبت به مایعات و گازها)

۵- تکرارپذیری نسبتاً خوب [۵۴، ۵۵].

الکتروُد های کربن شیشه‌ای امروز به وفور در دستگاه‌های الکتروشیمیایی به منظور تجزیه و سنتز مواد الکتروفعال به کار می‌روند [۵۴].

الکتروُد کربن شیشه‌ای معمولاً نیاز به پیش‌تیمار^۱ دارد. این پیش‌تیمار معمولاً از طریق صیقل دادن (تا حد رسیدن به ظاهر آینه‌ای) با استفاده از ذرات آلومینا (زیر ۰/۰۵ میکرومتر) به دست می‌آید. الکتروُد باید قبل از استفاده با آب بدون یون شسته و خشک شود.

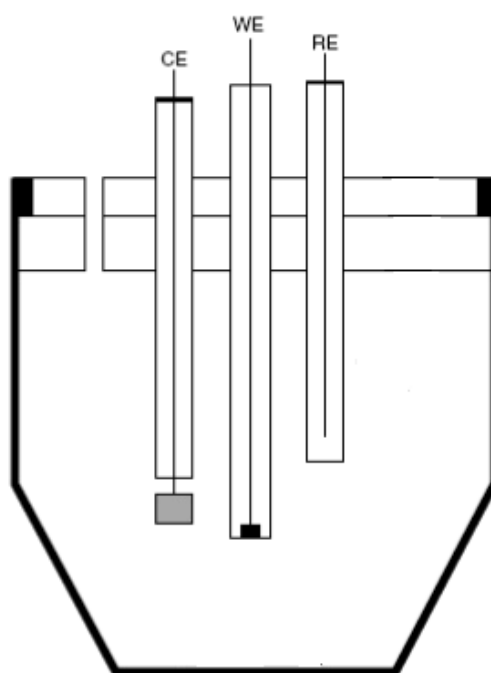
¹ Pretreatment

فصل سوم: بخش تجربی

۳-۱- دستگاه‌های مورد استفاده

تمام مطالعات ولتامتری با استفاده از دستگاه الکتروشیمی مترأهم^۱ مدل ۷۴۶ انجام شد. همچنین از pH متر مترأهم مدل ۷۸۰ مجهز به یک الکتروود مرکب شیشه-کالومل و ترازوی تجزیه‌ای سارتریوس^۲ مدل A200S استفاده شد.

در تمام اندازه‌گیری‌های ولتامتری، از سیستم سه الکتروودی شامل الکتروود کربن شیشه‌ای با سطح متوسط 0.314 cm^2 سانتی‌متر مربع به عنوان الکتروود کار، الکتروود کمکی پلاتین و الکتروود مرجع 3.0 M Ag/AgCl مولار استفاده شد. در تمامی مراحل این پروژه پیش از ثبت هر ولتاموگرام، الکتروود کربن شیشه‌ای روی پارچه آغشته به دوغاب ذرات آلومینا با قطر کمتر از $0.5 \text{ }\mu\text{m}$ میکرومتر تا رسیدن به سطح آینه‌ای صیقل داده شد. در شکل (۳-۱) شمای کلی یک سل سه الکتروودی نشان داده شده است.



شکل (۳-۱) شمای کلی یک سل آزمایش برای سیستم سه الکتروودی. RE: الکتروود مرجع، WE: الکتروود کار، CE: الکتروود کمکی

¹ Metrohm

² Sartorius analytic

۳-۲- مواد و محلول‌های مورد نیاز

نام مواد، فرمول شیمیایی و شرکت تهیه کننده آن‌ها در جدول (۳-۱) آورده شده است. برای تهیه تمامی محلول‌ها از آب دو بار تقطیر استفاده شد.

محلول مادر $10^{-2} \times 1/0$ مولار کاپتوپریل از حل کردن 0.218 گرم کاپتوپریل در آب مقطر در یک بالن حجمی ده میلی‌لیتری به طور روزانه تهیه می‌گردید و در یخچال نگهداری می‌شد.

محلول مادر $10^{-2} \times 1/0$ مولار گلوکاتایون از حل کردن 0.154 گرم گلوکاتایون در آب مقطر در یک بالن حجمی ده میلی‌لیتری به طور روزانه تهیه می‌گردید و در یخچال نگهداری می‌شد.

محلول مادر $10^{-3} \times 3/5$ مولار 1.4 -دی‌آمینو بنزن^۱ از حل کردن 0.189 گرم 1.4 -دی‌آمینو بنزن در آب مقطر در یک بالن حجمی پنجاه میلی‌لیتری تهیه گردید.

محلول‌های بافر عمومی^۲ از طریق انحلال بوریک اسید، فسفریک اسید و استیک اسید، هر کدام با غلظت 0.04 مولار و محلول سود 0.20 مولار در آب مقطر تهیه گردید [۵۶].

برای تهیه محلول بافر عمومی با $pH=5/0$ ، ابتدا محلول 0.04 مولار نسبت به بوریک اسید، فسفریک اسید و استیک اسید در یک بالن حجمی 100 میلی‌لیتری تهیه گردید و سپس 35 میلی‌لیتر محلول سود 0.2 مولار به آن اضافه شد [۵۶].

محلول‌های بافر فسفاتی^۳ از طریق انحلال دی‌سدیم هیدروفسفات و پتاسیم‌دی‌هیدروفسفات، هر کدام با غلظت 0.067 مولار در آب مقطر تهیه گردید [۵۶].

محلول بافر استاتی^۴ از مخلوط کردن محلول استیک اسید 0.1 مولار و محلول سدیم استات با غلظت 0.1 مولار تهیه گردید [۵۶].

لازم به ذکر است که پس از بهینه‌سازی pH، محلول‌های کاپتوپریل، 1.4 -دی‌آمینو بنزن و گلوکاتایون در بافر با pH بهینه تهیه گردیدند.

¹ 1,4-Diaminobenzene

² Universal buffer

³ Phosphate buffer

⁴ Acetate buffer

جدول (۳-۱) مواد شیمیایی به گرفته شده در این کار تحقیقاتی.

نام ماده شیمیایی	فرمول شیمیایی	شرکت سازنده
کاپتوپریل	$C_9H_{15}NO_3S$	اکراس ^۱
گلوکاتینون	$C_{10}H_{17}N_3O_6S$	مرک ^۲
۴،۱-دی آمینو بنزن	$C_6H_8N_2$	مرک
بوریک اسید	H_3BO_3	مرک
فسفریک اسید	H_3PO_4	مرک
استیک اسید	CH_3COOH	مرک
دی سدیم هیدروفسفات	Na_2HPO_4	مرک
پتاسیم دی هیدروفسفات	KH_2PO_4	مرک
پودر آلومینا با قطر ۰/۰۵ میکرومتر	Al_2O_3	مرک
سدیم استات	CH_3COONa	مرک
سدیم هیدروکسید	$NaOH$	مرک

۳-۳- اندازه گیری کاپتوپریل

در این کار تحقیقاتی، کاپتوپریل با استفاده از روش ولتامتری چرخه ای در سطح الکترود کربن شیشه ای عریان به عنوان الکترود کار اندازه گیری شده است.

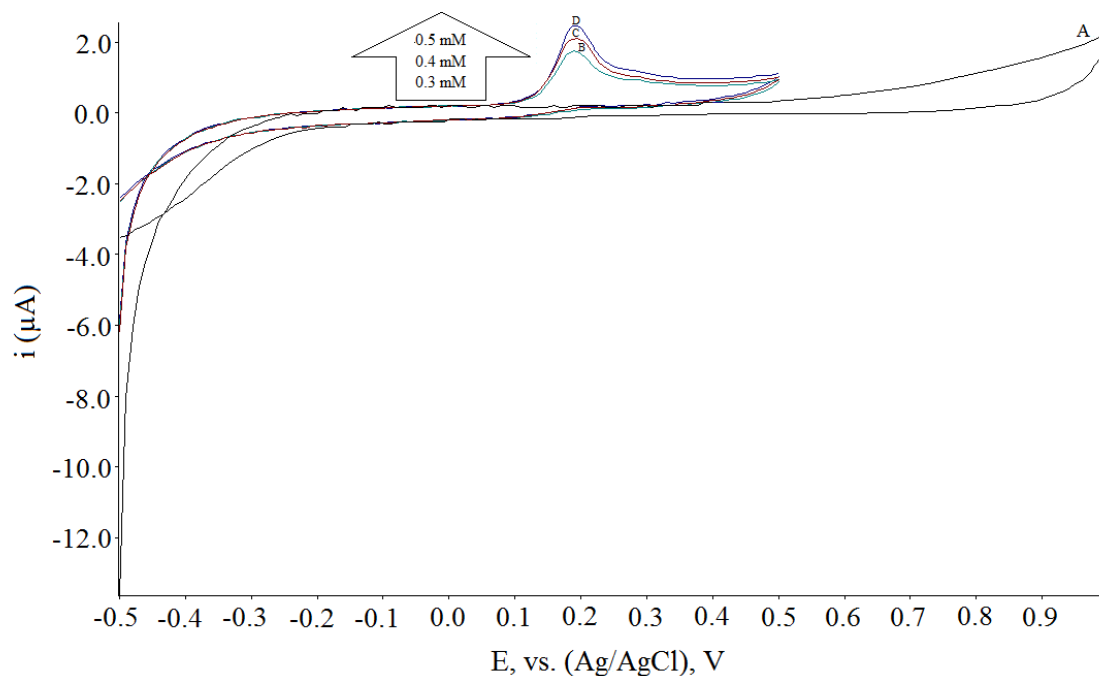
۳-۳-۱- بررسی رفتار الکتروشیمیایی کاپتوپریل به روش ولتامتری چرخه ای

همان گونه که در شکل (۳-۲) مشاهده می شود، محلول بافر عمومی با $pH=5/0$ هیچ پیک اکسایش و یا کاهش را در محدوده روبش پتانسیل بین $-0/5$ تا $1/0$ ولت و برعکس نسبت به الکترود مرجع نقره/نقره کلرید نشان نمی دهد، اما در حضور کاپتوپریل، یک پیک اکسایش کاملاً مشخص و برگشت ناپذیر در پتانسیل $0/190$ ولت نسبت به الکترود مرجع نقره/نقره کلرید مشاهده می شود. با توجه به شکل (۳-۳)، عدم مشاهده پیک برگشت در سرعت های زیاد روبش تأییدی بر برگشت ناپذیر

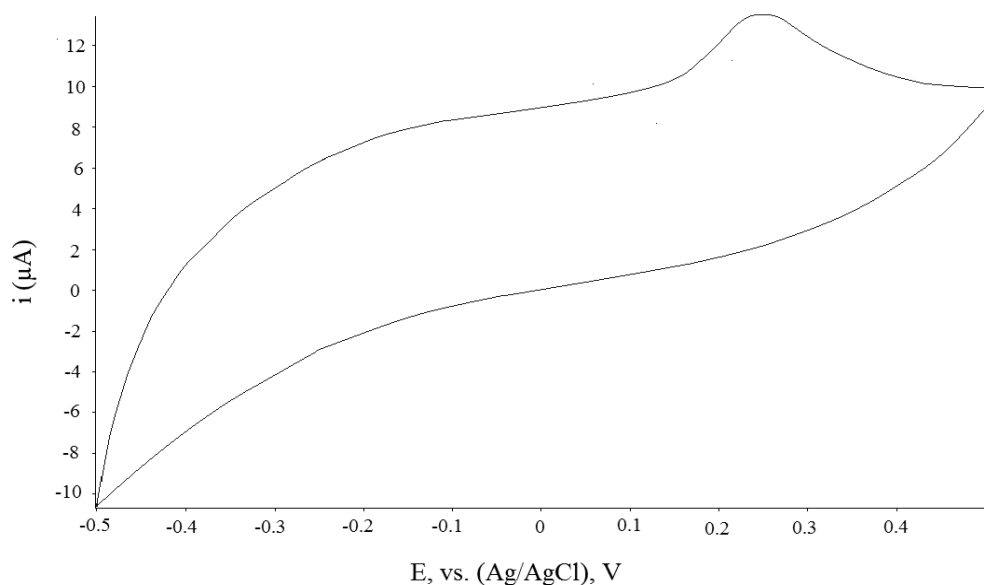
¹ Across

² Merck

بودن این واکنش است. با توجه به اینکه شدت جریان این پیک با افزایش غلظت کاپتوپریل افزایش می‌یابد از این پیک آندی (در ۰/۱۹۰ ولت) برای اندازه‌گیری مستقیم کاپتوپریل استفاده شد.



شکل (۲-۳) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای مربوط به بافر تنها (A)، و غلظت‌های $۳/۰ \times ۱۰^{-۴}$ ، $۴/۰ \times ۱۰^{-۴}$ و $۵/۰ \times ۱۰^{-۴}$ مولار کاپتوپریل در محلول بافر (B، C و D). شرایط: بافر عمومی با $pH=۵/۰$ ، سرعت روبش پتانسیل ۱۰۰ mVs^{-1} .



شکل (۳-۳) ولتاموگرام چرخه‌ای مربوط به محلول $۰/۵ \text{ mM}$ کاپتوپریل در بافر عمومی با $pH=۵/۰$ ، سرعت روبش پتانسیل ۱۰۰ mVs^{-1} .

۳-۳-۲- بررسی پارامترها و بهینه سازی متغیرهای مؤثر بر پیک آندی

کاپتوپریل

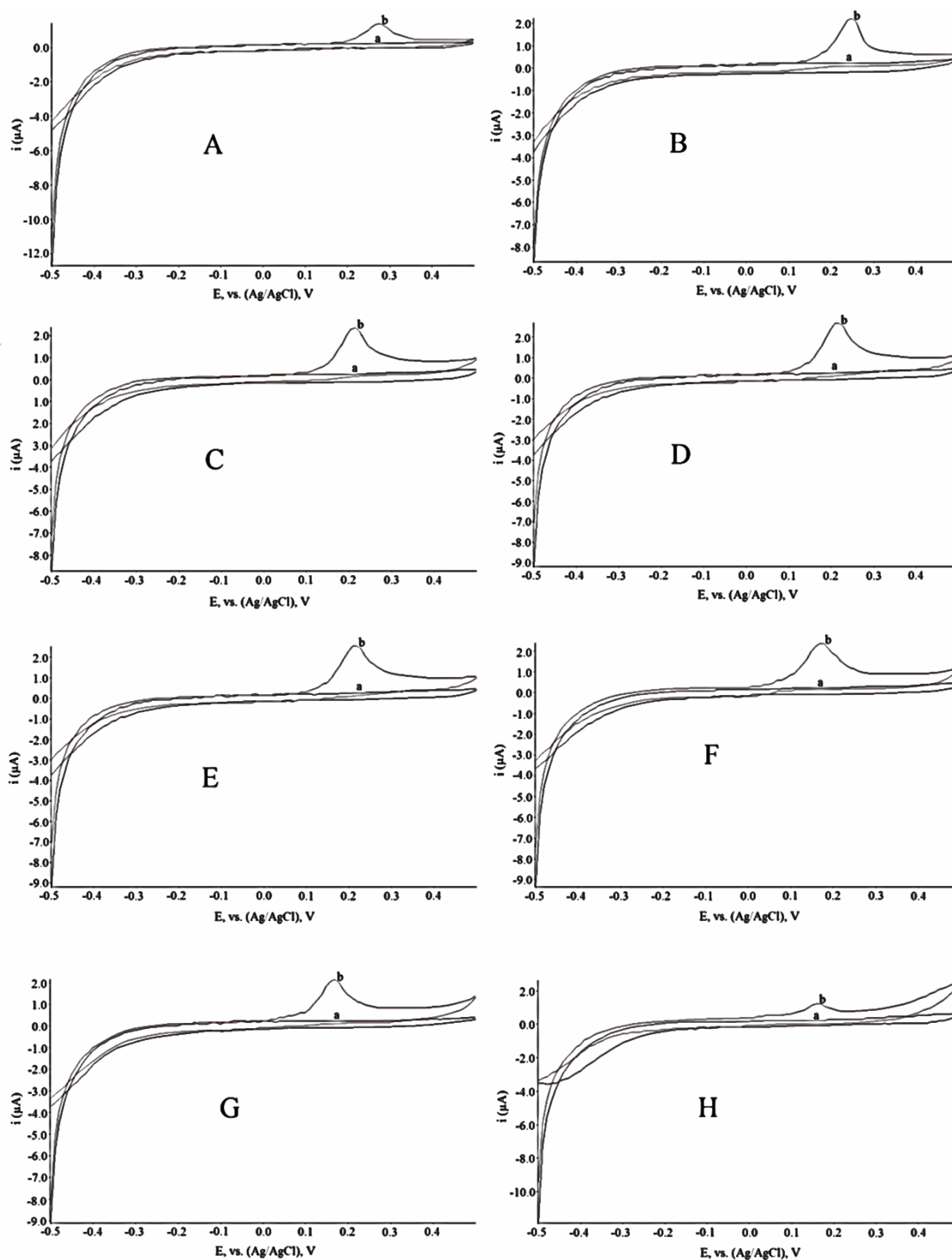
به منظور فراهم نمودن بهترین حساسیت و در نتیجه بهترین حد تشخیص متغیرهای مؤثر بر بزرگی جریان پیک آندی کاپتوپریل مورد بررسی قرار گرفتند. در بررسی متغیرهای مؤثر، از روش بهینه‌سازی یک متغیر در یک زمان^۱ استفاده گردید. در این روش همه متغیرها ثابت در نظر گرفته می‌شدند و فقط پارامتری که باید بهینه شود تغییر داده می‌شد. پارامترهایی که در این پروژه مورد بررسی قرار گرفتند عبارت‌اند از: pH، نوع بافر، حجم بافر و سرعت روبش پتانسیل.

۳-۳-۲-۱- بررسی اثر pH

به منظور بررسی اثر pH، شدت جریان مربوط به پیک اکسایش کاپتوپریل در ۰/۱۹ ولت نسبت به الکترود مرجع Ag/AgCl در بافر عمومی با غلظت ۰/۰۴ مولار در محدوده pH ۲/۰ تا ۸/۰ مورد بررسی قرار گرفت. برای ثبت ولتاموگرام شاهد ۹/۰ میلی‌لیتر از محلول بافر با pH مورد نظر به علاوه ۱/۰ میلی‌لیتر آب مقطر را به سل دستگاه منتقل کرده و سپس روبش پتانسیل در محدوده ۰/۵۰- تا ۰/۵۰ ولت و بالعکس، با سرعت ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که یک میلی‌لیتر از محلول کاپتوپریل با غلظت ۵/۰ میلی‌مولار و ۹/۰ میلی‌لیتر از محلول بافر به سل دستگاه منتقل شد، سپس ولتاموگرام چرخه ای آن در ۰/۵۰- تا ۰/۵۰ ولت و بالعکس، با سرعت ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه ثبت شد. ولتاموگرام‌های چرخه‌ای مربوط به شاهد و نمونه در pHهای مختلف در شکل (۳-۴) آورده شده است. اختلاف بین جریان آندی نمونه و شاهد ($\Delta i = i_s - i_{bk}$) در پتانسیلی که حداکثر جریان آندی در آن مشاهده گردید (۰/۱۹۰ ولت) به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در نظر گرفته شد. نتایج حاصل از بررسی اثر pH بر جریان آندی کاپتوپریل

¹ One-at-a-time

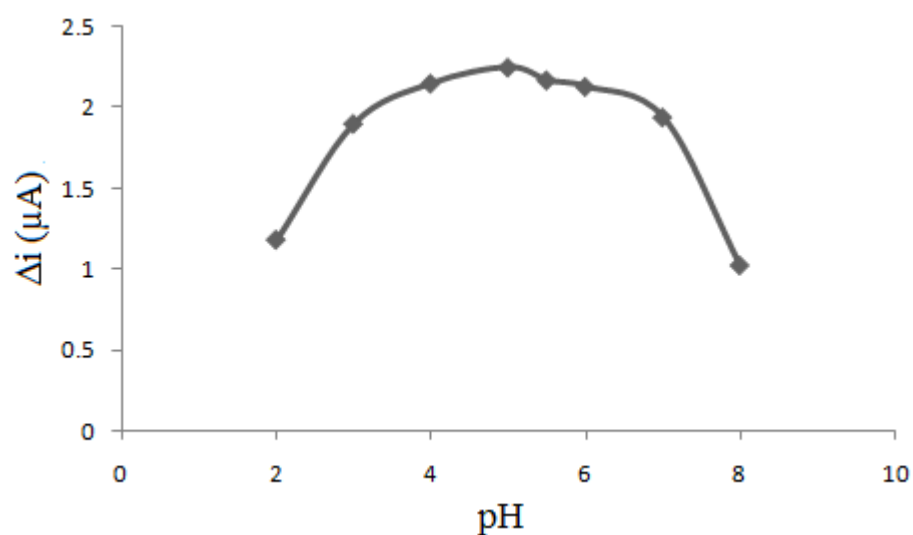
در جدول (۲-۳) و شکل (۵-۳) نشان داده شده است. همانطور که نتایج نشان می‌دهد، بیشترین سیگنال تجزیه‌ای در $\text{pH}=5/0$ به دست آمد. لذا $\text{pH}=5/0$ به عنوان pH بهینه برگزیده شد. شکل (۳-۶) تغییرات پتانسیل پیک اکسایش کاپتوپریل نسبت به الکترود مرجع Ag/AgCl را بر حسب pH نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که با افزایش pH ، پتانسیل اکسایش کاپتوپریل کاهش می‌یابد. در pH های خیلی اسیدی گروه RSH پروتون‌دار می‌شود و در نتیجه کاپتوپریل به سختی اکسید می‌شود. در pH های بالا غلظت آنیون‌هایی مثل گونه‌های فسفات و هیدروکسید افزایش می‌یابد و ممکن است این آنیون‌ها با کاپتوپریل برای اکسایش روی سطح الکترود شیشه‌ای رقابت کنند، در نتیجه جریان پیک آندی کاپتوپریل در pH های بالا کاهش می‌یابد. پس از بهینه سازی pH تمامی محلول‌های کاپتوپریل در بافر با $\text{pH}=5/0$ تهیه و به حجم رسانده شد.



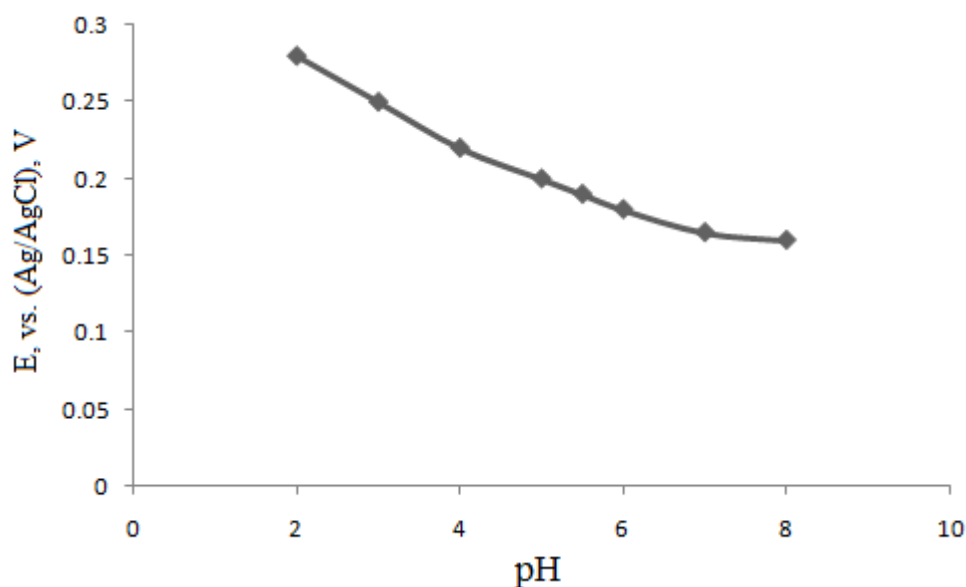
شکل (۳-۴) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای مربوط به محلول شاهد (a) و محلول کاپتوپیریل ۰/۵ میلی‌مولار (b). A, B, C, D, E, F, G, H به ترتیب متناظر با pH های ۲/۰، ۳/۰، ۴/۰، ۵/۰، ۵/۵، ۶/۰، ۷/۰، ۸/۰ هستند. شرایط: بافر عمومی، الکتروود مرجع ۳/۰ M، Ag/AgCl، سرعت روبش پتانسیل 100 mVs^{-1} .

جدول (۲-۳) بررسی اثر pH بر جریان آندی و پتانسیل اکسایش کاپتوپریل در غلظت ۰/۵۰ میلی مولار.

$(\Delta i_p) (\mu A)$	$(i_p)_s (\mu A)$	$(i_p)_{bk} (\mu A)$	$E(V)$	pH
۱/۱۶	۱/۳۸	۰/۲۲	۰/۲۸۰	۲/۰
۱/۸۹	۲/۱۰	۰/۲۱	۰/۲۵۰	۳/۰
۲/۱۴	۲/۳۵	۰/۲۱	۰/۲۲۰	۴/۰
۲/۲۵	۲/۴۵	۰/۲۰	۰/۱۹۰	۵/۰
۲/۱۷	۲/۳۷	۰/۲۰	۰/۱۸۵	۵/۵
۲/۱۶	۲/۳۳	۰/۱۷	۰/۱۸	۶/۰
۱/۹۷	۲/۱۴	۰/۱۷	۰/۱۶۵	۷/۰
۱/۰۶	۱/۲۲	۰/۱۶	۰/۱۶	۸/۰



شکل (۵-۳) بررسی اثر pH بر پاسخ تجزیه‌ای در غلظت ۰/۵ میلی مولار کاپتوپریل و سرعت روبش 100 mVs^{-1} در سطح الکترود کربن شیشه‌ای.



شکل (۳-۶) بررسی تأثیر pH بر پتانسیل پیک اکسایش کاپتوپریل. بافر عمومی، الکتروود مرجع Ag/AgCl، سه مولار، الکتروود کار کربن شیشه‌ای، الکتروود کمکی پلاتین، سرعت روبش پتانسیل 100 mVs^{-1} .

۳-۲-۲- بررسی تأثیر نوع بافر بر پیک اکسایش کاپتوپریل

شدت جریان مربوط به پیک اکسایش کاپتوپریل در سه بافر استاتی، عمومی و فسفاتی با $\text{pH}=5/0$ مورد مقایسه قرار گرفت. برای ثبت ولتاموگرام شاهد $10/0$ میلی‌لیتر از محلول بافر مورد نظر را به سل دستگاه منتقل کرده و سپس روبش پتانسیل در محدوده $-0/50$ تا $0/50$ ولت (نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl) و بالعکس، با سرعت 100 میلی‌ولت بر ثانیه انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که $1/0$ میلی‌لیتر از محلول کاپتوپریل با غلظت $5/0$ میلی‌مولار و $9/0$ میلی‌لیتر از محلول بافر مورد نظر به سل دستگاه منتقل شد، سپس ولتاموگرام چرخه‌ای آن در $-0/50$ تا $0/50$ ولت و بالعکس، با سرعت 100 میلی‌ولت بر ثانیه ثبت شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۳) آورده شده است.

جدول (۳-۳) بررسی تأثیر نوع بافر بر بزرگی جریان پیک آندی کاپتوپریل

نوع بافر (pH=۵/۰)	E(V)	(i _p) _{bk} (μA)	(i _p) _s (μA)	(Δi _p) (μA)
بافر استاتی	۰/۱۹	۰/۱۶	۱/۵۶	۱/۴۰
بافر فسفاتی	۰/۱۷	۰/۱۸	۱/۳۶	۱/۱۸
بافر عمومی	۰/۲۰	۰/۲۰	۲/۴۵	۲/۲۲

با توجه به نتایج به دست آمده حداکثر پاسخ تجزیه‌ای در بافر عمومی با pH=۵/۰ مشاهده شد بنا بر این بافر عمومی به عنوان بافر مناسب برای اندازه‌گیری کاپتوپریل انتخاب شد.

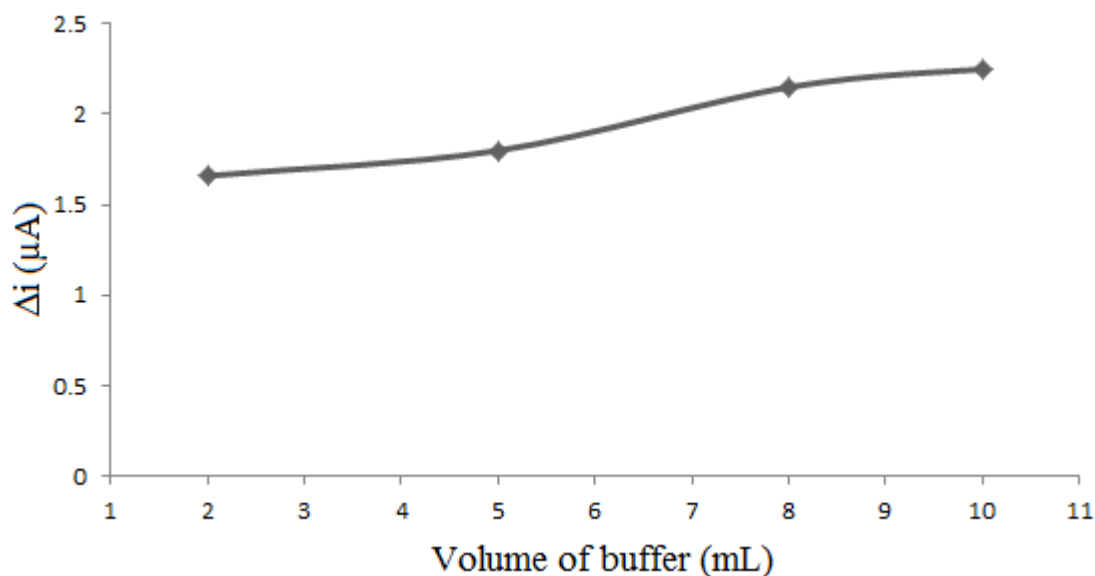
۳-۳-۲-۳- بررسی اثر حجم بافر

اثر حجم بافر عمومی با pH=۵/۰ بر بزرگی پیک اکسایش کاپتوپریل مورد بررسی قرار گرفت. برای ثبت ولتاموگرام شاهد حجم‌های مختلفی از محلول بافر و آب مقطر (به حجم کلی ۱۰ میلی‌لیتر) را به سل دستگاه منتقل کرده و سپس روبش پتانسیل در محدوده ۰/۵۰- تا ۰/۵۰ ولت (نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl) و بالعکس، با سرعت ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که حجم‌های مختلفی از محلول بافر و آب مقطر به علاوه یک میلی‌لیتر از محلول کاپتوپریل با غلظت ۵/۰ میلی‌مولار تهیه شده در بافر با pH=۵/۰ (به حجم کلی ۱۰ میلی‌لیتر) به سل دستگاه منتقل شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۴) آمده است.

جدول (۳-۴) بررسی اثر حجم بافر بر بزرگی پیک اکسایش کاپتوپریل

حجم بافر عمومی (mL)	حجم آب مقطر (mL)	(i _p) _{bk} (μA)	(i _p) _s (μA)	Δi _p (μA)
۲/۰	۸/۰	۰/۱۷	۱/۸۳	۱/۶۶
۵/۰	۵/۰	۰/۱۷	۱/۹۷	۱/۸۰
۸/۰	۲/۰	۰/۱۹	۲/۳۴	۲/۱۵
۱۰/۰	۰/۰	۰/۲۱	۲/۴۶	۲/۲۵

با افزایش حجم بافر هدایت محلول زیاد شده و مقاومت درونی کاهش می‌یابد و در نتیجه جریان افزایش می‌یابد. با توجه به نتایج به دست آمده با افزایش حجم بافر تا ۸/۰ میلی لیتر هم شدت جریان شاهد و هم نمونه افزایش می‌یابند، اما سیگنال تجزیه‌ای تا حجم ۸/۰ میلی لیتر افزایش یافته و بعد از آن تقریباً ثابت مانده است، لذا در ادامه کار علاوه بر تهیه محلول کاپتوپریل در بافر عمومی، نمونه نیز با محلول بافر عمومی با pH=۵/۰ به حجم رسانده شد (حجم ۱۰ میلی لیتر از بافر عمومی با pH=۵/۰).



شکل (۷-۳) بررسی اثر حجم بافر بر بزرگی پیک اکسایش کاپتوپریل. شرایط: بافر عمومی با pH=۵/۰، الکترود مرجع $Ag/AgCl$ ۰.۳M، الکترود کار کربن شیشه‌ای، سرعت روبش پتانسیل 100 mVs^{-1} .

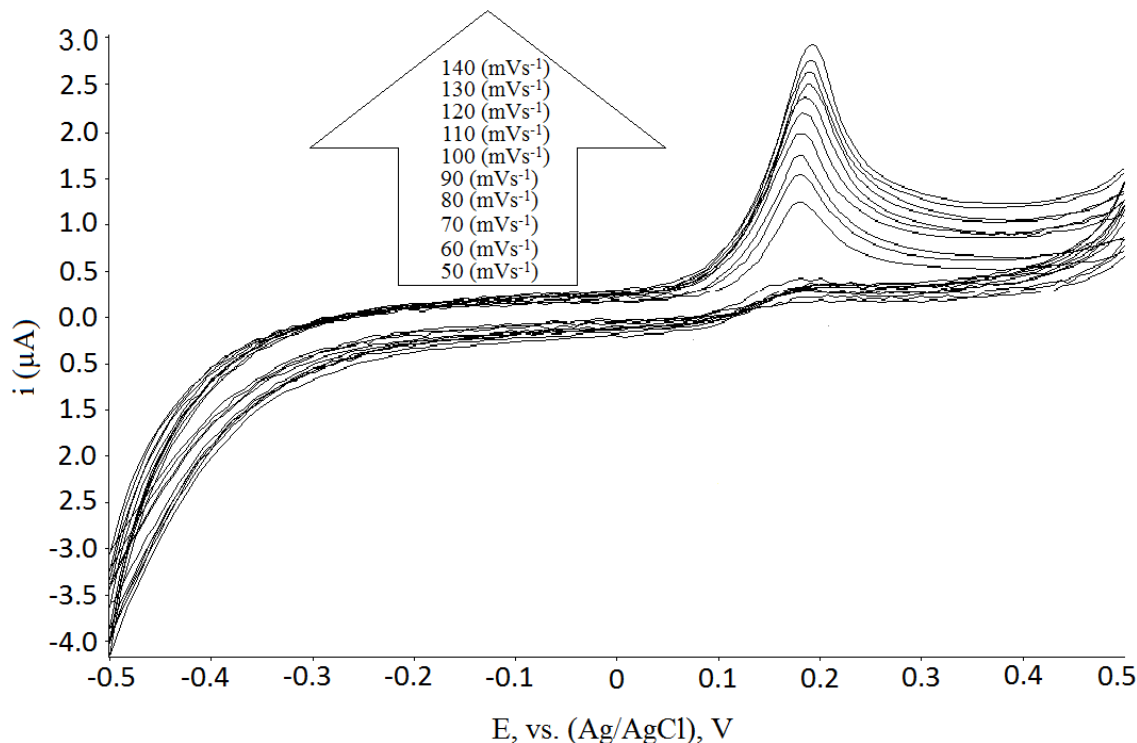
۳-۲-۴- بررسی تأثیر سرعت روبش پتانسیل

به منظور بررسی تأثیر سرعت روبش پتانسیل، ولتاموگرام‌های مربوط به نمونه در حضور غلظت ۰/۵۰ میلی مولار از کاپتوپریل در شرایط بهینه pH با سرعت‌های روبش مختلف در محدوده پتانسیل ۰/۵۰- تا ۰/۵۰ ولت ثبت گردید. ولتاموگرام‌های چرخه‌ای ثبت شده در سرعت‌های روبش مختلف در شکل (۸-۳) آورده شده است. نتایج به دست آمده در جدول (۵-۳) نشان داده شده است. تغییرات

جریان آندی مربوط به اکسایش کاپتوپریل با $v^{1/2}$ در شکل (۳-۹) نشان داده شده است. خطی بودن

این رابطه با $R^2 = 0.995$ ، نشان‌دهنده پدیده نفوذ در رفتار اکسایشی کاپتوپریل است [۱۶].

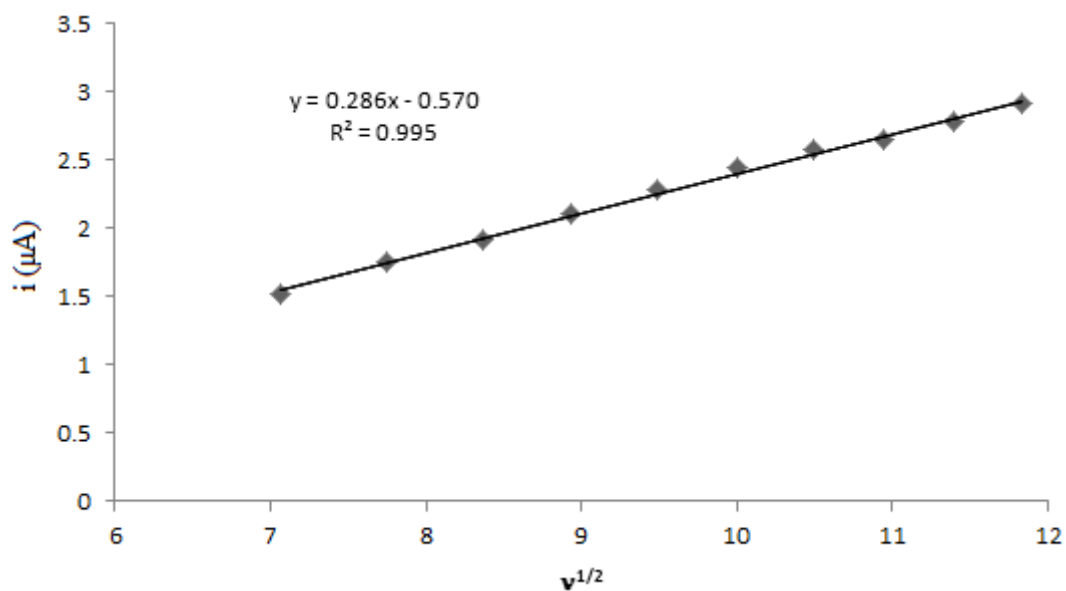
سرعت‌های روبش مورد استفاده در آزمایش‌های متداول از چند میلی‌ولت بر ثانیه تا چندصد میلی‌ولت بر ثانیه است. سرعت‌های بالای چند هزار میلی‌ولت بر ثانیه نیز به کار رفته است اما چنین مقادیر زیادی مشکلات تجربی فراوانی به وجود می‌آورد (برای مثال باردار شدن لایه دوگانه و آثار افت اهمی ممکن است بسیار زیاد باشد) که عموماً کاربرد آن‌ها را محدود می‌کند [۵۲]. همانطور که در جدول (۳-۵) مشاهده می‌شود با افزایش سرعت روبش پتانسیل پاسخ تجزیه‌ای و همچنین جریان شاهد افزایش می‌یابد. میزان افزایش شدت جریان شاهد بیش از افزایش شدت جریان نمونه است. با توجه به این روند و اینکه شدت جریان شاهد عامل محدود کننده در پایین آوردن حد تشخیص است لذا، سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه برای بررسی‌های بعدی انتخاب شد.



شکل (۳-۸) ولتاموگرام‌های مربوط به غلظت ۰/۵۰ میلی‌مولار کاپتوپریل در محلول بافر در سرعت‌های اسکن ۵۰ تا 140 mVs^{-1} . بافر عمومی با $\text{pH}=5.0$ ، الکتروود مرجع Ag/AgCl ۳/۰، مولار، الکتروود کار کربن شیشه‌ای.

جدول (۳-۵) بررسی تأثیر سرعت روبش پتانسیل بر تغییرات شدت جریان اکسایشی کاپتوپریل با غلظت ۰/۵mM

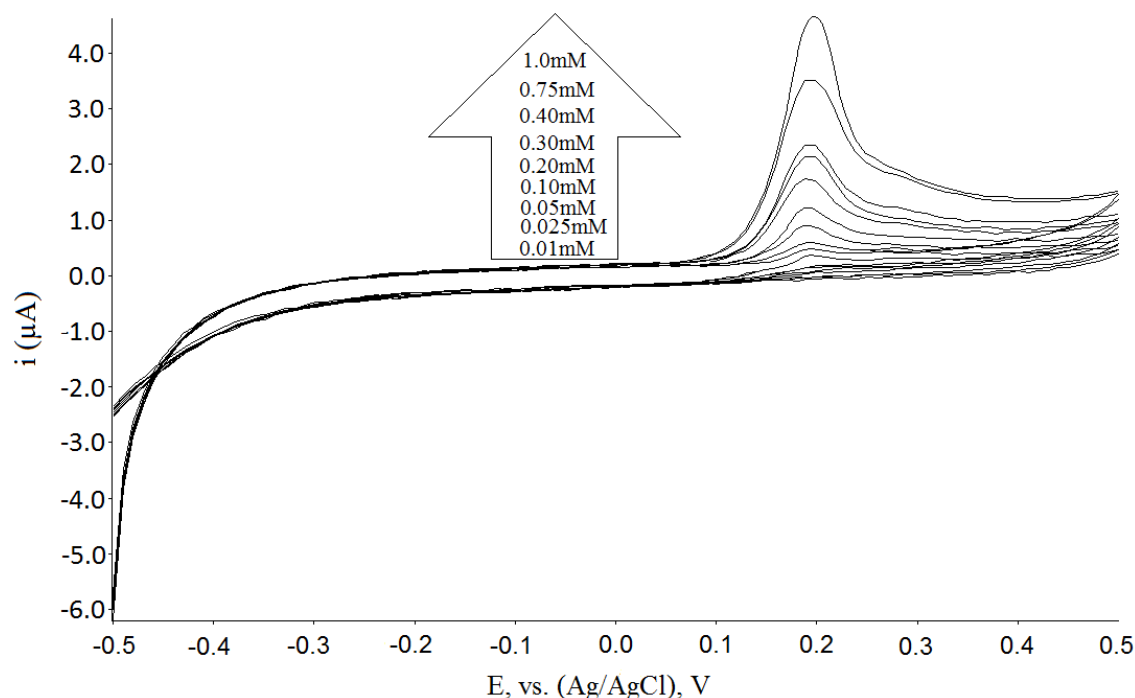
$(\Delta i_p) (\mu A)$	$(i_p)_{bk}(\mu A)$	$(i_p)_s(\mu A)$	$v^{1/2}$	$v(mVs^{-1})$	$E(V)$
۱/۳۸	۰/۱۴	۱/۵۲	۷/۰۷	۵۰	۰/۱۸۱
۱/۶۲	۰/۱۴	۱/۷۶	۷/۷۵	۶۰	۰/۱۸۳
۱/۷۶	۰/۱۵	۱/۹۱	۸/۳۷	۷۰	۰/۱۸۴
۱/۹۵	۰/۱۶	۲/۱۱	۸/۹۴	۸۰	۰/۱۸۶
۲/۱۰	۰/۱۹	۲/۲۹	۹/۴۹	۹۰	۰/۱۸۸
۲/۲۵	۰/۲۰	۲/۴۵	۱۰/۰	۱۰۰	۰/۱۹۰
۲/۳۵	۰/۲۳	۲/۵۸	۱۰/۴۹	۱۱۰	۰/۱۹۲
۲/۴۰	۰/۲۵	۲/۶۵	۱۰/۹۵	۱۲۰	۰/۱۹۳
۲/۵۲	۰/۲۶	۲/۷۸	۱۱/۴۰	۱۳۰	۰/۱۹۴
۲/۶۳	۰/۲۸	۲/۹۱	۱۱/۸۳	۱۴۰	۰/۱۹۵



شکل (۳-۹) نمودار تغییرات شدت جریان پیک آندی مربوط به کاپتوپریل با جذر سرعت اسکن. شرایط: بافر عمومی با pH=۵/۰، غلظت ۰/۵ میلی مولار کاپتوپریل، الکترود مرجع Ag/AgCl، ۳/۰ مولار و الکتروود کار کربن شیشه‌ای.

۳-۳-۳- منحنی کالیبراسیون

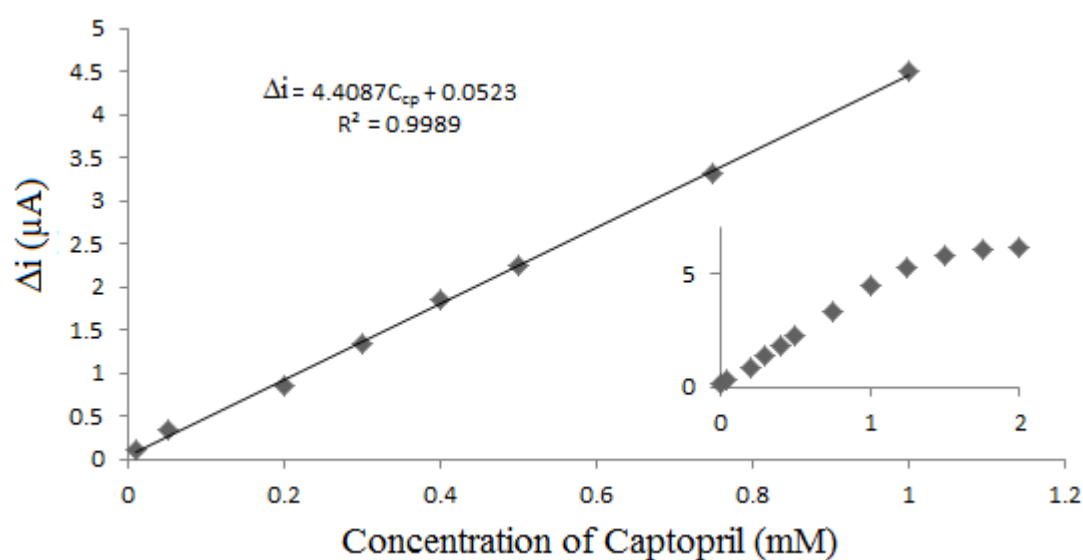
پس از دستیابی به شرایط مناسب برای اندازه‌گیری کاپتوپریل، منحنی کالیبراسیون رسم گردید. برای ثبت ولتاموگرام شاهد ۱۰/۰ میلی‌لیتر از محلول بافر با pH مورد نظر را به سل دستگاه منتقل کرده و سپس روبش پتانسیل در محدوده ۰/۵۰- تا ۰/۵۰ ولت و بالعکس، با سرعت ۱۰۰ میلی-ولت بر ثانیه انجام شد. ثبت ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه با شاهد ولی در حضور مقادیر غلظتی مختلف کاپتوپریل انجام شد. ولتاموگرام‌های حاصل در شکل (۳-۱۰) و نتایج مربوط، در جدول (۳-۶) و منحنی کالیبراسیون در شکل (۳-۱۱) نشان داده شده است. معادله منحنی کالیبراسیون به صورت $\Delta i = 4/369 C_{cp} + 0/08$ است. در این معادله Δi اختلاف شدت جریان نمونه و شاهد بر حسب میکروآمپر و C_{cp} غلظت کاپتوپریل بر حسب میلی‌مولار است. نتایج نشان می‌دهد که در گستره غلظتی ۰/۰۱ تا ۱/۰ میلی‌مولار کاپتوپریل رابطه خطی با سیگنال تجزیه‌ای دارد.



شکل (۳-۱۰) ولتاموگرام‌های مربوط به گستره غلظتی ۰/۰۱ تا ۱/۰ میلی‌مولار کاپتوپریل در شرایط بافر عمومی با pH=۵/۰، الکتروود مرجع ۳/۰M، Ag/AgCl، الکتروود کار کربن شیشه‌ای و سرعت اسکن 100 mVs^{-1} .

جدول (۳-۶) اطلاعات مربوط به منحنی کالبراسیون در ناحیه غلظتی ۰/۰۱۰ تا ۲/۰ میلی مولار کاپتوپریل در سرعت روبش 100 mVs^{-1} .

$\Delta i_p(\mu\text{A})$	$(i_p)_{bk}(\mu\text{A})$	$(i_p)_s(\mu\text{A})$	C/mM
۰/۱۰	۰/۱۹	۰/۲۹	۰/۰۱
۰/۲۱	۰/۲۰	۰/۴۱	۰/۰۲۵
۰/۳۵	۰/۲۱	۰/۵۶	۰/۰۵
۰/۶۰	۰/۲۰	۰/۸۰	۰/۱۰
۰/۸۵	۰/۲۱	۱/۰۶	۰/۲۰
۱/۳۵	۰/۲۱	۱/۵۶	۰/۳۰
۱/۸۵	۰/۱۹	۲/۰۴	۰/۴۰
۲/۲۵	۰/۲۱	۲/۴۶	۰/۵۰
۳/۳۲	۰/۲۲	۳/۵۴	۰/۷۵
۴/۵۰	۰/۲۱	۴/۷۱	۱/۰
۵/۲۲	۰/۲۰	۵/۴۲	۱/۲۵
۵/۸۲	۰/۲۰	۶/۰۲	۱/۵۰
۶/۰۸	۰/۱۸	۶/۲۶	۱/۷۵
۶/۱۸	۰/۱۹	۶/۳۷	۲/۰



شکل (۳-۱۱) منحنی کالبراسیون در گستره غلظتی ۰/۰۱ تا ۱/۰ میلی مولار کاپتوپریل در شرایط بافر عمومی با $\text{pH}=5/0$ ، الکترود مرجع $3/0 \text{ M Ag/AgCl}$ ، الکترود کار کربن شیشه‌ای و سرعت روبش 100 mVs^{-1} .

۳-۳-۴- دقت، صحت و حد تشخیص

تکرارپذیری این روش در سه غلظت متفاوت از کاپتوپریل (۰/۵۰، ۰/۸۰ و ۰/۱۰۰ میلی‌مولار) مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور ۶ اندازه‌گیری تکراری در محدوده پتانسیل ۰/۵۰- تا ۰/۵۰ ولت و سرعت اسکن ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه در هر غلظت انجام شد. پس از ثبت ولتاموگرام‌ها و اندازه‌گیری جریان‌های آن‌دی، با استفاده از منحنی کالبراسیون غلظت کاپتوپریل برای هر جریان اندازه‌گیری شد. سپس انحراف استاندارد و انحراف استاندارد نسبی غلظت به کمک معادلات (۳-۱) و (۳-۲) محاسبه گردید.

$$S_C = \left[\frac{\sum (C_i - \bar{C})^2}{n-1} \right]^{1/2} \quad \text{معادله (۳-۱)}$$

$$\%RSD = \frac{S_C}{\bar{C}} \times 100 \quad \text{معادله (۳-۲)}$$

در این روابط S_C ، مقدار انحراف استاندارد غلظت، RSD انحراف استاندارد نسبی غلظت، C_i غلظت اندازه‌گیری شده در هر مرحله، $\bar{C}$ غلظت میانگین و n تعداد دفعات تکرار اندازه‌گیری می‌باشد. آزمون t در سطح اطمینان ۹۵٪ نشان داد که میانگین غلظت اندازه‌گیری شده با مقدار افزوده شده تفاوت معنی دار ندارند، لذا روش دارای صحت خوبی می‌باشد. مقادیر انحراف استانداردهای نسبی به دست آمده نیز دقت خوب روش را نشان می‌دهد.

جدول (۳-۷) بررسی دقت و صحت روش در شرایط بهینه.

غلظت کاپتوپریل (mM)	غلظت اندازه‌گیری شده (mM)	$\bar{C} \pm CL^*$ n=6	%RSD n=6	درصد خطای نسبی
۰/۸۰۰	۰/۸۴۷، ۰/۸۰۱، ۰/۷۵۵ ۰/۸۲۴، ۰/۷۷۸، ۰/۸۰۱	۰/۸۰±۰/۰۰۳	۳/۹۹	۰/۱۲
۰/۵۰۰	۰/۴۸۸، ۰/۴۹۷، ۰/۵۰۱ ۰/۴۹۲، ۰/۴۹۲، ۰/۵۰۶	۰/۴۹۶±۰/۰۰۷	۱/۳۵	-۰/۸۰
۰/۸۰۰	۰/۸۰۸، ۰/۸۰۳، ۰/۸۰۱ ۰/۷۹۵، ۰/۸۰۶، ۰/۸۱۳	۰/۸۰۶±۰/۰۰۷	۰/۷۶۹	۰/۷۵

* حدود اطمینان در سطح اطمینان ۹۵٪

برای تعیین حد تشخیص این روش از معادله (۳-۳) استفاده شد. در این رابطه S_{bk} انحراف استاندارد سیگنال شاهد و m شیب منحنی کالیبراسیون است. برای به دست آوردن انحراف استاندارد سیگنال شاهد در شرایط بهینه، ۱۰ اندازه‌گیری تکراری با سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه در گستره پتانسیل ۰/۵۰- تا ۰/۵۰ ولت نسبت به الکتروود مرجع $Ag/AgCl$ ، ۳/۰ مولار بر روی محلول شاهد انجام شد. پس از اندازه‌گیری شدت جریان شاهد بر روی هر ولتاموگرام، انحراف استاندارد سیگنال شاهد، ۰/۰۰۹۷ میکروآمپر به دست آمد که با توجه به شیب منحنی کالیبراسیون ($m=4/369 \mu A.mM^{-1}$) حد تشخیص ۶/۷ میکرومولار با استفاده از معادله (۳-۳) به دست آمد.

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

۳-۳-۵- بررسی اثر مزاحمت‌ها

پس از بهینه‌سازی شرایط و رسم منحنی کالیبراسیون و تعیین حد تشخیص، به منظور تعیین میزان گزینش‌پذیری روش، تأثیر حضور گونه‌های مختلف بر شدت جریان پیک آندی کاپتوپریل مورد بررسی قرار گرفت. نحوه عمل به این صورت بود که در حضور کاپتوپریل با غلظت ۰/۰۵ میلی‌مولار، ۶ مرتبه جریان پیک آندی مربوط اکسایش کاپتوپریل در سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه و گستره پتانسیل ۰/۵۰- تا ۰/۵۰ ولت اندازه‌گیری شد و میانگین و انحراف استاندارد متناظر با این ۶ اندازه‌گیری محاسبه گردید. سپس محلول‌هایی با همان شرایط قبلی ولی در حضور گونه‌های بالقوه مزاحم مورد بررسی قرار گرفت. گونه‌هایی که در حضور آن‌ها جریان آندی در محدوده $\bar{I} \pm 3S$ قرار گرفت به عنوان گونه غیر مزاحم در نظر گرفته شدند و در غیر این صورت مزاحم بوده و آنقدر غلظت آن‌ها کاهش داده شد تا جریان آندی در گستره مورد نظر قرار گرفته و حد غلظتی مزاحمت آن‌ها مشخص شود. در رابطه بالا $\bar{I}$ میانگین ۶ اندازه‌گیری تکراری در غلظت ۰/۰۵ میلی‌مولار کاپتوپریل و S انحراف استاندارد ۶ اندازه‌گیری تکراری شدت جریان برای کاپتوپریل خالص می‌باشد. نتایج این بررسی در

جدول (۸-۳) نشان داده شده است. نتایج جدول (۸-۳) نشان می‌دهد که اکثر گونه‌ها تا ۱۰۰ برابر مولی نسبت به کاپتوپریل مزاحمت ندارند و روش گزینش‌پذیری خوبی دارد.

جدول (۸-۳) بررسی مزاحمت برخی گونه‌ها در اندازه‌گیری کاپتوپریل در غلظت ۰/۰۵ میلی‌مولار کاپتوپریل

حد مجاز غلظت گونه به غلظت کاپتوپریل (M/M)	گونه‌های مورد بررسی
۱۰۰۰	NO_3^- , Cl^- , SO_4^{2-} , ClO_4^- , F^- , K^+ ClO_3^- , NH_4^+ , Ca^{2+} اوره
۱۰۰	Mg^{2+} , Ni^{2+} ، گلوکز، Br^-
۱۰	گلوکاتیون، سیترات
<۱	I^- , Fe^{3+} , Fe^{2+}

با توجه به شباهت ساختاری گلوکاتیون و کاپتوپریل، عدم مزاحمت گلوکاتیون تا ۱۰ برابر غلظت مولی جالب توجه است. گونه‌هایی مانند Fe^{2+} ، Fe^{3+} و I^- به علت داشتن پیک اکسایشی و کاهش با شدت زیاد در گستره ۰/۰ تا ۰/۵ ولت، ایجاد مزاحمت می‌کنند.

۳-۶- آنالیز نمونه‌های حقیقی

به منظور بررسی توانایی روش در آنالیز نمونه‌های حقیقی، ادرار به عنوان نمونه انسانی و قرص ۲۵ میلی‌گرمی کاپتوپریل به عنوان نمونه دارویی با روش پیشنهادی و تکنیک افزایش استاندارد تجزیه شدند.

برای آنالیز نمونه ادرار به روش افزایش استاندارد به این ترتیب عمل شد که ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه ادرار به بالن حجمی ۱۰ میلی‌لیتری منتقل شد و با محلول بافر عمومی با $\text{pH}=5/0$ به حجم رسانده شد، سپس محتویات بالن به سل الکتروشیمیایی منتقل شده و ولتاموگرام نمونه در گستره پتانسیل ۰/۵۰- تا ۰/۵۰ ولت نسبت به الکترود مرجع Ag/AgCl ، ۳/۰ مولار با سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه ثبت گردید. آزمایش‌هایی مشابه آنچه گفته شد تکرار شد با این تفاوت که علاوه بر ۲۰۰ میکرولیتر نمونه ادرار حجم‌های مشخصی از محلول کاپتوپریل $10^{-2} \times 1/0$ مولار نیز به بالن ۱۰

میلی لیتری افزوده شد و سپس با محلول بافر عمومی با $\text{pH}=5/0$ به حجم رسانده شد و ولتاموگرام چرخه‌ای در همان شرایط ثبت گردید و به این ترتیب درصد‌های بازیابی به دست آمد. نتایج حاصل از این اندازه‌گیری در جدول (۳-۹) نشان داده شده است. نتایج درصد‌های بازیابی به دست آمده نشان می‌دهد که روش پیشنهادی می‌تواند برای تعیین مقدار کاپتوپریل در نمونه‌های ادرار با صحت خوبی به کار برده شود.

برای آنالیز نمونه دارویی قرص ۲۵ میلی گرمی کاپتوپریل (تهیه شده از شرکت داروسازی تهران دارو) به صورت زیر عمل شد: ابتدا ۵ عدد قرص کاپتوپریل به طور دقیق و صحیح توزین شدند. سپس این ۵ عدد قرص کاپتوپریل ۲۵ میلی گرمی در هاون کاملاً پودر شد و سپس یک پنجم وزن ۵ عدد قرص یعنی مقدار $0/1700$ گرم از آن را به بالن ۵۰ میلی لیتری منتقل شد و در محلول بافر عمومی با $\text{pH}=5/0$ حل و روی کاغذ صافی صاف گردید و سپس با محلول بافر عمومی با $\text{pH}=5/0$ به حجم رسانده شد. برای تعیین مقدار کاپتوپریل در نمونه قرص به روش افزایش استاندارد عمل شد. $1/0$ میلی لیتر از محلول تهیه شده از قرص کاپتوپریل به بالن حجمی 10 میلی لیتری منتقل شد و با محلول بافر عمومی با $\text{pH}=5/0$ به حجم رسانده شد. سپس نمونه داخل بالن به سل الکتروشیمیایی منتقل شده و ولتاموگرام نمونه در گستره پتانسیل $-0/50$ تا $0/50$ ولت نسبت به الکترومد مرجع $3/0, \text{Ag/AgCl}$ مولار با سرعت روبش 100 میلی ولت بر ثانیه ثبت گردید. آزمایش‌هایی مشابه آنچه گفته شد تکرار شد با این تفاوت که علاوه بر $1/0$ میلی لیتر محلول تهیه شده از قرص کاپتوپریل، حجم‌های مشخصی از محلول کاپتوپریل استاندارد با غلظت $10^{-2} \times 1/0$ مولار نیز به بالن 10 میلی لیتری افزوده شد و با محلول بافر عمومی با $\text{pH}=5/0$ به حجم رسانده شد و ولتاموگرام چرخه‌ای در همان شرایط قبلی ثبت گردید. با استفاده از اطلاعات به دست آمده از این آزمایش‌ها، مقدار کاپتوپریل در قرص ۲۵ میلی گرمی و همچنین درصد بازیابی محاسبه شد. نتایج حاصل از این اندازه‌گیری‌ها در جدول (۳-۱۰) نشان می‌دهد که روش پیشنهادی می‌تواند برای تعیین مقدار کاپتوپریل در نمونه‌های دارویی با صحت خوبی به کار برده شود.

جدول (۳-۹) نتایج حاصل از آنالیز نمونه ادرار، سطح اطمینان ۹۵٪

درصد بازیابی	RSD% n=5	کاپتوپریل اندازه گیری شده (mM)	کاپتوپریل اضافه شده (mM)
-	-	حد تشخیص <	-
۹۹/۰۰	۰/۹۸	$۰/۱۹۸ \pm ۰/۰۰۲^*$	۰/۲۰۰
۱۰۱/۳۳	۲/۳۲	$۰/۳۰۴ \pm ۰/۰۰۹$	۰/۳۰۰
۱۰۰/۷۵	۲/۴۲	$۰/۴۰۳ \pm ۰/۰۱۲$	۰/۴۰۰

*حدود اطمینان در سطح اطمینان ۹۵٪

جدول (۳-۱۰) نتایج حاصل از آنالیز قرص کاپتوپریل ۲۵ میلی گرمی. سطح اطمینان ۹۵٪

کاپتوپریل اندازه گیری شده (mg) به ازای هر قرص	درصد بازیابی	RSD% n=5	کاپتوپریل اندازه گیری شده (mM)	کاپتوپریل اضافه شده (mM)
$۲۶/۶۲ \pm ۱/۶۵$	-	۳/۲۷	$۰/۲۴۵ \pm ۰/۰۰۸^*$	-
-	۱۰۲/۵۰	۲/۰۲	$۰/۴۵۰ \pm ۰/۰۰۵$	۰/۲۰۰
-	۹۹/۶۷	۲/۴۴	$۰/۵۴۴ \pm ۰/۰۰۸$	۰/۳۰۰
-	۹۹/۵۰	۱/۹۸	$۰/۶۴ \pm ۰/۰۱$	۰/۴۰۰

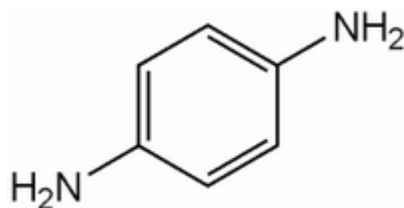
*حدود اطمینان در سطح اطمینان ۹۵٪

۳-۴- اندازه گیری گلوکاتینون

۳-۴-۱- انتخاب سیستم برای اندازه گیری گلوکاتینون

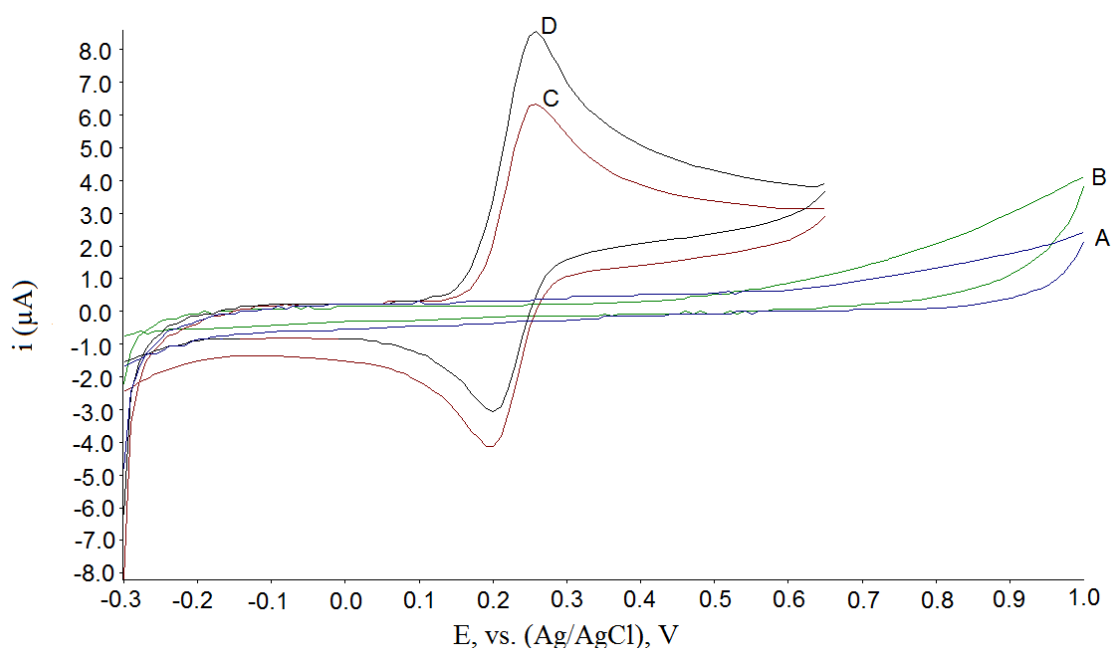
با توجه اینکه گلوکاتینون هیچ پیک اکسایش و یا احیای مشخصی را در گستره وسیعی از پتانسیل روی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای نشان نداد، در این کار تحقیقاتی از ۱-۴ دی‌آمینوبنزن (پارا-فنیلن دی‌آمین^۱) به عنوان اصلاحگر استفاده شد. این ماده به صورت کریستال‌های سفید رنگ وجود دارد. نقطه ذوب این ترکیب ۱۹۲ درجه سانتیگراد است و در ساخت رنگ مو و همچنین فرایند ظهور در عکاسی کاربرد دارد [۵۷]. ساختار این اصلاحگر در شکل (۳-۱۲) نشان داده شده است.

¹ p-Phenylenediamine



شکل (۱۲-۳) ساختار شیمیایی ۱و۴-دی آمینوبنزن

همان گونه که در شکل (۱۳-۳) مشاهده می شود، گلوپاتیون هیچ پیک اکسایش یا کاهش مشخصی را در گستره روبش ۰/۳- تا ۱/۰ ولت نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl، بر روی سطح الکتروود کربن شیشه ای نشان نمی دهد، بنابراین اندازه گیری گلوپاتیون به طور مستقیم از این طریق امکان پذیر نیست. با مشاهده ولتاموگرام های C و D شکل (۱۳-۳) درمی یابیم که در حضور گلوپاتیون، شدت جریان پیک اکسایشی مربوط به ۱و۴-دی آمینوبنزن افزایش می یابد. از این رو از این پیک برای تعیین مقدار گلوپاتیون استفاده شد.



شکل (۱۳-۳) ولتاموگرام های چرخه ای مربوط به (A) بافر فسفات با pH=۶/۰، (B) غلظت $2/5 \times 10^{-4}$ مولار گلوپاتیون در بافر فسفات با pH=۶/۰ در عدم حضور ۱و۴-دی آمینوبنزن، (C) شاهد (غلظت $3/5 \times 10^{-4}$ مولار ۱و۴-دی آمینوبنزن) در بافر فسفات با pH=۶/۰ و (D) غلظت $2/5 \times 10^{-4}$ مولار گلوپاتیون در حضور غلظت $3/5 \times 10^{-4}$ مولار ۱و۴-دی آمینو-بنزن در بافر فسفات با pH=۶/۰. الکتروود مرجع Ag/AgCl ۰/۳M، الکتروود کار کربن شیشه ای، سرعت روبش پتانسیل 100 mVs^{-1} .

۳-۴-۲- بررسی پارامترها و بهینه‌سازی متغیرهای مؤثر در اندازه‌گیری

گلوتاتیون

به منظور فراهم نمودن بهترین حساسیت و در نتیجه بهترین حد تشخیص، متغیرهای مؤثر بر بزرگی پاسخ تجزیه‌ای مورد بررسی قرار گرفتند. در بررسی متغیرهای مؤثر، از روش بهینه‌سازی یک متغیر در یک زمان استفاده گردید. در بهینه‌سازی پارامترها، اختلاف جریان پیک آندی مربوط به ۴،۱-دی‌آمینوبنزن در حضور گلوتاتیون (سیگنال نمونه، i_s) و در عدم حضور گلوتاتیون (سیگنال شاهد، i_{bk}) به عنوان پاسخ تجزیه‌ای در نظر گرفته شد. پارامترهایی که در این پروژه مورد بررسی قرار گرفتند عبارت‌اند از: pH، نوع بافر، حجم بافر، غلظت حد واسط و سرعت روبش پتانسیل.

۳-۴-۲-۱- بررسی اثر pH

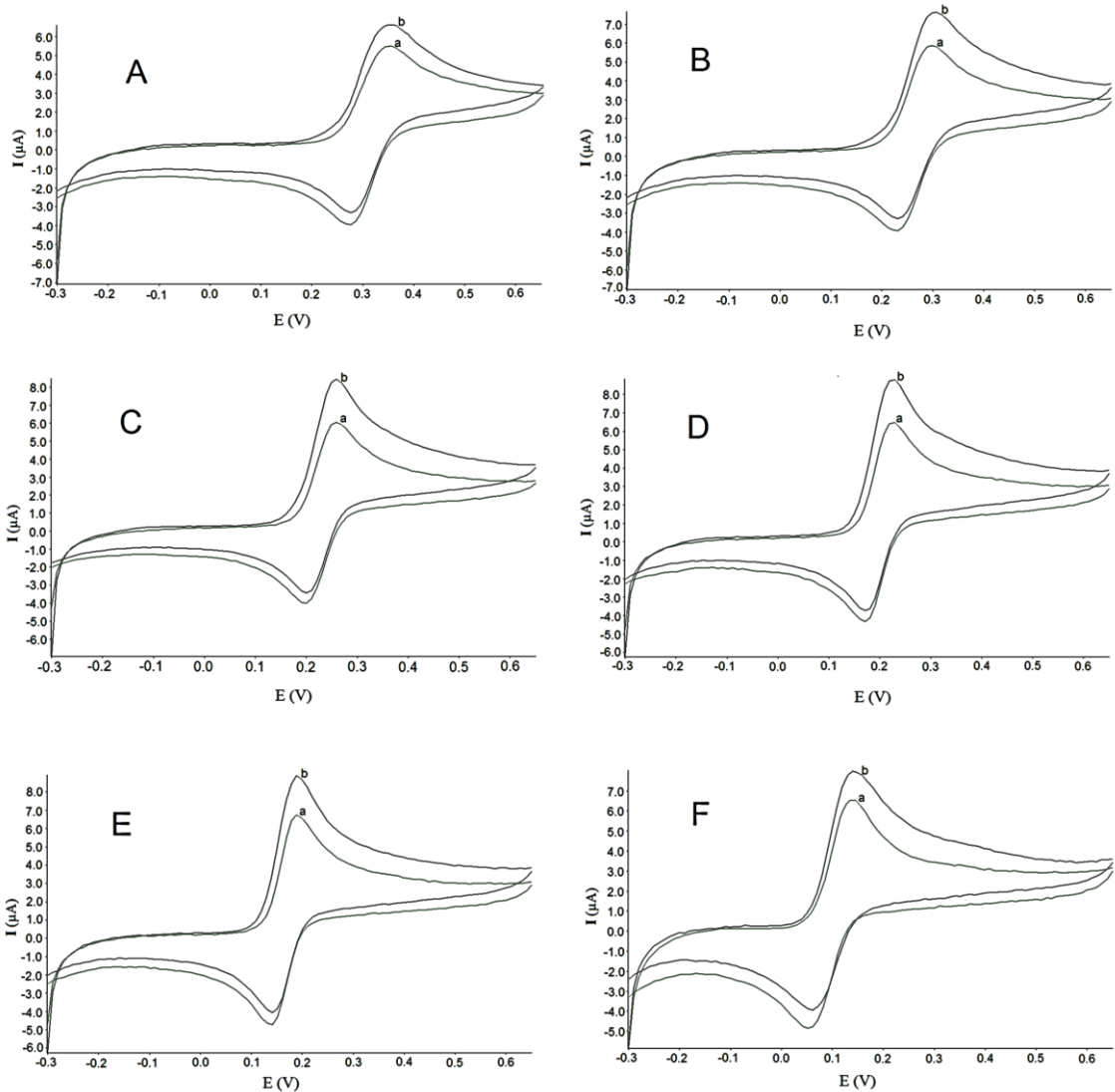
در بررسی‌های اولیه برای بهینه‌سازی pH، مشخص شد که پاسخ تجزیه‌ای در pHهای خیلی اسیدی بسیار پایین است. به منظور بررسی اثر pH، پاسخ تجزیه‌ای در گستره pH ۵/۰ تا ۸/۰ در بافر فسفات اندازه‌گیری شد. برای ثبت ولتاموگرام نمونه شاهد ۸/۰ میلی‌لیتر از محلول بافر فسفات با pH مورد نظر به علاوه ۱/۰ میلی‌لیتر محلول ۳/۵ میلی‌مولار ۴،۱-دی‌آمینوبنزن و ۱/۰ میلی‌لیتر آب مقطر را به سل دستگاه منتقل کرده و سپس روبش پتانسیل در محدوده ۰/۳۰- تا ۰/۶۵ ولت نسبت به الکترود مرجع ۳/۰ M, Ag/AgCl و بالعکس، با سرعت ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه انجام شد.

ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که به جای ۱/۰ میلی‌لیتر آب مقطر، ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول گلوتاتیون با غلظت ۲/۵ میلی‌مولار به سل منتقل شد. شکل (۳-۱۴) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای مربوط به شاهد و غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار گلوتاتیون را در گستره pH ۵/۰ تا ۸/۰ نشان می‌دهد. اختلاف بین جریان آندی نمونه و شاهد ($\Delta i = i_s - i_{bk}$) در پتانسیلی که حداکثر پاسخ تجزیه‌ای در آن مشاهده گردید به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در نظر گرفته

شد. نتایج حاصل از بررسی اثر pH بر بزرگی پاسخ تجزیه‌ای در غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار گلووتاتیون و ۰/۳۵ میلی‌مولار ۱،۴-دی‌آمینوبنزن در جدول (۳-۱۱) و شکل (۳-۱۵) نشان داده شده است.

همان‌گونه که در نتایج مشاهده می‌شود پتانسیل متناظر با جریان اکسایشی ماکسیمم وابسته به pH است. نتایج جدول (۳-۱۱) و شکل (۳-۱۶) نشان می‌دهد که با افزایش pH پتانسیل اکسایش ۱،۴-دی‌آمینوبنزن کاهش می‌یابد.

همانطور که نتایج نشان می‌دهد، بیشترین سیگنال تجزیه‌ای در $\text{pH}=6/0$ به دست آمده است، لذا $\text{pH}=6/0$ به عنوان pH بهینه برگزیده شد. در pHهای خیلی اسیدی گلووتاتیون (RSH) پروتون‌دار می‌شود و در نتیجه تمایل هسته دوستی آن کاهش می‌یابد. در pHهای بالا، ۱،۴-دی‌آمینوبنزن با از دست دادن یون H^+ خاصیت نوکلئوفیلی پیدا می‌کند و در نتیجه ممکن است تشکیل پلیمر دهد. در نتیجه در pHهای بالا پاسخ تجزیه‌ای کاهش می‌یابد. بنابراین بیشترین پاسخ تجزیه‌ای در محلول بافر فسفاتی با $\text{pH}=6/0$ مشاهده گردید.

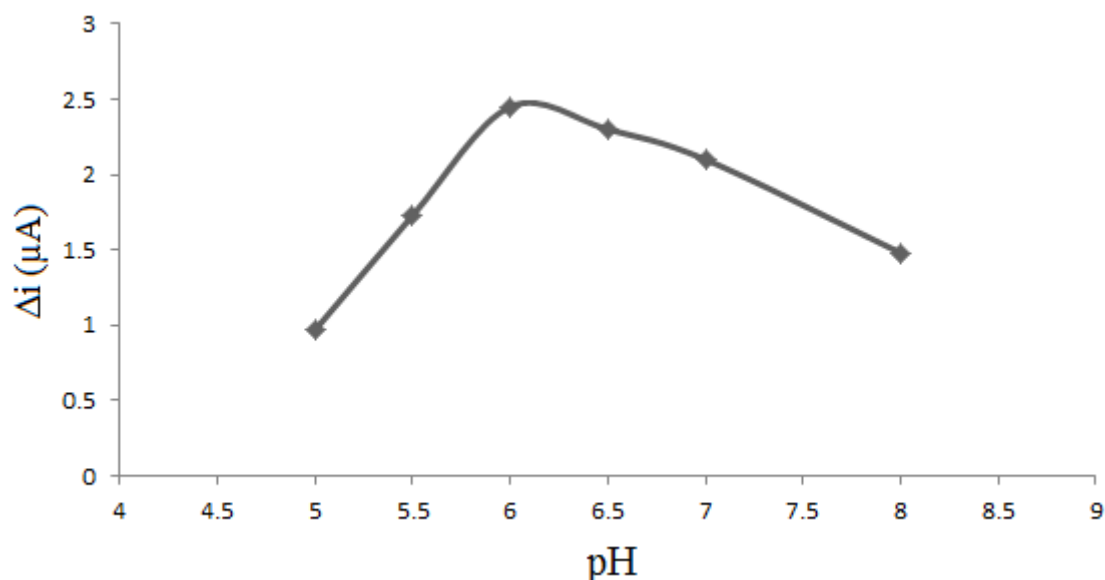


شکل (۳-۱۴) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای مربوط به (a) محلول ۴،۱-دی‌آمینوبنزن ۰/۳۵mM (شاهد) و (b) محلول ۴،۱-دی‌آمینوبنزن ۰/۳۵mM در حضور گلوکاتایون با غلظت ۰/۲۵mM. A، B، C، D، E و F به ترتیب متناظر با pHهای ۵/۰، ۵/۵، ۶/۰، ۶/۵، ۷/۰ و ۸/۰ از هستند. بافر فسفات، الکترود مرجع ۳/۰M، Ag/AgCl، الکترود کار کربن شیشه‌ای، سرعت روبش پتانسیل 100 mVs^{-1} .

جدول (۳-۱۱) بررسی اثر pH بر بزرگی پاسخ تجزیه‌ای (در غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار گلوکاتایون و ۰/۳۵ میلی‌مولار ۴،۱-دی‌آمینوبنزن) و پتانسیل متناظر با جریان اکسایشی ماکسیمم.

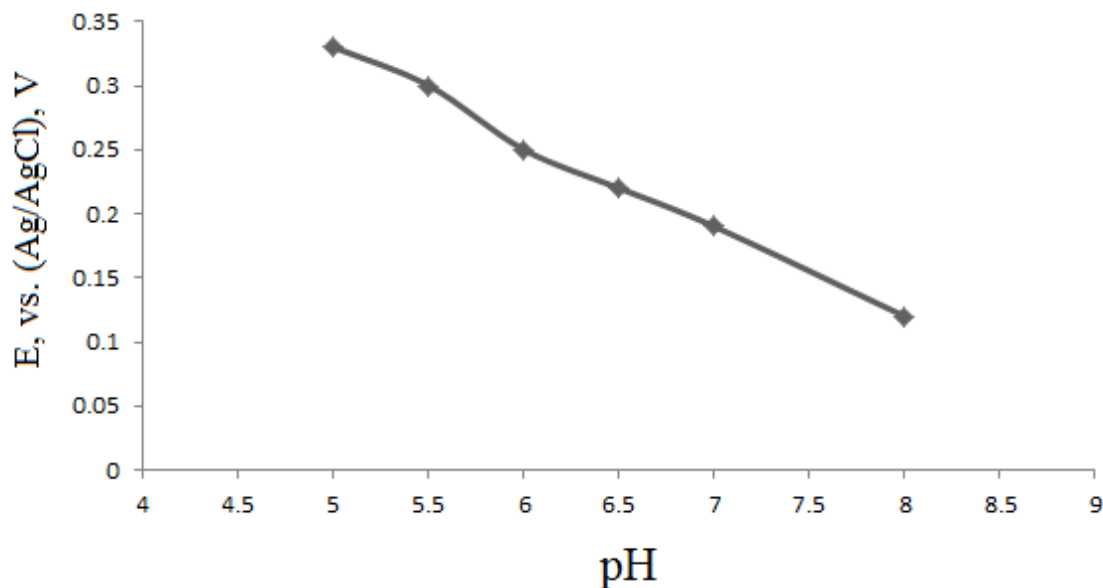
pH	E(V)*	(i _p) _{bk} (μA)	(i _p) _s (μA)	(Δi _p) (μA)
۵/۰	۰/۳۳	۵/۲۷	۶/۳۴	۱/۰۷
۵/۵	۰/۳۰	۵/۹۰	۷/۶۳	۱/۷۳
۶/۰	۰/۲۵	۶/۰۰	۸/۴۲	۲/۴۲
۶/۵	۰/۲۲	۶/۵۰	۸/۸۰	۲/۳۰
۷/۰	۰/۱۹	۶/۷۴	۸/۸۴	۲/۱۰
۸/۰	۰/۱۲	۶/۵۲	۸/۰۰	۱/۴۸

* پتانسیل پیک اکسایشی متناظر با ماکسیمم شدت جریان



شکل (۳-۱۵) بررسی اثر pH بر پاسخ تجزیه‌ای. غلظت ۰/۲۵mM گلوکاتایون و غلظت ۰/۳۵mM ۴،۱-دی‌آمینوبنزن و سرعت اسکن ۱۰۰mVs⁻¹ در سطح الکترود کربن شیشه‌ای.

پس از بهینه سازی pH تمام محلول‌های گلوکاتایون و ۴،۱-دی‌آمینوبنزن در بافر با pH بهینه تهیه و به حجم رسانده شد.



شکل (۳-۱۶) بررسی تأثیر pH بر پتانسیل اکسایش ۴،۱-دی آمینوبنزن با غلظت ۰/۳۵mM. بافر فسفات، الکتروود مرجع Ag/AgCl، ۳/۰ مولار، الکتروود کار کربن شیشه‌ای، سرعت روبش پتانسیل ۱۰۰mVs⁻¹.

۳-۴-۲-۲- بررسی تأثیر نوع بافر

برای انتخاب بهترین بافر، بزرگی پاسخ تجزیه‌ای در سه بافر استاتی، عمومی و فسفاتی با pH=۶/۰ مورد مقایسه قرار گرفت.

برای ثبت ولتاموگرام شاهد ۹/۰ میلی لیتر از محلول بافر مورد نظر به علاوه ۱/۰ میلی لیتر محلول ۳/۵ میلی مولار ۴،۱-دی آمینوبنزن را به سل دستگاه منتقل کرده و سپس روبش پتانسیل در محدوده ۰/۳۰- تا ۰/۶۵ ولت نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl و بالعکس، با سرعت ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد.

ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که ۱/۰ میلی لیتر محلول گلووتاتیون با غلظت ۲/۵ میلی مولار و ۱/۰ میلی لیتر محلول ۳/۵ میلی مولار ۴،۱-دی آمینوبنزن و ۸/۰ میلی لیتر از محلول بافر مورد نظر به سل منتقل شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۲) آورده شده است.

جدول (۳-۱۲) بررسی تأثیر نوع بافر بر بزرگی پاسخ تجزیه‌ای برای اندازه‌گیری گلوکاتایون.

نوع بافر (pH=۶/۰)	E(V)	(i _p) _{bk} (μA)	(i _p) _s (μA)	(Δi _p) (μA)
بافر استاتی	۰/۲۶	۵/۸۵	۷/۸۶	۲/۰۱
بافر فسفاتی	۰/۲۵	۶/۰	۸/۴۵	۲/۴۵
بافر عمومی	۰/۲۸	۶/۲۰	۷/۷۵	۱/۵۵

با توجه به نتایج به دست آمده حداکثر پاسخ تجزیه‌ای در بافر فسفاتی با pH=۶/۰ مشاهده شد، بنا بر این بافر فسفاتی به عنوان بافر مناسب برای اندازه‌گیری گلوکاتایون انتخاب شد.

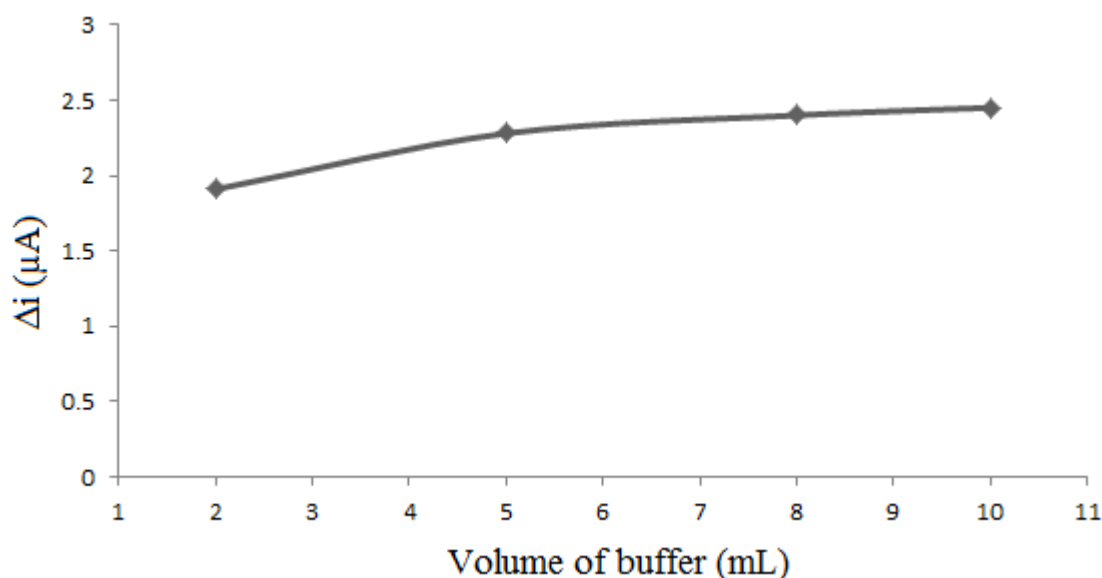
۳-۴-۲-۳- بررسی اثر حجم بافر

اثر حجم بافر فسفاتی با pH=۶/۰ بر بزرگی پاسخ تجزیه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. برای ثبت ولتاموگرام شاهد حجم‌های مختلفی از محلول بافر و آب مقطر به علاوه ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول ۳/۵ میلی‌مولار ۴،۱-دی‌آمینوبنزن (به حجم کلی ۱۰ میلی‌لیتر) را به سل دستگاه منتقل کرده و سپس روبش پتانسیل در محدوده ۰/۳۰- تا ۰/۶۵ ولت نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl، ۳/۰ مولار و بالعکس، با سرعت ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه انجام شد. برای ثبت ولتاموگرام نمونه، حجم‌های مختلفی از محلول بافر فسفاتی با pH=۶/۰ و آب مقطر و ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول ۳/۵ میلی‌مولار ۴،۱-دی‌آمینوبنزن به علاوه ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول گلوکاتایون با غلظت ۲/۵ میلی‌مولار (به حجم کلی ۱۰ میلی‌لیتر) را به سل دستگاه منتقل کرده و سپس روبش پتانسیل در محدوده ۰/۳۰- تا ۰/۶۵ ولت نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl، ۳/۰ مولار و بالعکس، با سرعت ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه انجام شد. لازم به ذکر است که محلول‌های گلوکاتایون و ۴،۱-دی‌آمینوبنزن در بافر فسفاتی با pH=۶/۰ تهیه شدند. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۳) آورده شده است.

جدول (۳-۱۳) بررسی اثر حجم بافر بافر فسفات با $pH=6/0$

$\Delta i_p(\mu A)$	$(i_p)_s(\mu A)$	$(i_p)_{bk}(\mu A)$	حجم آب مقطر (mL)	حجم بافر فسفاتی (mL)
۱/۹۱	۷/۵۹	۵/۶۸	۸/۰	۲/۰
۲/۲۸	۸/۱۳	۵/۸۵	۵/۰	۵/۰
۲/۴۰	۸/۳۱	۵/۹۱	۲/۰	۸/۰
۲/۴۳	۸/۴۳	۶/۰	۰/۰	۱۰/۰

با افزایش حجم بافر هدایت محلول زیاد شده و مقاومت درونی کاهش می‌یابد و در نتیجه جریان افزایش می‌یابد. در این مورد نیز با افزایش حجم بافر تا ۸/۰ میلی‌لیتر هم شدت جریان شاهد و هم نمونه افزایش می‌یابند اما پاسخ تجزیه‌ای تا حجم ۸/۰ میلی‌لیتر افزایش یافته و پس از آن تقریباً ثابت مانده است، لذا در ادامه کار علاوه بر تهیه محلول گلوکاتایون و ۴،۱-دی‌آمینوبنزن در بافر فسفات، نمونه نیز با محلول بافر فسفات با $pH=6/0$ به حجم رسانده شد (حجم ۱۰ میلی‌لیتر از بافر فسفات با $pH=6/0$).



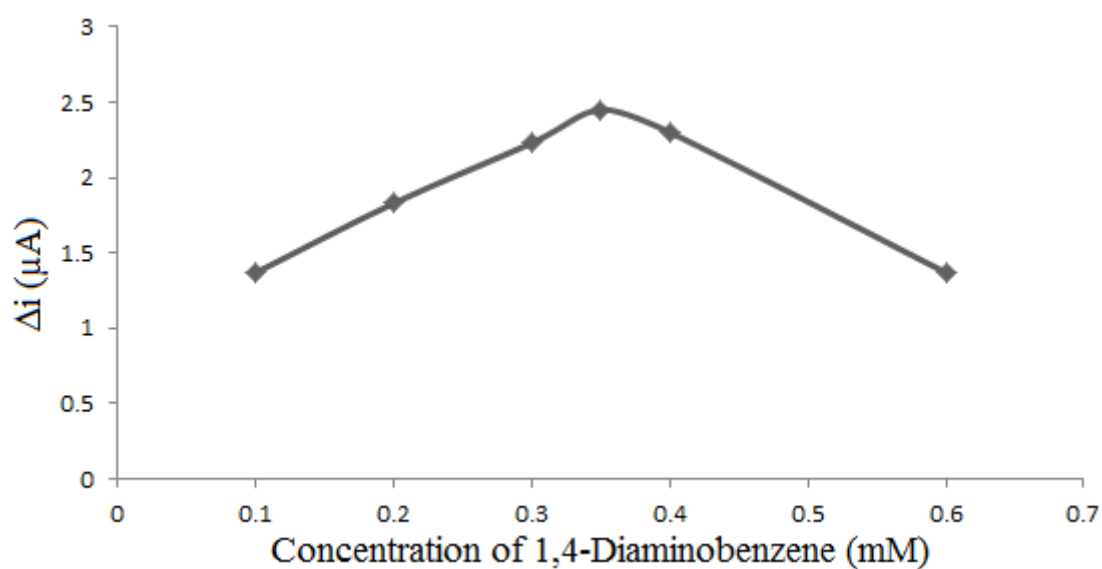
شکل (۳-۱۷) بررسی اثر حجم بافر بافر فسفات با $pH=6/0$. بافر فسفات، الکتروکد مرجع $Ag/AgCl$ ۳/۰ مولار، الکتروکد کار کربن شیشه‌ای، سرعت روبش پتانسیل $100 mVs^{-1}$.

۳-۴-۲-۴- بررسی تأثیر غلظت ۴،۱-دی آمینوبنزن

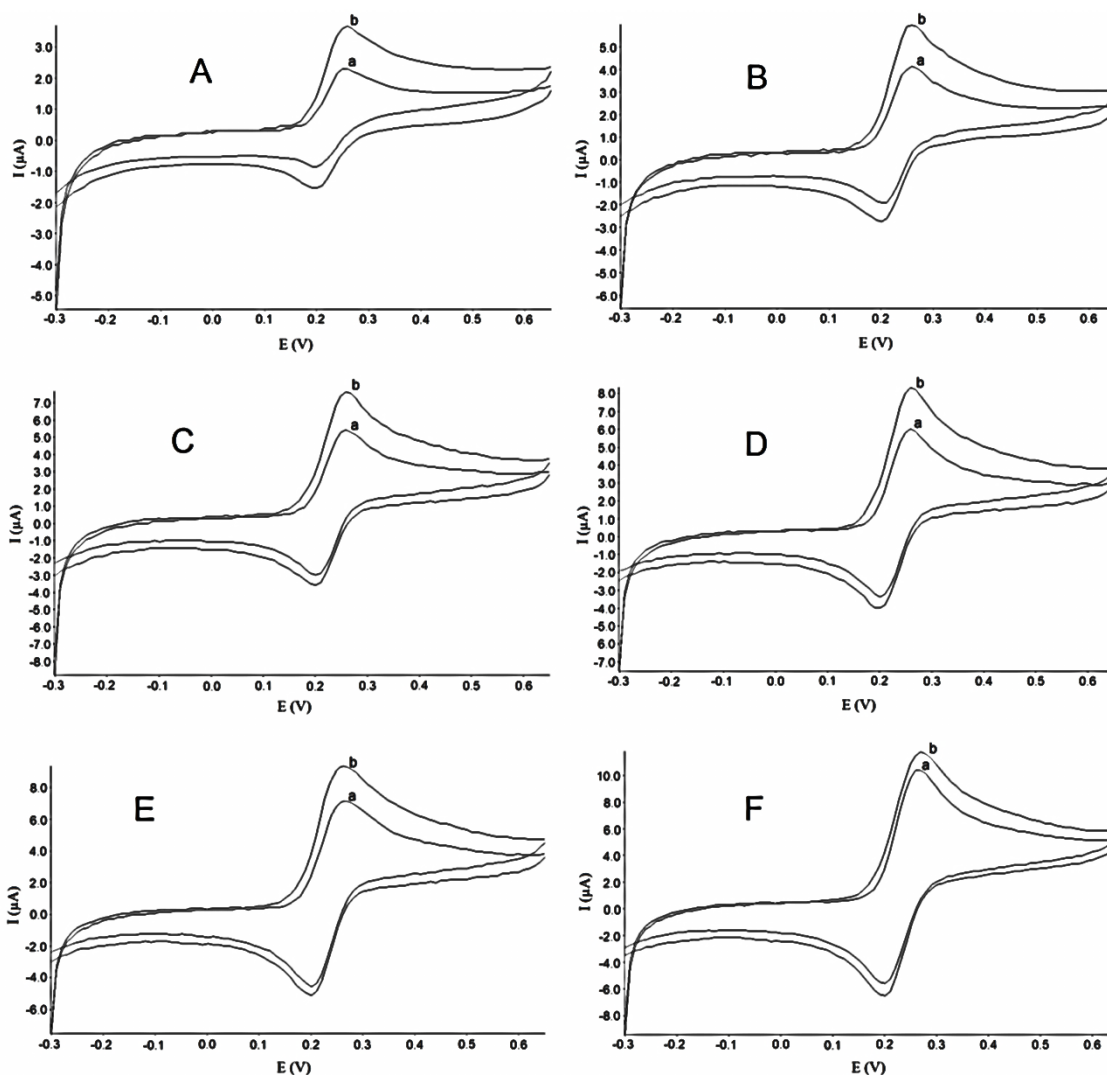
برای بررسی اثر غلظت اصلاحگر بر حساسیت روش، پاسخ تجزیه‌ای در گستره غلظتی ۰/۱۰ تا ۱/۰ میلی‌مولار از ۴،۱-دی آمینوبنزن در حضور گلوکاتینون با غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار در pH بهینه اندازه‌گیری شد. به این منظور محلول مادر $10^{-2} \times 10$ مولار از اصلاحگر در بافر فسفات با pH=۶/۰ تهیه گردید. سپس به منظور ایجاد غلظت‌های مورد نظر از اصلاحگر در محلول شاهد، در هر مرحله مقدار مشخصی از محلول مادر ذکر شده را به بالن ۱۰ میلی‌لیتری منتقل کرده و پس از به حجم رساندن با محلول بافر، به سل دستگاه منتقل شد. محلول نمونه نیز به همین طریق تهیه گردید با این تفاوت که علاوه بر مقدار مشخصی از محلول مادر اصلاحگر، ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول ۲/۵ میلی‌مولار گلوکاتینون نیز به بالن ۱۰ میلی‌لیتری منتقل شد. برای ثبت ولتاموگرام شاهد و نمونه، روبش پتانسیل در گستره ۰/۳- تا ۰/۶۵ ولت با سرعت ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه روی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای انجام شد. اختلاف شدت جریان آندی نمونه و شاهد در ۰/۲۵ ولت به عنوان پاسخ تجزیه‌ای در نظر گرفته شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۴) و شکل (۳-۱۸) نشان داده شده است. در غلظت‌های پایین حد واسطه، مقادیر کمتری از آن با گلوکاتینون واکنش داده و در نتیجه پاسخ تجزیه‌ای کوچکی مشاهده شد. بیشترین پاسخ تجزیه‌ای در حضور غلظت ۰/۳۵ میلی‌مولار از اصلاحگر مشاهده شد، بنابراین غلظت ۰/۳۵ میلی‌مولار به عنوان غلظت بهینه اصلاحگر (۴،۱-دی آمینوبنزن) انتخاب شد. در غلظت‌های بالای ۰/۳۵ میلی‌مولار افزایش سیگنال شاهد بیشتر است که موجب کوچکتر شدن پاسخ تجزیه‌ای می‌گردد.

جدول (۳-۱۴) بررسی اثر غلظت اصلاحگر بر پاسخ تجزیه‌ای در اندازه‌گیری گلوکاتینون.

غلظت اصلاحگر (mM)	$(i_p)_{bk}(\mu A)$	$(i_p)_s(\mu A)$	$(\Delta i_p)(\mu A)$
۰/۱۰	۲/۳۰	۳/۶۷	۱/۳۷
۰/۲۰	۴/۱۳	۵/۹۶	۱/۸۳
۰/۳۰	۵/۴۲	۷/۶۵	۲/۲۳
۰/۳۵	۶/۰۰	۸/۴۵	۲/۴۵
۰/۴۰	۶/۷۵	۹/۰۵	۲/۳۰
۰/۶۰	۱۰/۳۹	۱۱/۷۶	۱/۳۷



شکل (۳-۱۸) بررسی اثر غلظت اصلاحگر بر پاسخ تجزیه‌ای در اندازه‌گیری گلوکاتینون. بافر فسفات با $pH=6/0$ ، الکتروکد مرجع $3/0 M, Ag/AgCl$ ، الکتروکد کار کربن شیشه‌ای، الکتروکد کمکی پلاتین، سرعت روبش پتانسیل $100 mVs^{-1}$.



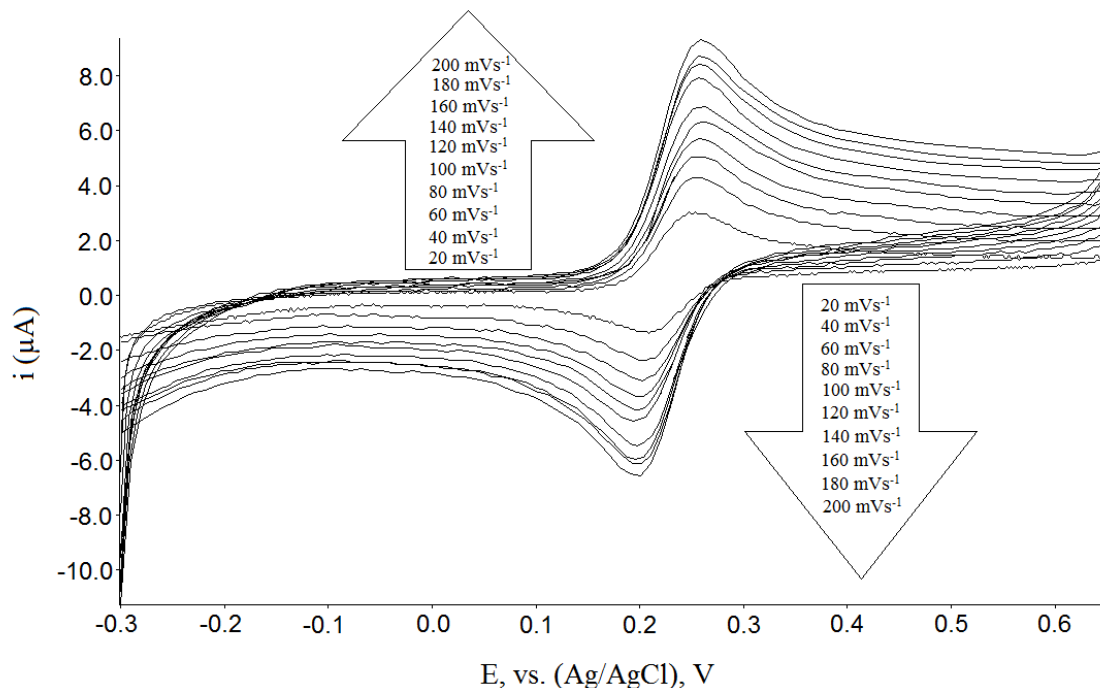
شکل (۳-۱۹) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای مربوط به (a) محلول ۴،۱-دی‌آمینوبنزن با غلظت‌های مختلف (شاهد) و (b) محلول ۴،۱-دی‌آمینوبنزن با غلظت‌های مختلف در حضور گلوکوتاتیون با غلظت ۰/۲۵ mM. A، B، C، D، E و F به ترتیب متناظر با غلظت‌های ۰/۱۰، ۰/۲۰، ۰/۳۰، ۰/۳۵، ۰/۴۰ و ۰/۶۰ میلی‌مولار از ۴،۱-دی‌آمینوبنزن. بافر فسفات با pH=۶/۰، الکتروود مرجع ۳/۰ M، Ag/AgCl، الکتروود کار کربن شیشه‌ای، سرعت روبش پتانسیل ۱۰۰ mVs⁻¹.

۳-۴-۲-۵- بررسی تأثیر سرعت روبش پتانسیل

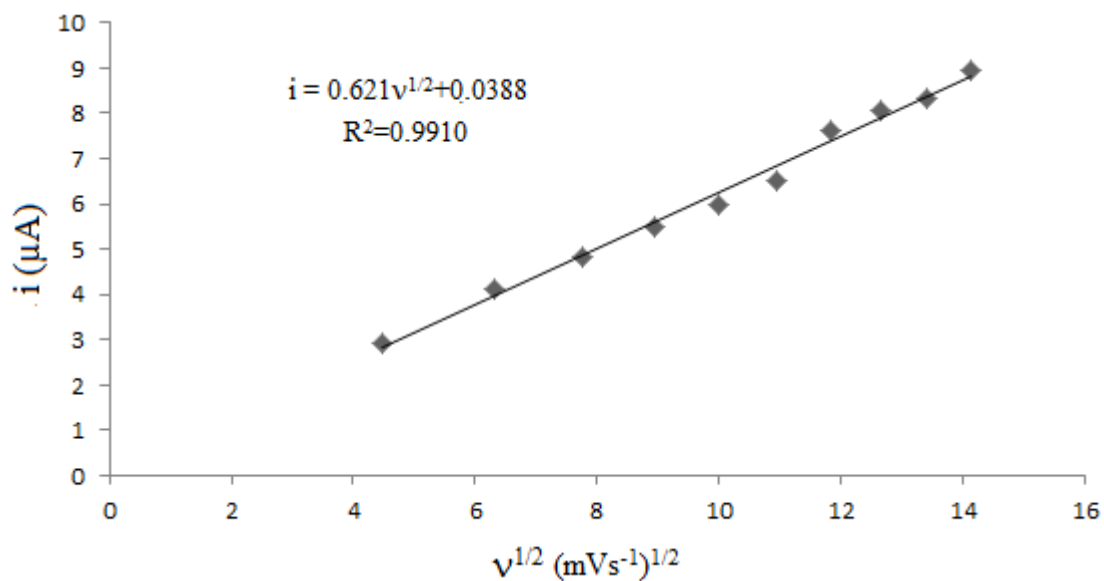
به منظور بررسی تأثیر سرعت روبش پتانسیل، ولتاموگرام‌های شاهد و نمونه در شرایط بهینه pH و غلظت اصلاحگر با سرعت‌های روبش مختلف در گستره پتانسیل ۰/۳- تا ۰/۶۵ ولت نسبت به الکتروود مرجع ۳/۰ M، Ag/AgCl ثبت گردید. از محلول ۰/۳۵ میلی‌مولار ۴،۱-دی‌آمینوبنزن در بافر فسفات با pH=۶/۰ به عنوان شاهد و محلول ۰/۳۵ میلی‌مولار ۴،۱-دی‌آمینوبنزن در حضور غلظت

۰/۲۵ میلی مولار گلوکاتایون در بافر فسفات با pH=۶/۰ به عنوان نمونه استفاده شد. ولتاموگرام‌های شاهد و نمونه به ترتیب در شکل‌های (۳-۲۰) و (۳-۲۲) آورده شده است. نتایج حاصل در جدول (۳-۱۵) نشان داده شده است. تغییرات شدت جریان پیک آندی مربوط به اصلاحگر با $v^{1/2}$ در غیاب گلوکاتایون در شکل (۳-۲۱) نشان داده شده است. خطی بودن رابطه با $R^2=0/991$ نشان‌دهنده پدیده نفوذ در رفتار اکسایشی ۴،۱-دی‌آمینوبنزن است.

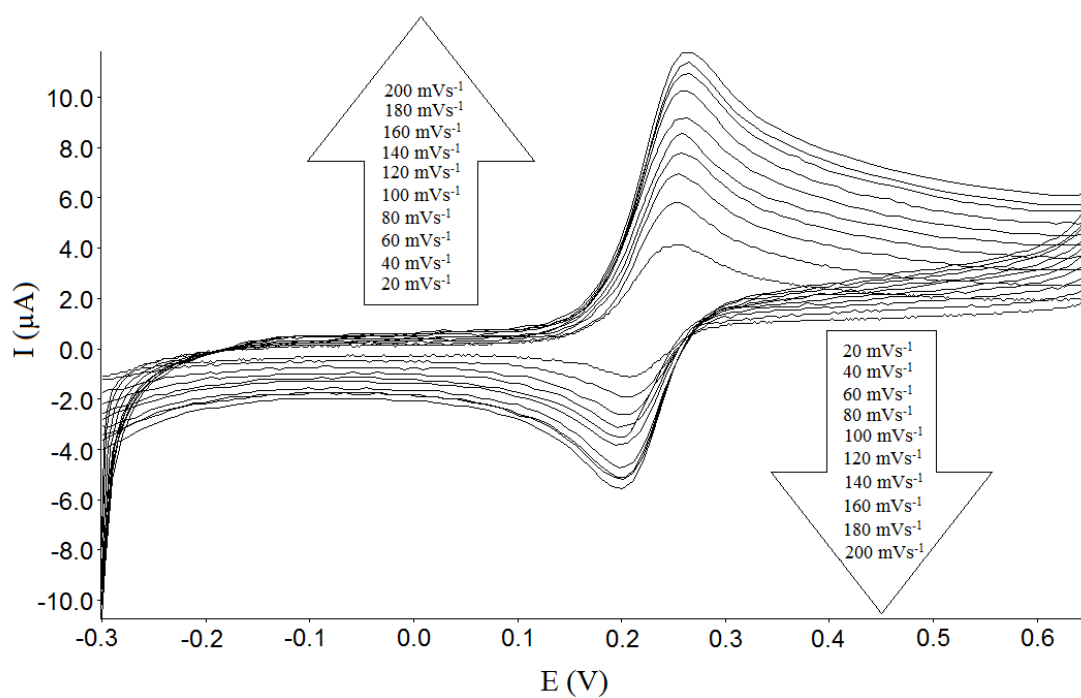
در شکل (۳-۲۳) تغییرات شدت جریان پیک آندی مربوط به اصلاحگر در حضور نمونه با $v^{1/2}$ نشان داده شده است. خطی بودن رابطه با $R^2=0/997$ نشان‌دهنده پدیده نفوذ در رفتار اکسایشی گلوکاتایون است. همانطور که در جدول (۳-۱۵) مشاهده می‌شود با افزایش سرعت روبش پتانسیل پاسخ تجزیه‌ای و همچنین جریان شاهد افزایش می‌یابد. با توجه به این روند و اینکه افزایش سیگنال شاهد موجب افزایش انحراف استاندارد شاهد و در نتیجه افزایش حد تشخیص می‌شود، سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه برای بررسی‌های بعدی انتخاب شد.



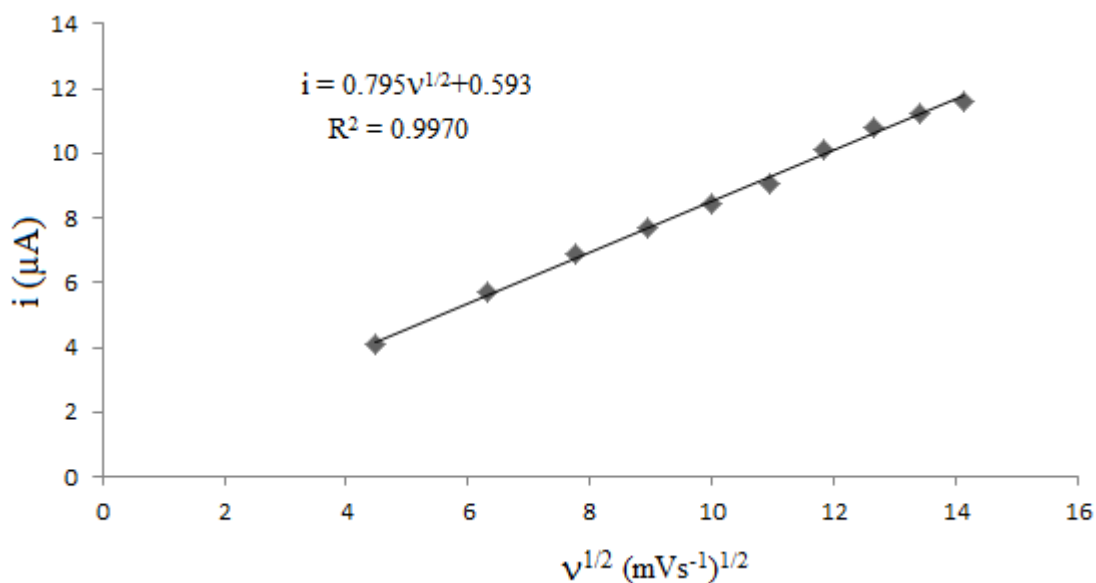
شکل (۳-۲۰) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای مربوط به محلول ۴،۱-دی‌آمینوبنزن ۰/۳۵mM در سرعت‌های روبش ۲۰ تا ۲۰۰ mVs⁻¹. بافر فسفات با pH=۶/۰، الکترود مرجع ۰/۳M Ag/AgCl، الکترود کار کربن شیشه‌ای.



شکل (۳-۲۱) نمودار تغییرات شدت جریان پیک آندی مربوط به ۴،۱-دی آمینوبنزن با $v^{1/2}(\text{mVs}^{-1})^{1/2}$. بافر فسفات با $\text{pH}=6/0$ ، الکتروود مرجع $3/0\text{M}\cdot\text{Ag}/\text{AgCl}$ ، الکتروود کار کربن شیشه‌ای.



شکل (۳-۲۲) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای مربوط به محلول ۴،۱-دی آمینوبنزن ۰/۳۵mM در حضور گلوکاتایون با غلظت ۰/۲۵mM در سرعت‌های روبش ۲۰ تا 200 mVs^{-1} . بافر فسفات با $\text{pH}=6/0$ ، الکتروود مرجع $3/0\text{M}\cdot\text{Ag}/\text{AgCl}$ ، الکتروود کار کربن شیشه‌ای.



شکل (۳-۲۳) نمودار تغییرات شدت جریان پیک آندی مربوط به ۴،۱-دی‌آمینوبنزن در حضور گلوکاتایون با غلظت ۰،۲۵mM با $v^{1/2}(mVs^{-1})^{1/2}$. بافر فسفات با pH=۶،۰، الکتروده مرجع Ag/AgCl، ۰،۳M، الکتروده کار کربن شیشه‌ای.

جدول (۳-۱۵) بررسی تأثیر سرعت روبش پتانسیل بر شدت جریان اکسایشی شاهد و نمونه در اندازه‌گیری گلوکاتایون

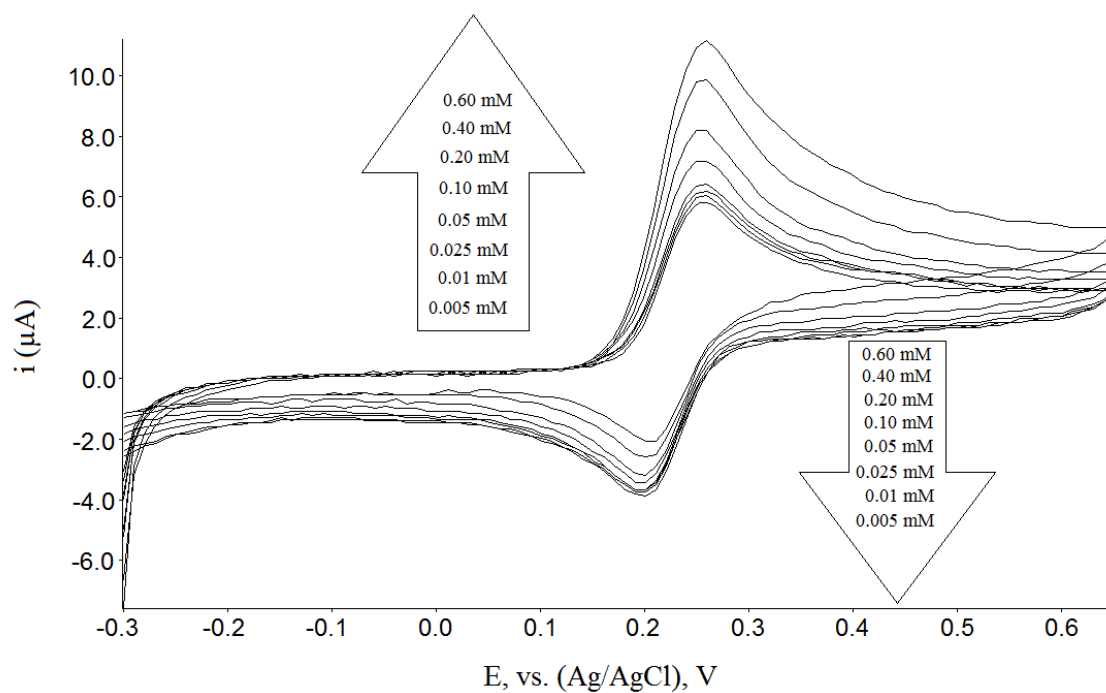
$(\Delta i_p) (\mu A)$	$(i_p)_s (\mu A)$	$(i_p)_{bk} (\mu A)$	$v^{1/2}$	$v(mVs^{-1})$	$E_p^A (V)$
۱/۱۶	۴/۰۸	۲/۹۲	۴/۴۷	۲۰/۰	۰/۲۵
۱/۶۲	۵/۷۲	۴/۱۰	۶/۳۲	۴۰/۰	۰/۲۵
۲/۰۳	۶/۸۶	۴/۸۳	۷/۷۵	۶۰/۰	۰/۲۵
۲/۲۰	۷/۶۹	۵/۴۹	۸/۹۴	۸۰/۰	۰/۲۵
۲/۴۵	۸/۴۵	۶/۰۰	۱۰/۰	۱۰۰/۰	۰/۲۵
۲/۵۵	۹/۰۵	۶/۵۰	۱۰/۹۵	۱۲۰/۰	۰/۲۵
۲/۶۰	۱۰/۲۱	۷/۶۱	۱۱/۸۳	۱۴۰/۰	۰/۲۵
۲/۷۲	۱۰/۷۸	۸/۰۶	۱۲/۶۵	۱۶۰/۰	۰/۲۵
۲/۷۸	۱۱/۱۳	۸/۳۵	۱۳/۴۲	۱۸۰/۰	۰/۲۵
۲/۶۷	۱۱/۶۱	۸/۹۴	۱۴/۱۴	۲۰۰/۰	۰/۲۵

۳-۴-۳- منحنی کالیبراسیون

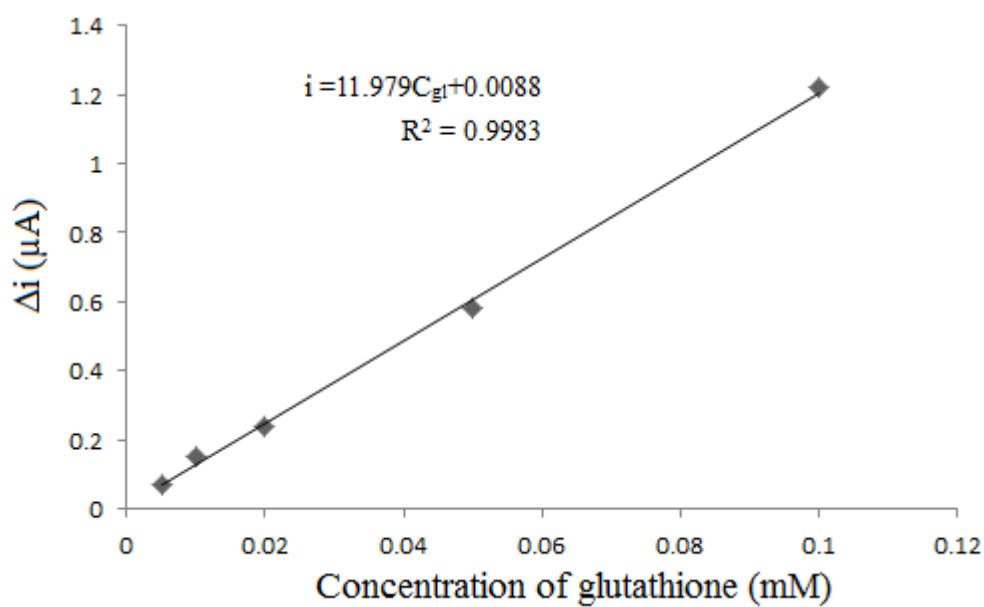
پس از دستیابی به شرایط بهینه برای اندازه‌گیری گلوکاتایون، منحنی کالیبراسیون رسم گردید. برای ثبت ولتاموگرام شاهد، ۱۰/۰ میلی‌لیتر از محلول $3/5 \times 10^{-4}$ مولار ۴،۱-دی‌آمینوبنزن در بافر فسفات با $\text{pH}=6/0$ را به سل دستگاه منتقل کرده و سپس روبش پتانسیل در محدوده $-0/30$ تا $0/65$ ولت و بالعکس، با سرعت ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه انجام شد. جریان شاهد میانگین مربوط به ده اندازه‌گیری است. ثبت ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه با شاهد ولی در حضور مقادیر غلظتی مختلف گلوکاتایون در گستره $5/0 \times 10^{-6}$ تا $6/0 \times 10^{-4}$ مولار انجام شد. نتایج حاصل در شکل (۳-۲۴) و جدول (۳-۱۶) نشان داده شده است. نتایج حاصل نشان داد که در دو ناحیه رابطه خطی بین غلظت و سیگنال تجزیه‌ای وجود دارد. ناحیه اول از $0/00500$ تا $0/100$ میلی‌مولار (شکل (۳-۲۵)) و ناحیه دوم از $0/100$ تا $0/600$ میلی‌مولار (شکل (۳-۲۷)) می‌باشد. معادله منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی $0/00500$ تا $0/100$ میلی‌مولار به صورت $\Delta i = 11/979 C_{\text{gl}} + 0/0088$ و در ناحیه غلظتی $0/100$ تا $0/600$ به صورت $\Delta i = 8/937 C_{\text{gl}} + 0/3229$ است.

جدول (۳-۱۶) اطلاعات مربوط به منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی $0/0050$ تا $1/200$ میلی‌مولار گلوکاتایون در سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه

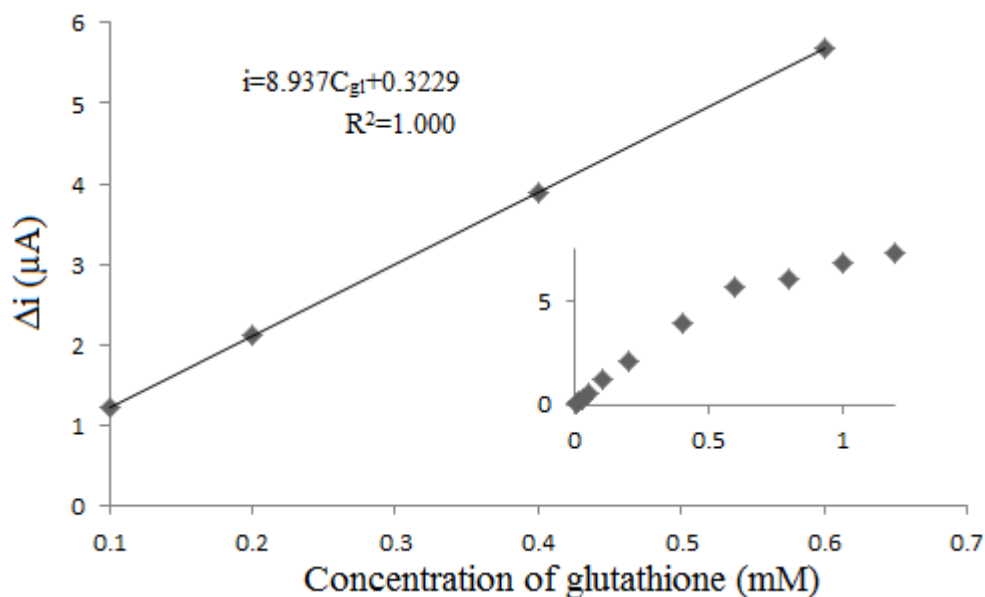
$\Delta i_p (\mu\text{A})$	$(i_p)_{\text{bk}} (\mu\text{A})$	$(i_p)_s (\mu\text{A})$	C/mM
۰/۰۷	۵/۹۶	۶/۰۳	۰/۰۰۵۰۰
۰/۱۵	۵/۹۶	۶/۱۱	۰/۰۱۰۰
۰/۲۴	۵/۹۶	۶/۲۰	۰/۰۲۵۰
۰/۵۸	۵/۹۶	۶/۵۴	۰/۰۵۰۰
۱/۲۲	۵/۹۶	۷/۱۸	۰/۱۰۰
۲/۱۱	۵/۹۶	۸/۰۷	۰/۲۰۰
۳/۸۹	۵/۹۶	۹/۸۵	۰/۴۰۰
۵/۶۹	۵/۹۶	۱۱/۶۵	۰/۶۰۰
۶/۰۴	۵/۹۶	۱۲/۰۰	۰/۸۰۰
۶/۸۷	۵/۹۶	۱۲/۸۳	۱/۰۰
۷/۳۷	۵/۹۶	۱۳/۳۳	۱/۲۰۰



شکل (۳-۲۴) ولتاموگرام‌های مربوط به گستره غلظتی ۰/۰۰۵ تا ۰/۶۰ میلی‌مولار گلووتاتیون در شرایط بافر فسفات با pH=۶/۰، الکتروود مرجع Ag/AgCl، ۳/۰ M، الکتروود کار کربن شیشه‌ای و سرعت روبش 100 mVs^{-1} .



شکل (۳-۲۵) منحنی کالیبراسیون در گستره غلظتی ۰/۰۰۵۰ تا ۰/۱۰۰ میلی‌مولار گلووتاتیون. شرایط: بافر فسفات با pH=۶/۰، الکتروود مرجع Ag/AgCl، ۳/۰ M، الکتروود کار کربن شیشه‌ای و سرعت روبش 100 mVs^{-1} .



شکل (۳-۲۶) منحنی کالیبراسیون در گستره غلظتی ۰/۱۰۰ تا ۰/۶۰۰ میلی مولار گلوتاتیون. شرایط: بافر فسفات با pH=۶/۰، الکتروود مرجع ۳/۰M، Ag/AgCl، الکتروود کار کربن شیشه‌ای و سرعت روبش 100 mVs^{-1} .

۳-۴-۴- دقت، صحت و حد تشخیص

تکرارپذیری این روش در سه غلظت متفاوت از گلوتاتیون (۰/۰۵، ۰/۱۵ و ۰/۴۰ میلی مولار) مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور ۶ اندازه‌گیری تکراری در محدوده پتانسیل ۰/۳۰- تا ۰/۶۵ ولت و سرعت اسکن ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه در هر غلظت انجام شد. پس از ثبت ولتاموگرام‌ها، شدت جریان‌های آندی اندازه‌گیری و غلظت‌ها با استفاده از منحنی کالیبراسیون تعیین شد. انحراف استاندارد و انحراف استاندارد نسبی به کمک معادلات (۳-۱) و (۳-۲) محاسبه گردید. نتایج در جدول (۳-۱۷) نشان می‌دهد که روش از دقت و صحت خوبی برخوردار است.

جدول (۳-۱۷) بررسی دقت و صحت روش در شرایط بهینه.

غلظت گلوکاتیون (mM)	غلظت اندازه گیری شده (mM)	$\bar{C} \pm CL$ n=6	%RSD n=6	درصد خطای نسبی
۰/۰۵۰۰	۰/۰۴۸۳، ۰/۰۴۹۳، ۰/۰۵۰۴ ۰/۰۵۲۵، ۰/۰۵۰۴، ۰/۰۴۷۳	۰/۰۵۰±۰/۰۰۲*	۴/۴۲	۰/۰۰
۰/۱۵۰	۰/۱۴۵، ۰/۱۵۱، ۰/۱۵۵، ۰/۱۵۳ ۰/۱۴۸، ۰/۱۵۳	۰/۱۵۱±۰/۰۰۴	۲/۴۶	۰/۶۷
۰/۴۰۰	۰/۴۰۳، ۰/۳۹۷، ۰/۴۰۲ ۰/۴۰۴، ۰/۴۰۲، ۰/۳۹۳	۰/۴۰۰±۰/۰۰۴	۱/۰۷	۰/۰۰

*حدود اطمینان در سطح اطمینان ۹۵٪

برای تعیین حد تشخیص این روش از معادله (۳-۳) استفاده شد. برای به دست آوردن انحراف استاندارد سیگنال شاهد در شرایط بهینه، ۱۰ اندازه گیری تکراری با سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه در گستره پتانسیل ۰/۳۰- تا ۰/۶۵ ولت نسبت به الکترود مرجع Ag/AgCl انجام شد. پس از ثبت شدت جریان هر اندازه گیری در پتانسیل ۰/۲۵ ولت، انحراف استاندارد متناظر با ۱۰ اندازه گیری سیگنال شاهد برابر ۰/۱۵۳ میکروآمپر به دست آمد. حد تشخیص ۳/۸ میکرومولار نیز با استفاده از معادله (۳-۳) به دست آمد.

۳-۴-۵- بررسی اثر مزاحمت ها

پس از بهینه سازی شرایط و رسم منحنی کالیبراسیون و تعیین حد تشخیص، به منظور تعیین میزان گزینش پذیری روش، تأثیر حضور گونه های مختلف بر شدت جریان پیک آندی نمونه مورد بررسی قرار گرفت. نحوه عمل به این صورت بود که در حضور گلوکاتیون با غلظت ۰/۲۵ میلی مولار و ۴،۱-دی آمینوبنزن با غلظت ۰/۳۵ میلی مولار در بافر فسفات با pH=۶/۰، ولتاموگرام چرخه ای با سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه در گستره پتانسیل ۰/۳۰- تا ۰/۶۵ ولت ثبت شد. این اندازه گیری شش مرتبه تکرار شده و شدت جریان اکسایشی در پتانسیل ۰/۲۵ ولت ثبت گردید سپس انحراف

استاندارد متناظر با این ۶ اندازه‌گیری محاسبه گردید. سپس محلول‌هایی با همان شرایط قبلی، ولی در حضور گونه‌های بالقوه مزاحم مورد بررسی قرار گرفت. گونه‌هایی که در حضور آن‌ها جریان آندی در محدوده $\pm 3S$ قرار گرفت به عنوان گونه غیر مزاحم در نظر گرفته شدند و در غیر این صورت مزاحم بوده و آنقدر غلظت آن‌ها کاهش داده شد تا حد غلظتی مزاحمت آن‌ها مشخص شود. در رابطه بالا $\bar{I}$ میانگین شدت جریان آندی مربوط به ۶ اندازه‌گیری تکراری در غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار گلوکاتئون و ۰/۳۵ میلی‌مولار ۴،۱-دی‌آمینوبنزن و S انحراف استاندارد شدت جریان اندازه‌گیری شده در ۶ اندازه‌گیری می‌باشد. نتایج این بررسی در جدول (۳-۱۸) نشان داده شده است. این نتایج نشان‌دهنده گزینش‌پذیری خوب روش پیشنهادی می‌باشد.

جدول (۳-۱۸) بررسی مزاحمت برخی گونه‌ها در اندازه‌گیری گلوکاتئون در غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار گلوکاتئون.

گونه‌های مورد بررسی	حد مجاز غلظت گونه به غلظت گلوکاتئون (M/M)
Na^+ ، ClO_4^- ، K^+ ، اوره، NO_3^-	۲۰۰۰
Mg^{2+} ، ClO_3^- ، Ni^{2+} ، SO_4^{2-} ، Cl^- ، Ca^{2+}	۱۰۰۰
گلوکز، F^-	۵۰۰
سیترات، Br^- ، NH_4^+	۱۰۰
کاپتوپریل	۱
I^- ، Fe^{3+} ، Fe^{2+}	< ۱

در این مورد نیز گونه‌هایی مانند Fe^{2+} ، Fe^{3+} و I^- به علت داشتن پیک اکسایشی و کاهش‌ی با شدت زیاد در گستره ۰/۰ تا ۰/۵ ولت، ایجاد مزاحمت می‌کنند.

۳-۴-۶- آنالیز نمونه حقیقی

به منظور بررسی توانایی روش در آنالیز نمونه‌های حقیقی، ادرار به عنوان نمونه انسانی به روش افزایش استاندارد مورد مطالعه قرار گرفت. برای آنالیز نمونه ادرار به روش افزایش استاندارد به این ترتیب عمل شد که ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه ادرار به علاوه ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول ۳/۵ میلی‌مولار ۴،۱-دی‌آمینوبنزن به بالن حجمی ۱۰ میلی‌لیتری منتقل شد و با محلول بافر فسفات با pH=۶/۰ به

حجم رسانده شد، سپس محتویات بالن به سل الکتروشیمیایی منتقل شده و ولتاموگرام نمونه در گستره پتانسیل ۰/۳۰- تا ۰/۶۵ ولت نسبت به الکتروود مرجع 0.03M Ag/AgCl با سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه ثبت گردید. برای محاسبه درصد بازیابی آزمایش‌هایی مشابه آنچه گفته شد تکرار شد با این تفاوت که حجم‌های مشخصی از محلول گلوکاتایون $10^{-2} \times 10^{-2}$ مولار نیز به بالن حجمی ۱۰ میلی‌لیتری افزوده شد. نتایج حاصل از این اندازه‌گیری در جدول (۱۹-۳) نشان داده شده است.

جدول (۱۹-۳) نتایج حاصل از آنالیز نمونه ادرار. سطح اطمینان ۹۵٪.

درصد بازیابی	RSD% n=5	گلوکاتایون اضافه شده (mM)	گلوکاتایون اندازه‌گیری شده (mM)
-	-	حد تشخیص <	-
۹۸/۴	۴/۱۸	$0.0492 \pm 2/61 \times 10^{-3}$ *	۰/۰۵۰۰
۱۰۳/۰	۲/۱۱	$0.103 \pm 2/74 \times 10^{-3}$	۰/۱۰۰
۹۸/۲	۱/۶۵	$0.295 \pm 6/09 \times 10^{-3}$	۰/۳۰۰

*حدود اطمینان

نتایج درصد‌های بازیابی نشان می‌دهد که روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری گلوکاتایون در نمونه ادرار با صحت و دقت خوبی قابل کاربرد است.

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

۴-۱-اندازه‌گیری کاپتوپریل

۴-۱-۱- بررسی سیستم شیمیایی به کار برده شده

در این کار تحقیقاتی یک روش ساده و سریع بر مبنای ولتامتری چرخه‌ای برای اندازه‌گیری کاپتوپریل ارائه شد. با استفاده از این روش می‌توان به سهولت و با صحت خوبی کاپتوپریل را در نمونه‌های دارویی و ادرار اندازه‌گیری کرد. همان‌طور که در شکل (۳-۲) مشاهده می‌شود محلول کاپتوپریل در بافر عمومی با $\text{pH}=5/0$ در محدودهٔ روبش پتانسیل بین $0/5 - 0/50$ ولت و سرعت روبش 100 میلی‌ولت بر ثانیه در سطح الکترود کربن شیشه‌ای، یک پیک اکسایش کاملاً برگشت‌ناپذیر را در $0/19$ ولت نسبت به الکترود مرجع Ag/AgCl نشان می‌دهد. با توجه به اینکه شدت جریان این پیک با افزایش غلظت کاپتوپریل به طور خطی افزایش می‌یابد از این پیک آندی برای اندازه‌گیری مستقیم کاپتوپریل استفاده شد. مکانیسم احتمالی اکسایش کاپتوپریل (RSH) در این فرایند را می‌توان این‌گونه توضیح داد که پس از اکسایش آنیون حاصل از کاپتوپریل، رادیکال‌های ایجاد شده سریعاً تشکیل یک دیمر را می‌دهند [۵۹ و ۵۸].



۴-۱-۲- نتایج حاصل از بهینه‌سازی شرایط

اثر عوامل مختلف بر بزرگی پیک اکسایش کاپتوپریل مورد بررسی قرار گرفت. اولین عامل مورد بررسی اثر pH بود. اثر pH در گسترهٔ $2/0$ تا $8/0$ بررسی شد که نتایج آن در جدول (۳-۲) و شکل (۳-۵) آورده شده است. در pH های خیلی اسیدی گروه RSH پروتون‌دار می‌شود و در نتیجه کاپتوپریل به سختی اکسید می‌شود. بیشترین جریان پیک آندی در محلول بافر عمومی با $\text{pH}=5/0$ مشاهده گردید لذا برای بررسی‌های بعدی بافر با $\text{pH}=5/0$ انتخاب شد.

با توجه به نتایج جدول (۳-۲) مشاهده می‌گردد که پتانسیل اکسایش کاپتوپریل با افزایش pH کاهش می‌یابد. مقدار پتانسیل اکسایش کاپتوپریل از معادله (۴-۳) قابل محاسبه است. با توجه به این رابطه انتظار می‌رود که با افزایش pH، پتانسیل اکسایش کاپتوپریل کاهش یابد.

$$E = E^0 + 0.0592 \log \frac{[RS^+][H^+]}{[RSH]} \quad \text{معادله (۴-۳)}$$

اثر نوع بافر نیز مورد بررسی قرار گرفت. در بین سه بافر استاتی، فسفاتی و عمومی، بیشترین جریان پیک آندی در بافر عمومی با $pH=5/0$ مشاهده گردید. بنابراین بافر عمومی برای مطالعات و بررسی‌های بعدی انتخاب شد. نتایج حاصل در جدول (۳-۳) آورده شده است.

اثر غلظت (حجم بافر) در گستره $2/0$ تا $10/0$ میلی‌لیتر از بافر عمومی با $pH=5/0$ بررسی شد. نتایج حاصل در جدول (۳-۴) آورده شده است. نتایج نشان می‌دهد که بزرگی جریان پیک آندی وابسته به حجم بافر است، بنا بر این در بررسی‌های بعدی از حجم $10/0$ میلی‌لیتر از بافر استفاده شد. اثر سرعت روبش پتانسیل در گستره 50 تا 140 میلی‌ولت بر ثانیه مورد بررسی قرار گرفت. منحنی شدت جریان پیک آندی با جذر سرعت روبش پتانسیل رسم شد. خطی بودن این رابطه با $R^2 = 0/995$ ، نشان‌دهنده پدیده نفوذ در رفتار اکسایشی کاپتوپریل است. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۵) و شکل (۳-۸) آورده شده است.

۴-۱-۳- ارقام شایستگی روش

نتایج حاصل از بررسی‌ها نشان می‌دهد که در شرایط بهینه، منحنی کالبراسیون در ناحیه غلظتی $0/010$ تا $1/00$ میلی‌مولار کاپتوپریل خطی است. درصد انحراف استاندارد نسبی برای اندازه‌گیری‌های تکراری غلظت‌های $0/08$ ، $0/50$ و $0/80$ میلی‌مولار کاپتوپریل به ترتیب $3/99$ ، $1/35$ و $0/769$ درصد به دست آمد که نشان دهنده دقت خوب روش است.

مقادیر درصد خطای نسبی به دست آمده در جدول (۷-۳) بیانگر صحت مناسب روش است. مقدار حد تشخیص روش نیز برابر ۶/۷ میکرومولار است. نتایج حاصل از بررسی اثر مزاحمت‌ها در جدول (۸-۳) نشان می‌دهد که تعدادی از کاتیون‌ها و آنیون‌ها تا ۱۰۰۰ برابر غلظت مولی مزاحمتی در اندازه‌گیری کاپتوپریل ندارند و روش از گزینش پذیری خوبی برخوردار است.

۴-۱-۴- تجزیه نمونه‌های حقیقی

کارایی روش در تجزیه نمونه حقیقی با اندازه‌گیری کاپتوپریل در نمونه‌های ادرار و قرص ۲۵ میلی گرمی کاپتوپریل مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده که در جدول‌های (۹-۳) و (۱۰-۳) آورده شده است نشان دهنده صحت و دقت خوب این روش در اندازه‌گیری کاپتوپریل است.

۴-۱-۵- مقایسه روش پیشنهادی با سایر روش‌ها

در این بخش، روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری کاپتوپریل با برخی روش‌های دیگر که در آن‌ها کاپتوپریل با استفاده روش ولتامتری اندازه‌گیری شده مقایسه شده است. روش پیشنهادی نسبت به تمام روش‌های گزارش شده ساده تر و سریعتر است. حد تشخیص روش پیشنهادی از روش‌های پیشنهادی در مراجع ۲۸ و ۱۹ پایین تر است. همچنین روش پیشنهادی نسبت به روش‌های گزارش شده ۲۳، ۲۴ و ۲۸ دارای دامنه خطی وسیعتری می‌باشد. در روش‌های گزارش شده در مراجع ۱۸، ۲۰، ۲۱، ۲۴ و ۲۵ از الکتروود جیوه به عنوان الکتروود کار استفاده شده است. از آنجایی که جیوه یک عنصر بسیار سمی و خطرناک برای محیط زیست و انسان است، استفاده از الکتروود کربن شیشه‌ای به جای الکتروود جیوه یک مزیت محسوب می‌شود.

جدول (۴-۱) مقایسه روش پیشنهادی با روش‌های ولتامتری گزارش شده برای تعیین مقدار کاپتوپریل.

نوع الکتروود	حد تشخیص (μM)	ناحیه خطی (μM)	مرجع
قطره جیوه آویزان	-	۰/۰۰۰۹-۳/۰	۱۸
لایه نازک الماس غنی شده با بور	۲۵	۵۰-۳۰۰۰	۱۹
قطره جیوه آویزان	۰/۰۰۲۳	۰/۰۰۲۳-۰/۸۳۰	۲۰
قطره جیوه آویزان	۰/۰۲۹	۲/۳۰-۲۳۰/۰	۲۱
پلاتین	۰/۹۲	۱/۲-۳۲۰	۲۲
خمیر کربن اصلاح شده با کبالت-۵-نیتروسلولون	۱/۱	۴/۰-۱۱۰	۲۳
قطره جیوه آویزان	۰/۱۱	۱/۱-۷/۷۳	۲۴
قطره جیوه آویزان	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۵-۰/۱	۲۵
کربن شیشه‌ای اصلاح شده با ذرات نانولوله کربنی چند دیواره	۰/۲۰	۰/۵۰-۶۰۰	۲۶
خمیر کربن اصلاح شده با فروسن دی‌کربوکسیلیک اسید	۰/۰۹۱	۰/۳۰-۱۴۰	۲۷
قلع (IV) اکسید غنی شده با فلورین	۸۴	۲۰۰-۱۱۰۰	۲۸
خمیر کربن اصلاح شده با N-(۳،۴-دی‌هیدروکسی فناتیل)-۵،۳-دی‌نیتروبنزامید	۰/۰۳۴	۰/۰۶۴-۳۲۰	۲۹
کربن شیشه‌ای عریان	۶/۷	۱۰-۱۰۰۰	روش پیشنهادی

(-) در مقاله گزارش نشده است.

۴-۱-۶- آینده نگری

مطالعه و بررسی سایر تیول‌های مشابه کاپتوپریل در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای پیشنهاد

می‌شود تا در صورت امکان از این روش ساده و سریع برای اندازه‌گیری سایر ترکیبات مشابه استفاده

شود.

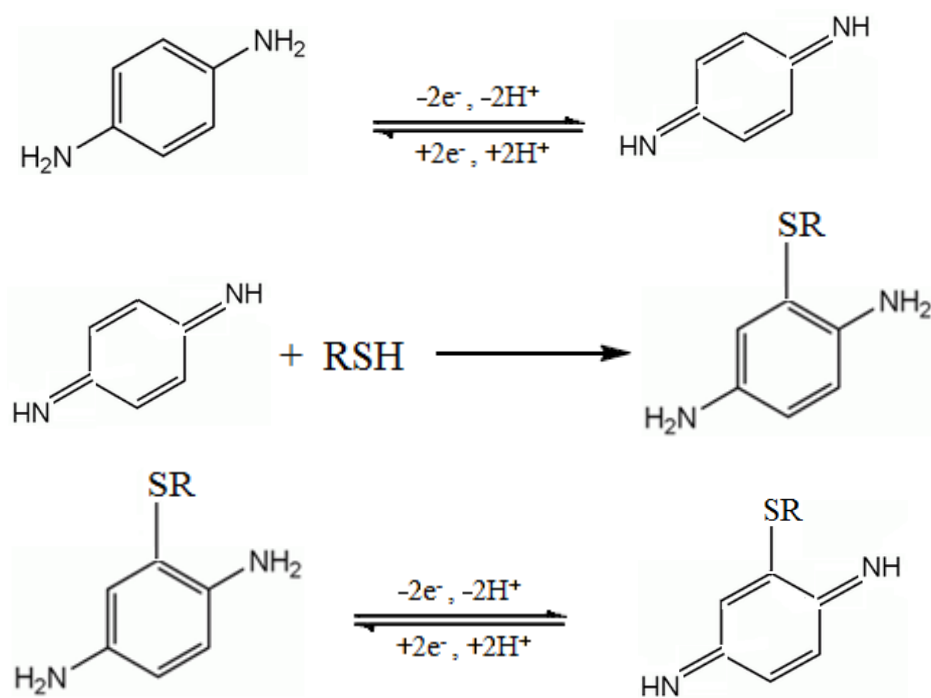
۴-۲- اندازه‌گیری گلوکاتایون

۴-۲-۱- بررسی سیستم شیمیایی به کار برده شده

در این کار تحقیقاتی از ۴،۱-دی‌آمینوبنزن به عنوان عامل اصلاح‌گر برای اندازه‌گیری گلوکاتایون استفاده شد. همان گونه که در شکل (۳-۱۳) مشاهده می‌شود، گلوکاتایون هیچ پیک اکسایش یا کاهش مشخصی را در گسترهٔ روبش ۰/۳- تا ۱/۰ ولت نسبت به الکتروود مرجع $M^{+}/Ag/AgCl$ ، بر روی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای نشان نمی‌دهد ولی ولتاموگرام مربوط به ۴،۱-دی‌آمینوبنزن یک پیک اکسایش-کاهش برگشت‌پذیر را در حدود ۰/۲۵ ولت نشان می‌دهد. با توجه به آزمون‌های تشخیصی جدول (۲-۲)، عدم وابستگی پتانسیل پیک اکسایش به سرعت روبش پتانسیل تأییدی بر برگشت‌پذیر بودن واکنش اکسایش ۴،۱-دی‌آمینوبنزن است. همچنین یکی دیگر از آزمون‌های تشخیصی برای برگشت‌پذیر بودن واکنش الکتروشیمیایی این است که اختلاف بین پتانسیل پیک آندی و کاتدی برابر $(59/n)mV$ باشد. این مقدار برای اکسایش ۴،۱-دی‌آمینوبنزن برابر ۰/۰۳ ولت به دست آمد که با توجه به دو الکترونی بودن اکسایش ۴،۱-دی‌آمینوبنزن تأیید دیگری بر برگشت‌پذیری اکسایش آن است. در حضور گلوکاتایون، جریان اکسایشی مربوط به ۱،۴-دی‌آمینوبنزن متناسب با غلظت گلوکاتایون افزایش می‌یابد (شکل (۳-۱۳)). در محیط بدون گلوکاتایون، ۴،۱-دی‌آمینوبنزن یک جریان حدی ایجاد می‌کند که مربوط به اکسایش آن بر روی الکتروود کربن شیشه‌ای می‌باشد. گلوکاتایون می‌تواند به عنوان یک عامل هسته دوست^۱ در واکنش افزایش ۴،۱- با محصول اکسایش ۴،۱-دی‌آمینوبنزن شرکت کند و مجدداً محصول افزایشی احیا شدهٔ ۴،۱-دی‌آمینوبنزن را تولید کند که این محصول افزایشی احیا شده می‌تواند طی یک واکنش الکتروشیمیایی اکسید شده و شدت جریان مربوط به اکسایش ۱،۴-دی‌آمینوبنزن را افزایش دهد. مقدار افزایش این شدت جریان با غلظت گلوکاتایون متناسب است [۶۰]. در این کار تحقیقاتی از این افزایش جریان آندی به عنوان پاسخ

¹ Nucleophile

تجزیه‌ای برای اندازه‌گیری گلوپاتیون استفاده شد. مکانیسم (ECE) پیشنهادی احتمالی اکسایش ۴،۱-دی‌آمینوبنزن در حضور گلوپاتیون در شکل (۱-۴) آورده شده است.

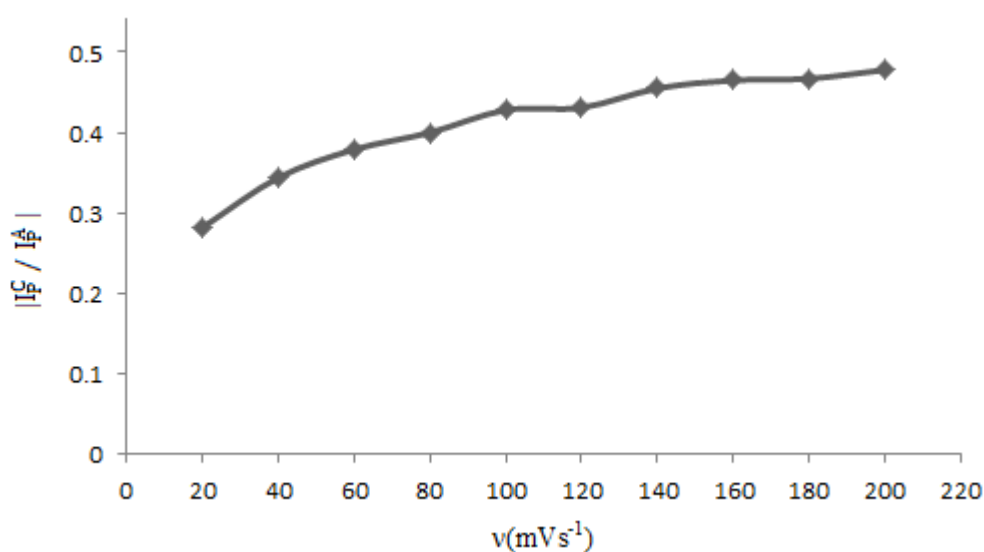


شکل (۱-۴) مکانیسم اکسایش ۴،۱-دی‌آمینوبنزن در حضور گلوپاتیون (RSH)

برای تأیید مکانیسم پیشنهادی، ویژگی‌هایی که در جدول (۲-۶) برای واکنش ECE آورده شده است مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی در جدول (۲-۴) آورده شده است.

جدول (۲-۴) بررسی تأثیر سرعت اسکن بر شدت جریان اکسایشی و کاهش‌ی در اندازه‌گیری گلوکاتیون.

$I_P^A / v^{1/2}$	$ I_P^C / I_P^A $	$(I_P^A)_s (\mu A)$	$(I_P^C)_s (\mu A)$	$v^{1/2}$	$v(mVs^{-1})$
۰/۹۱۳	۰/۲۸۲	۴/۰۸	-۱/۱۵	۴/۴۷	۲۰/۰
۰/۹۰۵	۰/۳۴۴	۵/۷۲	-۱/۹۷	۶/۳۲	۴۰/۰
۰/۸۸۵	۰/۳۷۹	۶/۸۶	-۲/۶۰	۷/۷۵	۶۰/۰
۰/۸۶۰	۰/۴۰۰	۷/۶۹	-۳/۰۸	۸/۹۴	۸۰/۰
۰/۸۴۵	۰/۴۲۸	۸/۴۵	-۳/۶۲	۱۰/۰	۱۰۰/۰
۰/۸۲۶	۰/۴۳۱	۹/۰۵	-۳/۹۰	۱۰/۹۵	۱۲۰/۰
۰/۸۵۴	۰/۴۵۵	۱۰/۱۱	-۴/۶۱	۱۱/۸۳	۱۴۰/۰
۰/۸۵۲	۰/۴۶۵	۱۰/۷۸	-۵/۰۲	۱۲/۶۵	۱۶۰/۰
۰/۸۳۶	۰/۴۶۷	۱۱/۲۳	-۵/۲۵	۱۳/۴۲	۱۸۰/۰
۰/۸۲۱	۰/۴۷۸	۱۱/۶۱	-۵/۵۵	۱۴/۱۴	۲۰۰/۰



شکل (۲-۴) تغییرات $|I_P^C / I_P^A|$ با سرعت روبش پتانسیل. شرایط: بافر فسفات با $pH=6.0$ ، الکتروکد مرجع $3.0M, Ag/AgCl$ ، الکتروکد کمکی پلاتین، الکتروکد کار کربن شیشه‌ای.

همانطور که در شکل (۲-۴) مشاهده می‌شود $|I_P^C / I_P^A|$ با سرعت روبش زیاد می‌شود که تأییدی بر ECE بودن واکنش است. همچنین یکی دیگر از آزمون‌های تشخیصی برای ECE بودن یک واکنش، بزرگتر بودن مقدار $I_P^A / v^{1/2}$ در سرعت‌های روبش کم نسبت به سرعت‌های بالا می‌باشد.

همانطور که در جدول (۲-۴) مشاهده می‌شود، مقدار $I_P^A / v^{1/2}$ در سرعت‌های روبش کمتر مقدار بزرگ‌تری دارد که تأیید دیگری بر ECE بودن مکانیسم اکسایش گلوکاتینون می‌باشد.

۲-۲-۴- نتایج حاصل از بهینه‌سازی شرایط

اختلاف جریان پیک آندی مربوط به ۴،۱-دی‌آمینوبنزن در حضور گلوکاتینون (سیگنال نمونه) و در عدم حضور گلوکاتینون (سیگنال شاهد) به عنوان پاسخ تجزیه‌ای در نظر گرفته شد. اثر عوامل مختلف بر بزرگی پاسخ تجزیه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. اولین عامل مورد بررسی اثر pH بود. اثر pH در گستره ۵/۰ تا ۸/۰ بررسی شد که نتایج آن در جدول (۳-۱۱) و شکل (۳-۱۵) آورده شده است. در pHهای خیلی اسیدی گلوکاتینون (RSH) پروتون‌دار می‌شود و در نتیجه تمایل هسته دوستی آن کاهش می‌یابد، بنابراین بیشترین پاسخ تجزیه‌ای در محلول بافر فسفاتی با $pH=6/0$ مشاهده گردید لذا برای بررسی‌های بعدی، بافر با $pH=6/0$ انتخاب شد.

با توجه به نتایج جدول (۳-۱۱) مشاهده می‌گردد که پتانسیل اکسایش ۴،۱-دی‌آمینوبنزن با افزایش pH کاهش می‌یابد. مقدار پتانسیل اکسایش ۴،۱-دی‌آمینوبنزن از معادله (۴-۴) قابل محاسبه است. با توجه به این رابطه انتظار می‌رود که با افزایش pH، پتانسیل اکسایش ۴،۱-دی‌آمینوبنزن کاهش یابد. RH_4 در این رابطه، ۴،۱-دی‌آمینوبنزن است.

$$E = E^0 + 0.0592 \log \frac{[RH_2][H^+]^2}{[RH_4]} \quad \text{معادله (۴-۴)}$$

اثر نوع بافر نیز مورد بررسی قرار گرفت. در بین سه بافر استاتی، فسفاتی و عمومی، بیشترین پاسخ تجزیه‌ای در بافر فسفاتی با $pH=6/0$ مشاهده گردید. بنابراین بافر فسفاتی برای مطالعات و بررسی‌های بعدی انتخاب شد. نتایج حاصل در جدول (۳-۱۲) آورده شده است.

اثر غلظت (حجم بافر) در گستره ۲/۰ تا ۱۰/۰ میلی‌لیتر از بافر فسفاتی با $pH=6/0$ بررسی شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۳) آورده شده است. در این مورد نیز مشاهده شد که با

افزایش حجم بافر، پاسخ تجزیه‌ای افزایش می‌یابد. بنابراین در بررسی‌های بعدی از حجم ۱۰/۰ میلی-لیتر از بافر استفاده شد.

اثر غلظت ۴،۱-دی‌آمینوبنزن بر بزرگی پاسخ تجزیه‌ای در گستره ۰/۱۰ تا ۰/۶۰ میلی‌مولار مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در جدول (۳-۱۴) آورده شده است. بیشترین پاسخ تجزیه‌ای در حضور غلظت ۰/۳۵ میلی‌مولار ۴،۱-دی‌آمینوبنزن مشاهده گردید بنابراین در بررسی‌های بعدی از این غلظت حد واسط استفاده شد.

اثر سرعت اسکن در گستره ۲۰ تا ۲۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی در جدول (۳-۱۵) آورده شده است. تغییرات جریان پیک آندی مربوط به اصلاحگر با $v^{1/2}$ در شکل (۳-۱۹) نشان داده شده است. خطی بودن رابطه با $R^2 = 0/992$ نشان‌دهنده پدیده نفوذ در رفتار اکسایشی ۴،۱-دی‌آمینوبنزن است. در شکل (۳-۲۳) تغییرات جریان پیک آندی مربوط به اصلاحگر در حضور گلوکاتایون با $v^{1/2}$ نشان داده شده است. خطی بودن رابطه با $R^2 = 0/997$ نشان‌دهنده پدیده نفوذ در رفتار اکسایشی گلوکاتایون است.

۴-۲-۳-ارقام شایستگی روش

نتایج حاصل از بررسی‌ها نشان می‌دهد که در شرایط بهینه، منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۰/۰۰۵۰ تا ۰/۶۰ میلی‌مولار گلوکاتایون خطی است.

انحراف استاندارد نسبی برای اندازه‌گیری‌های تکراری غلظت‌های ۰/۰۵۰، ۰/۱۵ و ۰/۴۰ میلی-مولار به ترتیب ۴/۴۲، ۲/۴۶ و ۱/۰۷ درصد به دست آمد که نشان‌دهنده دقت خوب روش است. مقادیر درصد خطای نسبی به دست آمده در جدول (۳-۱۷) بیانگر صحت مناسب روش است. مقدار حد تشخیص روش نیز برابر ۳/۸ میکرومولار است.

نتایج حاصل از بررسی اثر مزاحمت‌ها در جدول (۳-۱۸) نشان می‌دهد که تعدادی از کاتیون‌ها و آنیون‌ها تا ۱۰۰۰ برابر غلظت مولی و حتی بیشتر مزاحمتی در اندازه‌گیری گلوکاتایون ندارند. به طور کلی، نتایج حاصل از بررسی اثر مزاحمت‌ها نشان دهنده‌ی گزینش‌پذیری خوب روش پیشنهادی است.

۴-۲-۴- تجزیه‌ی نمونه‌ی حقیقی

کارایی روش در تجزیه‌ی نمونه‌ی حقیقی با اندازه‌گیری گلوکاتایون در نمونه‌ی ادرار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده که در جدول (۳-۱۹) آورده شده است نشان دهنده‌ی کارایی روش پیشنهادی با صحت و دقت خوب در اندازه‌گیری گلوکاتایون در نمونه‌ی ادرار است.

۴-۲-۵- آینده‌نگری

بررسی و مطالعه‌ی سایر حد واسط‌های دارای خصوصیات نسبتاً مشابه با ۴،۱-دی‌آمینوبنزن برای تعیین مقدار گلوکاتایون پیشنهاد می‌شود. همچنین حد واسط ۴،۱-دی‌آمینوبنزن برای اندازه‌گیری سایر تیول‌های مشابه گلوکاتایون پیشنهاد می‌شود.

مراجع و منابع

- [۱] دکتر حشمتی. (۱۳۸۷) "فرهنگ داروهای ژنریک ایران" انتشارات اندیشه رفیع.
- [۲] شهرآز، س.، غازیانی، ت. (۱۳۸۱)، *ایران فارما (درسنامه جامع داروهای رسمی ایران)*، نشر طبیب.
- [۳] آلبرت لنینگر، مایکل کاکس، دیویدلی نلسون. (۱۳۸۵) "*اصول بیوشیمی لنینجر*". ترجمه رضا محمدی. نشر آییز.
- [۴] "مجله دانشگاه علوم پزشکی بیرجند"، شماره ۳۲
- [5] H. F. Askal. (1991) "New spectrophotometric methods for determination of captopril bulk drug and tablets" *Talanta*, 38, pp 1155-1558.
- [6] T. Jovanovic, B. Stanovic, Z. Koricanac. (1995) "Spectrophotometric investigation on complex formation of captopril with palladium(II) and its analytical application" *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 13, pp 213-217.
- [7] M. A. El Reis, F. M. Abou Attia, I.M. Kenawy. (2000) "Indirect determination of captopril by AAS" *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 23, pp 249-254.
- [8] P.D. Tzanavaras, D. G. Themelis, A. Economou and G. Theodoridis. (2002) "Reversed flow-injection manifold for the spectrophotometric determination of captopril based on its inhibitory effect on the Co(II)-2,2'-dipyridyl-2-pyridylhydrazone complex formation" *Talanta*, 57, pp 575-582.
- [9] N. Rahman, M. Singh, N. Hoda. (2005) "Validation of simultaneous volumetric and spectrophotometric methods for the determination of captopril in pharmaceutical formulations" *Farmaco*, 60, pp 569-574.
- [10] W. T. Suarez, A. A. Madi, L. C. S. de Figueiredo-Filho, O. Fatibello-Filho. (2007) "Flow-injection spectrophotometric system for captopril determination in pharmaceuticals" *J. Braz. Chem.Soc.*, 18, pp 1215-1219.
- [11] E. Bald, S. Sypniewski. (1997) "Determination of thiol drugs in pharmaceutical formulations as their 5-pyridinium derivatives by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection". *Fresenius J. Anal. Chem.*, 358(4), pp 554-555.
- [12] V. Cavrini, R. Gatti, A. M. Dipreta, M. A. Raggi. (1987) "Determination of thiol drugs in pharmaceutical formulations using ethacrynic-acid as a precolumn ultraviolet derivatization reagent" *Chromatographia*, 23(9), pp 680-683.
- [13] V. Cavrini, R. Gatti, V. Andrisano. (1996) "[1,1-ethenylidenebis (sulfonyl)] bis-benzene: A useful pre-chromatographic derivatization reagent for HPLC analyses of thiol drugs" *Chromatographia*, 42(9), pp 515-520.
- [14] A. M. Pimenta, A. N. Araujo, M. C. Montenegro. (2001) "Sequential injection analysis of captopril based on colorimetric and potentiometric detection" *Anal. Chim. Acta*, 438, pp 31-38.

- [15] G. K. Ziyatdinova, H. C. Budnikov. (2007) "Direct determination of captopril using electrogenerated halogens for pharmaceuticals quality control" *Eurasian J. Anal. Chem.*, 2(2), pp 84-92.
- [16] L. H. Marcolino-Junior, V. G. Bonifácio, F. C. Vicentini, B. C. Janegitz, and O. Fatibello-Filho. (2009) "Amperometric determination of captopril using a carbon paste electrode in flow analysis" *Can. J. Anal. Sci. Spectrosc.*, 54(1), pp 45-51.
- [17] P. R. da S. Ribeiro, A. O. Santini, H. R. Pezza, L. Pezza (2003) "Potentiometric determination of captopril in pharmaceutical formulations" *Ecl. Quím.*, 28(1), pp 33-44.
- [18] P. Passamonti, V. Bartocci, F. Pucciarelli, (1987) "Determination of Captopril using adsorptive cathodic differential pulse stripping voltammetry with the HMDE" *J. Electroanal. Chem.*, 230, pp 99-105.
- [19] W. Siangproh, P. Ngamukot, O. Chailapakul, (2003) "Electrochemical determination of captopril at boron-doped diamond thin film electrode applied to a flow injection system" *Sens. Actuator, B*, 91, pp 60-66.
- [20] X. Ioannides, A. Economov, A. Voulgaropoulos. (2003). "A study of the determination of the hypertensive drug captopril by square wave cathodic adsorptive stripping voltammetry" *J. Pharm. Biomed Anal.* 33, pp 309-316.
- [21] H. Parham, B. Zargar (2005) "Square-wave voltammetric (SWV) determination of captopril in reconstituted serum and pharmaceutical formulations" *Talanta*, 65, pp 776–780.
- [22] G. K. Ziyatdinova, G. K. Budnikov, V. I. Pogoreltsev (2006) "Determination of captopril in pharmaceutical forms by stripping voltammetry" *J. Anal. Chem.*, Vol. 61(8), pp 798–800.
- [23] S. Shahrokhian, M. Karimi, H. Khajehsharifi. (2005), "Carbon-paste electrode modified with cobalt-5-nitroisalophen as a sensitive voltammetric sensor for detection of captopril" *Sens. Actuator, B.*, 109, pp 278–284.
- [24] R. Haggag, S. Belal, R. Shaalan. (2008) "Derivatization with 4-chloro-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazole for the spectrophotometric and differential pulse polarographic determination of acetylcysteine and captopril" *Sci. Pharm.*, 76, pp 33–48.
- [25] A.A. Ensafi, R. Hajian. (2008) "Simultaneous determination of captopril and thioguanine in pharmaceutical compounds and blood using cathodic adsorptive stripping voltammetry" *J. Braz. Chem. Soc.*, 19, pp 405-4012.
- [26] B. Rezaei, S. Damiri. (2008) "Voltammetric behavior of multi-walled carbon nanotubes modified electrode-hexacyanoferrate(II) electrocatalyst system as a sensor for determination of captopril" *Sens. Actuator, B.*, 134, pp 324–331.
- [27] H. Karimi-Maleh, A. A. Ensafi, A. R. Allafchian (2010). "Fast and sensitive determination of captopril by voltammetric method using ferrocenedicarboxylic acid modified carbon paste electrode" *J. Solid State Electrochem.*, 14, pp 9–15.

- [28] F. Armijo, I. Torres, R. Tapia, L. Molero, M. Antilen, R. del Rio, M. A. Valle, G. Ramirez. (2010) "Captopril electrochemical oxidation on fluorine-doped SnO₂ electrodes and their determination in pharmaceutical preparations" *Electroanalysis*, 22(19), pp 2269 – 2276.
- [29] A.A. Ensafi, H. Karimi-Maleh, S. Mallakpour, B. Rezaei (2011) "Highly sensitive voltammetric sensor based on catechol-derivative-multiwall carbon nanotubes for the catalytic determination of captopril in patient human urine samples" *Colloids Surf., B* 87, pp 480– 488.
- [30] S. C. Liang, H. Wang, Z. M. Zhang, X. Zhang, H. S. Zhang (2002) "Direct spectrofluorimetric determination of glutathione in biological samples using 5-maleimidyl-2-(*m*-methylphenyl) benzoxazole" *Anal. Chim. Acta*, 451, pp 211–219.
- [31] X. F. Guo, H. Wang, Y. H. Guo, H. S. Zhang. (2009) "Selective spectrofluorimetric determination of glutathione in clinical and biological samples using 1,3,5,7-tetramethyl-8-phenyl-(2-maleimide)-difluoroboradiaza-s-indacene" *Anal. Chim. Acta*, 633, pp 71–75.
- [32] G. K. Budnikov, G. K. Ziyatdinova, and Ya. R. Valitova. (2004) "Electrochemical determination of glutathione" *J. Anal. Chem.*, 59(6), pp 645–648.
- [33] P. Calvo-Marzal , K. Y. Chumbimuni-Torres , N. F. Höehr , L. T. Kubota (2006) "Determination of glutathione in hemolysed erythrocyte with amperometric sensor based on TTF-TCNQ" *Clin. Chim. Acta*, 371, pp 152–158.
- [34] M. K. Sezgintürk, E. Dinçkaya (2004) "An amperometric inhibitor biosensor for the determination of reduced glutathione (GSH) without any derivatization in some plants" *Biosens. Bioelectron.*, 19 pp 835–841.
- [35] A. Musenga, R. Mandrioli, P. Bonifazi, E. Kenndler, A. Pompei, M. A. Raggi. (2007) "Sensitive and selective determination of glutathione in probiotic bacteria by capillary electrophoresis–laser induced fluorescence" *Anal. Bioanal. Chem.*, 387, pp 917–924.
- [36] K. J. Huang, Q. S. Jing , C. Y. Wei, Y. Y. Wu (2011) "Spectrofluorimetric determination of glutathione in human plasma by solid-phase extraction using graphene as adsorbent" *Spectrochim. Acta, Part A*, 79, pp 1860– 1865.
- [37] S. Wang, H. Ma, J. Li, X. Chen, Z. Bao, S. Sun. (2006) "Direct determination of reduced glutathione in biological fluids by Ce(IV)–quinine chemiluminescence" *Talanta*, 70, pp 518–521.
- [38] R. Rellan-alvarez, L. E. Hernandez, J. Abadia, A. alvarez-Fernandez. (2006) "Direct and simultaneous determination of reduced and oxidized glutathione and homogluthathione by liquid chromatography–electrospray/mass spectrometry in plant tissue extracts" *Anal. Biochem.* 356, pp 254–264.
- [39] D. Potesil, J. Petrlova, V. Adama, J. Vacek, B. Klejdus, J. Zehnalek, L. Trnkova, L. Havel, R. Kizek (2005) "Simultaneous femtomole determination of cysteine, reduced and oxidized glutathione, and phytochelatin in maize (*Zea mays* L.) kernels using high-

performance liquid chromatography with electrochemical detection" *J. Chromatogr. A*, 1084 pp 134–144.

[40] J. Vacek, J. Petrek, R. Kizek, L. Havelb, B. Klejdusa, L. Trnkova, F. Jelen. (2004) "Electrochemical determination of lead and glutathione in a plant cell culture" *Bioelectrochemistry*, 63, pp 347–351.

[41] H. Tang, J. Chena, L. Nie, S. Yao, Y. Kuang. (2006) "Electrochemical oxidation of glutathione at well-aligned carbon nanotube array electrode" *Electrochim. Acta*, 51, pp 3046–3051.

[42] J. Chen, Z. He, H. Liu, C. Cha (2006) "Electrochemical determination of reduced glutathione (GSH) by applying the powder microelectrode technique" *J. Electroanal. Chem.*, 588, pp 324–330.

[43] J. C. Ndamanisha, J. Bai, B. Qi, L. Guo. (2008). "Application of electrochemical properties of ordered mesoporous carbon to the determination of glutathione and cysteine" *Anal. Biochem.*, 386, pp 79–84.

[44] J. Raoof, R. Ojani, M. Baghayeri. (2009) "Simultaneous electrochemical determination of glutathione and tryptophan on an nano-TiO₂/ferrocene carboxylic acid modified carbon paste electrode" *Sens. Actuators, B.*, 143, pp 261–269.

[45] S. Y. Chee, M. Flegel, M. Pumera. (2011) "Regulatory peptides desmopressin and glutathione voltammetric determination on nickel oxide modified electrodes" *Electrochem. Commun.*, 13, pp 963–965.

[۴۶] د. ا. اسکوگ، د. م. وست، ف. ج. هالر. (۱۳۷۶–۱۳۷۹). "مبانی شیمی تجزیه". ترجمه ویدا توسلی، هوشنگ خلیلی، علی معصومی. مرکز نشر دانشگاهی.

[۴۷] د. ا. اسکوگ، ج. هالر، ت. ا. نیمن. (۱۳۸۲–۱۳۸۳). "اصول تجزیه دستگاهی". ترجمه عبدالرضا سلاجقه. تهران. مرکز نشر دانشگاهی.

[48] A. J. Bard, L. R. Faulkner. (2001). "*Electrochemical Methods, Fundamentals and applications*", John Wiley & Sons. New York.

[49] D. A. Skoog, F. J. Holler, T. A. Nieman. (1998). "*Principles of Instrumental Analysis*", 5th Ed Saunders College Publishing, Philadelphia.

[۵۰] ج. ونگ، م. گلابی، م. مجیدی. (۱۳۸۰) "الکتروشیمی تجزیه‌ای" ویرایش دوم، انتشارات دانشگاه تبریز.

[۵۱] م. گلابی. (۱۳۸۲) "مقدمه‌ای بر الکتروشیمی تجزیه" چاپ دوم، انتشارات ستوده.

[۵۲] م. موسوی کوزه‌کنان. "روش‌های دستگاهی در الکتروشیمی". (۱۳۷۶)، انتشارات دانشگاه تربیت مدرس.

[53] R. S. Nicholson. (1965) "Theory and application of cyclic voltammetry for measurement of electrode reaction kinetics" *Anal. Chem.*, 37, pp 1351–1355.

[54] H. P. Dai, K. K. Shiu. (1996) "Voltammetric studies of electrochemical pretreatment of rotating-disc glassy-carbon electrodes in phosphate buffer" *J. Electroanal. Chem.*, 419, pp 7–14.

[55] L. Otero, N. Vettovazzi, C. Barbero, M. C. Mires, J. J. Silber, L. Sereno. (1993) "Electrochemical behavior of surface-modified glassy carbon electrodes obtained by electrochemical treatment. Its effect on the oxidation of aromatic amines in aqueous media" *J. Electroanal. Chem.*, 350, pp 251-265.

[56], Ju. Lurie. English translation . MIR Publishers. (1975) "*Handbook of Analytical chemistry*".

[57] "*Oxford dictionary of chemistry*", (2008). sixth Edition, Oxford university press.

[58] M. Lieder, C. W. Schlapfer (2001) "Novel preparation and electrochemical study of the dithiocarbamate polymer/thiuram disulfide redox system" *J. Appl. Electrochem.*, 31, pp 1321–1326

[59] C. Radovan, F. Manea, (2007) "Determination of sodium diethyldithiocarbamate in water by anodic voltammetry using a boron-doped diamond electrode" *Electroanalysis*, 19, pp 91–95.

[60] N. S. Lawrence, J. Davis, L. Jiang, T.G.J. Jones, S. N. Davies, R.G. Compton. (2000) "Selective determination of thiols: a novel electroanalytical approach" *Analyst*, 125, pp 661-663.

Simple and rapid electrochemical determination of captopril and glutathione

Abstract

In the first section, a simple and rapid method for captopril determination has been described based on irreversible electrochemical oxidation of captopril at glassy carbon electrode (GCE) using cyclic voltammetry technique. The anodic peak was observed at 0.19V (pH=5.0), following potential cycling in the potential range from -500mV to 500mV vs. Ag/AgCl reference electrode. The linear response was obtained in the range of 10 μ M-1mM. The limit of detection was found to be 6.7 μ M. This method specially is proper for determination of captopril in tablets dosage and urine sample.

In the second section, a simple and rapid method for glutathione determination has been described based on electrochemical oxidation of 1,4-diaminobenzene as a mediator at glassy carbon electrode (GCE) using cyclic voltammetry technique (phosphate buffer, pH=6). The anodic peak at 0.25V was increased in the presence of glutathione. So, we use 1,4-diaminobenzene as mediator for determination of glutathione. The linear response was obtained in the range of 5 μ M-600 μ M. The limit of detection was found to be 3.8 μ M.

Keywords: Cyclic Voltammetry, Glassy Carbon Electrode, Captopril, Glutathione, 1,4-diaminobenzene.



Shahrood University of Technology

Faculty of Chemistry

**Simple and rapid electrochemical determination
of captopril and glutathione**

Mohsen Gholinejad Malekshah

Supervisor:

Dr. Gh.A Bagherian Dehaghi

February 2012