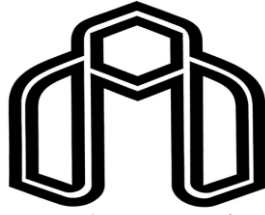


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه صنعتی شاهرود

دانشکده شیمی

پایان نامه کارشناسی ارشد شیمی تجزیه

**ساخت و مشخصه‌یابی یک حسگر الکتروشیمیایی برای اندازه‌گیری**

**مشتقات تیواوراسیل بر پایه افزایش مایکل**

دانشجو : سعید حامدی نژاد

استاد راهنما:

دکتر منصور عرب چم جنگلی

استاد مشاور:

دکتر قدمعلی باقریان دهقی

شهریور ۹۷

تقدیم به پدر و مادر عزیزم

خدای را بی شاکرم که از روی کرم پدر و مادری فداکار نصیم ساخته تا در سایه درخت پر بار وجودشان میسایم و از ریشه آنها شاخ و برگ بگیرم و از سایه وجودشان در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم.  
والدینی که بودشان تاج افتخاری است بر سرم و نامشان دلیلی است بر بودنم چرا که این دو وجود پس از پروردگار مایه هستی ام بوده اند و دستم را گرفتند و راه رفتن را در این وادی زندگی پر از فراز و نشیب آموختند.

آموزگاری که برایم زندگی؛ بودن و انسان بودن را معنا کردند

حال این برگ سبزی است تخمه درویش تقدیم آمان....

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگان

به پاس عاطفه سرشار و گرمای امید بخش وجودشان که در این سردترین روزگار ان بهترین پشتیبان است به پاس قلب های بزرگشان که فریاد رس است و سرگردانی و ترس در پناهشان به شجاعت می گراید و به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند.

این مجموعه را به پدر و مادر عزیزم تقدیم می کنم.

## تعهد نامه

اینجناب سعید حامدی نژاد دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته شیمی تجزیه دانشکده شیمی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه ساخت و مشخصه یابی یک حسگر الکتروشیمیایی

برای اندازه گیری مشتقات تیواوراسیل بر پایه افزایش مایکل تحت راهنمایی دکتر

منصور عرب چم جنگلی متعهد می شوم :

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

### تاریخ

### امضای دانشجو

#### مالکیت نتایج و حق نشر

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

## چکیده:

در این پایان‌نامه الکتروود کربن شیشه‌ای با کارموزین اصلاح و برای اندازه‌گیری مشتقات تیواوراسیل به کار برده شد. رفتار الکتروشیمیایی کتکول، در حضور مشتقات تیواوراسیل با کمک تکنیک‌های ولتامتری چرخه‌ای و پالس تفاضلی در pHهای ۹-۳ در سطح الکتروود اصلاح شده بررسی شد. در این مطالعه کارموزین به عنوان اصلاح‌گر به کمک تکنیک ولتامتری چرخه‌ای در سطح الکتروود تثبیت شد. یک مکانیسم ECE برای اکسیداسیون مشتقات تیواوراسیل در سطح الکتروود اصلاح شده پیشنهاد شد. پارامترهای شیمیایی و دستگاهی مورد بررسی قرار گرفت و برای اندازه‌گیری مشتقات تیواوراسیل بهینه شد. در این تحقیق اصلاح الکتروود باعث تفکیک دماغه‌های آندی مربوط به کتکول و محصول می‌گردد و جریان زمینه در پتانسیل اکسایش دماغه آندی محصول کاهش می‌یابد و با توجه به اینکه از شدت جریان دماغه آندی محصول برای اندازه‌گیری مشتقات تیواوراسیل استفاده می‌شود این امر باعث بهبود حد تشخیص می‌گردد. اثر داروهای مختلف مانند: ال-استیل سیستئین، کاپتوپریلیوم، ال-گلوکاتینون در اکسیداسیون الکتروشیمیایی کتکول در شرایط بهینه بررسی شد. نتایج به دست آمده نشان دهنده اثر مشتقات تیواوراسیل بر بهبود جریان پیک آندی کتکول است. محدوده خطی برای ۴-متیل-۲-تیواوراسیل با استفاده از ولتامتری پالس تفاضلی، از ۰/۰۶ تا ۲/۰۰ میکرومولار با حد تشخیص ۰/۰۵ میکرومولار است. همچنین محدوده خطی برای ۲-تیواوراسیل از ۰/۰۴ تا ۱/۵۰ میکرومولار با حد تشخیص ۰/۰۲ میکرومولار بدست آمد. در نهایت توانایی این حسگر برای اندازه‌گیری مشتقات تیواوراسیل در نمونه‌های حقیقی مانند سرم خون و آب شهر توسط روش ولتامتری پالس تفاضلی مورد ارزیابی قرار گرفت.

**کلمات کلیدی:** ۴-متیل-۲-تیواوراسیل - ۲-تیواوراسیل - کتکول - ولتامتری چرخه‌ای -

ولتامتری پالس تفاضلی -

## فهرست مطالب:

مقدمه	۱
۱ بخش تئوری	۲
۱-۱ مقدمه	۲
۱-۱-۱ واکنش‌های الکتروشیمیایی	۲
۲-۱ جنس الکترودها	۴
۱-۲-۱ الکترودهای کربن شیشه‌ای	۵
۳-۱ الکترولیت حامل و حلال	۶
۴-۱ سل الکتروشیمیایی	۶
۵-۱ فرآیندهای انتقال جرم و مبادله الکترون	۷
۱-۵-۱ انتشار	۷
۲-۵-۱ مهاجرت	۸
۳-۵-۱ همرفت	۸
۱-۶ الکترودهای اصلاح شده شیمیایی (CMEs)	۹
۱-۶-۱ اصلاح الکترودها به روش جذب سطحی شیمیایی	۹
۲-۶-۱ اصلاح الکترودها به روش هتروژن	۱۰
۳-۶-۱ اصلاح الکترودها به روش پیوند کووالانسی	۱۰
۴-۶-۱ اصلاح الکترودها به روش پلیمریزاسیون در محل	۱۱
۷-۱ مواد اصلاح کننده	۱۱
۱-۷-۱ رنگ‌های آزو و کاربردها	۱۱

۸-۱ واکنش‌های افزایش مایکل و کاربرد آن‌ها در الکتروشیمی ..... ۱۲

۹-۱ تکنیک‌های مختلف الکتروشیمیایی ..... ۱۳

۱-۹-۱ ولتامتری چرخه‌ای ..... ۱۴

۲-۹-۱ مطالعه مکانیسم واکنش‌ها ..... ۱۵

۳-۹-۱ کروئوآمپرومتری ..... ۱۶

۴-۹-۱ طیف‌بینی امپدانس الکتروشیمیایی ..... ۱۸

۱۰-۱ اهمیت اندازه‌گیری مشتقات تیواوراسیل و مروری بر مطالعات پیشین ..... ۱۸

**فصل دوم بخش تجربی** ..... ۲۳

۱-۲ مواد و دستگاه‌های مورد استفاده ..... ۲۴

۲-۲ تهیه محلول‌ها ..... ۲۶

۳-۲ تهیه الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با کارموزین ..... ۲۶

۴-۲ معرفی سیستم الکتروشیمیایی مورد استفاده برای اندازه‌گیری ۴-متیل-۲-تیواوراسیل ..... ۲۸

۵-۲ بررسی و مشخصه‌یابی الکتروود اصلاح شده ..... ۳۰

۱-۵-۲ بررسی مورفولوژی سطح الکتروود ..... ۳۰

۲-۵-۲ اندازه‌گیری مساحت سطح الکتروودهای اصلاح شده و اصلاح نشده با کروئوآمپرومتری ..... ۳۱

۳-۵-۲ بررسی رفتار و تعیین غلظت کارموزین در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای ..... ۳۵

۴-۵-۲ مطالعات طیف‌بینی امپدانس الکتروشیمیایی در سطح الکتروودهای مختلف ..... ۳۷

۵-۵-۲ بررسی حساسیت الکتروود اصلاح شده در اندازه‌گیری ۴-متیل-۲-تیواوراسیل ..... ۳۸

۶-۵-۲ بهینه‌سازی شرایط آزمایش ..... ۳۹

۱-۶-۵-۲ بررسی اثر pH ..... ۳۹

- ۴۱ ..... ۲-۵-۶-۲ بررسی نوع بافر.....
- ۴۲ ..... ۲-۵-۶-۳ بررسی حجم بافر.....
- ۴۴ ..... ۲-۵-۶-۴ بررسی غلظت کتکول.....
- ۴۵ ..... ۲-۵-۶-۵ بررسی زمان اعمال پتانسیل.....
- ۴۷ ..... ۲-۵-۶-۶ بررسی پتانسیل اعمال شده جهت انجام واکنش مایکل.....
- ۴۹ ..... ۲-۵-۶-۷ بررسی اثر محیط.....
- ۵۰ ..... ۲-۵-۶-۸ بررسی غلظت سود.....
- ۵۲ ..... ۲-۵-۶-۹ بررسی غلظت کارموزین.....
- ۵۴ ..... ۲-۵-۶-۱۰ بررسی تعداد چرخه‌های اصلاح الکتروود.....
- ۵۶ ..... ۲-۵-۶-۱۱ بررسی سرعت روبش با تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی.....
- ۵۸ ..... ۲-۵-۶-۱۲ بررسی ارتفاع پالس.....
- ۶۰ ..... ۲-۵-۷-۷ بررسی پارامترهای تجزیه‌ای در اندازه‌گیری مشتقات تیواوراسیل.....
- ۶۰ ..... ۲-۵-۸-۸ بررسی الکتروشیمیایی اکسایش ۴-متیل-۲-تیواوراسیل.....
- ۶۰ ..... ۲-۵-۸-۱ بررسی تاثیر تغییر pH محیط بر اکسایش ۴-متیل-۲-تیواوراسیل.....
- ۶۱ ..... ۲-۵-۸-۲ بررسی تاثیر تغییر سرعت روبش پتانسیل بر اکسایش ۴-متیل-۲-تیواوراسیل.....
- ۲-۵-۸-۳ منحنی کالیبراسیون و تعیین ناحیه خطی و حد تشخیص برای مشتقات تیواوراسیل.....
- ۶۴ ..... ۲-۵-۸-۴ تیواوراسیل.....
- ۶۷ ..... ۲-۵-۸-۴ بررسی تکرارپذیری و تکثیرپذیری.....
- ۶۸ ..... ۲-۵-۸-۵ بررسی دقت و صحت روش.....



۶۹	..... بررسی پایداری الکتروود اصلاح شده با کارموزین
۷۰	..... بررسی مزاحمت‌ها
۷۱	..... آنالیز نمونه‌های حقیقی
۷۱	..... نمونه سرم خون
۷۲	..... نمونه آب شهر
۷۵	..... فصل سوم- نتیجه‌گیری و آینده‌نگری
۷۶	..... نتیجه‌گیری
۷۷	..... آینده‌نگری
۷۸	..... مراجع

### فهرست اشکال

۷	..... شکل ۱-۱ نمایشی از سل الکتروشیمیایی برای اندازه‌گیری های ولتامتری
۱۲	..... شکل ۲-۱ ساختار شیمیایی کارموزین
۱۳	..... شکل ۳-۱ طرح واکنش افزایش مایکل
۱۴	..... شکل ۴-۱ پروفیل‌های پتانسیل-زمان برای ولتامتری چرخه‌ای [۳]
۱۴	..... شکل ۵-۱ ولتاموگرام چرخه‌ای برای فرایند برگشت‌پذیر [۳]
۱۵	..... شکل ۶-۱ مسیر عمومی واکنش الکتروودی
	..... شکل ۷-۱ (الف) پله پتانسیل اعمال شده، گونه O در پتانسیل E2 با سنتیک تحت کنترل نفوذ
	..... احیا می‌شود، (ب) پروفایل غلظت در زمان‌های بعد از اعمال پتانسیل، (پ) جریان بر حسب زمان ... ۱۷
۱۹	..... شکل ۸-۱ (a) ۴-متیل ۲-تیواوراسیل (b) پروپیل تیواوراسیل (c) ۲-تیواوراسیل
	..... شکل ۱-۲ ولتاموگرام‌های چرخه‌ای متوالی محلول حاوی ۰/۰۰۱ مولار کارموزین و ۰/۲۰ مولار

سود، ۱۰ روبش متوالی در محدوده ۰/۳- تا ۱/۰+ ولت نسبت به الکتروود مرجع نقره/نقره کلرید در سطح GCE با سرعت ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه..... ۲۷

شکل ۲-۲ (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای مربوط به ۰/۲ میلی‌مولار کتکول در بافر فسفاتی با pH=۷/۰ در بازه ۰/۰ تا ۱/۰ ولت (\_\_\_)، ۰/۲ میلی‌مولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل (\_\_\_) و محلول حاوی ۰/۲ میلی‌مولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۲ میلی‌مولار کتکول (----) در حضور زمان اعمال پتانسیل. سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه، اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی‌ولت به مدت ۲۴۰ ثانیه. (ب) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای مربوط به ۰/۲ میلی‌مولار کتکول در بافر فسفاتی با pH=۷/۰ در بازه ۰/۰ تا ۱/۰ ولت (\_\_\_)، ۰/۲ میلی‌مولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل (\_\_\_) و محلول حاوی ۰/۲ میلی‌مولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۲ میلی‌مولار کتکول (----) در غیاب زمان اعمال پتانسیل. سرعت روبش ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه..... ۲۹

شکل ۳-۲ ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی مربوط به محلول حاوی ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و کتکول در بافر فسفاتی با pH=۷/۰ در زمان‌های اعمال پتانسیل (۱) ۸۰ (۲) ۱۶۰ (۳) ۲۴۰ ثانیه..... ۲۹

شکل ۴-۲ مکانیسم پیشنهادی برای واکنش الکتروودی روی سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین..... ۳۰

شکل ۵-۲ تصاویر SEM: (الف) الکتروود کربن شیشه‌ای برهنه. (ب) الکتروود کربن شیشه‌ای قرار گرفته در محیط سود بدون اصلاحگر. (پ) الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با کارموزین..... ۳۱

شکل ۶-۲: (الف) کروئوآمپروگرام الکتروود اصلاح شده با کارموزین در محلول KCl ۰/۱ مولار با غلظت‌های مختلف از  $K_4[Fe(CN)_6]$ : (الف) ۰/۰، (ب) ۰/۰۰۱، (پ) ۰/۰۰۲، (ت) ۰/۰۰۳ و (ث) ۰/۰۰۴ مولار. پله پتانسیل آندی: ۰/۳۵ ولت نسبت به الکتروود شاهد. (ب) کروئوآمپروگرام الکتروود کربن شیشه‌ای قرار گرفته در محیط سود بدون اصلاحگر در محلول KCl ۰/۱ مولار با غلظت‌های مختلف از  $K_4[Fe(CN)_6]$ : (الف) ۰/۰، (ب) ۰/۰۰۱، (پ) ۰/۰۰۲، (ت) ۰/۰۰۳ و (ث) ۰/۰۰۴ مولار. پله پتانسیل آندی: ۰/۳۵ ولت نسبت به الکتروود شاهد. (ج) کروئوآمپروگرام الکتروود کربن شیشه‌ای برهنه در

محلول KCl ۰/۱ مولار با غلظت‌های مختلف از  $K_4[Fe(CN)_6]$ : (الف) غیاب، (ب) ۰/۰۰۱، (پ) ۰/۰۰۲، (ت) ۰/۰۰۳ و (ث) ۰/۰۰۴ مولار. پله پتانسیل آندی: با ۰/۳۵ ولت نسبت به الکتروود شاهد. .... ۳۲

شکل ۷-۲ نمودار تغییرات  $i-t^{-1/2}$ ، مربوط به کروئوآمپروگرام‌های (ب-ث) مربوط به قسمت (الف) (ناج) است. .... ۳۳

شکل ۸-۲ نمودار شیب خطوط  $i-t^{-1/2}$  بر حسب غلظت  $K_4[Fe(CN)_6]$ . .... ۳۴

شکل (۹-۲): نمودار تغییرات شدت جریان آندی بر حسب سرعت روبش. .... ۳۶

شکل ۱۰-۲ (الف) نمودار نایکوئیست در سطح الکتروود GC اصلاح نشده و الکتروود GC اصلاح شده با کارموزین در محلول ۰/۰۰۵ مولار  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$  حاوی ۰/۱۰ مولار KCl. محدوده فرکانس ۰/۱ تا  $100000 \text{ Hz}$ . (ب) نمایش طرح نموداری مدار معادل شده. .... ۳۸

شکل ۱۱-۲ ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی مربوط به شاهد (.....) و محصول در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای برهنه ( \_ \_ ) و الکتروود کربن شیشه با اعمال ۱۰ چرخه در محلول سود ۰/۲۰ مولار (----) و الکتروود کربن شیشه اصلاح شده با کارموزین ( \_ ) در حضور ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و کتکول ۰/۲ میلیمولار در بافر فسفات  $\text{pH} = 7.0$  سرعت روبش ۲۰ میلی ولت بر ثانیه، اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت به مدت ۲۴۰ ثانیه. .... ۳۹

شکل ۱۲-۲ نمودار تغییرات جریان آندی بر حسب pH بافر فسفات برای محلول حاوی ۶/۰۰ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۰۶۷ مولار، ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۱۰ میلیمولار کتکول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین به روش ولتامتری پالس تفاضلی. سرعت روبش ۲۰/۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت به مدت ۸۰ ثانیه. .... ۴۱

شکل ۱۳-۲ نمودار تغییرات جریان آندی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب حجم بافر فسفات ۰/۰۶۷ مولار با  $\text{pH} = 7.0$ ، برای محلول حاوی ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۱۰ میلی مولار کتکول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین. سرعت روبش ۲۰/۰

میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت به مدت ۸۰ ثانیه. ۴۳

شکل ۲-۱۴ نمودار تغییرات جریان آندی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب غلظت کتکول برای محلول حاوی ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با  $\text{pH}=7/0$ ، ۱/۰۰ میکرومولار ۲-۴-تیواوراسیل در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین. سرعت روبش ۲۰/۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت به مدت ۸۰ ثانیه. ۴۵

شکل ۲-۱۵ نمودار تغییرات جریان آندی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب زمان برای محلول حاوی ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با  $\text{pH}=7/0$ ، ۱/۰۰ میکرومولار ۲-۴-تیواوراسیل و ۰/۲۰ میلیمولار کتکول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین. سرعت روبش ۲۰/۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت. .... ۴۷

شکل ۲-۱۶ نمودار تغییرات جریان آندی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب پتانسیل برای محلول حاوی ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با  $\text{pH}=7/0$ ، ۱/۰۰ میکرومولار ۲-۴-تیواوراسیل و ۰/۲۰ میلیمولار کتکول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین. سرعت روبش ۲۰/۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و مدت ۲۴۰ ثانیه. .... ۴۸

شکل ۲-۱۷ نمودار تغییرات جریان آندی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب محیط برای محلول حاوی ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با  $\text{pH}=7/0$ ، ۱/۰۰ میکرومولار ۲-۴-تیواوراسیل و ۰/۲۰ میلیمولار کتکول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین. سرعت روبش ۲۰/۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت به مدت ۲۴۰ ثانیه. .... ۵۰

شکل ۲-۱۸ نمودار تغییرات جریان آندی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب غلظت سود برای محلول حاوی ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با  $\text{pH}=7/0$ ، ۱/۰۰ میکرومولار ۲-۴-تیواوراسیل و ۰/۲۰ میلیمولار کتکول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین. سرعت روبش ۲۰/۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و اعمال پتانسیل ۲۰۰

میلی ولت به مدت ۲۴۰ ثانیه. .... ۵۲

شکل ۱۹-۲ نمودار تغییرات جریان آندی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب

غلظت کارموزین برای محلول حاوی ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتتی ۰/۰۶۷ مولار با  $\text{pH}=7/0$ ، ۱/۰۰

میکرومولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۲۰ میلی مولار کتکول در سطح الکترودهای اصلاح شده با

غلظت‌های متفاوت از کارموزین. سرعت روبش ۲۰/۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و

اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت به مدت ۲۴۰ ثانیه. .... ۵۴

شکل ۲۰-۲ نمودار تغییرات جریان آندی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب

تعداد چرخه های اصلاح الکتروود برای محلول حاوی ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتتی ۰/۰۶۷ مولار با

$\text{pH}=7/0$ ، ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۲۰ میلی مولار کتکول در سطح الکتروود

اصلاح شده با کارموزین. سرعت روبش ۲۰/۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و اعمال

پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت به مدت ۲۴۰ ثانیه. .... ۵۶

شکل ۲۱-۲ نمودار تغییرات جریان آندی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب

سرعت روبش برای محلول حاوی ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتتی ۰/۰۶۷ مولار با  $\text{pH}=7/0$ ، ۱/۰۰

میکرومولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۲۰ میلی مولار کتکول در سطح الکتروود اصلاح شده با

کارموزین. ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت به مدت ۲۴۰ ثانیه. .... ۵۸

شکل ۲۲-۲ نمودار تغییرات جریان آندی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب

ارتفاع پالس ..... ۵۹

شکل ۲۳-۲ (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای محلول حاوی ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-

تیواوراسیل و ۰/۲۰ میلی مولار کتکول در بافر فسفاتتی ۰/۰۶۷ مولار با pH های مختلف در سطح

الکتروود اصلاح شده با سرعت روبش ۱۰۰ mV/s، (الف) تا (چ) به ترتیب در pH های : ۳/۰، ۴/۰، ۵/۰،

۶/۰، ۷/۰، ۸/۰، ۹/۰. (ب) نمودار تغییرات پتانسیل محصول بر حسب pH. .... ۶۱

شکل ۲۴-۲ (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در محلول بافر فسفاتتی ۰/۰۶۷ مولار با  $\text{pH}=7/0$

حاوی ۰/۲۰ میلی مولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۲۰ میلی مولار کتکول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین به ترتیب از پایین به بالا سرعتهای روبش الف تا ج: ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ میلی ولت بر ثانیه می باشد. (ب) تغییرات  $I_{pv1/2}$  بر حسب سرعت روبش. (پ) نمودار تغییرات شدت جریان دماغه محصول بر حسب جذر سرعت روبش (ت) نمودار تغییرات شدت جریان دماغه احیای بر حسب سرعت روبش پتانسیل. .... ۶۳

شکل ۲-۲۵ نمودار تغییرات شدت جریان اکسایش بر حسب غلظت ۴-متیل-۲-تیواوراسیل .. ۶۶

شکل ۲-۲۶ نمودار تغییرات شدت جریان اکسایش بر حسب غلظت ۲-تیواوراسیل. .... ۶۷

شکل ۲-۲۷ بررسی پایداری الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با کارموزین. .... ۷۰

### فهرست جداول

جدول ۱-۱	آزمون‌های تشخیصی برای واکنش‌های ECE	۱۶
جدول ۱-۲	دستگاه‌های مورد استفاده در آزمایشات	۲۵
جدول ۲-۲	مواد شیمیایی استفاده شده در آزمایشات	۲۵
جدول ۳-۲	نتایج حاصل از بررسی غلظت کارموزین در سطح الکتروود	۳۵
جدول ۴-۲	نتایج حاصل از بررسی pH	۴۰
جدول ۵-۲	نتایج حاصل از بررسی نوع بافر	۴۲
جدول ۶-۲	نتایج حاصل از بررسی حجم بافر	۴۳
جدول ۷-۲	نتایج حاصل از بررسی غلظت کتکول	۴۴
جدول ۸-۲	نتایج حاصل از بررسی زمان	۴۶
جدول ۹-۲	نتایج حاصل از بررسی پتانسیل	۴۸
جدول ۱۰-۲	نتایج حاصل از بررسی محیط سنتز	۵۰
جدول ۱۱-۲	نتایج حاصل از بررسی غلظت سود	۵۱

- جدول ۱۲-۲ نتایج حاصل از بررسی غلظت کارموزین..... ۵۳
- جدول ۱۳-۲ نتایج حاصل از بررسی تعداد چرخه‌های اصلاح الکتروود..... ۵۵
- جدول ۱۴-۲ نتایج حاصل از بررسی سرعت روبش..... ۵۷
- جدول ۱۵-۲ نتایج حاصل از بررسی ارتفاع پالس..... ۵۹
- جدول ۱۶-۲ شدت جریان‌های آندی و کاتدی در سرعت روبشهای پتانسیل متفاوت در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با  $pH=7/0$  حاوی ۰/۲ میلیمولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۲۰ میلیمولار کتکول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین به وسیله ولتامتری چرخه‌ای..... ۶۲
- جدول ۱۷-۲ داده‌های مربوط به منحنی کالیبراسیون ۴-متیل-۲-تیواوراسیل..... ۶۵
- جدول ۱۸-۲ داده‌های مربوط به منحنی کالیبراسیون ۲-تیواوراسیل..... ۶۶
- جدول ۱۹-۲ نتایج تکرارپذیری الکتروود اصلاح شده با کارموزین، ساخته شده در سه روز مختلف برای اندازه‌گیری ۴-متیل-۲-تیواوراسیل ۱/۰۰ میکرومولار در بافر فسفاتی  $pH=7/0$  همراه با کتکول ۰/۲۰ میلیمولار توسط تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی..... ۶۸
- جدول ۲۰-۲ تحلیل واریانس داده‌های مربوط به اندازه‌گیری ۴-متیل-۲-تیواوراسیل توسط الکتروودهای مختلف در روزهای مختلف توسط روش ولتامتری پالس تفاضلی..... ۶۸
- جدول ۲۱-۲ نتایج دقت و صحت روش برای اندازه‌گیری ولتامتری پالس تفاضلی محلول استاندارد ۴-متیل-۲-تیواوراسیل در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین..... ۶۹
- جدول ۲۲-۲ بررسی تاثیر حضور گونه‌های آزمایشی مختلف بر شدت جریان دماغه آندی محصول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین..... ۷۱
- جدول ۲۳-۲ نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری ۴-متیل-۲-تیواوراسیل در نمونه سرم خون..... ۷۲
- جدول ۲۴-۲ نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری ۴-متیل-۲-تیواوراسیل در نمونه آب شهر..... ۷۳
- جدول ۲۵-۲ مقایسه الکتروود اصلاح شده پیشنهادی با برخی الکتروودهای اصلاح شده مختلف..... ۷۳





# فصل اول

## مقدمه

## ۱ بخش تئوری

### ۱-۱ مقدمه

تکنیک‌های الکتروشیمیایی، به تاثیر متقابل الکتریسته و شیمی مربوط می‌باشد. در این روش‌ها کمیت‌های الکتریکی مانند جریان، پتانسیل یا بار، اندازه‌گیری شده و ارتباط آن‌ها با پارامترهای شیمیایی تعیین می‌شود. اندازه‌گیری‌های الکتروشیمیایی برای اهداف تجزیه‌ای، اخیراً کاربردهای بسیاری پیدا کرده که از جمله آن‌ها می‌توان به مواد زیست محیطی، کنترل کیفیت و آنالیزهای بیودارویی اشاره کرد [۱].

قدمت مطالعات الکتروشیمیایی ترکیبات آلی، به بیش از ۱۵۰ سال می‌رسد. روش‌های الکتروشیمیایی از جهت تکیه بر پدیده انتقال الکترون ناهمگن، منحصر بفرد می‌باشد. زیرا الکتروود به عنوان کاتالیزوری عمل می‌کند که به راحتی قابل بازیابی است. در این روش‌ها، بدون استفاده از معرف‌های شیمیایی، الکتروود می‌تواند به عنوان یک عامل اکسنده یا کاهنده عمل نماید، در حالیکه قدرت اکسندگی و کاهندگی آن به راحتی از طریق تنظیم پتانسیل قابل کنترل است [۲].

### ۱-۱-۱ واکنش‌های الکتروشیمیایی

واکنش‌های الکتروشیمیایی به بخش عمده‌ای از فرآیندهای مبادله‌ی الکترون گفته می‌شوند که در سطح مشترک الکتروود و محلول انجام می‌گیرد. الکتروودها، اجزای رسانایی هستند که نقش دهنده یا گیرنده الکترون را در جریان واکنش‌های الکتروشیمیایی ایفا می‌کنند. هر الکتروودی که بتواند در نقش دهنده الکترون عمل کند در سطح آن واکنش احیاء یا کاهش انجام می‌گیرد. چنین الکتروودی را بنا به قرارداد کاتد می‌نامند. بر عکس الکتروودی که بتواند نقش گیرنده‌ی الکترون را ایفا کند جایگاه واکنش اکسیداسیون یا اکسایش بوده و آند نام دارد.

از جمله مزایای واکنش‌های الکتروشیمیایی به شرح زیر است :

الف ) سرعت یک واکنش الکتروشیمی به پتانسیلی بستگی دارد که الکترون مبادله می‌شود. نقش پتانسیل می‌تواند مطابق عملکرد درجه حرارت در واکنش‌های شیمیایی در فاز یکنواخت تلقی شود. به بیان دیگر برای افزایش سرعت یک واکنش الکتروشیمی به جای افزایش درجه حرارت کافی است که پتانسیل اعمال شده را در اکسیداسیون‌ها افزایش و در واکنش‌های کاتدی کاهش داد.

ب ) یک روش الکتروشیمیایی می‌تواند انتخابی باشد. زمانی که یک مولکول دارای یک یا چند عامل باشد که می‌توانند در مراحل مختلف، اکسید و یا کاهش یابند در این حالت بسیار مشکل است که بتوان یک اکسید کننده و یا کاهنده شیمیایی را پیدا نمود که دارای نقش انتخابی باشد، یعنی به کمک آن بتوان واکنش اکسیداسیون و احیاء را، تنها تا مرحله دلخواهی پیشرفت داد و بدین ترتیب موادی را بدست آورد که تهیه آنها بسیار مشکل و یا حتی به روش‌های دیگر امکان پذیر نمی‌باشد.

ج ) معمولاً جداسازی و خالص‌سازی محصولات واکنش بعد از اجرای الکترولیز آسان می‌باشد زیرا به منظور اجرای واکنش اکسیداسیون و یا کاهش از مواد شیمیایی استفاده نمی‌شود و همچنین راه اندازی یک روش الکتروشیمیایی ارزانتر از روش‌های شیمیایی می‌باشد، زیرا به منظور اجرای واکنش‌های شیمیایی به کاهنده‌هایی نظیر هیدرورها و اکسید کننده‌هایی نظیر  $Pb(CH_3CO_2)_4$  احتیاج می‌باشد.

د ) کاربرد تکنیک‌های الکتروشیمیایی باعث انجام روش‌های انتخابی در مطالعه مکانیسم واکنش‌های اکسیداسیون و یا کاهش می‌شود. در این خصوص کاربرد الکتروشیمی، اهمیت فراوان پیدا می‌کند. شناخت تعداد و ماهیت واکنش‌های انجام یافته در مراحل مختلف، امکان می‌دهد که نقش انتخابی یک مرحله را مشخص و در نتیجه بهره واکنش اکسیداسیون و یا کاهش را در مرحله مورد نظر، در صورت امکان بالا برد.

و به طور کلی می توان مزایای زیر را نام برد :

- ۱- تکنیکی است که به نحو بهتری می تواند مواد خیلی فعال نظیر رادیکال های خنثی و یا رادیکال های باردار، کربوکاتیون ها و کربوآنیون ها را تولید سازد.
- ۲- در واکنش های الکتروشیمیایی انتخاب محیط برای اجرای الکترولیز خیلی آسان تر از روش شیمیایی می باشد زیرا اکسنده یا کاهنده ای به عنوان معرف بکار برده نمی شود، تا قابلیت انحلال آن ها مطرح باشد [۳].

## ۲-۱ جنس الکترودها

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

پنجره پتانسیل، هدایت الکتریکی، سطح تکرارپذیر، خصوصیات مکانیکی، قیمت مناسب، قابل دسترس بودن و سمی نبودن [۱]. جنس الکترودها می تواند شامل موارد زیر باشد:

فلزات جامد (مانند Pt, Au)، فلزات مایع (Hg, amalgams)، کربن (گرافیت) و نیمه رسانا-ها (اکسید ایندیم-قلع، سیلیسیم) [۴].

متداول ترین الکتروده کار، الکتروده پلاتین است. پلاتین به این دلیل مورد استفاده قرار می گیرد که نسبتاً بی اثر است. بدین معنی که در بسیاری از واکنش ها شرکت نمی کند. وقتی پلاتین به عنوان الکتروده به کار گرفته می شود، فقط به منظور مبادله الکترون ها با گونه های فعال موجود در محلول است. در مواردی که پلاتین با محلول الکترولیت واکنش می نماید، الکتروده طلا معمولاً به کار گرفته می شود. طلا از لحاظ فعالیت الکتروشیمیایی، بی اثرتر از پلاتین است. انواع مختلف کربن نیز به طور

وسیعی به عنوان الکترودهای شناساگر مورد استفاده قرار می‌گیرند. زیرا که سرعت بسیاری از واکنش‌های اکسایشی-کاهشی بر روی سطح کربن زیاد می‌باشد. برای تمیز کردن سطح یک الکتروده معمولاً آن را به مدت کوتاه در نیتریک اسید غلیظ فرو برده و سپس بلافاصله با آب شستشو می‌دهند.

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

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

از آنجائیکه ما در کارهای خود بیشتر از الکتروده کربن شیشه‌ای استفاده کرده‌ایم به توضیح در مورد این الکتروده می‌پردازیم.

## ۱-۲-۱ الکتروده کربن شیشه‌ای

این نوع الکتروده به علت خصوصیات مکانیکی و الکتریکی مطلوب، پنجره پتانسیل بزرگ، بی‌اثر بودن شیمیایی (در حلال حل نمی‌شود) و تکرارپذیری نسبی در عملکرد بسیار معمول می‌باشد.

ماده سازنده این الکتروده با یک برنامه حرارتی دقیق، از یک رزین پلیمری (فنل-فرمالدهید) در اتمسفر بی‌اثر تهیه می‌شود [۶]. البته به منظور ایجاد یک سطح فعال و تکرارپذیر برای الکترودهای کربن شیشه‌ای، بر روی سطح آن فرآیند آماده‌سازی انجام می‌شود تا کارایی تجزیه‌ای آن‌ها افزایش یابد [۷،۸]. منظور از آماده‌سازی، معمولاً سایش دادن سطح الکتروده بر روی سطح مخصوص سایش است. سپس الکتروده توسط آب مقطر قبل از استفاده شسته می‌شود.

## ۳-۱ الکترولیت حامل و حلال

اندازه‌گیری‌های الکتروشیمیایی معمولاً در حلالی که شامل یک الکترولیت حامل است انجام می‌شوند. انتخاب حلال در ابتدا بستگی به حلالیت آنالیت و فعالیت اکسایشی-کاهش‌ی آن دارد و بر اساس خصوصیات چون هدایت الکتریکی، فعالیت الکتروشیمیایی و واکنش‌پذیری شیمیایی انتخاب می‌شود. حلال نباید با آنالیت (یا محصول) واکنش دهد و نباید در محدوده وسیعی از پتانسیل درگیر واکنش-های الکتروشیمیایی شود.

هر چند رایج‌ترین حلال آب است، ولی از حلال‌های غیر آبی (نظیر استونیتریل، پروپیلن کربنات، DMF، DMSO، یا متانول) نیز استفاده می‌شود. ترکیبی از حلال‌های فوق نیز در موارد خاص کاربرد دارند. آب دو بار تقطیر برای اکثر آزمایشات در محیط آبی مناسب است. آب سه بار تقطیر در موارد آنالیز مقادیر ناچیز (با تکنیک Stripping) به کار می‌آید. حلال‌های آلی اغلب نیاز به فرآیند آبزدایی و خالص‌سازی دارند [۹].

الکترولیت‌های کمکی در آزمایشات کنترل پتانسیل ضروری هستند تا مقاومت محلول را کاهش دهند و اثرات مربوط به مهاجرت گونه‌ها را حذف کرده و از طرفی قدرت یونی محلول را ثابت نگه دارند.

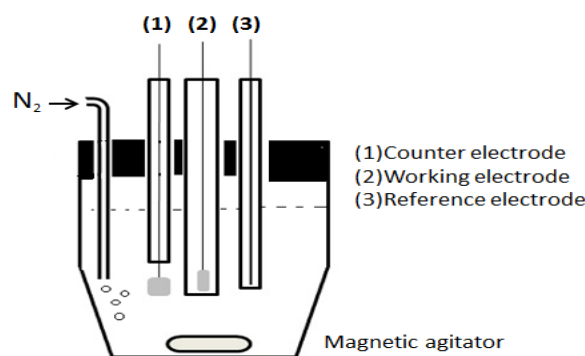
الکترولیت‌های کمکی بی‌اثر می‌توانند یک نمک معدنی، یک اسید معدنی یا یک بافر باشند. در محیط‌های آبی، پتاسیم کلرید، پتاسیم نیترات، آمونیوم کلراید، سدیم هیدروکسید یا اسید هیدروکلریک به عنوان الکترولیت کمکی بکار می‌روند و در محیط‌های آلی از نمک‌های تترا آلکیل آمونیوم استفاده می‌شود. سیستم‌های بافری در مواردی که نیاز به کنترل pH است مفید می‌باشند.

## ۴-۱ سل الکتروشیمیایی

در بیشتر واکنش‌ها از دو نوع سل تفکیک شده و تفکیک نشده استفاده شده است، اما در کل،

طراحی سل‌ها براساس نوع واکنشی است که انجام می‌شود.

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



شکل ۱-۱ نمایی از سل الکتروشیمیایی برای اندازه‌گیری های ولتامتری

الکتروود مرجع =re =الکتروود کار =ce =الکتروود کمکی

## ۵-۱ فرآیندهای انتقال جرم و مبادله الکترون

در بررسی واکنش‌های مبادله الکترون در الکتروودها اصولاً با لایه‌ای از محلول که بسیار نزدیک به سطح الکتروود می‌باشد سر و کار داریم. باید توجه داشت که یک اکسید کننده و یا احیاء کننده در محلول مجبور است به هر طریقی خود را به نزدیکی الکتروود برساند، راه‌های متعددی برای انجام این کار وجود دارد که فرآیندهای انتقال جرم نام دارند. در سیستم‌های الکتروشیمیایی باید به سه طریق انتقال جرم توجه کرد.

### ۱-۵-۱ انتشار

انتشار، تحرک یک گونه بر اثر گرادیان غلظت است و قاعدتاً زمانی رخ می‌دهد که یک تغییر شیمیایی در سطح الکتروود به وجود آید. واکنش الکتروودی ماده اولیه را به محصول نهایی تبدیل

می کند (  $O \rightarrow R$  ) و در نتیجه همواره در مجاورت سطح الکتروود، یک لایه مرزی به ضخامت کمتر از  $10^{-2}$  سانتیمتر پدید می آید که در آن غلظت های  $O$  و  $R$  تابعی از فاصله از سطح الکتروود است، غلظت  $O$  در سطح الکتروود کمتر از درون محلول است، در صورتیکه در مورد  $R$  عکس این حالت وجود دارد و در نتیجه به علت انتشار،  $O$  به سمت الکتروود و  $R$  به دور از الکتروود ( به سمت محلول ) منتشر خواهد شد [۱۰].

### ۱-۵-۲ مهاجرت

مهاجرت، عبارت است از حرکت اجسام باردار تحت میدان الکتریکی، مکانیسمی که به سبب آن بار از درون محلول می گذرد و جریان الکترون ها از خلال مدار بیرونی با عبور یون ها از درون محلول و بین الکتروودها (کاتیون ها به سوی کاتد و آنیون ها به سوی آند) موازنه می شود. با این حال مهاجرت الزاماً شکل مهمی از انتقال جرم برای گونه های الکترو فعال نیست، میزان انتقال مواد به طریق مهاجرت، حتی اگر جسم تبدیل شونده دارای بار الکتریکی باشد ممکن است در بعضی شرایط چندان قابل ملاحظه نباشد. نیروی موثر در مهاجرت، منحصراً جنبه الکترواستاتیک داشته و بنابراین تفاوتی بین یون های گوناگون وجود نخواهد داشت و بار می تواند بوسیله هر یک از انواع یونی در محلول تأمین شود. در نتیجه اگر الکترولیز، در حضور مقدار تقریباً زیادی از یک الکترولیت بی اثر، صورت گیرد قسمت عمده از انتقال بار در محلول، توسط همین یون های سازنده الکترولیت بی اثر، و مقدار بسیار جزئی از انتقال بار توسط اجسام الکترواکتیو صورت می پذیرد. به عبارت دیگر، عدد انتقالی جسم الکترواکتیو عملاً به صفر نزدیک می شود [۱۰].

### ۱-۵-۳ همرفت

همرفت، تحرک یک گونه بر اثر نیروهای مکانیکی است، زمانی که محلول توسط یک همزن الکتریکی و یا مکانیکی هم زده می شود و یا محلول الکترولیت از درون ظرف الکترولیز عبور داده می شود، در واقع انتقال مواد به طریق مکانیکی و همرفت صورت می پذیرد. گاهی اوقات در اعمال



الکتروشیمیایی، الکتروود را به حرکت در می‌آورند که حرکت مکانیکی الکتروود نیز، به نوبه خود موجب انتقال مواد در محلول می‌گردد. زمانی که همرفت در انتقال مواد دخالت دارد عملاً قسمت عمده انتقال توسط همرفت صورت می‌پذیرد. می‌توان عملیات الکتروشیمی را، بدون دخالت همرفت، در حالی که محلول کاملاً آرام و در یک زمان ثابت نگهداری می‌شود، اجرا نمود. این شرایط فقط به مدت حدود ۱۰ ثانیه و یا کمتر پایدار باقی می‌ماند، زیرا در مدت زمان بیشتری، یک همرفت طبیعی بر اثر انجام واکنش در الکتروود به علت اختلاف دانسیته بین نوع مواد موجود در سطح الکتروود و اطراف آن آشکار خواهد شد [۱۰].

## ۱-۶ الکتروودهای اصلاح شده شیمیایی (CMEs)

الکتروودهای اصلاح شده شیمیایی، نگرش جدیدی به سیستم‌های الکتروودی است. این الکتروودها به قرار دادن یک معرف بر روی سطح با هدف استفاده از آن معرف در سطح اصلاح شده مربوط می‌شوند. بنابراین، این چنین تعویض عمدی سطوح الکتروودی، می‌تواند بسیاری از مشکلات الکتروشیمی تجزیه‌ای را از بین ببرد و پایه‌ای را برای کاربردهای جدید تجزیه‌ای و وسایل حسی مختلف فراهم سازد. الکتروودهای اصلاح شده می‌توانند کاربردهای مفید تجزیه‌ای داشته باشند که تسریع واکنش‌های انتقال الکترون، پیش تغلیظ و یا نفوذپذیری انتخابی از آن جمله می‌باشند چنین مراحل می‌توانند برگزیدگی و حساسیت بالا و پایداری در ابزارهای الکتروشیمیایی را به وجود آورند. این نوع کاربردهای تجزیه‌ای و پیشرفت‌های انجام گرفته، بطور گسترده در مراجع مورد بررسی و مرور قرار گرفته‌اند [۱۳-۱۱]. روش‌های آماده‌سازی الکتروودهای اصلاح شده شیمیایی به چند دسته تقسیم می‌شوند که همه این موارد شامل افزودن یک اصلاح‌گر، یا یک جزء فعال شیمیایی به بستری است که در حالت عادی از نظر شیمیایی غیرفعال است.

### ۱-۶-۱ اصلاح الکتروود به روش جذب سطحی شیمیایی

این نوع اصلاح الکتروود معمولاً در حلال‌های فرار قابل حل هستند و با استفاده از روش قطره-

گذاری بر الکترودهای کربنی متخلخل مانند کربن شیشه ای، گرافیت، قرار می گیرند. سپس حلال تبخیر شده و اصلاح گر روی سطح باقی می ماند. الکترودهای که به این روش تهیه می شوند اگر به تدریج در دمای اتاق خشک شوند پایداری مکانیکی بالای از خود نشان می دهند [۱۴].

### ۱-۶-۲ اصلاح الکترودها به روش هتروژن

در سیستم های هتروژن، اصلاح گر به طور فیزیکی با مواد الکترودی مخلوط می شود، در واقع این روش از طریق توده الکترودها انجام می پذیرد.

مثال های از این دسته شامل الکترودها اصلاح شده ی شیمیایی که در بستری هتروژن مانند خمیر کربن، زئولیت، خاک رس تهیه می شود در آنها اصلاح گر در حین مرحله آماده سازی الکترودها با درصد وزنی/ وزنی مشخص به مخلوط گرافیت/ روغن خمیر کننده، افزوده می شود [۱۷-۱۵].

الکترودهای تهیه شده به این روش نیز از مشکلی مشابه با الکترودهای جذب سطحی شیمیایی رنج می برند و در این حالت اصلاح گر ممکن است بتدریج از سطح الکترودها شسته و پاک شود و نقص دیگر این است که پوشاندن سطح به طور یکنواخت به راحتی امکان پذیر نیست و بنابراین تهیه الکترودهای تکرارپذیر با استفاده از این روش ها با مشکل مواجه خواهد بود.

### ۱-۶-۳ اصلاح الکترودها به روش پیوند کووالانسی

در این روش، معمولاً از الکترودهایی به عنوان بستر استفاده می شود که سطح آنها از یک گونه-ی عامل دار و آماده برای ایجاد پیوند کووالان با گونه ی اصلاح گر پوشیده شده و یا عوامل به وجود آورنده ی پیوند در شرایط خاص در سطح الکترودها ایجاد شده است. نمونه ای از این نوع الکترودها، الکترودها پوشیده از تک لایه ای از اکسیدهای قلع و تیتانیم و یا الکترودها پلاتین و طلا ی فعال شده در محیط بازی است. در سطوح چنین الکترودهایی گروه های فعال هیدروکسی وجود دارند که می توانند با برخی گونه های شیمیایی نظیر ترکیبات آلی واجد گروه کلروسیلان وارد واکنش شده و لایه ای از

ترکیب آلی را در سطح الکتروود به وجود آورند [۱۸].

### ۱-۶-۴ اصلاح الکتروود به روش پلیمریزاسیون در محل

پلیمرها به دلیل پایداری شیمیایی بالا و دارا بودن ویژگی‌های منحصربه‌فرد، در ردیف ترکیبات با ارزش برای اصلاح سطوح الکتروودها به حساب می‌آیند. شیوه‌های متداول برای اصلاح سطوح الکتروودها با لایه نازکی از پلیمر، شامل شناورسازی الکتروود در محلولی از پلیمر، قرار دادن حجم کوچکی از محلول پلیمر در سطح الکتروود و تبخیر حلال و تهیه‌ی الکتروشیمیایی پلیمر در سطح الکتروود می‌باشد. پلیمرهای مورد استفاده برای اصلاح سطوح الکتروودها در این روش معمولاً یکی از این دو ویژگی را خواهند داشت. گروه اول را پلیمرهای ردوکس تشکیل می‌دهند، پلیمرهایی که در ساختار آن‌ها، گروه‌هایی با رفتار مبادله الکترون وجود دارد. گروه دوم پلیمرهایی با رفتار مبادله‌ی یون و یا کوئوردینه شونده می‌باشند. به کمک الکتروودهای اصلاح شده با چنین پلیمرهایی می‌توان وجود کاتیون‌های الکتروفعال مبادله شونده یا کوئوردینه شونده با این پلیمرها را در محلول شناسایی کرد [۱۸].

### ۱-۷ مواد اصلاح کننده

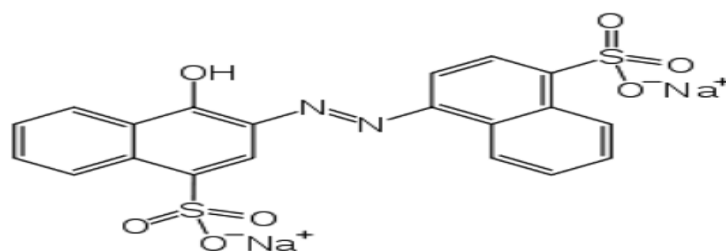
از ترکیبات شیمیایی آلی و معدنی می‌توان جهت اصلاح سطوح الکتروودها استفاده کرد. در اغلب موارد این ترکیبات الکتروفعال می‌باشند. البته الکتروفعال بودن شرط لازم برای انتخاب یک معرف اصلاح کننده نبوده و در مواردی می‌توان از ترکیبات غیر الکتروفعال به عنوان اصلاح کننده بهره گرفت. در این حالت گونه آزمایشی مورد نظر بر اساس نفوذ انتخابی می‌تواند خود را به سطح الکتروود رسانده و در مبادله الکترون در سطح الکتروود شرکت نماید [۱۹].

### ۱-۷-۱ رنگ‌های آزو و کاربردها

رنگ‌ها براساس ساختار شیمیایی یا کاربرد آن‌ها طبقه‌بندی می‌شوند. رنگ‌های آزو حاوی گروه‌های (-N=N-) می‌باشند که اولین بار بطور اتفاقی توسط پرکین از واکنش آنیلین کشف شدند. این

رنگ‌ها شامل طیف وسیعی از رنگ‌ها مانند زرد، قرمز، و چند دسته‌ی دیگر از رنگ‌ها می‌باشد. سنتز رنگ‌های آزو معمولاً توسط دی‌آزوتاسیون آمین‌های آروماتیک انجام می‌شود. بررسی تحقیقات انجام شده توسط محققان نشان داد که وجود گروه‌های کربوکسیلیک اسید در ترکیبات مواد رنگزای آزو می‌تواند به ایجاد رنگ قرمز تا قرمز مایل به آبی روی الیاف پشم کمک کند. همچنین خالص‌سازی مواد رنگزای دیسپرس<sup>۱</sup> قرمز باعث افزایش قدرت رنگی آن می‌شود [۲۰-۲۲].

کارموزین به عنوان رنگ خوراکی در نوشیدنی‌ها، سس‌ها و سایر مواد غذایی یافت می‌شوند و نسبت به تغییرات گرما و pH پایدار است. از دیگر ویژگی‌های کارموزین می‌توان به محو نشدن رنگ آن زمانی که در معرض نور و اکسیژن قرار می‌گیرند اشاره کرد [۲۳].



شکل ۱-۲ ساختار شیمیایی کارموزین

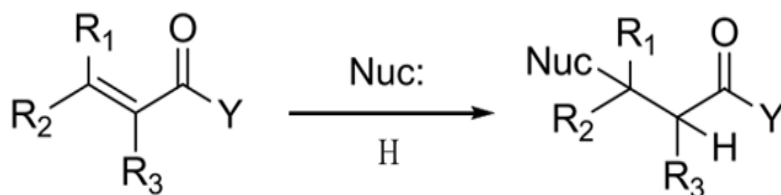
اصلاح‌گر مورد استفاده در این مطالعه کارموزین است که از نظر طبقه‌بندی به گروه‌های آزو تعلق دارد که در ساختار خود دارای گروه‌های -N=N- هستند که نقش کروموفور را ایفا می‌کند [۲۲]. تاکنون از این ترکیب به عنوان اصلاح‌گر استفاده نشده است که در این تحقیق برای اولین بار از این ترکیب به عنوان اصلاح‌گر سطح الکتروود استفاده شده است.

## ۸-۱ واکنش‌های افزایش مایکل و کاربرد آن‌ها در الکتروشیمی

واکنش افزایشی مایکل به سیستم‌های آلفا، بتا-غیر اشباع یک روش مهم برای ایجاد پیوند کربن-کربن و کربن-هترو اتم در سنتزهای شیمی آلی است. این واکنش، معمولاً شامل افزایش یک دهنده‌ی نوکلئوفیلی (از جمله: کربن، سیلیسیوم، قلع، نیتروژن، اکسیژن، فسفر، ...) به یک پذیرنده‌ی آلکنی یا

<sup>۱</sup> Disperse

آلکینی فعال شده توسط گروه‌های الکترون کشنده ( از جمله: کتون، استر، آمید، نیتریل، نیترو، سولفونیت و فسفونیت ) می‌باشد. به طور کلی واکنش افزایشی مایکل در شرایط اسیدی، بازی و یا حتی بعضی مواقع در شرایط خنثی هم انجام می‌شود. ترکیباتی که از این واکنش به دست می‌آیند کاربرد وسیعی در سنتزهای آلی و شیمی دارویی دارند [۲۴].



شکل ۱-۳ طرح واکنش افزایش مایکل

طی واکنش افزایش مایکل، کتکول به عنوان سوبسترا مورد استفاده قرار می‌گیرد و اکسایش این ترکیب منجر به تولید اورتوبنزوکینون‌های مربوطه می‌شود. از آنجایی که این اورتوبنزوکینون‌ها، حد واسط‌های الکتروفعالی به حساب می‌آیند با نوکلئوفیل مناسب که در این تحقیق ۴-متیل-۲-تیواوراسیل است وارد واکنش افزایش مایکل می‌شوند [۲۵]. اندازه گیری برخی ترکیبات زیستی مانند ال-سیستئین، کاپتوپریل و ان-استیل سیستئین به عنوان گونه‌های نوکلئوفیل ارائه شده است [۲۹-۲۶].

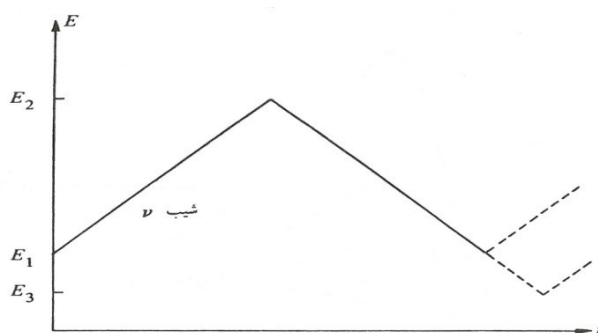
## ۹-۱ تکنیک‌های مختلف الکتروشیمیایی

در الکتروشیمی با تکنیک‌های متفاوتی سروکار داریم که هر کدام از این تکنیک‌ها کاربردهای خاصی را دارا می‌باشند. تکنیک‌های پتانسیومتری، آمپرومتری، کولومتری، ولتامتری، کروئوپتانسیومتری، کروئوآمپرومتری و الکترولیز از جمله مهمترین روش‌هایی هستند که در علم الکتروشیمی کاربردهای گسترده‌تری را نسبت به سایر روش‌ها دارا می‌باشند. در ادامه به توضیح مختصری در رابطه با روش‌های الکتروشیمیایی به کار گرفته شده در این پایان‌نامه پرداخته می‌شود.

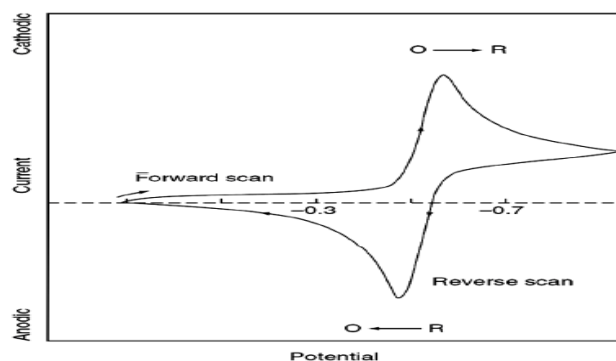
## ۱-۹-۱ ولتامتری چرخه‌ای

روش ولتامتری چرخه‌ای، یکی از بهترین شیوه‌ها در زمینه بررسی مکانیسم واکنش‌ها بر پایه روبش پتانسیل 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 [۱۰].

در روش ولتامتری چرخه‌ای پتانسیل از مقدار اولیه  $E_1$  به  $E_2$  روبش می‌شود و سپس مطابق شکل (۴-۱) جهت اعمال پتانسیل تا مقدار  $E_1$  یا  $E_3$  عکس می‌شود. پاسخ ولتامتری چرخه‌ای برای یک زوج برگشت‌پذیر در شکل (۵-۱) نشان داده شده است [۱۰].



شکل ۴-۱ پروفیل‌های پتانسیل-زمان برای ولتامتری چرخه‌ای [۳]

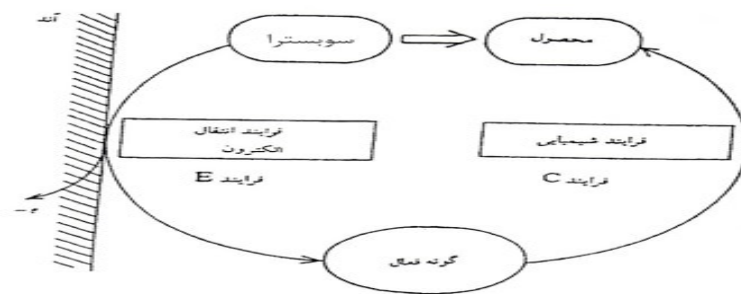


شکل ۵-۱ ولتاموگرام چرخه‌ای برای فرایند برگشت‌پذیر [۳]

در این روش، برای تعیین مکانیسم واکنش‌ها، محدوده روبش پتانسیل و نیز جهت و سرعت آن را تغییر می‌دهند و از روی تاثیر آن بر شکل ولتاموگرام و پارامترهای وابسته به آن، به مکانیسم فرایند الکترودی پی می‌برند [۱۰].

## ۱-۹-۲ مطالعه مکانیسم واکنش‌ها

اغلب، اکسایش الکتروشیمیایی ترکیبات آلی از دو مرحله ناشی می‌شود که در طی آن ابتدا ترکیبات آلی الکترون از دست داده (فرآیند E) و به دنبال آن واکنش شیمیایی (فرآیند C) روی می‌دهد (شکل ۱-۶) در فرآیند E لازم است که گونه‌های فعال دلخواه، بطور انتخابی تولید شود و در فرآیند C نیز، کنترل فعالیت گونه ایجاد شده و هدایت آن در جهتی که به محصول مورد نظر تبدیل شود، ضروری است. اهمیت فرآیند C زمانی روشن می‌شود که بدانیم هرگاه محیط الکترولیز که در آن یک حد واسط فعال به وجود می‌آید، تغییر کند، نتایج کاملاً متفاوتی بدست می‌آید. ظاهراً سرنوشت حد واسط‌های فعال، همیشه تحت تاثیر حلال، الکترولیت، مواد افزودنی، و الکترودها قرار دارد [۳۰].



شکل ۱-۶ مسیر عمومی واکنش الکترودی متشکل از مراحل انتقال الکترون و واکنش شیمیایی

بر خلاف واکنش‌های الکتروشیمیایی وابسته به سیستم‌های ردوکس فلزی در محلول‌های آبی، اغلب واکنش‌های الکتروشیمیایی وابسته به ترکیبات آلی در مرحله E خاتمه نمی‌پذیرد و حد واسطه-های فعال بوجود آمده در مراحل بعد تحت واکنش‌های شیمیایی گوناگون (جانشینی، حذفی، افزایشی، ترکیب مجدد، جوش خوردگی و نوآرایی) به محصول پایدار تبدیل می‌شوند.

روی این اصل برای سنتز گزینشی محصول در سنتزهای الکتروشیمیایی باید شناخت و کنترل بیشتری روی مرحله C نسبت به مرحله E داشته باشیم و در انتخاب بهینه عواملی مانند: حلال، الکترولیت، pH محلول و نیز شرایط الکترولیز مانند: چگالی جریان، مقدار پتانسیل، سیستم الکترودی و غیره که نقش مهمی را روی فرآیند C ایفا می‌کنند، دقت شود.

چنانچه هدف از الکترولیز، جداسازی گونه الکترولیز شونده از محیط یا تولید محصول واکنش باشد، نیازی به آگاهی از مقدار الکتریسیته مصرف شده در جریان الکترولیز نیست و تنها کافی است که فرایند را در لحظه‌ای که به پایان الکترولیز معروف است و در آن بخش قابل قبولی از گونه مورد نظر الکترولیز و یا از محصول واکنش تولید شده است، قطع کرد [۱۰].

جدول ۱-۱ آزمون‌های تشخیصی برای واکنش های ECE.

---

۱.  $|I_p^c / v^{1/2}|$  با سرعت روبش تغییر می‌کند اما ممکن است در سرعت‌های روبش زیاد یا کم به مقادیر حد برسد.

۲.  $|I_p^A / I_p^C|$  با سرعت روبش زیاد می‌شود و در سرعت های روبش زیاد به یک میل میکند

---

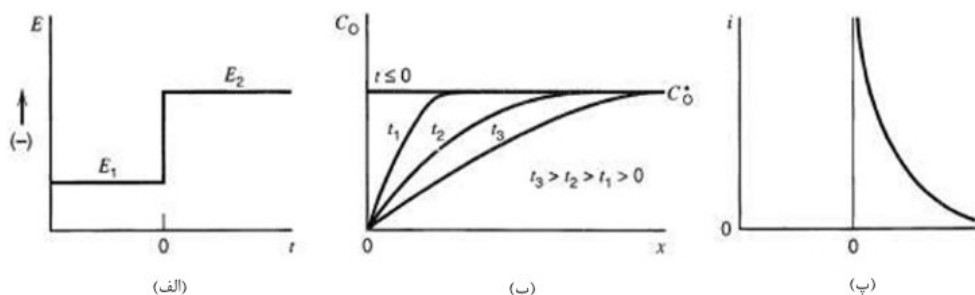
### ۳-۹-۱ کروئوآمپرومتری

یک واکنش الکترودی مطابق واکنش (۱-۱) فرض می‌شود که در ابتدا فقط گونه های احیاء شونده در محلول است.



یک پروفایل پتانسیل - زمان مطابق شکل (۱-۷-الف) به الکتروود کار اعمال می‌شود. گرادیان غلظت گونه اکسید و همچنین پاسخ ثبت شده که گروئوآمپروگرام نام دارد به ترتیب در شکل‌های (۱-۷-ب)، (۱-۷-پ) مشاهده می‌شود.  $E_1$  جایی انتخاب شده که احیای O ممکن نیست و به عبارتی هیچ واکنش الکتروودی‌ای رخ نمی‌دهد. سپس در زمان  $t=0$  پتانسیل به یک‌باره به مقدار  $E_2$  می‌رسد، جایی که احیای O تحت کنترل نفوذ رخ می‌دهد.





شکل ۱-۷: الف) پله پتانسیل اعمال شده، گونه O در پتانسیل E2 با سنتیک تحت کنترل نفوذ احیا می‌شود، ب) پروفایل غلظت در زمان‌های بعد از اعمال پتانسیل، پ) جریان بر حسب زمان.

برای یک واکنش کنترل نفوذی با حل قانون دوم فیک و اعمال شرایط مرزی برای الکتروود تخت

معادله کاترل، معادله (۲-۱) حاصل می‌شود.

$$|I| = \frac{nFD^{1/2} C_0^\infty}{\pi^{1/2} t^{1/2}} \quad 2-1$$

همانطور که در معادله (۲-۱) مشاهده می‌شود جریان مطابق با  $t^{-1/2}$  کاهش می‌یابد، بنابراین منحنی I بر حسب  $t^{1/2}$  باید خطی باشد و خط از مبدا عبور کند، که این اغلب به عنوان یک آزمون برای واکنش کنترل نفوذی به کار می‌رود. از شیب خط I بر حسب  $t^{1/2}$ ، ضریب نفوذ گونه‌های O محاسبه می‌شود.

برای انجام تست کنترل نفوذی بودن و محاسبه ضریب نفوذ، داده‌ها از دامنه حدود ۱ میلی ثانیه تا ۱۰ ثانیه از نمودار I بر حسب t استخراج می‌شوند.

اگر ثابت سرعت برای واکنش شرح داده شده در واکنش (۱-۱) خیلی کوچک باشد (و یا E2 به یک اضافه ولتاژ کم برای واکنش وابسته باشد) منحنی جریان - زمان خط راستی خواهد بود.

این نوع منحنی بدین دلیل است که غلظت سطحی O به صورت ویژه با پله پتانسیل اعمال شده تغییر نمی‌کند. (>۱/) و بنابراین نفوذ نقش بارزی در اندازه گیری سرعت ندارد. اندازه گیری در یک حالت پایدار انجام می‌شود [۴].

## ۱-۹-۴ طیف‌بینی امپدانس الکتروشیمیایی

در مطالعه سیستم‌های الکتروشیمیایی، روش EIS به عنوان وسیله‌ای قدرتمند در مطالعه واکنش‌های الکترودی به منظور بررسی تغییرات ایجاد شده هنگام اغتشاش کوچک به سیستم آزمایشی است. مطالعات زیادی برای توانایی این تکنیک و قابلیت استفاده از آن در عملکرد تجزیه‌ای الکترودهای اصلاح شده صورت گرفته است [۳۱-۳۳].

یکی از روش‌های مطلوب نمایش داده‌های امپدانس، منحنی نایکوئیست<sup>۲</sup> می‌باشد. در این نمایش، داده‌ها در مختصات مختلط امپدانس حقیقی  $Z'$  بر حسب امپدانس موهومی  $Z''$  در محدوده‌ای از فرکانس تحریک رسم می‌شوند. این نحوه نمایش به منحنی صفحه‌ای مختلط امپدانس معرف است.

## ۱-۱۰ اهمیت اندازه‌گیری مشتقات تیواوراسیل و مروری بر مطالعات پیشین

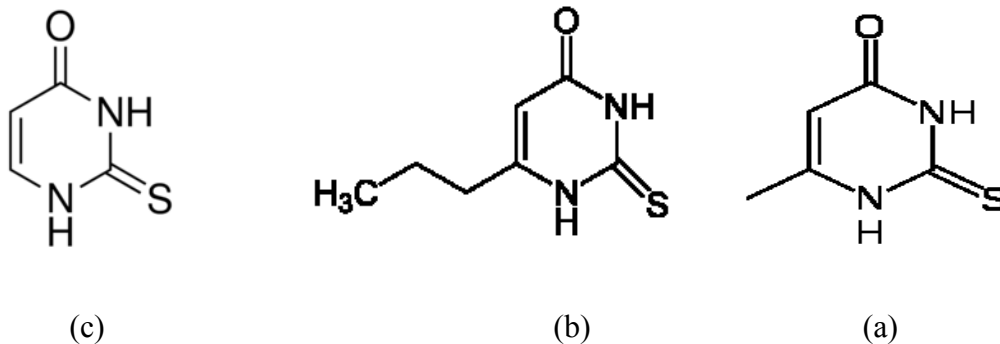
مشتقات TU مانند MTU، PTU و 2TU (شکل ۱-۸) در درمان بیماری‌های کبدی و هیپرتیروئیدی<sup>۳</sup> در حاملگی استفاده می‌شوند [۳۴]. این مشتقات به طور غیر قانونی به حیوانات برای افزایش وزن تزریق می‌شد که مضرات زیادی برای مصرف‌کنندگان گوشت این حیوانات دارد که در سال ۱۹۸۱ در اتحادیه اروپا استفاده از این مواد غیرمجاز اعلام شد [۳۵]. این داروها در پزشکی و دامپزشکی کاربرد زیادی دارند که از جمله می‌توان به تنظیم هورمون‌های تولید شده توسط غده تیروئید اشاره کرد [۳۶]. لذا اندازه‌گیری و شناسایی این مشتقات بسیار با اهمیت است از عوارض جانبی در درمان با این ترکیبات می‌توان به التهاب دهان [۳۷] خارش، تب، تهوع، استفراغ [۳۸] اشاره کرد. از اثرات درمانی این ترکیبات می‌توان به درمان کم‌کاری تیروئیدی [۳۹] ضد ایدز و بیماری قلبی [۴۰] سپسیس [۴۱] اشاره کرد. مقدار داروی مجاز برای این ترکیبات ۳۰۰ میلی گرم در روز

<sup>۱</sup> Impedance Spectroscopy

<sup>۲</sup> Nyquist

<sup>۳</sup> Hyperthyroidism

است [۴۲]. مکانیسم اثر این مشتقات بدین گونه است که مانع از سنتز هورمون تیروئیدی با ممانعت از اتصال ید به تیروزین و جلوگیری از جفت شدن یدوتیروزین‌ها به یک دیگر می‌شود. این مشتقات همچنین مانع از تبدیل محیطی تیروکسین به تری یدو تیرونین می‌شوند [۴۳].



شکل ۸-۱ (a) ۴-متیل ۲-تیووراسیل (b) پروپیل تیووراسیل (c) ۲-تیووراسیل

چندین روش برای اندازه‌گیری داروهای آنتی تیروئیدی گزارش شده است که بسیار پیچیده، گران و وقت‌گیر هستند که به برخی از آن‌ها در پایان‌نامه اشاره می‌شود.

در سال ۲۰۱۴، مندس<sup>۱</sup> و همکارانش اندازه‌گیری پروپیل تیووراسیل در پلاسمای انسان را به- وسیله (HPLC-MS/MS) انجام دادند. حد کمی ۲۰/۰ نانو گرم بر میلی لیتر همراه با دامنه خطی ۲۰/۰-۵۰۰۰/۰ نانو گرم بر میلی لیتر برای پروپیل تیووراسیل گزارش شده است [۴۴].

در سال ۲۰۰۹، یانتس<sup>۲</sup> و همکارانش اندازه‌گیری داروهای تیروئیدی را با استفاده از HPLC انجام دادند. در این مطالعه حد تشخیص به‌دست آمده برای پروپیل تیووراسیل ۰/۲۶ میلی گرم بر لیتر و دامنه خطی ۰/۵۱-۱۷۰/۲۳ میلی گرم بر لیتر برای این روش پیشنهادی حاصل شده است [۴۵].

در سال ۲۰۱۸، لی<sup>۳</sup> و همکارانش اندازه‌گیری هورمون‌های تیروئیدی در جنین را با استفاده از

<sup>۱</sup> Mendes

<sup>۲</sup> yants

<sup>۳</sup> Li

(UPLC-Q-TOF-MS) انجام دادند. دامنه خطی بدست آمده برای این هورمون‌ها در این مقاله ۰/۵۰-۱۵۰/۰ پیکو گرم بر میکرو لیتر بوده همراه با حد تشخیص ۰/۰۱-۰/۲۰ نانو گرم بر گرم گزارش شده است [۴۶].

در سال ۲۰۱۶، انجلیس<sup>۱</sup> و همکارانش اندازه‌گیری هورمون‌های تیروئید در بافت‌های موش با استفاده از روش (LC-MS/MS) را انجام دادند. کمترین حدی که اندازه‌گیری کمی انجام شد برای T<sub>۲</sub>، ۰/۵ پیکو گرم بر میکرو لیتر و برای T<sub>۳</sub> و T<sub>۴</sub> به ترتیب ۰/۷۵ و ۱/۰ پیکو گرم بر میکرو لیتر همراه با دامنه خطی ۰/۵۰-۱۰۰/۰ پیکو گرم بر میکرو لیتر گزارش شده است [۴۷].

در سال ۲۰۰۹، لومس<sup>۲</sup> و همکارانش اندازه‌گیری تیرواستات‌ها در ادرار و غده تیروئید را با استفاده از (LC-MS/MS) انجام دادند. حد تشخیص ۱۰/۰ میکرو گرم بر کیلوگرم برای این مشتقات به‌دست آمده همراه با دامنه خطی ۲/۵-۲۵/۰ میکروگرم بر کیلوگرم گزارش شد [۴۸].

در سال ۲۰۱۱، ابراهیم زاده و همکارانش اندازه‌گیری پروپیل تیواوراسیل در نمونه‌های بیولوژیکی به وسیله HPLC-UV را انجام دادند. حد تشخیص ۰/۱۰-۰/۴۰ میکرو گرم بر لیتر در نمونه‌های بیولوژیکی مختلف همراه با دامنه خطی ۰/۵۰-۱۰۰۰/۰ میکرو گرم بر لیتر برای پروپیل تیواوراسیل حاصل شد [۴۹].

بنابراین روش‌های الکتروشیمیایی جایگزین مناسبی را برای اندازه‌گیری این مشتقات در مایعات بیولوژیکی و فرمولاسیون دارویی ارائه می‌دهند که از جمله می‌توان به برخی از آن‌ها در زیر اشاره کرد.

در سال ۲۰۱۴، پاتار<sup>۳</sup> و همکارانش اندازه‌گیری 2TU در نمونه‌های بیولوژیکی با الکتروکدکس کربن اصلاح شده با بنزوئین و استفاده از تکنیک‌های ولتامتری تحت شرایط بهینه دامنه خطی ۱/۲-

---

<sup>۱</sup> Angelis

<sup>۲</sup> Lohmus

<sup>۳</sup> Pattar

۰/۲ میکرو مولار همرا با حد تشخیص ۲/۲۱ نانو مولار بدست آوردند [۵۰].

در سال ۲۰۰۷، شاهرخیان و همکارانش اندازه‌گیری پروپیل تیواوراسیل و ۴-متیل-۲-تیواوراسیل را در نمونه‌های بیولوژیکی و دارویی با الکتروود کربن شیشه‌ای و استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی را گزارش دادند. دامنه خطی برای پروپیل تیواوراسیل و ۴-متیل-۲-تیواوراسیل به ترتیب ۰/۱-۱۰/۰ میکرو مولار و ۰/۱-۵/۰ میکرومولار همراه با حد تشخیص ۰/۰۵ میکرومولار برای پروپیل تیواوراسیل و ۰/۰۷ میکرومولار برای ۴-متیل-۲-تیواوراسیل حاصل شده است [۵۱].

در سال ۲۰۱۴، پاتار اندازه‌گیری 2-TU را در نمونه‌های دارویی با الکتروود طلا و استفاده از روش های ولتامتری چرخه‌ای پالس تفاضلی و موج مربع‌ای را گزارش داد. دامنه خطی ۱/۰-۱۱/۰ میکرومولار همراه با حد تشخیص  $۱۰^{-۸} \times ۲/۰۵$  مولار برای این مشتق بدست آمد [۵۲].

در سال ۲۰۱۶، پاتار اندازه‌گیری 2-TU را در مایعات بیولوژیکی با الکتروود گرافیتی اصلاح شده با فیلم پلی آنیلین و پلی پیروول از طریق ولتامتری پلکانی انجام داد. دامنه خطی  $۱۰^{-۷} \times ۱/۵ - ۱۰^{-۸} \times ۱/۰$  مولار و حد تشخیص  $۱۰^{-۹} \times ۱/۶$  مولار گزارش شده است [۵۳].

اصلاح‌گر مورد استفاده در این مطالعه کارموزین است تاکنون از این ترکیب به عنوان اصلاح‌گر در تحقیقات علمی گزارشی نشده است. حسگر الکتروشیمیایی تهیه شده در نهایت برای اندازه‌گیری مشتقات تیواوراسیل مورد استفاده قرار گرفت. نتایج بررسی‌ها نشان دهنده تاثیر ویژه کارموزین، بر افزایش شدت جریان دماغه آندی مشتقات تیواوراسیل براساس مکانیسم ECE و واکنش افزایشی ۱, ۴ مایکل است. در این تحقیق پیک مربوط به کتکول و محصول به منظور بهبود حدتشخیص از یک دیگر تفکیک شده‌اند. همچنین محدوده خطی برای اندازه‌گیری این مشتقات [۵۲-۵۰] در این تحقیق بهبود پیدا کردند.



## فصل دوم

### بخش تجربی

## ۲ بخش تجربی

در این مطالعه، برای اولین بار یک حسگر الکتروشیمیایی حساس برای اندازه‌گیری ولتامتری مشتقات تیواوراسیل بر پایه‌ی الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با کارموزین ساخته شد. یک مکانیسم ECE برای اکسیداسیون مشتقات تیواوراسیل در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین براساس واکنش ۱، ۴ مایکل پیشنهاد شد. پارامترهای شیمیایی و دستگاهی مورد بررسی قرار گرفت و برای اندازه‌گیری مشتقات تیواوراسیل بهینه شد. در نهایت توانایی این حسگر برای اندازه‌گیری مشتقات تیواوراسیل در نمونه‌های حقیقی مانند سرم خون و آب شهر توسط روش ولتامتری پالس تفاضلی مورد ارزیابی قرار گرفت.

### ۱-۲ مواد و دستگاه‌های مورد استفاده

دستگاه‌ها و مواد شیمیایی مورد استفاده جهت انجام آزمایش‌های این پروژه در جدول‌های (۲-۱) و (۲-۲) ذکر گردیده است. از سوی دیگر، کارموزین به عنوان اصلاح‌گر برای اصلاح سطح الکتروود کربن شیشه‌ای به منظور تهیه حسگر الکتروشیمیایی استفاده گردید. سل الکتروشیمیایی مورد استفاده، یک سل شیشه‌ای معمولی بدون جدار جداسازی خانه‌های آندی و کاتدی می‌باشد. سیستم سه الکتروودی شامل الکتروود مرجع/نقره/نقره کلرید (اشباع)، الکتروود کمکی پلاتین و الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده به عنوان الکتروود کار استفاده شده است.



جدول ۱-۲ دستگاه‌های مورد استفاده در آزمایشات

شماره	دستگاه	شرکت سازنده	مدل	کشور سازنده
۱	دستگاه گالوانواستات- پتانسیواستات	متراهم <sup>۱</sup>	۷۴۶	سوئیس
۲	pH متر	متراهم	۷۸۰	سوئیس
۳	ترازوی تجزیه‌ای	سارتریوس <sup>۲</sup>	A200S	آلمان
۴	الکتروود GC	آذر الکتروود	-----	ایران
۵	الکتروود پلاتین	متراهم	-----	سوئیس
۶	الکتروود Ag/AgCl	متراهم	-----	سوئیس
۷	دستگاه فراصوت باندلین <sup>۳</sup>	سونورکس دیجیتک <sup>۴</sup>	DT510H	آلمان

جدول ۲-۲ مواد شیمیایی استفاده شده در آزمایشات

شماره	نام ماده	فرمول شیمیایی	کاربرد ماده در پروژه	شرکت تولیدکننده
۱	کتکول	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	سوبسترا	سیگما آلدریج <sup>۵</sup>
۲	۴-متیل-۲-تیواوراسیل	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> OS	نوکلئوفیل	مرک <sup>۶</sup>
۳	۲-تیواوراسیل	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub> OS	نوکلئوفیل	مرک
۴	کارموزین	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>7</sub> S <sub>2</sub>	اصلاح‌گر	مرک
۵	پودر آلومینا	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	پودر سایش	مرک
۶	دی متیل فرمامید	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO	حلال	مرک
۷	سدیم دی هیدروژن فسفات	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	ساخت بافر	مرک
۸	سدیم هیدروژن فسفات	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	ساخت بافر	مرک
۹	سدیم هیدروکسید	NaOH	ساخت بافر	مرک
۱۰	استیک اسید	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	ساخت بافر	مرک

<sup>۱</sup> - Metrohm

<sup>۲</sup> - Sartorius

<sup>۳</sup> - Bandelin

<sup>۴</sup> - sonorex Digitec

<sup>۵</sup> - Sigma-Aldrich

<sup>۶</sup> - Merck

## ۲-۲ تهیه محلول‌ها

از محلول‌های پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات و دی‌پتاسیم هیدروژن فسفات (هر کدام با غلظت ۰/۰۶۷ مولار) برای تهیه بافرهای فسفاتی در pHهای مختلف (گستره ۹/۰-۴/۰) استفاده شد و سپس pH محلول‌های بافر تهیه شده توسط دستگاه pH متر تنظیم شد. برای تهیه محلول‌های بافر با pH-های کمتر از ۴/۰، از محلول فسفریک اسید و سدیم دی‌هیدروژن فسفات (هر کدام با غلظت ۰/۰۶۷ مولار) استفاده شد. محلول بافر استاتی از مخلوط کردن محلول استیک اسید ۱/۰ مولار و محلول سدیم هیدروکسید با غلظت ۱/۰ مولار تهیه شد [۵۴].

محلول مادر  $5/0 \times 10^{-3}$  مولار کتکول از حل کردن ۰/۰۰۵۵ گرم کتکول در آب مقطر در یک بالن حجمی ۱۰/۰ میلی‌لیتری به طور روزانه تهیه شد.

محلول مادر  $5/0 \times 10^{-3}$  مولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل از حل کردن ۰/۰۰۷۱ گرم ۴-متیل-۲-تیواوراسیل در دی‌متیل فرمامید در یک بالن حجمی ۱۰/۰ میلی‌لیتری به طور روزانه تهیه گردید.

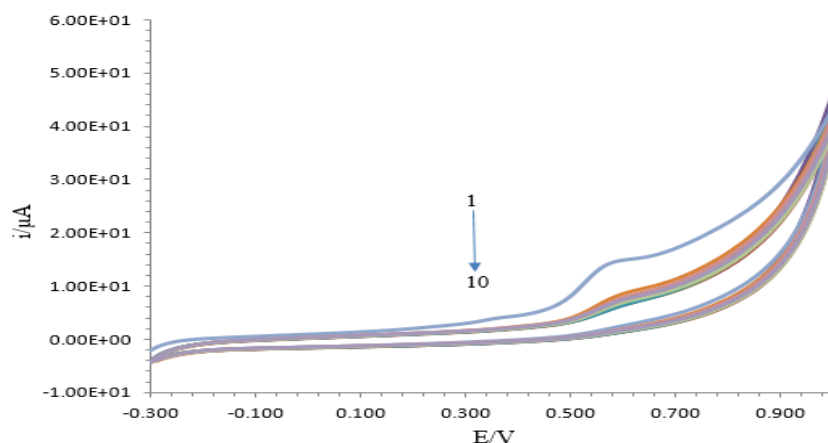
محلول مادر  $5/0 \times 10^{-3}$  مولار ۲-تیواوراسیل از حل کردن ۰/۰۰۶۴ گرم ۲-تیواوراسیل در دی‌متیل فرمامید در یک بالن حجمی ۱۰/۰ میلی‌لیتری تهیه گردید.

محلول مادر  $1/0 \times 10^{-3}$  مولار کارموزین از حل کردن ۰/۰۰۵ گرم کارموزین در آب مقطر در یک بالن حجمی ۱۰/۰ میلی‌لیتری تهیه گردید.

## ۲-۳ تهیه الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با کارموزین

برای تهیه الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با کارموزین بدین صورت عمل شد: ابتدا، سطح الکتروود کربن شیشه‌ای (GCE) به منظور دستیابی به یک سطح صیقلی و براق، با استفاده از دوغابی از پودر آلومینا (با میانگین اندازه ذرات  $0/05 \mu\text{m}$ ) در سطح صفحه سایش مخصوص الکتروود، به طور مکانیکی آماده شد. بعد از این مرحله، برای برطرف کردن ذرات آلومینای روی سطح که از طریق

فیزیکی جذب شده بودند، الکتروود در مخلوط آب مقطر و اتانول وارد شده و به مدت ۵ دقیقه در حمام فراصوت قرار گرفت. در نهایت به منظور اصلاح سطح الکتروود، الکتروود به سل حاوی مخلوطی از ۱/۰ میلی مولار کارموزین و ۰/۲۰ مولار سود منتقل شد. تعداد ۱۰ چرخه متوالی به روش ولتامتری چرخه-ای در محدوده -۰/۳ تا +۱/۰ ولت نسبت به الکتروود مرجع نقره/نقره کلرید با سرعت ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه صورت گرفت. سپس الکتروود از محلول خارج و با آب مقطر شستشو داده شد تا هر گونه ناخالصی از سطح آن پاک شود و به منظور اطمینان از عدم حضور گونه‌های جذب سطحی شده در سطح و رسیدن به یک پاسخ نسبتاً ثابت الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده در محلول سود ۰/۲۰ مولار قرار داده شد و روبش پتانسیل در محدوده -۰/۳ تا +۱/۰ ولت به تعداد ۱۰ چرخه متوالی به روش ولتامتری چرخه‌ای انجام شد. ولتاموگرام‌های چرخه‌ای متوالی طی اصلاح الکتروود کربن شیشه‌ای در شکل (۱-۲) نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل دیده می‌شود یک دماغه اکسایش در +۰/۵۸ ولت طی فرایند اصلاح الکتروود دیده می‌شود که می‌تواند مربوط به واکنش اکسایش گروه هیدروکسی مونومر کارموزین باشد. که این نشان دهنده تشکیل لایه نازکی از کارموزین بر روی سطح الکتروود به روش الکتروشیمیایی می‌باشد.

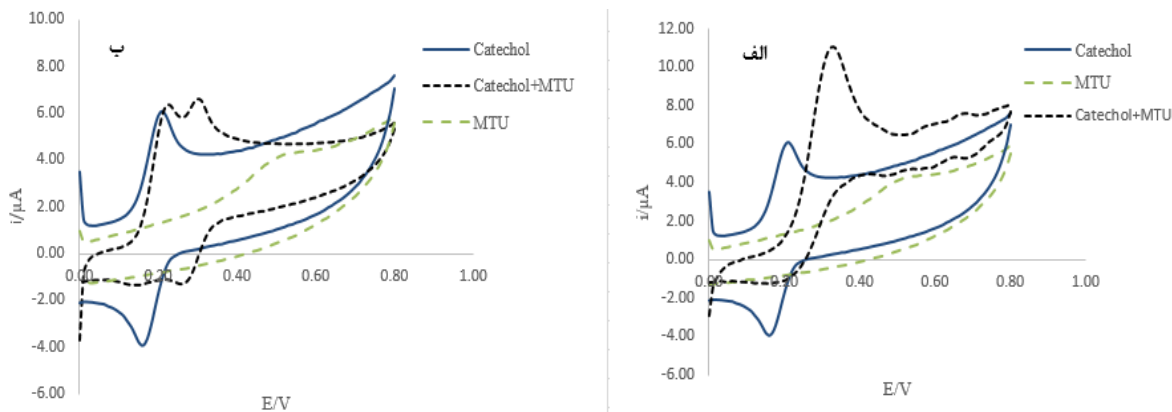


شکل ۱-۲ ولتاموگرام‌های چرخه‌ای متوالی محلول حاوی ۰/۰۰۱ مولار کارموزین و ۰/۲۰ مولار سود، ۱۰ روبش متوالی در محدوده -۰/۳ تا +۱/۰ ولت نسبت به الکتروود مرجع نقره/نقره کلرید در سطح GCE با سرعت ۱۰۰ میلی-ولت بر ثانیه.

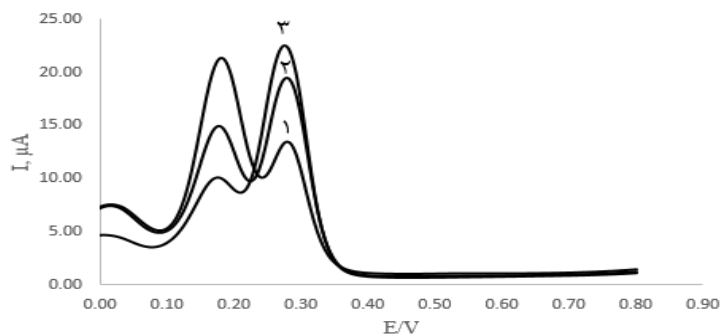
## ۴-۲ معرفی سیستم الکتروشیمیایی مورد استفاده برای اندازه‌گیری ۴-

### متیل ۲- تیواوراسیل

شکل ۲-۲-الف (ولتاموگرام کتکول) نشان می‌دهد که ولتاموگرام چرخه‌ای کتکول روی سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین دارای دماغه آندی و کاتدی کاملاً مشخص است که دماغه آندی در پتانسیل ۰/۱۹ ولت نسبت به الکتروود مرجع ناشی از اکسایش کتکول به ارتوکینون می‌باشد که گونه-ای الکتروفعال است و در چرخه برگشت می‌تواند احیا شود (پتانسیل ۰/۱۶ ولت نسبت به الکتروود مرجع) و کتکول تولید کند. از سوی دیگر چنان که در شکل ۲-۲-الف (ولتاموگرام ۴-متیل ۲- تیواوراسیل) مشاهده می‌شود ۴-متیل ۲-تیواوراسیل در محلول بافر فسفاتی با  $\text{pH}=7/0$  در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین دارای یک شانه آندی در پتانسیل ۰/۵۳ ولت نسبت به الکتروود مرجع می‌باشد. بررسی‌ها در محلول بافر فسفاتی  $\text{pH}=7/0$  حاوی ۰/۲ میلی‌مولار ۴-متیل ۲-تیواوراسیل و ۰/۲ میلی‌مولار کتکول شکل ۲-۲-الف (ولتاموگرام کتکول و ۴-متیل ۲-تیواوراسیل با زمان اعمال پتانسیل) نشان می‌دهد که اعمال پتانسیل باعث افزایش جریان دماغه آندی محصول ۴-متیل ۲- تیواوراسیل و کتکول در پتانسیل ۰/۳۳ ولت نسبت به الکتروود مرجع و حذف دماغه کاهش آن می‌شود. همان طور که در شکل ۲-۲-ب (ولتاموگرام کتکول و ۴-متیل ۲-تیواوراسیل بدون زمان اعمال پتانسیل) مشاهده می‌شود بدون زمان اعمال پتانسیل پیک مربوط به کتکول و محصول به طور کامل از هم تفکیک نمی‌شوند که این باعث کاهش چشمگیر در شدت جریان دماغه آندی محصول می‌شود. شکل (۲-۳) ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی محلول حاوی ۴-متیل ۲-تیواوراسیل و کتکول در بافر فسفاتی با  $\text{pH}=7/0$  در زمان‌های اعمال پتانسیل مختلف را نشان می‌دهد. از مقایسه ولتاموگرام‌ها می‌توان به این نتیجه رسید که با گذشت زمان اعمال پتانسیل شدت جریان دماغه آندی محصول افزایش می‌یابد.



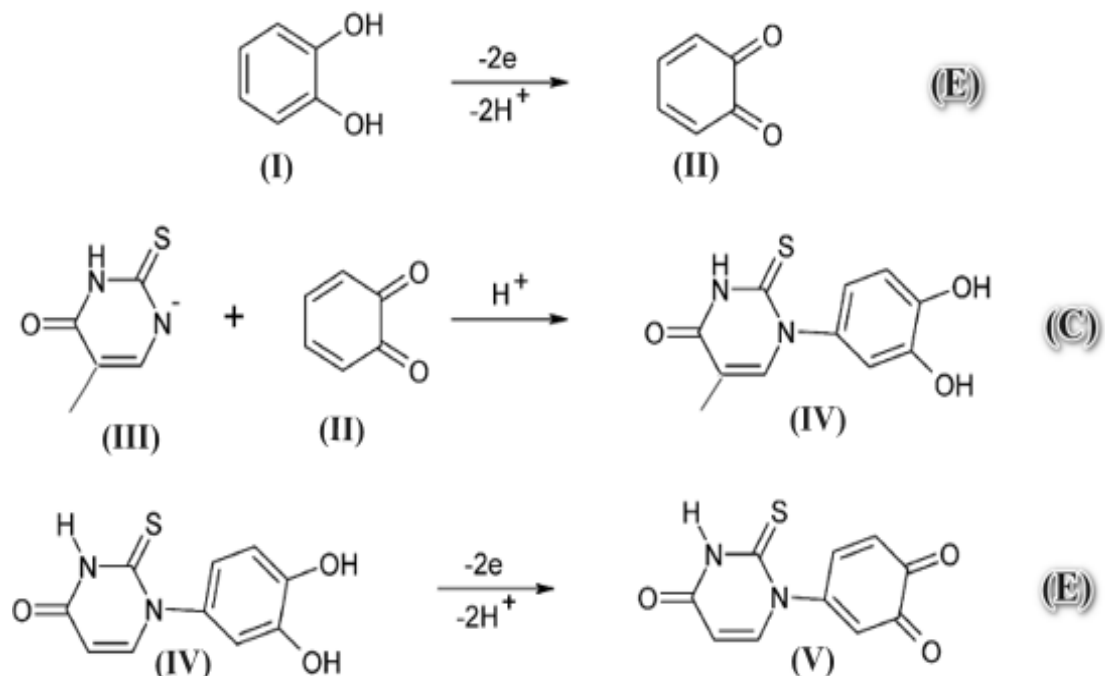
شکل ۲-۲ (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای مربوط به ۰/۲ میلی‌مولار کتکول در بافر فسفاتی با  $\text{pH}=7/0$  در بازه ۰/۰ تا ۱/۰ ولت (—)، ۰/۲ میلی‌مولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل (---) و محلول حاوی ۰/۲ میلی‌مولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۲ میلی‌مولار کتکول در بافر فسفاتی با  $\text{pH}=7/0$  در بازه ۰/۰ تا ۱/۰ ولت (---)، ۰/۲ میلی‌مولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل (---) و محلول حاوی ۰/۲ میلی‌مولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۲ میلی‌مولار کتکول در بافر فسفاتی با  $\text{pH}=7/0$  در بازه ۰/۰ تا ۱/۰ ولت (---) در غیاب زمان اعمال پتانسیل. سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه.



شکل ۳-۲ ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی مربوط به محلول حاوی ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و کتکول در بافر فسفاتی با  $\text{pH}=7/0$  در زمان‌های اعمال پتانسیل (۱) ۸۰ (۲) ۱۶۰ (۳) ۲۴۰ ثانیه.

اکسایش ۴-متیل-۲-تیواوراسیل در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین از طریق مکانیسم ECE قابل وصف است (شکل ۲-۴). در واقع در حضور ۴-متیل-۲-تیواوراسیل (III)، حالت اکسایش یافته کتکول (II) محتمل یک واکنش شیمیایی افزایش ۱ و ۴ مایکل می‌شود. طی این واکنش محصول افزایشی کاهش یافته‌ای (IV) تولید می‌گردد که در نهایت به حالت اکسید شده (V) در می‌آید. در غیاب زمان اعمال پتانسیل برای پیک محصول یک دماغه احیایی در روبش برگشت به خوبی دیده

می‌شود شکل ۲-۲-ب (ولتاموگرام کتکول و ۴-متیل-۲-تیواوراسیل)، که این دماغه مربوط به احیای ترکیب افزایشی (V) و کتکول اکسید شده‌ی واکنش نداده (II) به حالت اکسید شده مربوطه می‌شود.

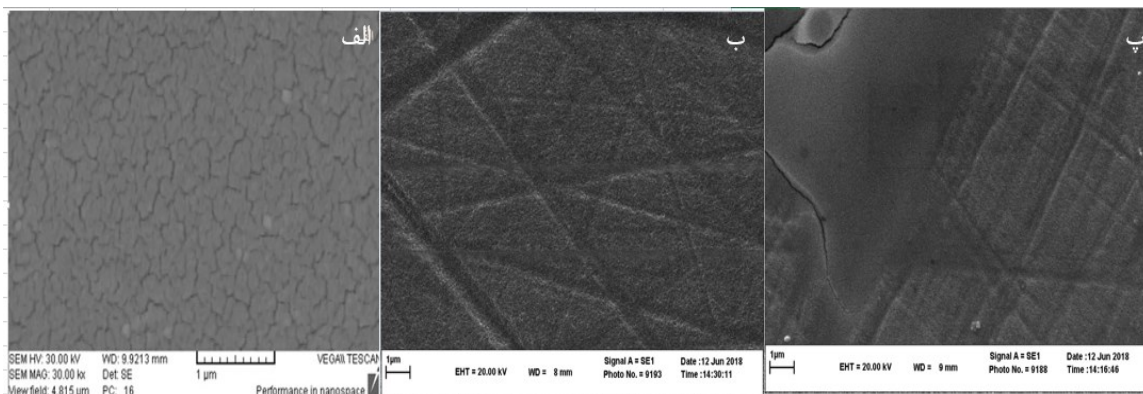


شکل ۲-۴ مکانیسم پیشنهادی برای واکنش الکترودی روی سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین

## ۲-۵ بررسی و مشخصه‌یابی الکتروود اصلاح شده

### ۲-۵-۱ بررسی مورفولوژی سطح الکتروود

برای بررسی تغییرات ایجاد شده در سطح الکتروود، تصویر سطح الکترودهای کربن شیشه‌ای اصلاح شده با کارموزین، الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده در محیط سود بدون کارموزین و الکتروود GC برهنه به روش تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) ثبت گردید.

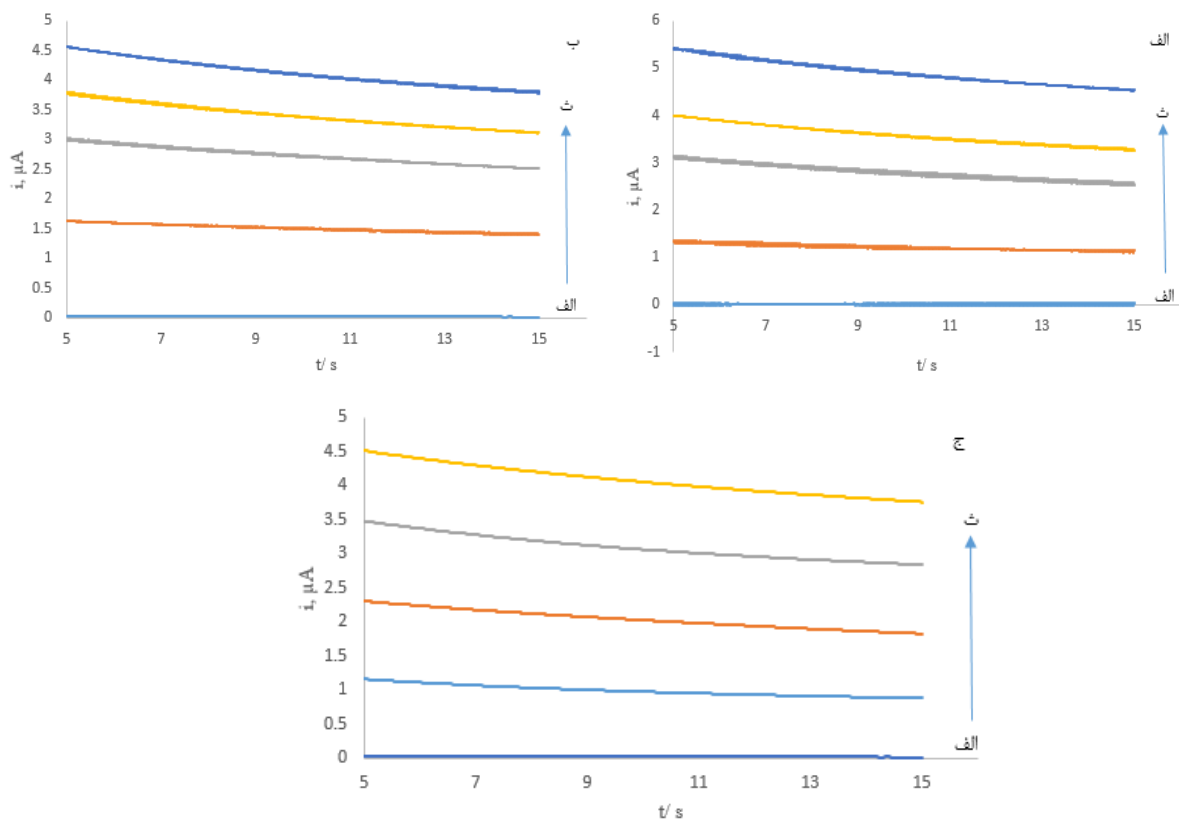


شکل ۲-۵ تصاویر SEM: الف) الکتروود کربن شیشه‌ای برهنه. ب) الکتروود کربن شیشه‌ای قرار گرفته در محیط سود بدون اصلاح‌گر. پ) الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با کارموزین.

نتایج (شکل ۲-۵) نشان می‌دهد کارموزین با ایجاد لایه یکنواخت بر روی سطح الکتروود GC، سطحی هموار و یکدست را بر روی آن ایجاد کرده است.

## ۲-۵-۲ اندازه‌گیری مساحت سطح الکتروودهای اصلاح شده و اصلاح نشده با کروئوآمپرومتری

در این روش پله پتانسیل را به الکتروود کار اعمال نموده و تغییرات جریان را در طول زمان اندازه می‌گیرند. روش کار در این مطالعه تحقیقاتی بدین صورت بود که الکتروودهای کربن شیشه‌ای اصلاح شده با کارموزین و همچنین دو الکتروود دیگر شامل الکتروود کربن شیشه‌ای برهنه و الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده در محیط سود (بدون اصلاح‌گر)، در محلول‌های حاوی  $KCl$   $0.1$  مولار و غلظت-های مختلف  $K_4[Fe(CN)_6]$  (محدوده  $0.001$  تا  $0.004$  مولار) قرار داده شدند. سپس کروئوآمپروگرام‌های مربوط، با اعمال پتانسیل  $0.35$  ولت نسبت به الکتروود مرجع نقره/نقره کلرید ثبت شد. شکل (۲-۶-الف)، شکل (۲-۶-ب) و شکل (۲-۶-ج) به ترتیب تغییرات  $i-t$  را برای الکتروود اصلاح شده با کارموزین، الکتروود کربن شیشه‌ای قرار گرفته در محیط سود بدون کارموزین و همچنین الکتروود کربن شیشه‌ای نشان می‌دهد.



شکل ۲-۶: (الف) کرومیاپروگرام الکتروود اصلاح شده با کارموزین در محلول  $KCl$  ۰/۱ مولار با غلظت‌های مختلف از  $K_4[Fe(CN)_6]$ : (الف) ۰/۱، (ب) ۰/۰۱، (پ) ۰/۰۰۲، (ت) ۰/۰۰۳ و (ث) ۰/۰۰۴ مولار. پله پتانسیل آندی: ۰/۳۵ ولت نسبت به الکتروود شاهد. (ب) کرومیاپروگرام الکتروود کربن شیشه‌ای قرار گرفته در محیط سود بدون اصلاح‌گر در محلول  $KCl$  ۰/۱ مولار با غلظت‌های مختلف از  $K_4[Fe(CN)_6]$ : (الف) ۰/۱، (ب) ۰/۰۱، (پ) ۰/۰۰۲، (ت) ۰/۰۰۳ و (ث) ۰/۰۰۴ مولار. پله پتانسیل آندی: ۰/۳۵ ولت نسبت به الکتروود شاهد. (ج) کرومیاپروگرام الکتروود کربن شیشه‌ای برهنه در محلول  $KCl$  ۰/۱ مولار با غلظت‌های مختلف از  $K_4[Fe(CN)_6]$ : (الف) غیاب، (ب) ۰/۰۰۱، (پ) ۰/۰۰۲، (ت) ۰/۰۰۳ و (ث) ۰/۰۰۴ مولار. پله پتانسیل آندی: ۰/۳۵ ولت نسبت به الکتروود شاهد.

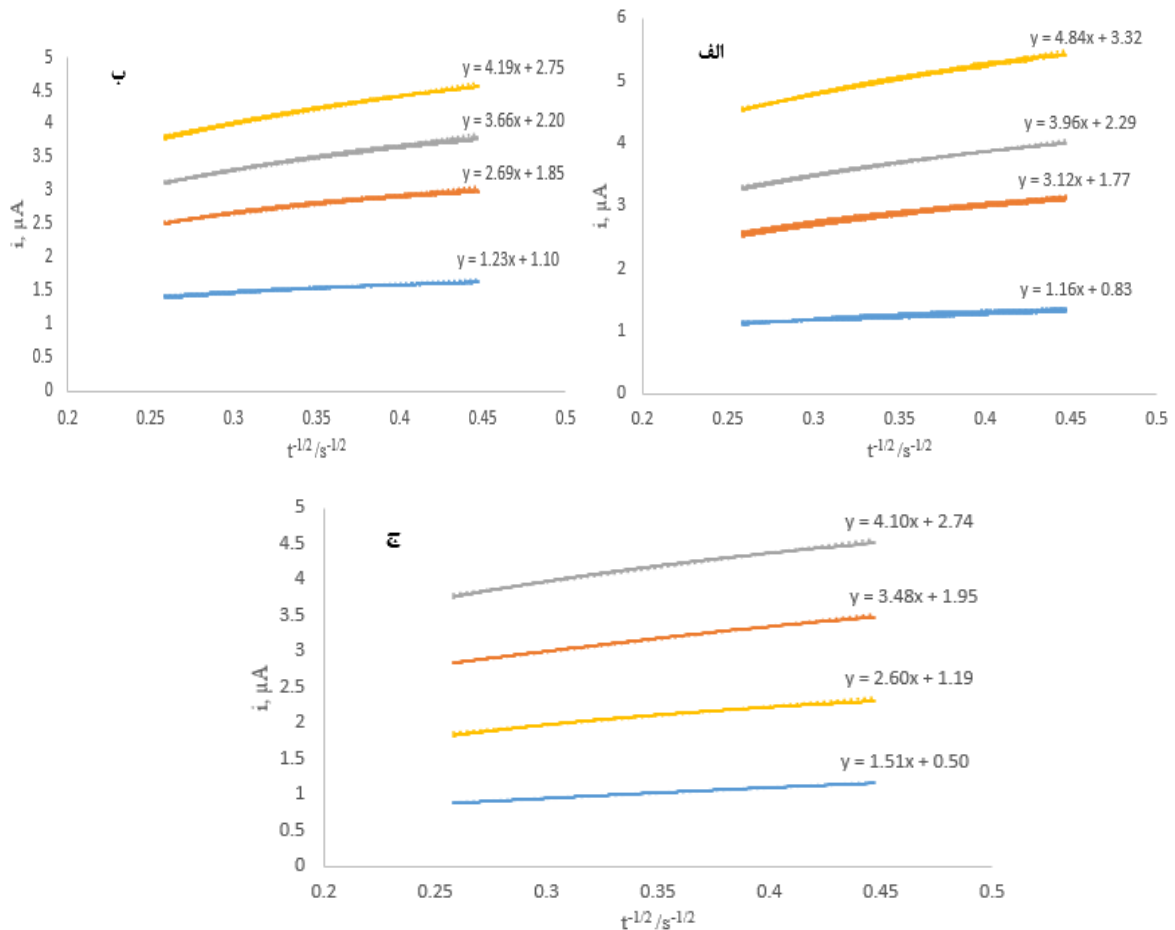
کرومیاپروگرام‌های به دست آمده نشان می‌دهند که با افزایش غلظت  $K_4[Fe(CN)_6]$ ، شدت

جریان اکسایش آن نیز افزایش پیدا می‌کند. همچنین برای هر غلظت مورد بررسی، این شدت جریان

به طور نمایی با زمان کاهش می‌یابد.



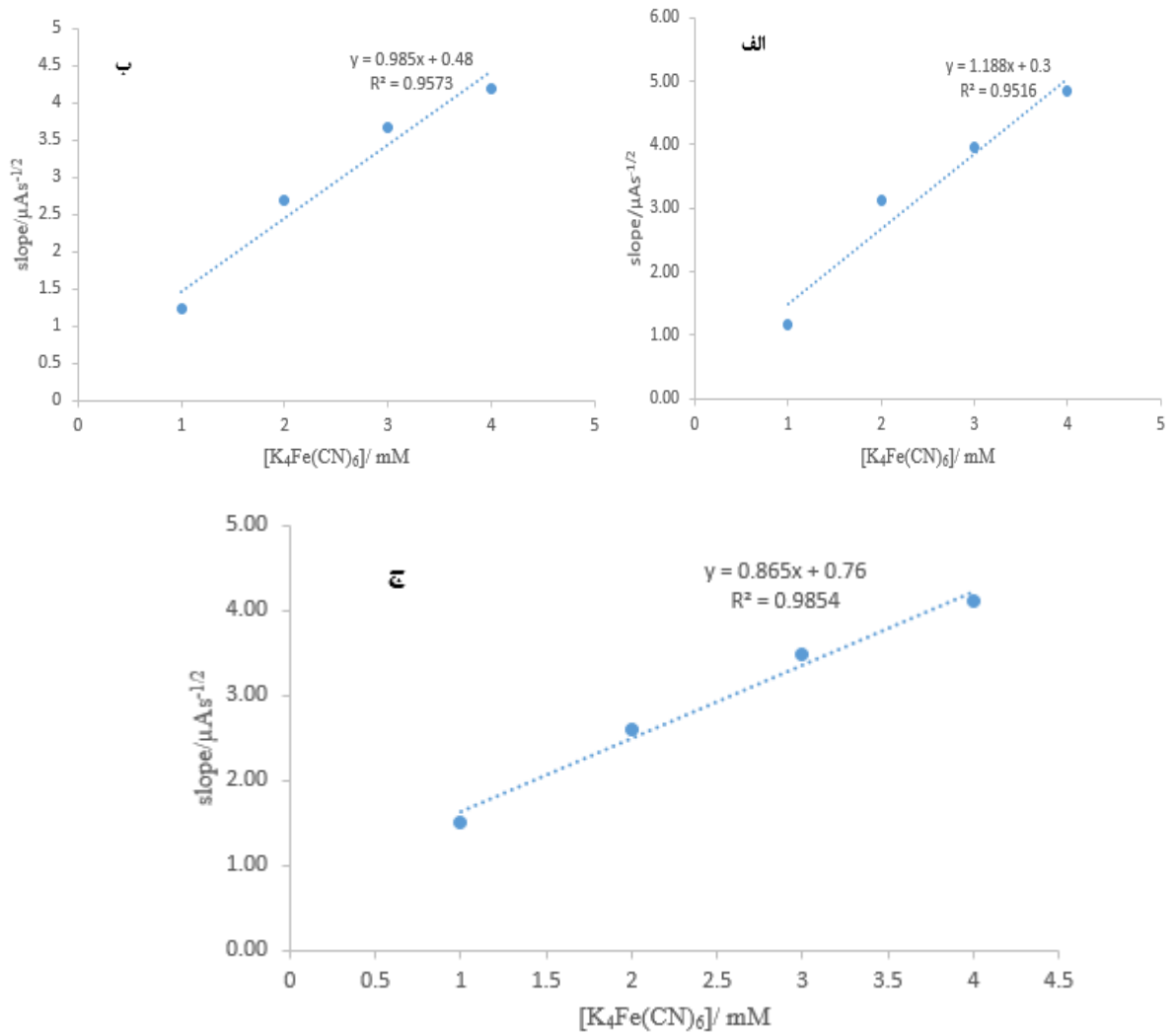
شکل (الف-۷-۲)، شکل (ب-۷-۲) و شکل (ج-۷-۲) تغییرات  $i-t^{-1/2}$  را برای غلظت‌های مختلف از  $K_4[Fe(CN)_6]$  نشان می‌دهد که این شکل‌ها به ترتیب برای الکترود اصلاح شده، الکترود قرار گرفته در محیط سود بدون اصلاح گر و همچنین الکترود کربن شیشه‌ای برهنه است.



شکل ۷-۲ نمودار تغییرات  $i-t^{-1/2}$ ، مربوط به کروئوآمپروگرام‌های (ب-ث) مربوط به قسمت (الف تا ج) است.

با استفاده از نمودارهای کروئوآمپرومتری به دست آمده و معادله (۲-۱) می‌توان مساحت سطح این الکترودها را تعیین کرد. شکل (الف-۸-۲)، شکل (ب-۸-۲) و شکل (ج-۸-۲) تغییرات  $\text{slope}-C_{ox}$  را نشان می‌دهد که از روی شیب نمودارهای حاصله و با دانستن میزان ضریب نفوذ  $K_4[Fe(CN)_6]$

( $10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  × ۶/۵ [۴]) مساحت سطح الکتروود طبق رابطه (۲-۱) محاسبه می‌شود.



شکل ۲-۸ نمودار شیب خطوط  $i-t^{1/2}$  بر حسب غلظت  $K_4[Fe(CN)_6]$ .

بنابراین سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین و الکتروود کربن شیشه‌ای قرار گرفته در محیط

سود بدون کارموزین و الکتروود کربن شیشه‌ای برهنه به ترتیب برابر با  $0.085 \text{ cm}^2$ ،  $0.070 \text{ cm}^2$ ،

$0.062 \text{ cm}^2$  به دست آمد. نتایج به دست آمده نشانگر افزایش ۱۳۷٪ در مساحت سطح الکتروود فعال

الکتروود اصلاح شده نسبت به الکتروود کربن شیشه‌ای برهنه می‌باشد.

## ۳-۵-۲ بررسی رفتار و تعیین غلظت کارموزین در سطح الکتروود کربن

### شیشه‌ای

به منظور بررسی رفتار الکتروشیمیایی کارموزین و مقدار کارموزین تثبیت شده در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای، الکتروود طبق روش شرح داده شده در بخش (۳-۲) تهیه و در سل الکتروشیمیایی حاوی ۱۰/۰ میلی لیتر بافر فسفاتی با  $\text{pH}=7/0$  قرار داده شد و ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در سرعت‌های روبش مختلف (در گستره ۲۵۰ تا ۱۰۰۰ میلی ولت بر ثانیه) و در محدوده پتانسیلی ۰/۴- تا ۱/۰ ولت، ثبت شدند.

داده‌های حاصل از این بررسی در جدول (۳-۲) ارائه شده است. با رسم نمودار شدت جریان دماغه آندی بر حسب سرعت روبش پتانسیل (شکل ۲-۹) نشان می‌دهد که شدت جریان دماغه آندی مطابق معادله (۲-۱) با سرعت روبش رابطه خطی دارد که این نتیجه بیانگر این است که فرایند انتقال الکترون تحت کنترل واکنش سطحی می‌باشد.

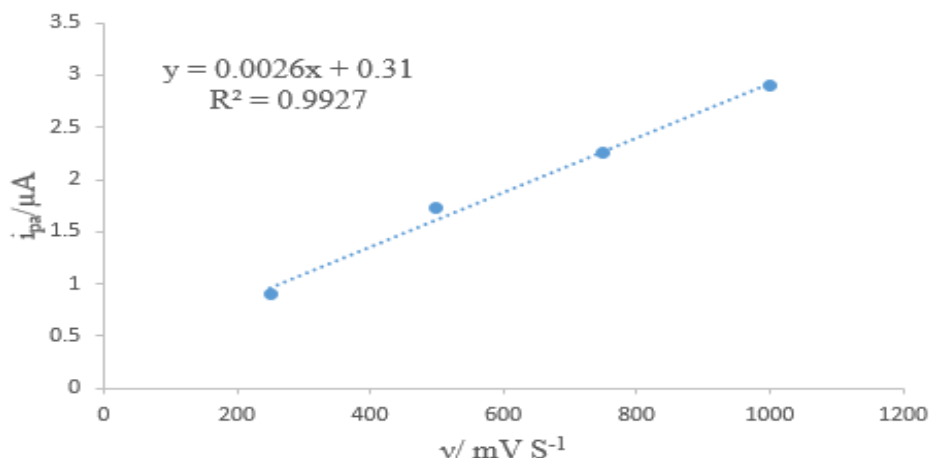
$$i_{pa} (\mu\text{A}) = 0/0026 v (\text{mV s}^{-1}) + 0/31 (\mu\text{A}) \quad (R^2 = 0/9927) \quad \text{معادله (۲-۱)}$$

جدول ۳-۲ نتایج حاصل از بررسی غلظت کارموزین در سطح الکتروود.

$v (\text{mV s}^{-1})$	$i_{pa} (\mu\text{A})^*$	$i_{pc} (\mu\text{A})^{**}$
۲۵۰	۰/۹۰	۰/۸
۵۰۰	۱/۷۲	۱/۷
۷۵۰	۲/۲۵	۱/۹
۱۰۰۰	۲/۹۰	۲/۵

$$E_{pa} = 0/0100 \text{ V}^*$$

$$E_{pc} = -0/0200 \text{ V}^{**}$$



شکل (۲-۹): نمودار تغییرات شدت جریان آندی بر حسب سرعت روبش.

همانطور که در جدول (۲-۳) دیده می‌شود، نسبت شدت جریان آندی به شدت جریان کاتدی ( $I_{pa}/I_{pc}$ ) تقریباً برابر یک است. از طرفی اختلاف پتانسیل دماغه‌های آندی و کاتدی ( $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$ ) برابر با ۳۰٪ میلی‌ولت بوده و با افزایش سرعت روبش ثابت باقی مانده است. این نتایج بیان‌کننده برگشت پذیر بودن فرایند الکترودی کارموزین تثبیت شده در سطح الکترودی می‌باشد. با توجه به رفتار برگشت پذیری کارموزین،  $\Delta E_p$  در دمای ۲۵/۰ درجه سانتی‌گراد نزدیک به  $2.3RT/nF$  می‌باشد، بنابراین تعداد الکترون‌های انتقال یافته در این واکنش الکترودی برابر با ۲ ( $n=1/97$ ) در نظر گرفته شد.

برای تعیین غلظت سطح گونه‌های فعال در یک واکنش کنترل شده با فرآیندهای سطحی از معادله (۲-۲) استفاده می‌شود.

$$I_p = n^2 F^2 A \Gamma v / 4RT \quad \text{معادله (۲-۲)}$$

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

بنابراین غلظت سطح گونه الکتروفعال در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای  $8/14 \times 10^{-8} \text{ mol.cm}^{-2}$  به دست آمد.

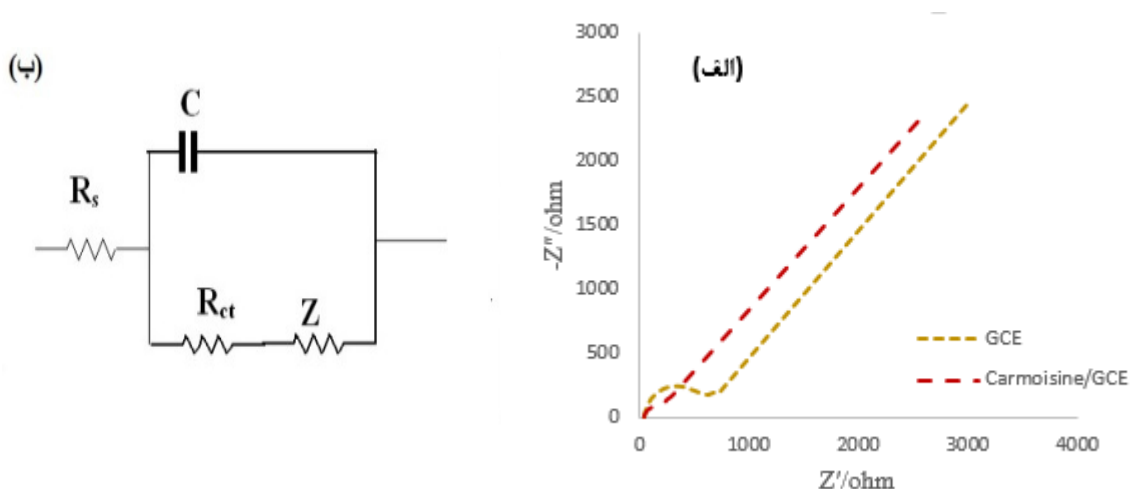
## ۴-۵-۲ مطالعات طیف‌بینی امپدانس الکتروشیمیایی در سطح الکترودهای مختلف

نمودارهای نایکوئیست در طیف بینی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS) یک ابزار تجزیه‌ای قدرتمند برای اندازه‌گیری میزان انتقال بار بین سطح الکتروود و واکنشگر است. آزمایش‌های اسپکتروسکوپی امپدانس الکتروشیمیایی در پتانسیل مدار باز و در محدوده  $0/1$  تا  $100000 \text{ Hz}$  در محلول  $0/05$  مولار  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 / \text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  در  $0/1$  مولار پتاسیم کلرید انجام شد. برای مقایسه، مطالعه EIS در سطح الکترودهای کربن شیشه‌ای اصلاح نشده و اصلاح شده با کارموزین انجام گرفت (شکل ۲-۱۰-الف). مدار معادل شده برای طیف‌های امپدانس (شکل ۲-۱۰-ب). همان‌طور که مشاهده می‌شود، در منحنی‌های EIS نیم دایره بزرگی در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای برهنه مشاهده می‌شود در حالیکه با اصلاح سطح الکتروود کربن شیشه‌ای با کارموزین، قطر این نیم دایره کوچک‌تر می‌شود. که این خود بیانگر افزایش هدایت الکتریکی الکتروود در حضور کارموزین است. میزان مقاومت انتقال بار ( $R_{ct}$ )<sup>۱</sup> برای الکترودهای GC و اصلاح شده با کارموزین به ترتیب ۴۹۷ و ۱۳۴ اهم به دست آمد. میزان مقاومت انتقال بار در حضور کارموزین نسبت به الکتروود GC کاهش می‌یابد که این خود نشان می‌دهد فرایند انتقال الکترون در حضور این اصلاح‌گر تسهیل می‌شود.

سل الکتروشیمیایی می‌تواند در پاسخ به محرک ولتاژ سینوسی کوچک به صورت یک امپدانس در نظر گرفته شود، که می‌توانیم عملکرد آن را به وسیله یک مدار متشکل از خازن و مقاومت نشان دهیم (شکل ۲-۱۰-ب) [۳۲]. در مدار معادل طراحی شده،  $R_s$ ،  $R_{ct}$ ،  $C$  به ترتیب مقاومت محلول، مقاومت در برابر انتقال بار و ظرفیت خازنی لایه دو گانه می‌باشد.  $Z$  نیز مربوط به انتشار نیمه متناهی

<sup>۱</sup> Resistance to charge transfer

می‌باشد.

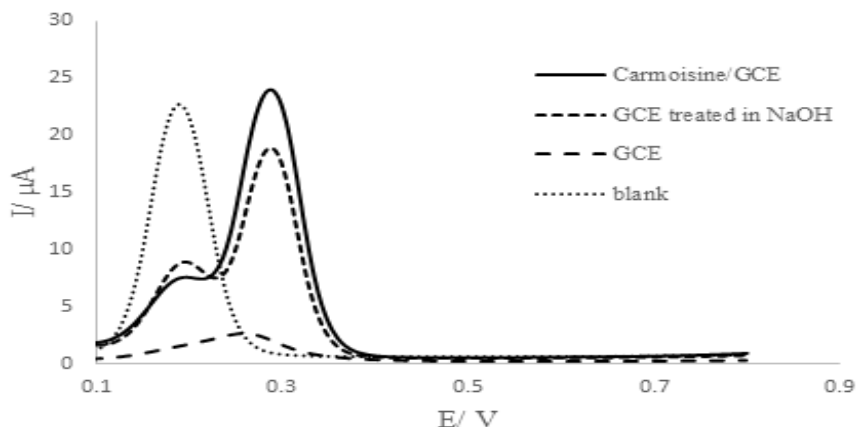


شکل ۲-۱۰ (الف) نمودار نایکوئیست در سطح الکتروود GC اصلاح نشده و الکتروود GC اصلاح شده با کارموزین در محلول ۰/۰۰۵ مولار  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$  حاوی ۰/۱۰ مولار KCl، محدوده فرکانس ۰/۱ تا ۱۰۰۰۰۰ Hz. (ب) نمایش طرح نموداری مدار معادل شده.

## ۲-۵-۵ بررسی حساسیت الکتروود اصلاح شده در اندازه‌گیری ۴-متیل-۲-

### تیواوراسیل

شکل (۲-۱۱) ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی مربوط به الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با کارموزین، الکتروود کربن شیشه با اعمال ۱۰ چرخه در محلول سود ۰/۲۰ مولار و الکتروود کربن شیشه‌ای برهنه در حضور ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و کتکول ۰/۲ میلی‌مولار در بافر فسفات  $pH=7.0$  را نشان می‌دهد. دماغه اکسایشی در ۰/۱۹ و ۰/۲۹ ولت به ترتیب مربوط به کتکول و محصول ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و کتکول می‌باشد. همانطور که در شکل (۲-۱۱) مشاهده می‌شود، دماغه اکسایشی محصول در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با کارموزین از حساسیت بیشتری برخوردار است. افزایش در جریان اکسایشی دماغه آندی محصول را می‌توان به افزایش سطح موثر الکتروود اصلاح شده با کارموزین نسبت داد. اختلاف بین جریان آندی محصول و شاهد ( $\Delta i = i_p - i_b$ ) در پتانسیلی که حداکثر جریان آندی برای محصول در آن مشاهده گردید، به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در نظر گرفته شد.



شکل ۲-۱۱ ولتاموگرامهای پالس تفاضلی مربوط به شاهد (.....) و محصول در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای برهنه (\_\_\_) و الکتروود کربن شیشه با اعمال ۱۰ چرخه در محلول سود ۰/۲۰ مولار (----) و الکتروود کربن شیشه اصلاح شده با کارموزین (\_\_\_) در حضور ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و کتکول ۰/۲ میلی‌مولار در بافر فسفاتی ۰/۷ pH سرعت روبش ۲۰ میلی ولت بر ثانیه، اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت به مدت ۲۴۰ ثانیه.

## ۲-۵-۶ بهینه‌سازی شرایط آزمایش

به منظور رسیدن به بهترین حساسیت و تکرارپذیری لازم است که اثر عوامل مختلف بر حساسیت روش بررسی گردد. برای این منظور از روش یک متغیر در یک زمان استفاده گردید. در این روش همه متغیرها ثابت در نظر گرفته می‌شود و فقط پارامتری که بایستی بهینه شود تغییر داده می‌شود.

## ۲-۵-۶-۱ بررسی اثر pH

به منظور بررسی تاثیر pH محیط بر شدت جریان و تعیین مقدار بهینه این پارامتر به روش زیر عمل شد:

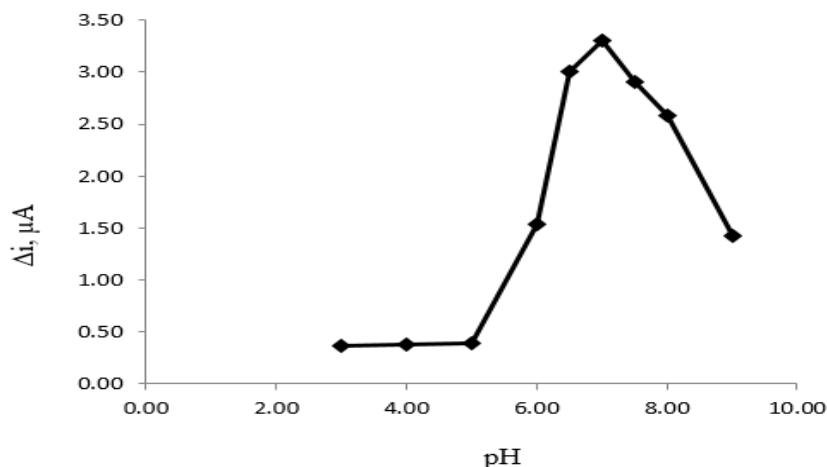
کارموزین به عنوان اصلاح‌گر به کمک تکنیک ولتامتری چرخه‌ای در سطح الکتروود تثبیت شد و الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده طبق بخش (۲-۳) تهیه شد. برای ثبت ولتاموگرام شاهد ۰/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با pH های متفاوت در گستره ۳/۰ تا ۹/۰ و آب مقطر و همچنین ۱/۰۰ میلی لیتر کتکول ۱/۰ میلی‌مولار (به حجم نهایی ۱۰/۰ میلی‌لیتر) به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت (نسبت به

الکتروود مرجع Ag/AgCl)، با سرعت ۲۰ میلی‌ولت بر ثانیه انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که به محلول شاهد ۱/۰۰ میلی‌لیتر از محلول ۴-متیل-۲-تیوآوراسیل با غلظت ۱/۰۰ میکرومولار به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت (نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl)، با سرعت ۲۰ میلی‌ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی‌ولت و ۸۰ ثانیه پتانسیل ۲۰۰ میلی‌ولت اعمال و اندازه‌گیری انجام شد. هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد و شدت جریان در پتانسیل ۰/۲۹ ولت اندازه‌گیری گردید و نمودار تغییرات جریان آندی در محلول‌های بافر فسفاتی با pHهای مختلف بر حسب تغییرات pH محیط رسم گردید (شکل ۲-۱۲) و جدول (۲-۴). نتایج نشان می‌دهد، با افزایش pH از ۳/۰۰ تا ۷/۰۰ سیگنال تجزیه‌ای افزایش می‌یابد. کاهش سیگنال تجزیه‌ای در pHهای بالاتر از ۷/۰۰ را می‌توان به واکنش دیمیرزاسیون کتکول نسبت داد [۵۵]. در نتیجه pH=۷/۰۰ به عنوان pH بهینه برای بررسی های بعدی انتخاب شد.

جدول ۲-۴ نتایج حاصل از بررسی pH.

pH	سیگنال تجزیه‌ای محصول (μA)
۳/۰۰	۰/۳۶
۴/۰۰	۰/۳۷
۵/۰۰	۰/۳۹
۶/۰۰	۱/۵۴
۶/۵۰	۳/۰۰
۷/۰۰	۳/۳۰
۷/۵۰	۲/۹۰
۸/۰۰	۲/۵۸
۹/۰۰	۱/۴۳





شکل ۲-۱۲ نمودار تغییرات جریان آنودی بر حسب pH بافر فسفاتنی برای محلول حاوی ۶/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتنی ۰/۰۶۷ مولار، ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۱۰ میلی مولار کتکول در سطح الکترود اصلاح شده با کارموزین به روش ولتامتری پالس تفاضلی. سرعت روبش ۲۰/۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت به مدت ۸۰ ثانیه.

### ۲-۵-۶-۲ بررسی نوع بافر

در سیستم الکتروشیمیایی الکترولیت حامل نقش هدایت الکترولیتی در محلول را ایفا می کند. محلول بافر علاوه بر ثابت نگه داشتن pH نقش الکترولیت حامل را در سل الکتروشیمیایی دارد لذا بررسی نوع بافر حائز اهمیت می باشد. به منظور بررسی اثر نوع بافر بر شدت جریان، بافرهای فسفاتنی و سیتراتی با pH=۷/۰ و غلظت ۰/۰۶۶ مولار مورد آزمایش قرار گرفتند. روش کار به صورت زیر بود:

برای ثبت ولتاموگرام شاهد ۶/۰۰ میلی لیتر بافر با pH=۷/۰، آب مقطر و همچنین ۱/۰۰ میلی لیتر کتکول ۱/۰ میلی مولار (به حجم نهایی ۱۰/۰ میلی لیتر) به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت (نسبت به الکترود مرجع Ag/AgCl)، با سرعت ۲۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که به محلول شاهد ۱/۰۰ میلی لیتر از محلول ۴-متیل-۲-تیواوراسیل با غلظت ۱/۰۰ میکرومولار به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت (نسبت به الکترود مرجع Ag/AgCl)، با سرعت ۲۰ میلی -

ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و ۸۰ ثانیه پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت اعمال و اندازه‌گیری انجام شد.

نتایج به دست آمده (جدول ۲-۵)، نشانگر حساسیت بالاتر اندازه‌گیری این ترکیب در بافر فسفاتی می‌باشد. از اینرو در مطالعات بعدی از بافر فسفاتی استفاده گردید.

جدول ۲-۵ نتایج حاصل از بررسی نوع بافر.

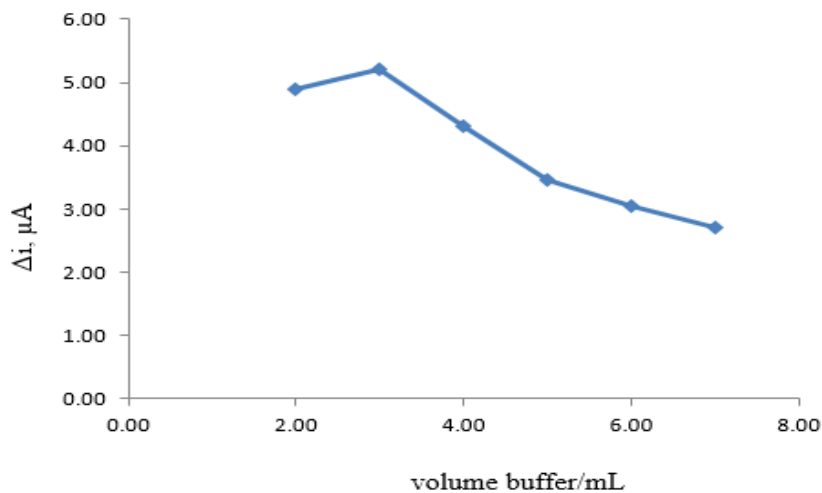
نوع بافر	سیگنال تجزیه‌ای محصول ( $\mu A$ )
فسفاتی	۳/۱۰
سیتراتی	۲/۸۰

### ۲-۵-۶-۳ بررسی حجم بافر

اثر حجم بافر فسفاتی با  $pH=7/0$  بر شدت جریان دماغه محصول مورد بررسی قرار گرفت. برای ثبت ولتاموگرام شاهد حجم‌های مختلفی از محلول بافر و آب مقطر و همچنین ۱/۰۰ میلی لیتر کتکول ۱/۰ میلی‌مولار (به حجم نهایی ۱۰/۰ میلی‌لیتر) به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت (نسبت به الکتروود مرجع  $Ag/AgCl$ )، با سرعت ۲۰ میلی‌ولت بر ثانیه انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که به محلول شاهد ۱/۰۰ میلی‌لیتر از محلول ۴-متیل-۲-تیواوراسیل با غلظت ۱/۰۰ میکرومولار به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت (نسبت به الکتروود مرجع  $Ag/AgCl$ )، با سرعت ۲۰ میلی-ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و ۸۰ ثانیه پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت اعمال و اندازه‌گیری انجام شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۲-۶) و شکل (۲-۱۳) آمده است.

جدول ۲-۶ نتایج حاصل از بررسی حجم بافر.

حجم بافر (ml)	سیگنال تجزیه‌ای محصول ( $\mu\text{A}$ )
۲/۰۰	۴/۹۰
۳/۰۰	۵/۲۰
۴/۰۰	۴/۳۲
۵/۰۰	۳/۴۵
۶/۰۰	۳/۰۴
۷/۰۰	۲/۷۰



شکل ۲-۱۳ نمودار تغییرات جریان آنودی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب حجم بافر فسفاتنی ۰/۰۶۷ مولار با  $\text{pH}=7/0$ ، برای محلول حاوی ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۱۰ میلی‌مولار کنتکول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین. سرعت روبش ۲۰/۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت به مدت ۸۰ ثانیه.

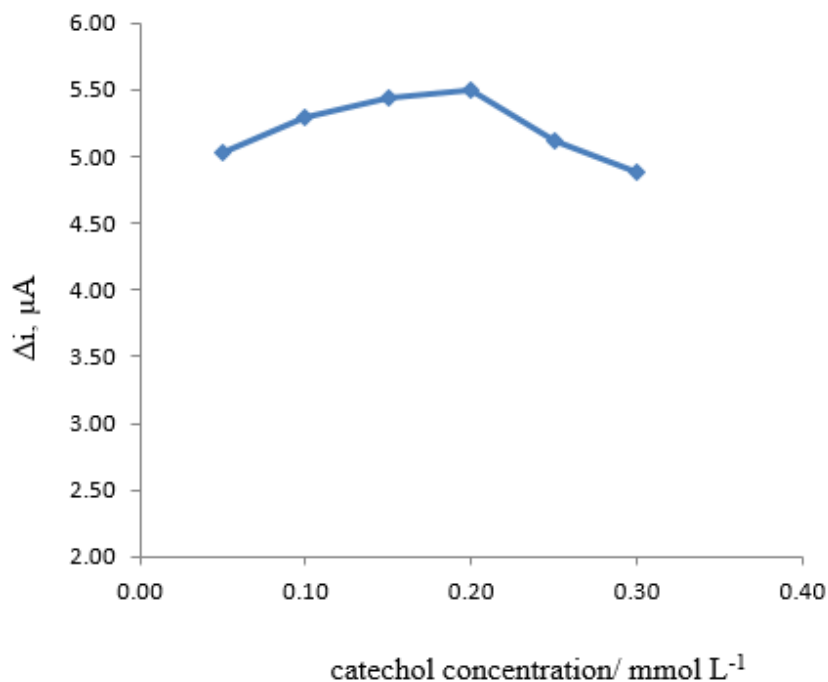
با توجه به نتایج به دست آمده با افزایش حجم بافر تا ۳/۰۰ میلی لیتر سیگنال تجزیه‌ای افزایش یافته و بعد از آن کاهش پیدا می‌کند، بنابراین ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتنی با  $\text{pH}=7/0$  به عنوان مقدار بهینه برای بررسی‌های بعدی انتخاب شد.

## ۲-۵-۶-۴ بررسی غلظت کتکول

تعیین غلظت بهینه کتکول به عنوان یک پارامتر مهم دیگر در محدوده غلظتی ۰/۰۵ تا ۰/۳۰ میلی مولار مورد بررسی قرار گرفت. روش کار بدین صورت بود که الکتروود کربن شیشه‌ای طبق بخش (۲-۳) اصلاح شد. الکتروود اصلاح شده با آب مقطر شسته شد. برای ثبت ولتاموگرام شاهد ۳/۰۰ میلی لیتر از محلول بافر فسفاتی با  $\text{pH}=7/0$  و همچنین غلظت‌های مختلف از کتکول و آب مقطر (به حجم نهایی ۱۰/۰ میلی لیتر) به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت، با سرعت ۲۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که به محلول شاهد ۱/۰۰ میلی لیتر از محلول ۴-متیل-۲-تیواوراسیل با غلظت ۱/۰۰ میکرومولار به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت (نسبت به الکتروود مرجع  $\text{Ag/AgCl}$ )، با سرعت ۲۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و ۸۰ ثانیه پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت اعمال و اندازه‌گیری انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کتکول تا ۰/۲۰ میلی مولار شدت جریان دماغه محصول افزایش می‌یابد در حالیکه در غلظت‌های بالاتر شدت جریان دماغه آندی کاهش می‌یابد. از اینرو، برای مطالعات بعدی غلظت ۰/۲۰ میلی مولار به عنوان مقدار بهینه انتخاب شد. نتایج حاصله در شکل (۲-۱۴) و جدول (۲-۷) آورده شده است.

جدول ۲-۷ نتایج حاصل از بررسی غلظت کتکول.

غلظت کتکول (mM)	سیگنال تجزیه‌ای محصول ( $\mu\text{A}$ )
۰/۰۵	۵/۰۲
۰/۱۰	۵/۳۰
۰/۱۵	۵/۴۳
۰/۲۰	۵/۵۰
۰/۲۵	۵/۱۱
۰/۳۰	۴/۸۹



شکل ۲-۱۴ نمودار تغییرات جریان آندی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب غلظت کتکول برای محلول حاوی ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با  $\text{pH}=7/0$ ، ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین. سرعت روبش ۲۰/۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت به مدت ۸۰ ثانیه.

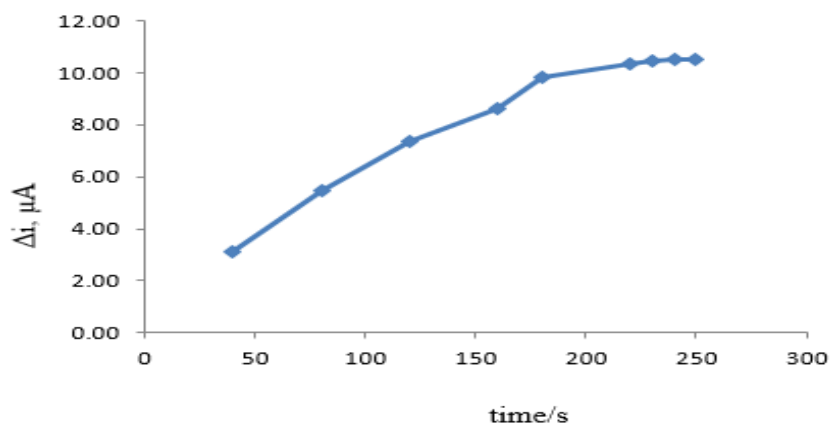
### ۲-۵-۶-۵ بررسی زمان اعمال پتانسیل

به منظور بررسی تاثیر جذب سطحی بر شدت جریان ۴-متیل-۲-تیواوراسیل در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین، ولتاموگرام های پالس تفاضلی در زمان های متفاوت ثبت شد. روش کار بدین صورت بود که الکتروود کربن شیشه ای طبق بخش (۲-۳) اصلاح شد. الکتروود اصلاح شده با آب مقطر شسته شد. برای ثبت ولتاموگرام شاهد ۳/۰۰ میلی لیتر از محلول بافر فسفاتی با  $\text{pH}=7/0$  و همچنین ۲/۰۰ میلی لیتر از محلول کتکول با غلظت ۱/۰ میلی مولار و آب مقطر (به حجم نهایی ۱۰/۰ میلی-لیتر) به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت، با سرعت ۲۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که به محلول شاهد ۱/۰۰ میلی لیتر از محلول ۴-متیل-۲-تیواوراسیل با غلظت ۱/۰۰ میکرومولار به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش

ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت (نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl)، با سرعت ۲۰ میلی‌ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی‌ولت و در زمان‌های مختلف پتانسیل ۲۰۰ میلی‌ولت اعمال و اندازه‌گیری انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش مدت زمان اعمال پتانسیل شدت جریان دماغه محصول افزایش می‌یابد و در زمان‌های بالاتر تغییر زیادی در شدت جریان مشاهده نمی‌شود از اینرو، برای مطالعات بعدی زمان ۲۴۰ ثانیه به عنوان مقدار بهینه انتخاب شد. نتایج حاصله در شکل (۲-۱۵) و جدول (۲-۸) آورده شده است.

جدول ۲-۸ نتایج حاصل از بررسی زمان.

زمان (s)	سیگنال تجزیه‌ای محصول ( $\mu A$ )
۴۰	۳/۰۹
۸۰	۵/۴۸
۱۲۰	۷/۳۶
۱۶۰	۸/۶۱
۱۸۰	۹/۸۴
۲۲۰	۱۰/۳۵
۲۳۰	۱۰/۴۴
۲۴۰	۱۰/۵۰
۲۵۰	۱۰/۵۰



شکل ۲-۱۵ نمودار تغییرات جریان آندی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب زمان برای محلول حاوی ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با  $\text{pH}=7/0$ ، ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۲۰ میلی-مولار کتکول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین. سرعت روبش ۲۰/۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت.

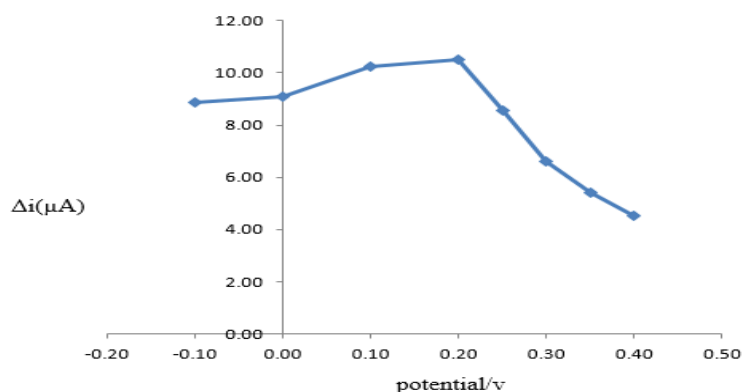
### ۲-۵-۶- بررسی پتانسیل اعمال شده جهت انجام واکنش مایکل

با توجه به منحنی شدت جریان-پتانسیل، پتانسیل باید طوری تنظیم شود که روی سکوی انتشار کتکول قرار گیرد و واکنش الکتروودی با بیشترین جریان امکان پذیر باشد. روش کار بدین صورت بود که الکتروود کربن شیشه‌ای طبق بخش (۲-۳) اصلاح شد. الکتروود اصلاح شده با آب شسته شد. برای ثبت ولتاموگرام شاهد ۳/۰۰ میلی لیتر از محلول بافر فسفاتی و همچنین ۲/۰۰ میلی لیتر از محلول کتکول با غلظت ۱/۰ میلی مولار و آب مقطر (به حجم نهایی ۱۰/۰ میلی لیتر) به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت، با سرعت ۲۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که به محلول شاهد ۱/۰۰ میلی لیتر از محلول ۴-متیل-۲-تیواوراسیل با غلظت ۱/۰۰ میکرومولار به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت (نسبت به الکتروود مرجع  $\text{Ag/AgCl}$ )، با سرعت ۲۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و مدت ۲۴۰ ثانیه پتانسیل‌های ذکر شده در جدول (۲-۹) اعمال و اندازه‌گیری انجام شد. هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد و سیگنال تجزیه‌ای به دست آمد. نتایج به دست

آمده (شکل ۲-۱۶) نشان می‌دهد که با افزایش پتانسیل تا ۰/۲۰ ولت سیگنال تجزیه‌ای برای محصول افزایش می‌یابد و پس از آن کاهش پیدا می‌کند. بنابراین، در این مطالعه برای رسیدن به حداکثر شدت جریان از پتانسیل ۰/۲۰ ولت به عنوان مقدار بهینه استفاده شد.

جدول ۲-۹ نتایج حاصل از بررسی پتانسیل.

پتانسیل (V)	سیگنال تجزیه‌ای محصول ( $\mu A$ )
-۰/۱۰	۸/۸۷
۰/۰۰	۹/۰۹
۰/۱۰	۱۰/۲۶
۰/۲۰	۱۰/۵۰
۰/۲۵	۸/۵۷
۰/۳۰	۶/۶۱
۰/۳۵	۵/۴۲
۰/۴۰	۴/۵۳



شکل ۲-۱۶ نمودار تغییرات جریان آندی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب پتانسیل برای محلول حاوی ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با  $pH=7/0$ ، ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-تیوآوراسیل و ۰/۲۰ میلی مولار کتکول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین. سرعت روبش ۲۰/۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و مدت ۲۴۰ ثانیه.



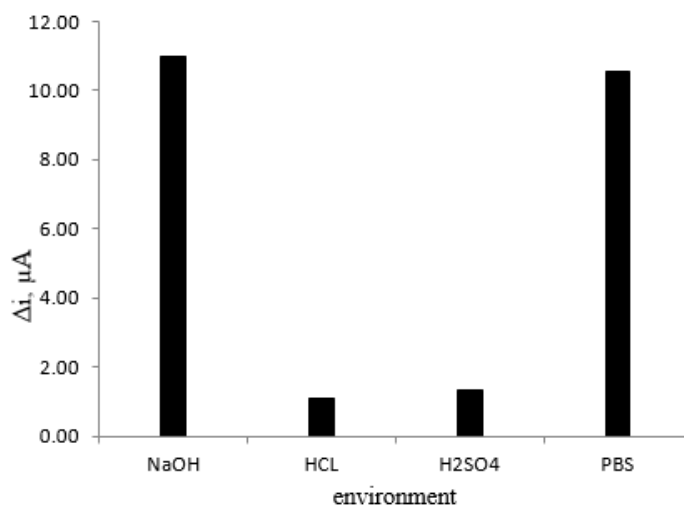
## ۲-۵-۶-۷ بررسی اثر محیط

برای انجام واکنش اکسایش\_ کاهش حضور الکترولیت حامل لازم است. الکترولیت حامل در محدوده پتانسیل اعمالی نباید دارای واکنش الکتروشیمیایی باشد. الکترولیت‌های مورد استفاده در این پایان‌نامه شامل: محلول‌های ۰/۱۰ مولار هیدرو کلریک اسید، ۰/۱۰ مولار سود و ۰/۰۵ مولار سولفوریک اسید و بافر فسفاتی ۰/۰۷ pH بودند. به منظور اصلاح سطح الکتروُد، الکتروُد به سل حاوی مخلوطی از ۱/۰ میلی‌مولار کارموزین و هر یک از الکترولیت‌های مورد نظر منتقل شد. تعداد ۱۰ چرخه متوالی به روش ولتامتری چرخه‌ای در محدوده ۰/۳- تا ۱/۰+ ولت نسبت به الکتروُد مرجع نقره/نقره کلراید با سرعت ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه صورت گرفت. سپس الکتروُد از محلول خارج و با آب مقطر شستشو داده شد و به سل الکتروشیمیایی منتقل شد. برای ثبت ولتاموگرام شاهد ۳/۰۰ میلی لیتر از محلول بافر فسفاتی و همچنین ۲/۰۰ میلی لیتر از محلول کتکول با غلظت ۱/۰ میلی‌مولار و آب مقطر (به حجم نهایی ۱۰/۰ میلی لیتر) به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت، با سرعت ۲۰ میلی‌ولت بر ثانیه انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که به محلول شاهد ۱/۰۰ میلی لیتر از محلول ۴-متیل-۲-تیواوراسیل با غلظت ۱/۰۰ میکرومولار به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت (نسبت به الکتروُد مرجع Ag/AgCl)، با سرعت ۲۰ میلی‌ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و ۲۴۰ ثانیه پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت اعمال و اندازه‌گیری انجام شد. نتایج در جدول (۲-۱۰) و شکل (۲-۱۷) نشان داده شده است. باتوجه به نتایج بدست آمده، بیشترین جریان تجربه‌ای برای الکتروُد تهیه شده در محلول سود ۰/۱۰ مولار می باشد که میتوان به تشکیل گروه‌های هیدروکسی در سطح الکتروُد اصلاح شده و در نتیجه اتصال بهتر لایه اصلاح‌گر در سطح الکتروُد اصلاح شده نسبت داد. استفاده از سود به عنوان الکترولیت حامل همچنین باعث ایجاد تکرارپذیری بیشتر می‌شود که مقادیر انحراف استاندارد نشان-دهنده این تکرارپذیری می‌باشد. بنابراین محلول ۰/۱۰ مولار سود به عنوان الکترولیت حامل در مرحله

بعدي انتخاب شد.

جدول ۱۰-۲ نتايج حاصل از بررسي محيط سنتز.

الکترولیت	سیگنال تجزیه‌ای محصول ( $\mu\text{A}$ )	انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای
NaOH(0.1M)	۱۱/۰۰	۰/۰۶
HCl(0.1M)	۱/۰۹	۰/۱۴
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.05M)	۱/۳۳	۰/۰۶
PBS( pH 7.0)	۱۰/۵۷	۰/۲۰



شکل ۱۷-۲ نمودار تغییرات جریان آندی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب محیط برای محلول حاوی ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با  $\text{pH}=7/0$ ، ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۲۰ میلی-مولار کتکول در سطح الکترواد اصلاح شده با کارموزین. سرعت روبش ۲۰/۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت به مدت ۲۴۰ ثانیه.

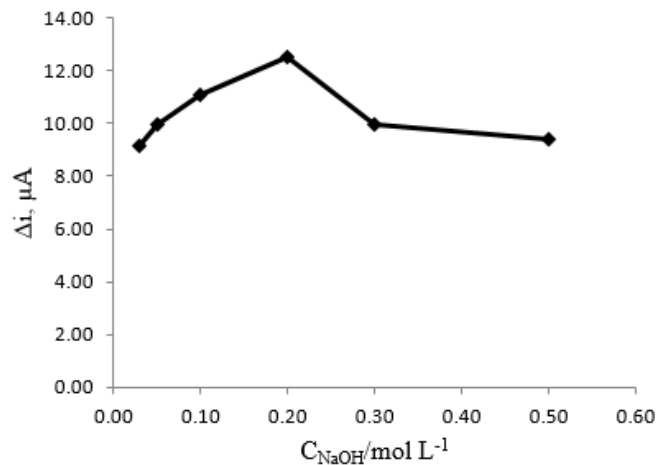
## ۸-۶-۵-۲ بررسی غلظت سود

غلظت سدیم هیدروکسید به عنوان یک عامل مهم در اصلاح الکترواد مورد بررسی قرار گرفت. روش کار بدین صورت بود که الکترواد کربن شیشه‌ای در محلول حاوی ۱/۰ میلی مولار کارموزین،

سدیم هیدروکسید با غلظت‌های مختلف ( $0.03-0.50 \text{ mol L}^{-1}$ ) و رساندن حجم آن به  $10/0$  میلی لیتر توسط آب مقطر و طی  $20$  چرخه متوالی در گستره  $0.3-1.0$  تا  $1/0$  ولت با سرعت روبش  $100$  میلی ولت بر ثانیه اصلاح شد. الکتروود اصلاح شده با آب مقطر شسته شد و به سل الکتروشیمیایی منتقل شد. برای ثبت ولتاموگرام شاهد  $3/00$  میلی لیتر از محلول بافر فسفاتی و همچنین  $2/00$  میلی لیتر از محلول کتکول با غلظت  $1/0$  میلی مولار و آب مقطر (به حجم نهایی  $10/0$  میلی لیتر) به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده  $0.0$  تا  $0.8$  ولت، با سرعت  $20$  میلی ولت بر ثانیه انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که به محلول شاهد  $1/00$  میلی لیتر از محلول ۴-متیل-۲-تیواوراسیل با غلظت  $1/00$  میکرومولار به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده  $0.0$  تا  $0.8$  ولت (نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl)، با سرعت  $20$  میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس  $50$  میلی ولت و  $240$  ثانیه پتانسیل  $200$  میلی ولت اعمال و اندازه‌گیری انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سدیم هیدروکسید شدت سیگنال افزایش می‌یابد که این امر احتمالاً می‌تواند به دلیل افزایش تعداد سایت‌های فعال و گروه‌های عاملی هیدروکسیل، کربونیل و ... باشد. با توجه به نتایج حاصله، غلظت  $0.20 \text{ mol L}^{-1}$  از سدیم هیدروکسید جهت اصلاح سطح الکتروود، برای مطالعات بعدی انتخاب شد. نتایج حاصله در شکل (۲-۱۸) و جدول (۲-۱۱) آورده شده است.

جدول ۲-۱۱ نتایج حاصل از بررسی غلظت سود.

غلظت سود ( $\text{mol L}^{-1}$ )	سیگنال تجزیه‌ای محصول ( $\mu\text{A}$ )
0.03	9/16
0.05	9/99
0.10	11/09
0.20	12/51
0.30	9/98
0.50	9/38



شکل ۲-۱۸ نمودار تغییرات جریان آندی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب غلظت سود برای محلول حاوی ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با  $pH=7/0$ ، ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۲۰ میلی مولار کتکول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین. سرعت روبش ۲۰/۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت به مدت ۲۴۰ ثانیه.

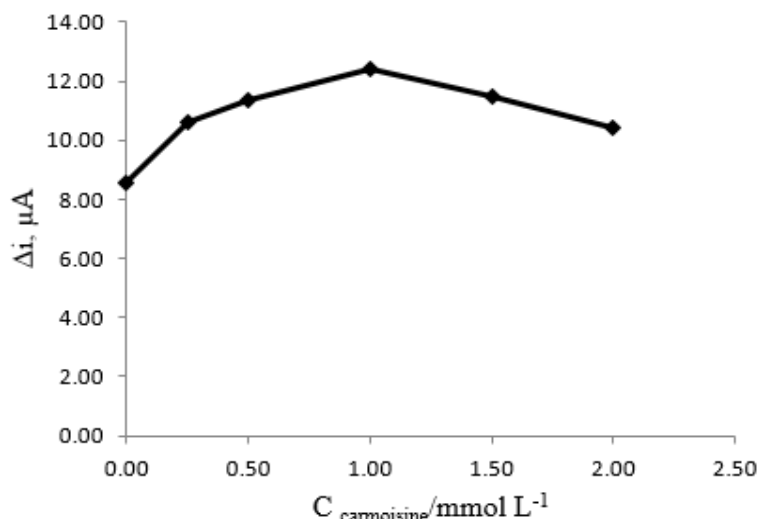
## ۲-۵-۶-۹ بررسی غلظت کارموزین

غلظت کارموزین موجود در سطح الکتروود نیز نقش تعیین کننده‌ای در پاسخ ولتامتری الکتروود اصلاح شده دارد. از این رو تاثیر غلظت‌های مختلف از کارموزین در سطح الکتروود مورد بررسی قرار گرفت. روش کار بدین صورت بود که الکتروود کربن شیشه‌ای در محلول حاوی کارموزین با غلظت‌های مختلف ( $2/0 - 0/0$  mmol L<sup>-1</sup>)، سدیم هیدروکسید ۰/۲۰ مولار و رساندن حجم آن به ۱۰/۰ میلی لیتر توسط آب مقطر طی ۲۰ چرخه در گستره ۰/۳- تا ۱/۰ ولت با سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه اصلاح شد. الکتروود اصلاح شده با آب شسته شد و سپس به سل الکتروشیمیایی حاوی سدیم هیدروکسید ۰/۲۰ مولار منتقل شد و روبش پتانسیل در محدوده‌ی اصلاح الکتروود به تعداد ۱۰ چرخه متوالی انجام شد و پس از آن برای ثبت ولتاموگرام شاهد ۳/۰۰ میلی لیتر از محلول بافر فسفاتی و همچنین ۲/۰۰ میلی لیتر از محلول کتکول با غلظت ۱/۰ میلی مولار و آب مقطر (به حجم نهایی ۱۰/۰ میلی لیتر) به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت، با سرعت ۲۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که به محلول شاهد ۱/۰۰ میلی لیتر از محلول ۴-متیل-۲-

تیواوراسیل با غلظت ۱/۰۰ میکرومولار به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت (نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl)، با سرعت ۲۰ میلی‌ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی‌ولت و ۲۴۰ ثانیه پتانسیل ۲۰۰ میلی‌ولت اعمال و اندازه‌گیری انجام شد. همانطور که در شکل (۲-۱۹) و جدول (۲-۱۲) مشاهده می‌شود تا غلظت ۱/۰ میلی‌مولار سیگنال تجزیه‌ای افزایش و سپس کاهش می‌یابد، زیرا پوشش سطح با افزایش غلظت کارموزین تا ۱/۰ میلی‌مولار افزایش یافته است و در غلظت‌های بالاتر از ۱/۰ میلی‌مولار، احتمالاً به دلیل افزایش ضخامت فیلم در سطح الکتروود سیگنال تجزیه‌ای شروع به کاهش می‌کند. بنابراین غلظت ۱/۰ میلی‌مولار از کارموزین به عنوان مقدار بهینه در سایر اندازه‌گیری‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۲-۱۲ نتایج حاصل از بررسی غلظت کارموزین.

غلظت کارموزین ( $\text{mmol L}^{-1}$ )	سیگنال تجزیه‌ای محصول ( $\mu\text{A}$ )
۰/۰۰	۸/۵۸
۰/۲۵	۱۰/۵۹
۰/۵۰	۱۱/۳۴
۱/۰۰	۱۲/۴۰
۱/۵۰	۱۱/۴۹
۲/۰۰	۱۰/۴۰



شکل ۲-۱۹ نمودار تغییرات جریان آنودی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب غلظت کارموزین برای محلول حاوی ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با  $\text{pH}=7/0$ ، ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۲۰ میلی مولار کتکول در سطح الکترودهای اصلاح شده با غلظت‌های متفاوت از کارموزین. سرعت روبش ۲۰/۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت به مدت ۲۴۰ ثانیه.

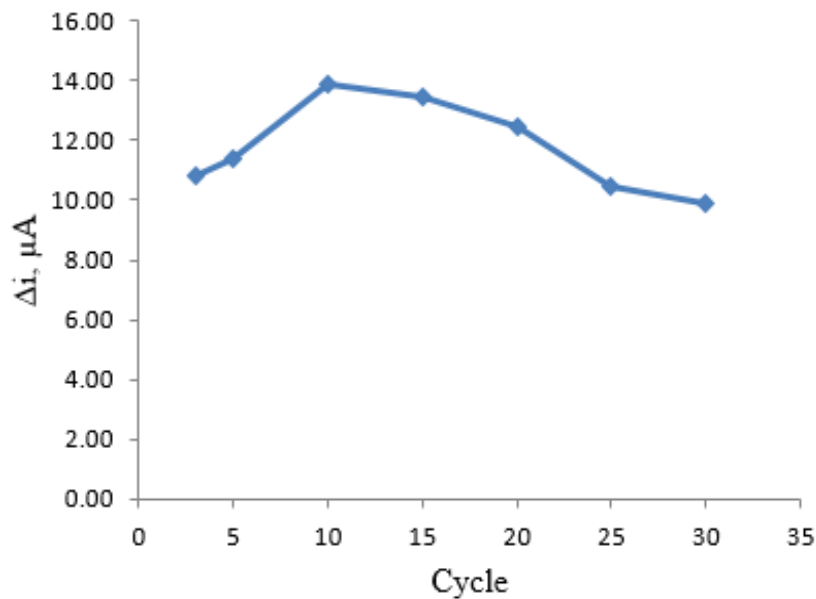
## ۲-۵-۶-۱۰ بررسی تعداد چرخه‌های اصلاح الکترود

تعداد چرخه‌ی اصلاح الکترود به عنوان یک عامل موثر در تعیین میزان فعال شدن و گروه‌های عاملی موجود در سطح الکترود و در نتیجه حساسیت روش مورد بررسی قرار گرفت. روش کار بدین صورت بود که الکترود کربن شیشه‌ای در محلول حاوی ۱/۰ میلی مولار کارموزین، سدیم هیدروکسید ۰/۲۰ مولار و رساندن حجم آن به ۱۰/۰ میلی لیتر توسط آب مقطر طی چرخه‌های مختلف (در محدوده‌ی ۳-۳۰ چرخه) در گستره ۰/۳- تا ۱/۰ ولت با سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه اصلاح شد. الکترود اصلاح شده با آب شسته شد و سپس به سل الکتروشیمیایی حاوی سدیم هیدروکسید ۰/۲۰ مولار منتقل شد و روبش پتانسیل در محدوده‌ی اصلاح الکترود به تعداد ۱۰ چرخه متوالی انجام شد و پس از آن برای ثبت ولتاموگرام شاهد ۳/۰۰ میلی لیتر از محلول بافر فسفاتی و همچنین ۲/۰۰ میلی لیتر از محلول کتکول با غلظت ۱/۰ میلی مولار و آب مقطر (به حجم نهایی ۱۰/۰ میلی لیتر) به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت، با سرعت ۲۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه

شاهد ثبت شد، با این تفاوت که به محلول شاهد ۱/۰۰ میلی لیتر از محلول ۴-متیل-۲-تیواوراسیل با غلظت ۱/۰۰ میکرومولار به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت (نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl)، با سرعت ۲۰ میلی-ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و ۲۴۰ ثانیه پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت اعمال و اندازه‌گیری انجام شد. نتایج بدست آمده از شکل (۲-۲۰) و جدول (۲-۱۳) نشان می‌دهد که با افزایش تعداد چرخه‌های اصلاح الکتروود سیگنال تجزیه‌ای برای گونه تا ۱۰ چرخه افزایش می‌یابد و پس از کاهش پیدا می‌کند. با افزایش تعداد چرخه، ضخامت فیلم افزایش می‌یابد و سیگنال اکسایشی افزایش می‌یابد. با افزایش بیشتر از ۱۰ چرخه ضخامت لایه پلیمر باعث کاهش هدایت در نتیجه کاهش سرعت انتقال الکترون در سطح الکتروود می‌شود. بنابراین تعداد ۱۰ چرخه فعال سازی سطح الکتروود برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

جدول ۲-۱۳ نتایج حاصل از بررسی تعداد چرخه‌های اصلاح الکتروود.

تعداد چرخه‌های اصلاح الکتروود	سیگنال تجزیه‌ای محصول ( $\mu A$ )
۳	۱۰/۸۳
۵	۱۱/۴۱
۱۰	۱۳/۹۲
۱۵	۱۳/۴۲
۲۰	۱۲/۴۵
۲۵	۱۰/۴۴
۳۰	۹/۹۰



شکل ۲-۲ نمودار تغییرات جریان آندی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب تعداد چرخه های اصلاح الکتروود برای محلول حاوی ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با  $pH=7/0$ ، ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۲۰ میلی مولار کنتکول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین. سرعت روبش ۲۰/۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت به مدت ۲۴۰ ثانیه.

### ۲-۵-۶-۱۱ بررسی سرعت روبش با تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی

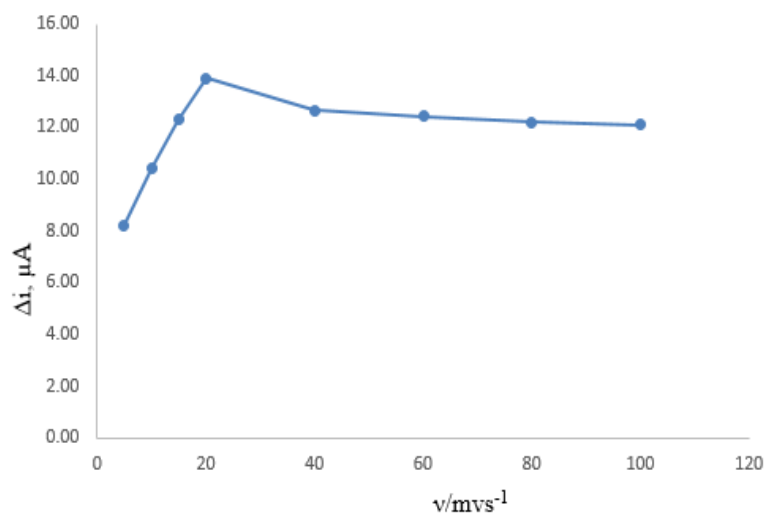
برای بررسی سرعت روبش بر شدت جریان، سرعت روبش ۵ تا ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه مطابق روش مورد آزمایش قرار گرفت. الکتروود اصلاح شده برای ثبت ولتاموگرام شاهد ۳/۰۰ میلی لیتر از محلول بافر فسفاتی و همچنین ۲/۰۰ میلی لیتر از محلول کنتکول با غلظت ۱/۰ میلی مولار و آب مقطر (به حجم نهایی ۱۰/۰ میلی لیتر) به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت، با سرعت های مختلف انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که به محلول شاهد ۱/۰۰ میلی لیتر از محلول ۴-متیل-۲-تیواوراسیل با غلظت ۱/۰۰ میکرومولار به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت (نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl)، با سرعت های مختلف، ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و ۲۴۰ ثانیه پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت اعمال و اندازه گیری انجام شد. نتایج به دست آمده (شکل ۲-۲۱) و جدول (۲-۱۴) نشان داد که با



افزایش سرعت روبش تا ۲۰ میلی ولت بر ثانیه شدت جریان افزایش می یابد و سپس کاهش پیدا می- کند. 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. بنابراین، سرعت روبش ۲۰ میلی ولت بر ثانیه به عنوان بهینه برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

جدول ۲-۱۴ نتایج حاصل از بررسی سرعت روبش.

سرعت روبش (mv/s)	سیگنال تجزیه‌ای محصول ( $\mu A$ )	انحراف استاندارد شاهد
۵	۸/۲۳	۰/۰۲
۱۰	۱۰/۳۰	۰/۰۴
۱۵	۱۲/۴۰	۰/۰۵
۲۰	۱۳/۹۰	۰/۱۲
۴۰	۱۲/۶۷	۰/۱۶
۶۰	۱۲/۴۳	۰/۱۸
۸۰	۱۲/۲۲	۰/۱۹
۱۰۰	۱۲/۱۲	۰/۲۱



شکل ۲-۲۱ نمودار تغییرات جریان آنودی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب سرعت روبش برای محلول حاوی ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با pH=۷/۰، ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۲۰ میلی مولار کتکول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین. ارتفاع پالس ۵۰ میلی ولت و اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت به مدت ۲۴۰ ثانیه.

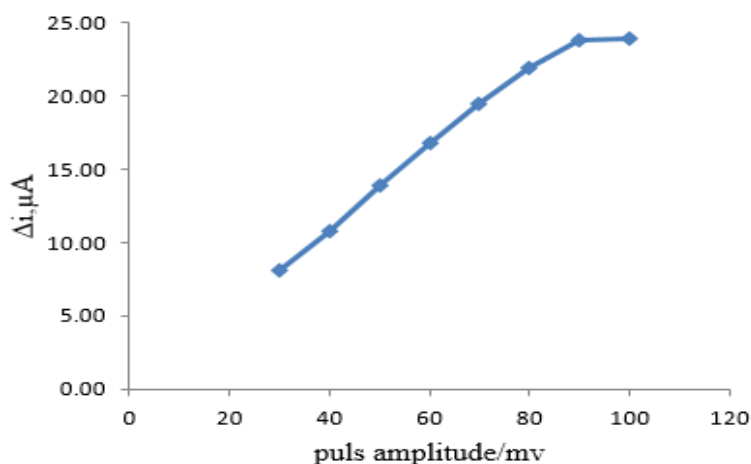
## ۲-۵-۶-۱۲ بررسی ارتفاع پالس

یکی از پارامترهای مهم و تاثیر گذار در سیگنال تجزیه‌ای، ارتفاع پالس است. برای بررسی ارتفاع پالس این پارامتر در محدوده ۳۰ تا ۱۰۰ میلی ولت مورد بررسی قرار گرفت. روش انجام کار برای بررسی این پارامتر به این صورت بود که برای ثبت ولتاموگرام شاهد ۳/۰۰ میلی لیتر از محلول بافر فسفاتی و همچنین ۲/۰۰ میلی لیتر از محلول کتکول با غلظت ۱/۰ میلی مولار و آب مقطر (به حجم نهایی ۱۰/۰ میلی لیتر) به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت، با سرعت ۲۰ میلی ولت بر ثانیه انجام شد. ولتاموگرام مربوط به نمونه در شرایط مشابه شاهد ثبت شد، با این تفاوت که به محلول شاهد ۱/۰۰ میلی لیتر از محلول ۴-متیل-۲-تیواوراسیل با غلظت ۱/۰۰ میکرومولار به سل الکتروشیمیایی منتقل و سپس روبش پتانسیل به روش ولتامتری پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت (نسبت به الکتروود مرجع Ag/AgCl)، با سرعت ۲۰ میلی ولت بر ثانیه و ۲۴۰ ثانیه پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت اعمال و اندازه‌گیری انجام شد. نتایج حاصله در شکل (۲-۲۲) و جدول (۲-۱۵) ارائه شده است. هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد و

سیگنال تجزیه‌ای به دست آمد. تغییر ارتفاع پالس تاثیر چشمگیری بر شدت جریان دارد. در واقع ارتفاع سیگنال تجزیه‌ای وابسته به ارتفاع پالس است. بنابراین، در این مطالعه برای رسیدن به حداکثر شدت جریان از ارتفاع پالس ۹۰ میلی ولت به عنوان مقدار بهینه انتخاب شد.

جدول ۲-۱۵ نتایج حاصل از بررسی ارتفاع پالس.

ارتفاع پالس (mv)	سیگنال تجزیه‌ای محصول ( $\mu A$ )
۳۰	۸/۱۳
۴۰	۱۰/۸۰
۵۰	۱۳/۸۸
۶۰	۱۶/۷۳
۷۰	۱۹/۴۶
۸۰	۲۱/۸۹
۹۰	۲۳/۸۲
۱۰۰	۲۳/۹۷



شکل ۲-۲۲ نمودار تغییرات جریان آندی محصول به روش ولتامتری پالس تفاضلی بر حسب ارتفاع پالس برای محلول حاوی ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با  $pH=7/0$ ، ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۲۰ میلی مولار کنتکول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین. سرعت روبش ۲۰/۰ میلی ولت بر ثانیه، اعمال پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت به مدت ۲۴۰ ثانیه.

## ۷-۵-۲ بررسی پارامترهای تجزیه‌ای در اندازه‌گیری مشتقات تیواوراسیل

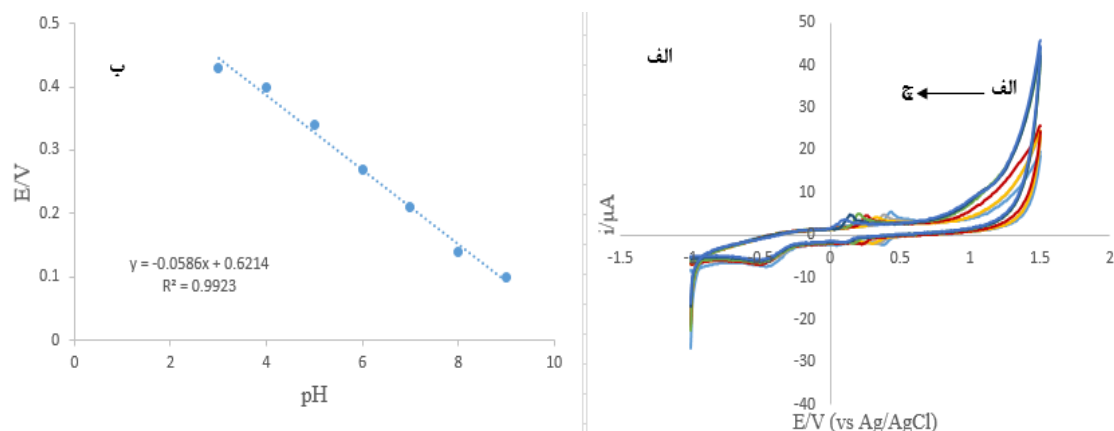
به کارگیری روش‌های تجزیه‌ای حساس، معتبر و گزینش‌پذیر برای اندازه‌گیری کمی ترکیبات دارویی از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. اعتبار سنجی روش‌های تجزیه‌ای راه کار مناسبی برای تشخیص مناسب بودن روش تجزیه‌ای به کار گرفته شده در اندازه‌گیری ترکیب مورد نظر می‌باشد. مشخصه‌های اعتبار سنجی روش عبارتند از: حد تشخیص، ناحیه خطی، دقت ( تکرارپذیری و تکثیر-پذیری) صحت، گزینش‌پذیری و پایداری. در ادامه نتایج بررسی این مشخصه‌ها ارائه شده است.

## ۸-۵-۲ بررسی الکتروشیمیایی اکسایش ۴-متیل-۲- تیواوراسیل

### ۱-۸-۵-۲ بررسی تاثیر تغییر pH محیط بر اکسایش ۴-متیل-۲- تیواوراسیل در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین

به منظور بررسی رفتار الکتروشیمیایی ۴-متیل-۲- تیواوراسیل با تغییر pH محیط، الکتروود اصلاح شده با کارموزین تهیه و در محلول بافر فسفاتی ( در محدوده ۳/۰ تا ۹/۰ ) حاوی غلظتی مشخص از ۴-متیل-۲- تیواوراسیل قرار داده شد. شکل (۲-۲۳-الف)، ولتاموگرام های مربوطه را نشان می‌دهد. بررسی تغییرات پتانسیل دماغه محصول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین نسبت به pH محیط، نشان دهنده برابری تعداد الکترون مبادله شده با تعداد پروتون دخیل در فرایند اکسایش الکتروشیمیایی این ترکیب در محدوده pH مورد مطالعه می‌باشد. نمودار تغییرات پتانسیل دماغه محصول بر حسب تغییرات pH، در شکل (۲-۲۳-ب) ارائه شده است. معادله (۱-۲) بیانگر رابطه خطی بین پتانسیل دماغه محصول با تغییرات pH می‌باشد:

$$E(V) = 0.6214 - 0.0586 \text{ pH} \quad R^2 = 0.9923 \quad (3-2)$$



شکل ۲۳-۲ (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای محلول حاوی ۱/۰۰ میکرومولار ۴-متیل-۲-تیوآراسیل و ۰/۲۰ میلی‌مولار کتکول در بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با pH های مختلف در سطح الکتروود اصلاح شده با سرعت روبش ۱۰۰ mv/s، (الف) تا (چ) به ترتیب در pH های : ۳/۰، ۴/۰، ۵/۰، ۶/۰، ۷/۰، ۸/۰، ۹/۰. (ب) نمودار تغییرات پتانسیل محصول بر حسب pH.

همان‌طور که مشاهده می‌شود، پتانسیل مربوط به این گونه آزمایشی، در سطح الکتروود اصلاح شده با افزایش pH به سمت مقادیر منفی جابجا می‌شود که نشان دهنده شرکت پروتون در فرایند اکسایش الکتروشیمیایی ۴-متیل-۲-تیوآراسیل می‌باشد. هم‌چنین، شیب خط بدست آمده نزدیک به شیب نرنستی مورد انتظار برای فرایند است که در نتیجه تعداد الکترون‌های مبادله شده با تعداد پروتون‌ها برابر می‌باشد (n=۲) [۵۱].

## ۲-۵-۸-۲ بررسی تاثیر تغییر سرعت روبش پتانسیل بر اکسایش ۴-متیل- ۲-تیوآراسیل به کمک ولتامتری چرخه‌ای

به منظور بررسی اثر سرعت روبش پتانسیل بر رفتار الکتروشیمیایی ۴-متیل-۲-تیوآراسیل در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین، ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در بافر فسفاتی با pH=۷/۰ حاوی ۰/۲۰ میلی‌مولار ۴-متیل-۲-تیوآراسیل و کتکول ۰/۲ میلی‌مولار در سرعت‌های روبش پتانسیلی مختلف در محدوده‌ی ۵۰ تا ۵۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه ثبت شد (شکل ۲۴-الف). بررسی این ولتاموگرام‌ها می‌تواند اطلاعات مفیدی در مورد مکانیسم واکنش الکتروشیمیایی در اختیار قرار دهد.

همان‌طور که در شکل (۲-۲۴-الف) مشخص است با افزایش سرعت روبش پتانسیل دماغه‌های آندی و کاتدی به ترتیب اندکی به سمت مقادیر مثبت‌تر و منفی‌تر جابجا می‌شوند. بنابراین، اختلاف دماغه‌های پتانسیل ( $\Delta E_p$ ) به تدریج افزایش می‌یابد، که این امر احتمالاً می‌تواند نشانگر کاهش سرعت واکنش الکترودی با افزایش سرعت روبش است [۱۰]. ارتباط بین شدت جریان آندی ( $I_{pa}$ ) و کاتدی ( $I_{pc}$ ) با سرعت روبش و نیز جذر سرعت روبش مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده (جدول ۲-۱۶) نشان می‌دهد که شدت جریان دماغه آندی با جذر سرعت روبش ارتباط خطی دارد و شدت جریان دماغه کاتدی با سرعت روبش ارتباط خطی دارد (شکل ۲-۲۴-پ و ت).

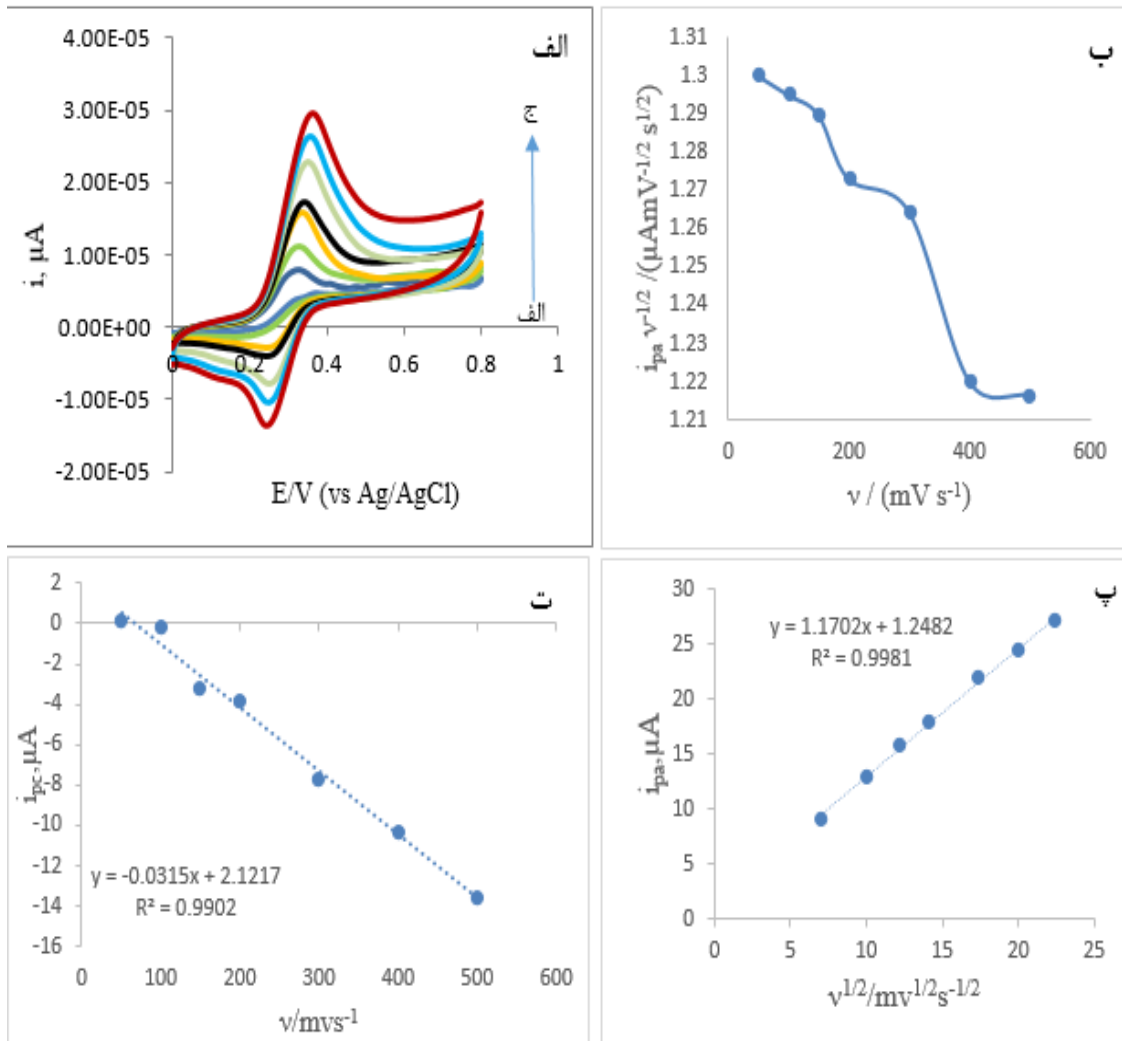
جدول ۲-۱۶ شدت جریان‌های آندی و کاتدی در سرعت روبش‌های پتانسیل متفاوت در محلول بافر فسفاتی ۰/۰۶۷ مولار با  $pH=7/0$  حاوی ۰/۲ میلی‌مولار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۲۰ میلی‌مولار کنتکول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین به وسیله ولتامتری چرخه‌ای.

$v$ ( $mVs^{-1}$ )	$I_{pa}(\mu A)$	$I_{pc}(\mu A)$
۵۰	۹/۱۰	۰/۱۸
۱۰۰	۱۲/۹۵	-۰/۱۴
۱۵۰	۱۵/۸۰	-۳/۲۳
۲۰۰	۱۸/۰۰	-۳/۸۷
۳۰۰	۲۱/۹۰	-۷/۷۲
۴۰۰	۲۴/۴۰	-۱۰/۳۰
۵۰۰	۲۷/۲۰	-۱۳/۶۰

این نوع وابستگی جریان آندی و کاتدی با سرعت روبش نشان می‌دهد که اکسایش ۴-متیل-۲-تیواوراسیل در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین، تحت کنترل انتشار می‌باشد [۱۰].

بررسی تغییرات  $\frac{I_p}{\sqrt{v}}$  بر حسب سرعت روبش (شکل ۲-۲۴-ب) نشان می‌دهد که  $\frac{I_p}{\sqrt{v}}$  با افزایش

سرعت روبش کاهش می‌یابد و در سرعت‌های بالا به یک مقدار حدی می‌رسد، که این حالت برای انتقال الکترون برگشت‌پذیر پس از مرحله شیمیایی برگشت ناپذیر انتظار می‌رود. در واقع این مشاهده می‌تواند تاییدی بر وجود مکانیسم ECE در این مطالعه باشد [۱۰].



شکل ۲-۲۴ (الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای در محلول بافر فسفات ۰/۰۶۷ مولار با  $\text{pH}=7/0$  حاوی ۰/۲۰ میلی مولار ۴-متیل-۲-تیوآوراسیل و ۰/۲۰ میلی مولار کتکول در سطح الکترود اصلاح شده با کارموزین به ترتیب از پایین به بالا سرعت‌های روبش الف تا ج: ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ میلی ولت بر ثانیه می‌باشد. (ب) تغییرات  $\frac{I_p}{v^{1/2}}$  بر حسب سرعت روبش. (پ) نمودار تغییرات شدت جریان دماغه بر حسب جذر سرعت روبش (ت) نمودار تغییرات شدت جریان دماغه احیای بر حسب سرعت روبش پتانسیل.

## ۲-۵-۸-۳ منحنی کالیبراسیون و تعیین ناحیه خطی و حد تشخیص برای

### مشتقات تیواوراسیل

رسم منحنی کالیبراسیون و تعیین ناحیه خطی مشتقات تیواوراسیل توسط الکتروود اصلاح شده با کارموزین به روش ولتامتری پالس تفاضلی انجام شد. روش کلی کار به این صورت بود که هر بار مقدار مشخصی از هر یک از محلول‌های استاندارد حاوی مشتقات تیواوراسیل در ناحیه غلظتی ۰/۰۵ تا ۵/۰۰ میکرومولار برای ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۰/۰۲ تا ۲/۰۰ میکرومولار برای ۲-تیواوراسیل به طور مستقل به سل الکتروشیمیایی منتقل شد و ۲/۰۰ میلی لیتر کتکول ۱/۰ میلی مولار اضافه شد و pH محیط با افزودن ۳/۰۰ میلی لیتر بافر فسفاتی pH= ۷/۰۰ تنظیم شد. سپس حجم محلول موجود در سل به کمک آب مقطر به ۱۰/۰ میلی لیتر رسانده شد. پس از آن، الکتروود در سل قرار داده شد. روبش پتانسیل توسط تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی در گستره ۰/۰ تا ۰/۸ ولت و با سرعت روبش ۲۰ میلی ولت بر ثانیه و ۲۴۰ ثانیه پتانسیل ۲۰۰ میلی ولت اعمال شد و اندازه‌گیری در ارتفاع پالس ۹۰/۰ میلی ولت انجام شد. هر روبش سه بار تکرار شد. ثبت سیگنال شاهد نیز بدون حضور مشتقات تیواوراسیل انجام شد. اختلاف بین شدت جریان اکسایش مشتقات تیواوراسیل و شاهد به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در منحنی کالیبراسیون مورد استفاده قرار گرفت. همان طور که مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت ۴-متیل-۲-تیواوراسیل از ۰/۰۶ تا ۲/۰۰ میکرومولار و ۰/۰۴ تا ۱/۵۰ میکرومولار برای ۲-تیواوراسیل، جریان اکسایش در ولتاموگرام پالس تفاضلی به طور خطی افزایش می‌یابد. نتایج حاصل در شکل (۲-۲۵) و جدول (۲-۱۷) برای ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و شکل (۲-۲۶) و جدول (۲-۱۸) برای ۲-تیواوراسیل ارائه شده است.

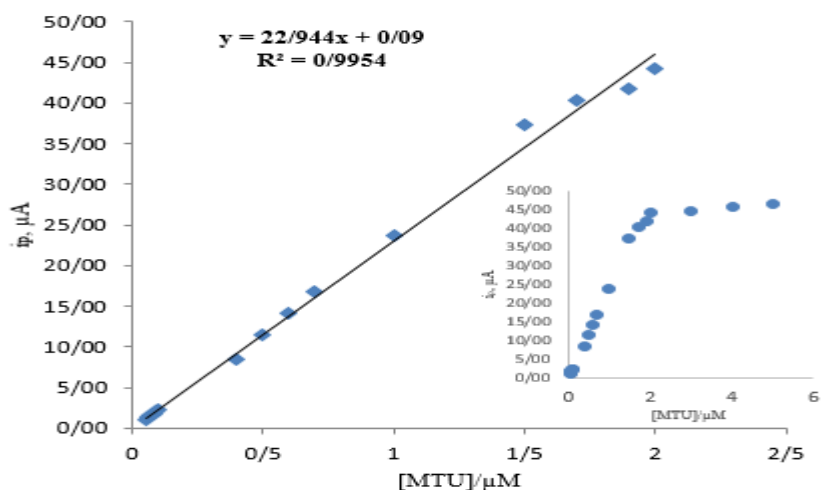
معادله منحنی کالیبراسیون با معادله (۲-۴) برای متیل تیواوراسیل قابل توصیف است:

$$I_p (\mu A) = 22/944 C_{MTU} (\mu mol L^{-1}) + 0/09 (\mu A) \quad R^2 = 0/9954 \quad (4-2)$$



جدول ۲-۱۷ داده‌های مربوط به منحنی کالیبراسیون ۴-متیل-۲-تیواوراسیل.

غلظت ( $\mu\text{M}$ )	سیگنال تجزیه‌ای محصول ( $\mu\text{A}$ )
۰/۰۵	۱/۰۰
۰/۰۶	۱/۳۳
۰/۰۷	۱/۵۰
۰/۰۸	۱/۸۰
۰/۰۹	۲/۰۴
۰/۱۰	۲/۲۵
۰/۴۰	۸/۵۰
۰/۵۰	۱۱/۴۱
۰/۶۰	۱۴/۰۷
۰/۷۰	۱۶/۷۰
۱/۰۰	۲۳/۷۰
۱/۵۰	۳۷/۳۰
۱/۷۰	۴۰/۴۰
۱/۹۰	۴۱/۸۰
۲/۰۰	۴۴/۲۰
۳/۰۰	۴۴/۶۰
۴/۰۰	۴۵/۸۰
۵/۰۰	۴۶/۴۰



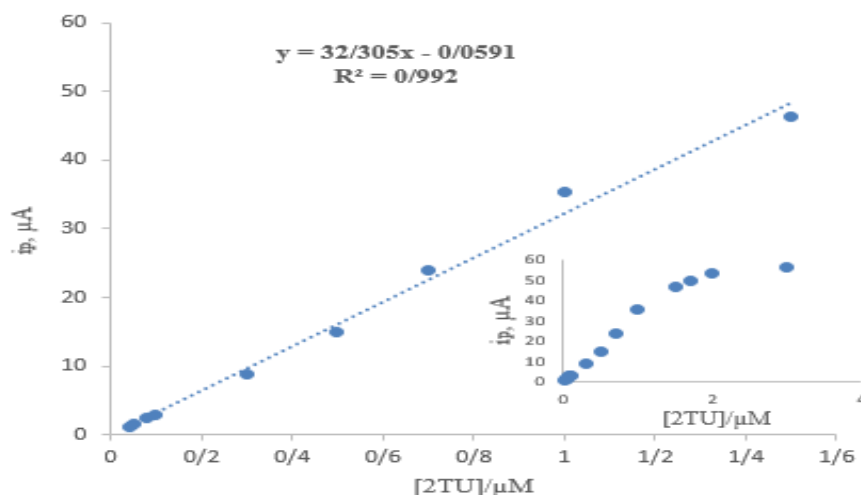
شکل ۲-۲۵ نمودار تغییرات شدت جریان اکسایش بر حسب غلظت ۴-متیل-۲-تیوآوراسیل در محدوده‌ی ۰/۰۵ تا ۵/۰۰ میکرومولار در بافر فسفات‌ی ۰/۰۶۶ مولار با  $\text{pH}=7/0$  به کمک ولتامتری پالس تفاضلی. سرعت روبش ۲۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۹۰ میلی ولت.

معادله منحنی کالیبراسیون با معادله (۲-۵) برای ۲-تیوآوراسیل قابل توصیف است:

$$I_p (\mu\text{A}) = 32/305 C_{2\text{TU}} (\mu\text{mol L}^{-1}) - 0/05 (\mu\text{A}) \quad R^2=0/992 \quad (2-5)$$

جدول ۲-۱۸ داده‌های مربوط به منحنی کالیبراسیون ۲-تیوآوراسیل.

غلظت ( $\mu\text{M}$ )	سیگنال تجزیه‌ای محصول ( $\mu\text{A}$ )
۰/۰۲	۰/۶۳
۰/۰۴	۱/۱۷
۰/۰۵	۱/۵۰
۰/۰۸	۲/۴۹
۰/۱۰	۲/۹۵
۰/۳۰	۸/۸۸
۰/۵۰	۱۴/۹۵
۰/۷۰	۲۳/۸۷
۱/۰۰	۳۵/۳۰
۱/۵۰	۴۶/۳۰
۱/۷۰	۴۹/۳۷
۲/۰۰	۵۳/۰۵
۳/۰۰	۵۵/۹۰



شکل ۲-۲۶ نمودار تغییرات شدت جریان اکسایش بر حسب غلظت ۲-تیواوراسیل در محدوده‌ی ۰/۰۴ تا ۱/۵۰ میکرومولار در بافر فسفات‌ی ۰/۰۶۶ مولار با  $\text{pH}=7/0$  به کمک ولتامتری پالس تفاضلی. سرعت روبش ۲۰ میلی ولت بر ثانیه، ارتفاع پالس ۹۰ میلی ولت.

در این مطالعه، برای محاسبه انحراف استاندارد شاهد، ده اندازه‌گیری صورت گرفت که انحراف استاندارد این اندازه‌گیری‌ها برای ۴-متیل-۲-تیواوراسیل ۰/۰۷ و برای ۲-تیواوراسیل ۰/۰۵ به دست آمد. با استفاده از رابطه  $DL = \frac{3Sb}{m}$  و با توجه به شیب منحنی کالیبراسیون ( $m = 22/94 \frac{\mu A}{\mu mol L^{-1}}$ ) برای ۴-متیل-۲-تیواوراسیل، و همچنین ( $m = 32/305 \frac{\mu A}{\mu mol L^{-1}}$ ) برای ۲-تیواوراسیل و بر مبنای سه برابر انحراف استاندارد شاهد، حد تشخیص برای ۴-متیل-۲-تیواوراسیل ۰/۰۰۹ میکرومولار، و ۰/۰۰۴۶ میکرومولار برای ۲-تیواوراسیل با کمک تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی محاسبه شد.

## ۲-۵-۸-۴ بررسی تکرارپذیری و تکثیرپذیری

برای اطمینان از تکرارپذیری و تکثیرپذیری الکتروود اصلاح شده با کارموزین، اکسایش الکتروشیمیایی ۴-متیل-۲-تیواوراسیل در سطح این الکتروود اصلاح شده، توسط سه الکتروود مختلف (ساخته شده در سه روز متفاوت) با استفاده از تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی مورد بررسی قرار گرفت. ۶ اندازه‌گیری تکراری با هر یک از این الکتروودها انجام شد. نتایج در جدول (۲-۱۹) گزارش

شده است. نتایج به دست آمده، به صورت آماری با کمک روش تحلیل واریانس در سطح اطمینان ۰.۹۵٪، تایید کننده تکرارپذیری و تکثیر پذیری این سه الکتروود است (جدول ۲-۲۰). براین اساس مقدار  $F$  محاسبه شده ( $F_{cal}=1/98$ ) کوچکتر از مقدار  $F$  بحرانی ( $F_{tab}=3/68$ ) برای آزمون دو طرفه به دست آمد. این نتیجه نشانگر تکرارپذیر بودن الکتروودهای ساخته شده در روزهای مختلف است.

جدول ۲-۱۹ نتایج تکرارپذیری الکتروود اصلاح شده با کارموزین، ساخته شده در سه روز مختلف برای اندازه گیری ۴-متیل-۲-تیواوراسیل ۱/۰۰ میکرومولار در بافر فسفاتی  $pH=7/0$  همراه با کتکول ۰/۲۰ میلی-مولار توسط تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی.

$\pm SD$ میانگین سیگنال تجزیه‌ای اندازه گیری شده ( $\mu A$ )	
الکتروود اول- روز اول	$24/16 \pm 0/18$
الکتروود دوم- روز دوم	$24/00 \pm 0/19$
الکتروود سوم- روز سوم	$23/98 \pm 0/15$

جدول ۲-۲۰ تحلیل واریانس داده‌های مربوط به اندازه گیری ۴-متیل-۲-تیواوراسیل توسط الکتروودهای مختلف در روزهای مختلف توسط روش ولتامتری پالس تفاضلی.

منبع تغییرات	DF	SS <sub>Adj</sub>	MS <sub>Adj</sub>	F-value	F-table
بین گروه‌ها	۲	۰/۲۱	۰/۶۰	۱/۹۸	۳/۶۸
درون گروه	۱۵	۰/۴۵	۰/۳۰		
کل	۱۷	۰/۵۷			

## ۲-۵-۸-۵ بررسی دقت و صحت روش

بررسی دقت و صحت، از طریق شش بار اندازه‌گیری ۴-متیل-۲-تیواوراسیل در غلظت‌های ۰/۰۸۰، ۰/۵۰۰، ۱/۰۰۰ میکرومولار در محلول بافر فسفاتی  $pH=7/0$  و کتکول ۰/۲ میلی-مولار توسط

الکترواد اصلاح شده با کارموزین و با به کارگیری روش ولتامتری پالس تفاضلی انجام شد. به این منظور ۶ اندازه‌گیری تکراری از این غلظت‌ها در شرایط کالیبراسیون انجام و ولتاموگرام‌های مربوطه ثبت شد. سپس غلظت مربوط به میانگین سیگنال‌های تجزیه‌ای با استفاده از معادله منحنی کالیبراسیون محاسبه شد. نتایج به‌دست آمده در جدول (۲-۲۱) گزارش شده است بررسی آزمون  $t$  نشان می‌دهد که بین مقدار ۴-متیل-۲-تیواوراسیل اندازه‌گیری شده و مقدار واقعی ۴-متیل-۲-تیواوراسیل موجود، اختلاف معناداری وجود نداشته و روش از صحت خوبی برخوردار است. صحت مناسب روش از درصد خطای نسبی نیز قابل نتیجه‌گیری است. همچنین با دانستن مقادیر انحراف استاندارد و میانگین در هر غلظت اندازه‌گیری شده، می‌توان مقادیر RSD را محاسبه نمود و به دقت روش پی برد. مقادیر RSD محاسبه شده دقت خوب روش‌های به کار گرفته شده را تایید می‌کنند.

جدول ۲-۲۱ نتایج دقت و صحت روش برای اندازه‌گیری ولتامتری پالس تفاضلی محلول استاندارد ۴-متیل-۲-تیواوراسیل در سطح الکترواد اصلاح شده با کارموزین.

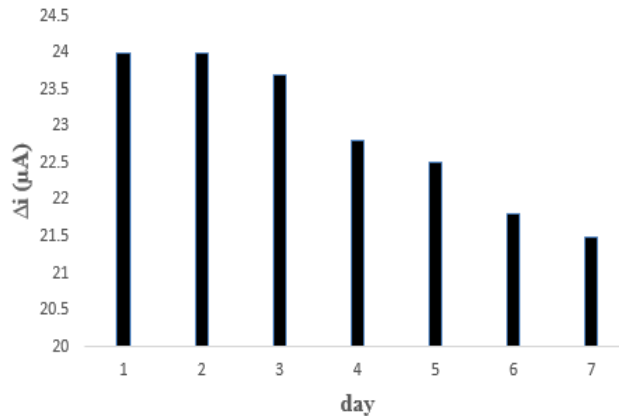
RSD	%RE	مقدار محاسبه شده $t$	غلظت اندازه‌گیری شده $(\mu\text{mol L}^{-1}) \pm \text{SD}$	MTU $(\mu\text{mol L}^{-1})$
۴/۹۹۶	-۲/۴۸۰	۱/۲۴۰	$۰/۰۷۸ \pm ۰/۰۰۳$	۰/۰۸۰
۱/۴۱۸	-۱/۳۷۰	۲/۳۹۰	$۰/۴۹۳ \pm ۰/۰۰۷$	۰/۵۰۰
۳/۹۹۶	-۳/۸۳۰	۲/۴۴۰	$۰/۹۶۲ \pm ۰/۰۳۸$	۱/۰۰۰

مقدار  $t$  بحرانی در سطح اطمینان ۰/۹۵ برای شش اندازه‌گیری، ۲/۵۷۰ می‌باشد.

## ۲-۵-۸-۶ بررسی پایداری الکترواد اصلاح شده با کارموزین

از روش ولتامتری پالس تفاضلی در شرایط بهینه به‌دست آمده برای بررسی میزان پایداری الکترواد اصلاح شده استفاده گردید. بدین منظور، پس از تهیه الکترواد اصلاح شده با کارموزین، اندازه‌گیری در محلول بافر فسفاتی  $\text{pH} = ۷/۰$  حاوی ۴-متیل-۲-تیواوراسیل با غلظت ۱/۰۰ میکرومولار و کتکول ۰/۲ میلی‌مولار طبق روش ارائه شده در بخش ۲-۴-۸-۱ انجام شد. شدت جریان مربوط به دماغه محصول به مدت ۱ هفته هر روز، در شرایط بهینه اندازه‌گیری شد. نتایج در شکل (۲-۲۷) نشان

داد که پاسخ آن نسبت به اکسایش محصول به ۹۰ درصد الکتروود تازه اصلاح شده رسید. این نتایج نشان دهنده پایداری خوب حسگر تهیه شده می‌باشد.



شکل ۲-۲۷ بررسی پایداری الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با کارموزین، ۴-متیل-۲-تیواوراسیل با غلظت ۱/۰۰ میکرومولار و کتکول با غلظت ۰/۲۰ میلی‌مولار در بافر فسفاتی pH=۷/۰.

## ۲-۵-۸-۷ بررسی مزاحمت‌ها

در این بخش تاثیر حضور گونه‌های آزمایشی مختلف بر شدت جریان دماغه آندی محصول مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت (جدول ۲-۲۲). به این منظور، سه اندازه‌گیری تکراری ۴-متیل-۲-تیواوراسیل با غلظت ۰/۱۰۰ mg/L (معادل ۱/۰۰ میکرومولار) در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین انجام شد. میانگین و انحراف استاندارد سیگنال‌های تجزیه‌ای (در غیاب گونه مزاحم) محاسبه شد. سپس مخلوط گونه مزاحم به میزان ۱۰۰۰ برابر وزنی-وزنی به محلول حاوی آنالیت اضافه شد و ولتاموگرام پالس تفاضلی در محدوده ۰/۰ تا ۰/۸ ولت ثبت شد (سرعت روبش ۲۰ میلی ولت برثانیه، ارتفاع پالس ۹۰ میلی ولت). هر روبش سه بار تکرار شد و میانگین جریان محصول در حضور گونه مزاحم بدست آمد. اگر شدت جریان سیگنال تجزیه‌ای در این حالت، در محدوده  $\pm 3S$   $\bar{\Delta i}$  باشد به این معناست که ترکیب مورد نظر با نسبت موجود، مزاحم نیست در غیر اینصورت نسبت گونه مزاحم به ۴-متیل-۲-تیواوراسیل کاهش می‌یافت تا مزاحمت مشاهده نشود. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۲-۲۲) آورده شده است. با توجه به نتایج حاصل مشخص گردید که بسیاری از

گونه‌های مورد بررسی حتی هنگامی که به میزان هزار برابر متیل تیواراسیل حضور داشتند مزاحم نیستند.

جدول ۲-۲۲ بررسی تاثیر حضور گونه‌های آزمایشی مختلف بر شدت جریان دماغه آندی محصول در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین.

گونه‌های مورد بررسی	حد مجاز غلظت گونه مزاحم به غلظت ۴-متیل ۲-تیواراسیل
تیواوره، استامینوفن، سیتریک اسید، $Cl^-$	۱۰۰۰
$Na^+$ , $C_2O_4^{2-}$ , $Ca^{2+}$ , $Zn^{2+}$ , $K^+$ , $CO_3^{2-}$	
$SO_4^{2-}$	۸۰۰
اوره، $I^-$ , $Mg^{2+}$ , $Ni^{2+}$ , $NH_4^+$	۴۰۰
کلوآتینون، Captopril, Vitamin B <sub>1</sub>	۱۰۰
L-cysteine	۵۰

## ۹-۵-۲ آنالیز نمونه‌های حقیقی

رفتار الکتروشیمیایی الکتروود اصلاح شده با کارموزین برای اندازه‌گیری ۴-متیل ۲-تیواراسیل در نمونه بیولوژیکی سرم خون و آب شهر به منظور یافتن کاربرد عملی برای این الکتروود اصلاح شده بررسی شد.

### ۱-۹-۵-۲ نمونه سرم خون

نمونه سرم خون مورد استفاده، از آزمایشگاه سجاد شهرستان شاهرود (فرد سالم) به عنوان نمونه حقیقی مورد بررسی قرار گرفت. جهت آماده‌سازی، ۲/۰۰ میلی‌لیتر از سرم و ۱/۰۰ میلی‌لیتر استونیتریل به منظور جداکردن پروتئین‌های موجود در سرم و به مدت ۱۰/۰ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. سپس ۱/۰۰ میلی‌لیتر از محلول رویی سرم به سل

الکتروشیمیایی منتقل و آنالیز نمونه انجام شد، به این صورت که ابتدا سیگنال محلول نمونه حاوی ۱/۰۰ میلی لیتر نمونه‌ی سرم و فاقد دارو تحت شرایط بهینه به دست آمد. و در مراحل بعد حجم‌های متفاوت از ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۲-تیواوراسیل به محلول نمونه اضافه شد. هر اندازه‌گیری ۳ بار تکرار شد و از منحنی کالیبراسیون برای تعیین غلظت مشتقات تیواوراسیل در نمونه های حقیقی مورد نظر استفاده شد. نتایج در جدول (۲-۲۳) آورده شده است. مقادیر t (با در نظر گرفتن مقدار ۴/۳۰ برای t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای سه اندازه‌گیری تکراری) و درصد بازیابی‌ها نشان دهنده دقت و صحت خوب روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری ۴-متیل-۲-تیواوراسیل می‌باشد.

جدول ۲-۲۳ نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری ۴-متیل-۲-تیواوراسیل در نمونه سرم خون (n=۳).

نمونه		مقدار اضافه شده ( $\mu\text{M}$ )		مقدار اندازه‌گیری شده ( $\mu\text{M}$ )		مقدار t محاسبه شده		درصد بازیابی	
2TU	MTU	2TU	MTU	2TU	MTU	2TU	MTU	2TU	MTU
---	---	---	---	مشاهده نشد	مشاهده نشد	---	---	---	---
۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۷۶ ± ۰/۵۶	۰/۷۸ ± ۰/۰۲	۰/۲۷	۰/۲۳	۰/۸۰	۰/۸۰	۹۷/۵۰	۹۵/۳۷
۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۲ ± ۰/۱۴	۱/۰۳ ± ۰/۰۳	۰/۶۰	۰/۳۴	۱/۰۰	۱/۰۰	۱۰۳/۰۰	۱۰۲/۰۰

t در جدول برای درجه آزادی ۲ در محدود اطمینان ۹۵ درصد برابر با ۴/۳ می‌باشد.

## ۲-۵-۹-۲ نمونه آب شهر

نمونه حقیقی آب شهر شاهرود نیز بعد از عبور از کاغذ صافی بدون آماده‌سازی بیشتر مورد استفاده قرار گرفت. ۵/۰۰ میلی لیتر آب شهر به سل الکتروشیمیایی منتقل شد و حجم‌های مشخص و متفاوت از ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۲-تیواوراسیل، ۳/۰۰ میلی لیتر بافر pH=۷/۰ و همچنین محلول کتکول ۰/۲ میلی مولار به سل الکتروشیمیایی منتقل و به حجم نهایی ۱۰/۰ میلی لیتر رسانده شد. هر اندازه‌گیری ۳ بار تکرار شد و از منحنی کالیبراسیون برای تعیین غلظت مشتقات تیواوراسیل در نمونه‌های حقیقی مورد نظر استفاده شد. نتایج در جدول (۲-۲۴) آورده شده است. مقادیر t (با در نظر گرفتن مقدار ۴/۳۰ برای t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای سه اندازه‌گیری) و درصد بازیابی‌ها



نشانهگر صحت خوب روش ولتامتری پالس تفاضلی برای اندازه‌گیری ۴-متیل-۲-تیواوراسیل می‌باشد.

جدول ۲-۲۴ نتایج حاصل از اندازه‌گیری ولتامتری ۴-متیل-۲-تیواوراسیل در نمونه آب شهر (n=۳).

نمونه	مقدار اضافه شده		مقدار اندازه‌گیری شده		مقدار t محاسبه شده		درصد بازیابی	
	2TU	MTU	2TU	MTU	2TU	MTU	2TU	MTU
آب شهر	۰/۰۰	۰/۰۰	مشاهده نشد	مشاهده نشد	-----	-----	-----	-----
	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۴۹ ± ۰/۱۵	۰/۴۹ ± ۰/۰۱	۰/۲۱	۰/۲۳	۹۸/۶۰	۹۸/۰۰
	۱/۰۰	۱/۰۰	۰/۹۸ ± ۰/۳۷	۰/۹۶ ± ۰/۰۴	۰/۲۴	۱/۲۰	۹۷/۹۰	۹۶/۰۰
	۱/۲۰	۱/۲۰	۱/۱۹ ± ۰/۱۲	۱/۲۴ ± ۰/۰۴	۰/۳۴	۰/۶۰	۹۹/۱۶	۱۰۳/۳۳

t در جدول برای درجه آزادی ۲ در محدود اطمینان ۹۵ درصد برابر با ۴/۳ می‌باشد.

مقایسه الکتروپیشنهادی در این مطالعه با گزارش‌های قبلی (جدول ۲-۲۵) نشان می‌دهد که روش پیشنهادی از حدتشخیص و محدوده خطی قابل قبولی نسبت به مراجع ۵۱ و ۵۲ برخوردار است از طرفی روش تهیه الکتروپیشنهادی اصلاح شده با کارموزین از مرجع ۵۳ سریعتر و دارای هزینه کمتری است

جدول ۲-۲۵ مقایسه الکتروپیشنهادی با برخی الکترودهای اصلاح شده مختلف.

مرجع	روش	حد تشخیص (μM)		دامنه خطی (μM)		الکتروپیشنهادی
		2-TU	MTU	2-TU	MTU	
۵۱	DPV	-----	۰/۰۷	-----	۰/۱-۵/۰	GCE
۵۲	DPV	۰/۰۲	-----	۱/۰-۱۱/۰	-----	Gold Electrode
۵۳	SV	۰/۰۰۱	-----	۰/۰۱-۰/۱۵	-----	Poly aniline/poly pyrrole/GPE
این تحقیق	DPV	۰/۰۲	۰/۰۵	۰/۰۴-۱/۵۰	۰/۰۶-۲/۰۰	Carmoisine/GCE

MTU: متیل تیواوراسیل، 2-TU: ۲-تیواوراسیل، GCE: الکتروپیشنهادی کربن شیشه‌ای، Gold Electrode: الکتروپیشنهادی طلا، Poly aniline/poly pyrrole/GPE: الکتروپیشنهادی گرافیتی اصلاح شده با فیلم پلی آنیلین و پلی پیرول، Carmoisine/GCE: الکتروپیشنهادی کربن شیشه‌ای اصلاح شده با کارموزین، DPV: ولتامتری پالس تفاضلی، SV: ولتامتری پلکانی،



## فصل سوم- نتیجه گیری و آینده نگری

## نتیجه گیری

- ◀ الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با کارموزین برای اولین بار در این مطالعه تهیه شد و الکترواکسایش مشتقات تیواوراسیل در سطح آن به روش ولتامتری پالس تفاضلی بررسی شد. پتانسیل اکسایش محصول برای ۴-متیل-۲-تیواوراسیل و ۲ تیواوراسیل در سطح الکتروود اصلاح شده با کارموزین به ترتیب برابر با ۰/۲۹ ولت، ۰/۲۸ ولت می‌باشد.
- ◀ حضور کارموزین بر سطح الکتروود کربن شیشه‌ای باعث افزایش حساسیت تجزیه‌ای برای اندازه‌گیری ولتامتری این ترکیب در مقایسه با الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح نشده می‌شود. همچنین در این کار ما موفق به تفکیک پیک کتکول و محصول از یک دیگر شده ایم.
- ◀ تاثیر عواملی مانند pH محلول و سرعت روبش پتانسیل بر رفتار الکتروشیمیایی ۴-متیل-۲-تیواوراسیل بررسی شد و مشخص شد که فرایند الکتروودی ۴-متیل-۲-تیواوراسیل در سطح این الکتروود اصلاح شده تحت کنترل سرعت انتشار آن از توده محلول به سطح الکتروود قرار دارد.
- ◀ بررسی های SEM انجام شده نشان داد که اصلاح سطح الکتروود با استفاده از کارموزین موجب افزایش سطح مقطع الکتروود شده و باعث حصول شرایط مساعدتر در اندازه گیری الکتروشیمیایی می‌شود.
- ◀ الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده دارای پایداری و حساسیت بیشتری نسبت به الکتروود کربن شیشه‌ای برهنه داشت.
- ◀ آنالیز امپدانس نشان داد که الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده دارای مقاومت کمتری نسبت به الکتروود کربن شیشه‌ای بوده و انتقال الکترون در آن سریع‌تر

صورت می‌گیرد.

◀ نتایج حاصل از آزمون F نشان داد که کارموزین موجود بر روی سطح الکتروود کربن

شیشه‌ای در محیط بازی باعث بهبود تکرارپذیری می‌شود.

◀ همچنین با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی حد تشخیص تجربی برای ۴-

متیل-۲-تیواوراسیل و ۲ تیواوراسیل به ترتیب برابر با ۰/۰۵ و ۰/۰۲ میکرومولار

بدست آمد.

◀ آنالیز نمونه‌های دارویی و بیولوژیکی، کارایی بالای حسگر پیشنهادی برای اندازه-

گیری مشتقات تیواوراسیل در نمونه‌های مورد آزمایش را تایید کرده است.

## آینده نگری

✓ استفاده از کارموزین به عنوان اصلاح‌کننده سطح الکتروود جهت اندازه‌گیری ترکیبات

دارویی دیگر.

✓ استفاده از دیگر ترکیبات به عنوان واسطه‌گرهای انتقال الکترون برای تهیه الکترودهای

کربن شیشه‌ای اصلاح شده به منظور اندازه‌گیری الکتروشیمیایی برخی از ترکیبات مهم

بیولوژیکی و دارویی.

✓ به کارگیری سایر رنگ‌های آزو به عنوان اصلاح‌کننده برای ساخت حسگر جهت اندازه

گیری گونه آزمایشی هدف.

مراجع:

[1] Wang J. (2002), **Analytical Electrochemistry**, John Wiley publication, Second Edition.

[2] Abaci S. (2017) "**Organic Electrochemistry: Basics and Applications**" **journal of Biosensors & Bioelectronics**. 3, 3

[۳] م. گلابی. (۱۳۹۲) "مقدمه‌ای بر الکتروشیمی تجزیه" چاپ هفتم، انتشارات ستوده.

[4] Bard A. J. Faulkner L. R. (2001) "**Electrochemical Methods**" John Wiley Publication, Second Edition.

[۵] دی. سی. هاریس، (۱۳۷۸) **شیمی تجزیه کمی** " دکتر علی اصغر انصافی، دکتر حسن

رحیمی منصور، چاپ اول، انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.

[6] Bokros J. (1977) "CARBON BIOMEDICAL DEVICES", **15, 355**.

[7] Engstrom R.C. (1982) "Electrochemical Pretreatment of Glassy Carbon Electrodes" **Analytical. Chemistry**. **54, 2310-2314**.

[8] Fagan D.T. Hu I. F. Kuwana T. (1985) "Vacuum Heat Treatment for Activation of Glassy Carbon Electrodes" **Analytical. Chemistry**. **57, 2759-2763**.

[9] Buzzeo M.C. Hardacre C. Compton R.G. (2006) "Extended Electrochemical Windows Made Accessible by Room Temperature Ionic Liquid/Organic Solvent Electrolyte Systems" **ChemistryPhysical**. **7, 176 – 180**.

[۱۰] م. موسوی کوزه‌کنان. "روش‌های دستگاهی در الکتروشیمی". (۱۳۷۶)، انتشارات

دانشگاه تربیت مدرس.

[11] Gil E. S. Melo G. R. (2010) "**Electrochem biosen in pharmaceutical analysis**" **journal of Pharmaceutical Sciences**. **46, 3**.

[12] Bunney J. Williamson S. Atkin D. Jeanneret M. Cozzolino D. Chapman J. Power A. Chandra S. (2017) "**The Use of Electrochem Biosen in Food Analysis**"

**Current Research in Nutrition and Food Science. 5, 3.**

- [13] Montes R. Céspedes F. Gabriel D. Baeza M. (2018) “**ElectrochemBiosen Based on Optimized Biocomposite for Organophosphorus and Carbamates Pesticides Detection**” **journal of Nanomaterials**. 2018, 13.
- [14] Edmons T. (2013), “**Chemical sensors**”; Vol., Springer Science & Business Media.
- [15] Özcan A. Gürbüz M. Özbal A. (2018) “Preparation of a double-step modified carbon paste electrode for the voltammetric determination of prothionamide via bulk modification with fumed silica and drop-casting of maghemite-modified fumed silicananocomposite” **journal of Sensors and Actuators B: Chemical**. **255**, 1517–1524.
- [16] Nesakumar N. Berchmans S. Alwarappan S. (2018) “Chemically modified carbon based electrodes for the detection of reduced glutathione” **journal of Sensors and Actuators B**. **264**, 448-466
- [17] Jedrzak A. Rebis T. Klapiszewski L. Zdzarta J. Milczarek G. Jesionowski T. (2017) “Carbon paste electrode based on functional GOx/silica-lignin system to prepare an amperometric glucose biosensor” **journal of Sensors and Actuators B: Chemical**. **256**, 176-185.
- [18] Zen J. M. Senthil Kumar A. Tsai D. M. (2003) “Recent updates of chemically modified electrodes in analytical chemistry” **Electroanalysis**, **15**, 13, pp. 1073-1087.
- [19] La Salle A. L. G., Limoges B., Anizon J., Degrand C. and Brossier P. (1993) “Utilization of a Nafion-modified electrode in a competitive homogeneous electrochemical immunoassay involving a redox cationic labelled hapten-phenytoin” **journal of Electroanalytical Chemistry**, **350**, 1-2, pp 329-335.
- [20] Nostrand V. (2006), **Scientific Encyclopedia**, John Wiley & Sons, Inc.
- [21] Harisha S. Jathi Keshavayya B.E. Kumara Swamy C. Viswanath C. (2017) “Synthesis, characterization and electrochem studies of azo dyes derived from barbituric acid” **journal of Dyes and Pigments**. **136**, 742-753.

- [22] Lipskikh O.I. Korotkova E.I. Khristunova Ye.P. Berek J. Kratochvil B. (2018) “Sensors for voltammetric determination of food azo dyes - A critical review” **journal of Electrochemical Acta. 260, 974-985. Actuators**
- [23] Kim M. Park J. Suh H. Lee C. (2016) “Establishment of an Analytical Method for Azorubine, an Undesignated Food Colorant in Korea” **journal of Food Hygiene and Safety. 31, 5, pp 311-318.**
- [24] Carey F. A. Sundberg R. J. (2007), “**Advanced Organic Chemistry: Part A: Structure and Mechanisms**”; Vol., Springer Science & Business Media.
- [25] Zeng C. C. Liu F. J. Ping D. W. Cai Y. Zhong R. Becker J. Y. (2009) “Electrochemical oxidation of catechols in the presence of 4-amino-3-methyl-5-mercapto-1, 2, 4-triazole bearing two nucleophilic groups” **journal of Electroanalytical. Chemistry, 625, pp 131-137**
- [26] Ziyatdinova G. Kozlova E. Budnikov H. (2018) “Selective electrochemical sensor based on the electropolymerized *p*-coumaric acid for the direct determination of L-cysteine” **Electrochemical Acta, 03,102**
- [27] Zare H. R. Jahangiri Dehaghani F. Shekari Z. Benvidi A. (2016) “Electrocatalytic simultaneous determination of ascorbic acid, uric acid and L-Cysteine in real samples using quercetin silver nanoparticles–graphene nanosheets modified glassy carbon electrode” **journal of apsusc, 03,098.**
- [28] Karimi-Maleh H. Ganjali M. Norouzi P. Bananezhad A.(2017) “Amplified nanostructure electrochemical sensor for simultaneous determination of captopril, acetaminophen, tyrosine and hydrochlorothiazide” **journal of Materials Science and Engineering C, 73,472–477.**
- [29] Brinic S. Vladislavic N. Buzuk M. Bralic M. Solic M. (2013) “Bismuth film random array carbon fiber microelectrodes for determination of cysteine and N-acetyl cysteine” **journal of Electroanalytical Chemistry, 705, 86–90.**
- [30] Testa A. Reinmuth W. (1961) “Stepwise reactions in chronopotentiometry” **Analytical. Chemistry, 33.10, pp1320-1324.**
- [31] Arabzadeh A. Salimi A. (2015) “Novel voltammetric and impedimetric sensor



for femtomolar determination of lysozyme based on metal-chelate affinity immobilized onto gold nanoparticles” **Biosensors and Bioelectronic**. **74**, pp **270-276**.

[32] Plesu N. Kellenberger A. Taranu I. Taranu B. O. Popa I. (2013) “Impedimetric detection of dopamine on poly (3-aminophenylboronic acid) modified skeleton nickel electrodes” *React. Funct. Polym.* **73**, **5** pp **772-778**.

[33] Rafiee B. Fakhari A. R. Ghaffarzadeh M. (2015) “Impedimetric and stripping voltammetric determination of methamphetamine at gold nanoparticles multi walled carbon nanotubes modified screen printed electrode” **Sensors and Actuators, B**, **218**, pp **271-279**.

[34] Wei Y. Zhang Z. Zhang Y. Sun Y. (2007) “Determination of propylthiouracil and methylthiouracil in Human serum using high-performance liquid chromatography with chemiluminescence detection” **journal of Chromatography B**, **854**, **239–244**.

[35] Abuin S. Companyo R. Centrich F. Rubies A. Prat M.D. (2008) “Analysis of thyreostatic drugs in thyroid samples by liquid chromatography tandem mass spectrometry: Comparison of two sample treatment strategies” **journal of Chromatography A**. **1207**, **17–23**.

[36] Abuin S. Centrich F. Rubies A. Companyo R. Prat M.D. (2008) “Analysis of thyreostatic drugs in thyroid samples by Ultra-Performance Liquid Chromatography tandem mass spectrometry detection” **journal of analytical chemical acta**. **617**, **184–191**.

[37] Xing H. Guan X. (2015) “Necrotizing gingivostomatitis and osteonecrosis associated with antithyroid drug propylthiouracil therapy” **119**, **2**.

[38] Ethredge H. Najafabadi I. K. Deshmukh R. Singh A. Mody V. (2017) “Thyroid Hormones, Iodine and Iodides, and Antithyroid Drugs” **39**, **0378-6080**.

[39] Chen P. Fann C. Shih S. Yang W. Chang T. (2016) “First step towards precision medicine for antithyroid drug-induced agranulocytosis” Vol. 4, No. 6, p473–474, June 2016.

[40] Silva M.A.V. Amaral L.M.P. Szterner P. (2013) “Experimental study on the thermochemistry of 2-thiouracil, 5-methyl-2-thiouracil and 6-methyl-2-thiouracil”

**journal of Chemical Thermodynamics. 57, 380–386.**

[41] Kwak S. Ku S. Kang H. Baek M. Bae J. (2017) “Methylthiouracil, a new treatment option for sepsis” **journal of Vascular Pharmacology. 88, 1–10.**

[42] Mandel S. J. Cooper D. S. (2001) “The Use of Antithyroid Drugs in Pregnancy and Lactation” **journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 86, 6.**

[43] Jones B. Mooney C. T. (2008) “Drugs used in the management of thyroid and parathyroid disease” **Small Animal Clinical Pharmacology. pp 498–508.**

[44] Mendes G.D. Bittencourt S. Vespasiano C. Babadopulos T. Juca T. Arruda A. Perissutti E. Frecentese F. Nucci G. (2014) “Propylthiouracil quantification in human high-performance liquid chromatography coupled with electrospray tandem plasma by mass spectrometry: Application in a bioequivalence study” **journal of Chromatography B. 969, 19–28.**

[45] Chernov'yants M. S. Dolinkin A. O. Khokhlov E. V. (2008) “HPLC Determination of Antithyroid Drugs” **journal of Analytical Chemistry. 64, No. 8, pp. 850–853.**

[46] Li Z.M. Giesert F. Weisenhorn D. Main K. Skakkebaek N. (2018) “Determination of thyroid hormones in placenta using isotope-dilution liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry” **journal of Chromatography A. 1534, 85–92.**

[47] Angelis M. D. Giesert F. Finan B. Clemmensen C. Muller T. Weisenhorn D. Tschop M. Scharamm K. (2016) “Determination of thyroid hormones in mouse tissues by isotope-dilution microflow liquid chromatography–mass spectrometry method” **journal of Chromatography B. 1033–1034, 413–420.**

[48] Lhmusa M. Kallaste K. Bizec B.L. (2009) “Determination of thyreostats in urine and thyroid gland by ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry” **journal of Chromatography A. 1216, 8080–8089.**

[49] Ebrahimzadeh H. Asgharinezhad A.A. Abedi H. Kamarei F. (2011) “Optimization of carrier-mediated three-phase hollow fiber microextraction combined

with HPLC-UV for determination of propylthiouracil in biological samples” **journal of Talanta. 85, 1043– 1049.**

[50] Pattar V. P. Nandibewoor S. T. (2014) “Polybenzoin Based Sensor for Determination of 2thiouracil in Biological Fluids and Pharmaceutical Formulations” **journal of Chinese Chemical society. 62, 287-295.**

[51] Shahrokhian S. Saberi R. S. (2007) “Differential Pulse Voltammetric Determination of Propylthiouracil and Methylthiouracil Using their Catalytic Effects on the Electrochemical Oxidation of Catechol” **journal of Electrochemical Science, 2, 158 – 168.**

[52] Pattar V. P. Bagoji A. M. Gokavi N. M. Nandibewoor S. T. (2014) “Electrochemical Determination of 2-thiouracil in Pharmaceuticals and Real Samples Using Gold Electrode” **Analytical Bioanalytical Electrochemistry 6, 1, 1 – 15.**

[53] Pattar V. P. Nandibewoor S. T. (2016) “Staircase voltammetric determination of 2-thiouracil in pharmaceuticals and human biological fluids at polyaniline and polypyrrole film modified sensors” **Sensors and Actuators A. 250, 40–47.**

[54] Lurie J. (1975) "Handbook of Analytical chemistry", English translation. MIR Publishers. Moscow.

[55] Fotouhi L. Taghavi kiani S. Nematollahi D. Heravi M. M. (2006) “Study of the Oxidation of Some Catechols in the Presence of 4-Amino-3-thio- 1,2,4-triazole by Digital Simulation of Cyclic Voltammograms” **International Journal of Chemical Kinetics.**



## **Abstract**

In this thesis, glassy carbon electrode was modified with carmoisine and applied for the sensitive and selective voltammetric determination of thiouracil derivatives. The electrochemical behavior of catechol in the presence of thiouracil derivatives with cyclic and differential pulse voltammetry techniques in pH 3-9 was investigated at the surface of modified electrode. In this study, carmoisine as a modifier using cyclic voltammetry technique was at the surface of electrode stabilized. An ECE mechanism was proposed for the oxidation of thiouracil derivatives at the modified electrode surface. Chemical and Instrumental parameters were investigated and optimized for the determination of thiouracil derivatives. In this research, the modifying of electrode causes the separated of anodic peaks related to the catechol and product and the background current decreases in the potential of oxidation of the product anodic peak and of the anodic peak current of product was used to determination of thiouracil derivatives this causes improves the detection limit. The effect of various drugs, such as L-acetyl cysteine, captopril, L-glutathione on the electrochemical behavior of catechol was investigated in the optimum conditions. The results show the effect of thiouracil derivatives for improving the anodic peak current of catechol. The linear range for MTU, using differential pulse voltammetry, was from 0.06 to 2.00  $\mu\text{M}$  with a detection limit of 0.05  $\mu\text{M}$ . A linear range from 0.04 to 1.50  $\mu\text{M}$  with a detection limit of 0.02  $\mu\text{M}$  is obtained for the determination of 2TU. In addition, determination of the thiouracil derivatives was evaluated in real samples of human blood serum and water with differential pulse voltammetry.

**Keywords:** Methylthiouracil; 2-thiouracil; Catechol; Cyclic voltammetry; Differential pulse voltammetry; electrocatalytic





**Shahrood University of Technology**

**Faculty of chemistry**

**M.Sc. Thesis in Analytical Chemistry**

**Preparation and characterization of electrochemical sensor for determination  
of thiouracil derivatives based on Michael addition**

**By: Saeed Hamedinezhad**

**Supervisor:**

**Prof. Mansour Arab Chamjangali**

**Advisor:**

**Dr. Ghadamali Bagherian Dehghi**

**September 2018**