





دانشکده: شیمی

گروه: شیمی تجزیه

پایان نامه کارشناسی ارشد

توسعه و مشخصه یابی یک حسگر نوری برای اندازه گیری گلوکاتینون

ملیحه شهنما

استاد راهنما:

دکتر منصور عرب چم جنگلی

استاد مشاور:

دکتر ناصر گودرزی

شهریور ۱۳۹۴

ماحصل آموخته‌هایم را تقدیم می‌کنم به:

پدرم بزرگوارم، استوارترین تکیه‌گاه زندگیم
مادرم مهربانم، غمگسار جاودانی زندگیم
خواهرها و برادرهای عزیزم، همراهان همیشگی و پشتوانه‌های زندگیم؛

به پاس تعبیر عظیم و انسانی‌شان از کلمه‌ایثار و از خودگذشتگی،
به پاس عاطفه سرشار و گرمای امیدنخش وجودشان که در این سردترین روزگار ان بهترین پشتیبان است،
به پاس قلب‌های بزرگشان که فریادرس است و سرگردانی و ترس در پناهشان به شجاعت می‌گراید،
و به پاس محبت‌های بی‌درنیشان که هرگز فروکش نمی‌کند.

شکر و قدردانی

تختین پاس و ستایش از آن خداوندی است که بنده کوچکش را در دیای بی کران اندیشه، قطره ای ساخت تا وسعت آن را از دریچه اندیشه های ناب آموزگارانی بزرگ به تماشا نشیند. اکنون که در سایه سار بنده نوازی هایش، پایان نامه حاضر به انجام رسیده است، بر خود لازم می دانم تا مراتب پاس را از بزرگوارانی به جا آورم که اگر دست یاریکشان نبود، هرگز این پایان نامه به انجام نمی رسید. الهی، ای مهربان تر از ما، از تو می خواهم همه کسانی را که حتی ذره ای در انجام این امر یاری نموده اند، در سایه لطف و محبت بی کرانت، سلامت، شادکام و موفق بداری.

ابتدا از استاد کرامتقدم جناب آقای دکتر منصور عرب چم جنگلی که زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده داشتند، کمال پاس را دارم که بدون مساعدت و نظرات ارزنده ایشان، این پایان نامه به نتیجه مطلوب نمی رسید. هم چنین از استاد عالیقدرم جناب آقای دکتر ناصر کوردزی که زحمت مشاوره این پایان نامه را متحمل شدند، صمیمانه شکر می کنم. از اساتید بزرگوارم، جناب آقای دکتر قد معلی باقریان، دهقی و سرکار خانم فاطمه مصدر الامور که زحمت داوری این پایان نامه را متقبل شدند، کمال شکر و قدردانی را دارم. هم چنین از تمامی اساتیدی که در دوران تحصیل در مطلع کارشناسی و کارشناسی ارشد افتخار ساگردی در محضرشان را داشتم شکر می نمایم.

از مهربانترین بزرگانم، پدر، مادر و خانواده عزیزم که حضورشان در فضای زندگیم مصداق بی ریای سخاوت بوده است و در تمام عرصه های زندگی یار و یاور بی چشمداشت و پشتیبانی محکم برایم بوده اند، صمیمانه پاس گذارم.

در خاتمه از تمامی کارکنان محترم دانشگاه شیبی که بکاری صمیمانه ای با اینجانب داشته اند، همه دانشجویان و رودی سال ۹۱ و سایر دوستان خوب و ارجمندم و دانشجویان دکترابه ویژه خانم هاسمیرا بر و مندو سحر فارسی مدان و آقای حسن دانشی نژاد که در مراد انجام این پایان نامه یاری نمودند، قدردانی و شکر می نمایم.

تعهد نامه

اینجانب ملیحه شهنا دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته شیمی تجزیه دانشکده شیمی دانشگاه شاهرود نویسنده پایان نامه توسعه و مشخصه یابی یک حسگر نوری برای اندازه گیری گلوکاتایون تحت راهنمایی جناب آقای دکتر منصور عرب چم جنگلی متعهد می شوم:

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه شاهرود » و یا « Shahrood University » 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 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 پروژه، یک حسگر نوری برای اندازه‌گیری گلوکاتایون ارائه شده است. این حسگر نوری با تثبیت واکنشگر ۱- (۲-تیاژولیل آزو)-۲-نفتول (TAN) روی غشای تری استیل سلولز و به دنبال آن، تشکیل کمپلکس بین یون‌های پالادیوم (II) با واکنشگر تثبیت شده در سطح حسگر، آماده می‌شود. پاسخ حسگر براساس واکنش میان گلوکاتایون و کمپلکس Pd-TAN تشکیل شده بر روی سطح حسگر می‌باشد. کاهش جذب کمپلکس Pd-TAN در حضور گلوکاتایون به صورت اسپکتروفتومتری در طول موج ۶۶۰ نانومتر اندازه‌گیری و به عنوان سیگنال تجزیه‌ای استفاده شد. اثر متغیرهای مهم بر روی حساسیت حسگر مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت و این متغیرها بهینه شدند. در شرایط بهینه و در زمان‌های پاسخ ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۲۲/۰ - ۱/۵۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتایون خطی بوده و حد تشخیص روش ($S/N = 3$) در این زمان‌های پاسخ به ترتیب ۱/۳۰، ۰/۹۰، ۰/۷۴ و ۰/۵۹ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتایون می‌باشد. انحراف استاندارد نسبی برای ۵ اندازه‌گیری تکراری در غلظت‌های ۲/۵۰، ۱۰/۰ و ۲۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتایون در زمان ۱۵ دقیقه، به ترتیب ۸/۸۰، ۷/۶۰ و ۳/۶۰ درصد می‌باشد. همچنین، حسگر پیشنهادی تکرارپذیری و تکثیرپذیری مناسبی نشان داد. در نهایت، این روش برای اندازه‌گیری گلوکاتایون در نمونه‌های حقیقی شامل آب و سرم خون انسان با موفقیت به کار گرفته شد.

لغات کلیدی

حسگر نوری، اسپکتروفتومتری، گلوکاتایون، تری استیل سلولز، ۱- (۲-تیاژولیل آزو)-۲-نفتول، پالادیوم.

مقالات مستخرج از این پایان نامه که در همایش‌ها ارائه شده است:

* بیست و یکمین سمینار شیمی تجزیه ایران، دانشگاه شهید چمران اهواز، اسفند ماه ۱۳۹۳.

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول: مقدمه	۱
۱-۱- گلوکاتینون	۲
۲-۱- اهمیت گلوکاتینون	۳
۳-۱- اهمیت اندازه‌گیری گلوکاتینون	۴
۴-۱- مروری بر کارهای انجام شده برای اندازه‌گیری گلوکاتینون	۵
فصل دوم: تئوری	۹
۱-۲- حسگرهای شیمیایی	۱۲
۲-۲- طبقه بندی حسگرها	۱۳
۱-۲-۲- حسگرهای جرمی	۱۴
۲-۲-۲- حسگرهای گرمایی	۱۵
۳-۲-۲- حسگرهای الکتروشیمیایی	۱۶
۱-۳-۲-۲- حسگرهای پتانسیومتری	۱۶
۲-۳-۲-۲- حسگرهای ولتامتری و آمپرومتری	۱۷
۳-۳-۲-۲- حسگرهای هدایت سنجی	۱۸
۴-۲-۲- حسگرهای الکتریکی	۱۸
۵-۲-۲- حسگرهای مغناطیسی	۱۹

۱۹	۲-۲-۶- حسگرهای نوری
۱۹	۲-۳- حسگرهای شیمیایی نوری
۲۱	۲-۳-۱- حسگر مستقیم
۲۳	۲-۳-۲- حسگر با معرف‌های واسطه
۲۴	۲-۴- شناساگرهای مورد استفاده در حسگرهای نوری
۲۴	۲-۴-۱- شناساگرهای رنگ سنجی
۲۵	۲-۴-۲- شناساگرهای دارای لومینسانس
۲۶	۲-۵- پلیمرهای مورد استفاده در حسگرهای نوری
۲۶	۲-۵-۱- پلیمرهای آب‌گریز
۲۷	۲-۵-۲- پلیمرهای آبدوست
۲۸	۲-۵-۳- پلیمرهای آب‌گریز / آبدوست
۲۸	۲-۵-۴- پلیمرهای یونی
۲۹	۲-۶- روش‌های تثبیت شناساگر
۳۰	۲-۷- تقسیم بندی حسگرها بر اساس نوع پلیمر و نوع تثبیت
۳۱	فصل سوم: تجربی
۳۲	۳-۱- مواد شیمیایی مورد استفاده
۳۳	۳-۲- محلول‌های استفاده شده و طرز تهیه آنها
۳۴	۳-۳- دستگاه‌های مورد استفاده
۳۴	۳-۴- آماده سازی حسگر نوری

- ۳۵-۵-۳- بررسی طیف جذبی حسگر.....
- ۳۹-۶-۳- تعیین طول موج تجزیه‌ای.....
- ۴۲-۷-۳- روش کار.....
- ۴۳-۸-۳- بررسی و بهینه سازی پارامترهای مؤثر بر حساسیت حسگر.....
- ۴۳-۱-۸-۳- بررسی اثر غلظت HCl.....
- ۴۵-۲-۸-۳- بررسی اثر غلظت محلول TAN.....
- ۴۷-۳-۸-۳- بررسی اثر زمان تثبیت واکنشگر TAN.....
- ۴۹-۴-۸-۳- بررسی اثر زمان هیدرولیز.....
- ۵۰-۵-۸-۳- بررسی اثر غلظت محلول پالادیوم (II).....
- ۵۲-۶-۸-۳- اثر زمان قرار گرفتن حسگر درون محلول پالادیوم (II).....
- ۵۴-۷-۸-۳- بررسی اثر pH محلول گلوکاتایون.....
- ۵۵-۸-۸-۳- بررسی اثر نوع بافر در اندازه‌گیری گلوکاتایون.....
- ۵۷-۹-۸-۳- بررسی اثر حجم بافر در اندازه‌گیری گلوکاتایون.....
- ۵۸-۱۰-۸-۳- بررسی اثر قدرت یونی.....
- ۶۰-۱۱-۸-۳- بررسی اثر هم زدن محلول گلوکاتایون.....
- ۶۱-۱۲-۸-۳- بررسی زمان پاسخ حسگر.....
- ۶۳-۱۳-۸-۳- نتایج حاصل از بهینه سازی یک متغیر در یک زمان.....
- ۶۴-۹-۳- رسم منحنی کالیبراسیون.....
- ۶۸-۱۰-۳- حد تشخیص روش.....

۶۹	۱۱-۳- بررسی دقت و صحت روش
۷۱	۱۲-۳- بررسی مشخصه‌های حسگر
۷۱	۱-۱۲-۳- بررسی تکرار پذیری و تکثیر پذیری در ساخت حسگر
۷۵	۲-۱۲-۳- بررسی پایداری حسگر
۷۷	۳-۱۲-۳- بررسی زمان عمر حسگر
۸۱	۴-۱۲-۳- بررسی بازیابی و برگشت پذیری حسگر
۸۳	۱۳-۳- بررسی اثر مزاحمت‌ها
۸۵	۱۴-۳- کاربرد روش در اندازه‌گیری گلوکاتیون در نمونه‌های حقیقی
۸۹	فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری
۹۰	۱-۴- حسگر پیشنهادی برای اندازه‌گیری گلوکاتیون
۹۱	۲-۴- بررسی و بهینه‌سازی پارامترها
۹۱	۳-۴- ارقام شایستگی روش
۹۲	۴-۴- بررسی مشخصه‌های حسگرهای ساخته شده
۹۳	۵-۴- بررسی اثر مزاحمت‌ها
۹۳	۶-۴- تجزیه نمونه‌های حقیقی
۹۳	۷-۴- مقایسه حسگر پیشنهادی با سایر روش‌ها در اندازه‌گیری گلوکاتیون
۹۴	۸-۴- نتیجه‌گیری
۹۴	۹-۴- آینده‌نگری
۹۵	منابع و مراجع

فهرست شکل‌ها

صفحه	عنوان
۲.....	شکل (۱-۱): ساختار شیمیایی گلوکاتایون
۲۰.....	شکل (۱-۲): نمایش شماتیکی اجزاء و عملکرد یک حسگر شیمیایی نوری
۳۵.....	شکل (۱-۳): ساختار شیمیایی تری استیل سلولز
۳۵.....	شکل (۲-۳): ساختار شیمیایی واکنشگر TAN
۳۷.....	شکل (۳-۳): طیف جذبی واکنشگر TAN، a- در حالت محلول. b- تثبیت شده بر روی حسگر
.....	شکل (۴-۳): a- طیف جذبی واکنشگر TAN تثبیت شده بر روی غشاء. b و c- طیف جذبی کمپلکس Pd-TAN تشکیل شده بر روی غشاء در زمان‌های مختلف
۳۸.....	شکل (۵-۳): طیف جذبی حسگر ساخته شده a- درون محلول شاهد. b- پس از قرار گرفتن درون محلول ۱۰/۰ میلی گرم بر لیتر گلوکاتایون
۳۹.....	شکل (۶-۳): طیف جذبی حسگرهای ساخته شده درون محلول‌های مختلف گلوکاتایون
۴۰.....	شکل (۷-۳): بررسی اثر غلظت هیدروکلریک اسید بر روی حساسیت حسگر
۴۵.....	شکل (۸-۳): بررسی اثر غلظت محلول واکنشگر TAN بر روی حساسیت حسگر
۴۶.....	شکل (۹-۳): بررسی اثر زمان تثبیت واکنشگر TAN بر روی حساسیت حسگر
۴۸.....	شکل (۱۰-۳): بررسی اثر زمان هیدرولیز بر روی حساسیت حسگر
۵۰.....	شکل (۱۱-۳): بررسی اثر غلظت محلول پالادیوم (II) بر روی حساسیت حسگر
۵۱.....	شکل (۱۲-۳): بررسی اثر زمان قرار گرفتن حسگر درون محلول پالادیوم (II) بر روی حساسیت حسگر
۵۳.....	شکل (۱۳-۳): بررسی اثر pH محلول گلوکاتایون بر روی حساسیت حسگر
۵۵.....	

- شکل (۳-۱۴): بررسی اثر نوع بافر بر روی حساسیت حسگر. ۵۶.....
- شکل (۳-۱۵): بررسی اثر حجم بافر سیتراتی بر روی حساسیت حسگر. ۵۸.....
- شکل (۳-۱۶): بررسی اثر قدرت یونی بر روی حساسیت حسگر. ۵۹.....
- شکل (۳-۱۷): بررسی زمان پاسخ حسگر. ۶۳.....
- شکل (۳-۱۸): منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۱/۵۰ تا ۲۲/۰ میلی گرم بر لیتر گلوکاتیون. a -
 پس از ده دقیقه و b - پس از پانزده دقیقه. ۶۶.....
- شکل (۳-۱۹): منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۱/۵۰ تا ۲۲/۰ میلی گرم بر لیتر گلوکاتیون. a -
 پس از بیست دقیقه و b - پس از بیست و پنج دقیقه. ۶۷.....
- شکل (۳-۲۰): بررسی پایداری حسگر درون محلول ۰/۰۰۵ مولار نیتریک اسید. ۷۷.....
- شکل (۳-۲۱): بررسی زمان عمر حسگر درون بافر فسفاتی با $\text{pH} = ۴/۰۰$. ۷۸.....
- شکل (۳-۲۲): بررسی زمان عمر حسگر درون محلول اسید نیتریک ۰/۰۰۵ مولار. ۷۹.....
- شکل (۳-۲۳): بررسی زمان عمر حسگر درون محلول حاوی اسید نیتریک ۰/۰۰۵ مولار و ۵/۰۰ میلی گرم بر لیتر پالادیوم (II). ۸۱.....

فهرست جداول

صفحه	عنوان
۳۲	جدول (۱-۳): مواد شیمیایی مورد استفاده.....
۴۱	جدول (۲-۳): بررسی حساسیت در طول موج ۶۶۰ نانومتر و ۷۲۸ نانومتر.....
۴۴	جدول (۳-۳): نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت HCl.....
۴۶	جدول (۴-۳): نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت محلول واکنشگر TAN.....
۴۸	جدول (۵-۳): نتایج حاصل از بررسی اثر زمان تثبیت واکنشگر TAN.....
۴۹	جدول (۶-۳): نتایج حاصل از بررسی اثر زمان هیدرولیز.....
۵۱	جدول (۷-۳): نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت محلول پالادیوم (II).....
۵۲	جدول (۸-۳): نتایج حاصل از بررسی اثر زمان قرار گرفتن حسگر درون محلول پالادیوم (II).....
۵۴	جدول (۹-۳): نتایج حاصل از بررسی اثر pH محلول گلوکاتایون.....
۵۶	جدول (۱۰-۳): نتایج حاصل از بررسی اثر نوع بافر.....
۵۶	جدول (۱۱-۳): نتایج حاصل از بررسی حجم بافر سیتراتی.....
۵۹	جدول (۱۲-۳): بررسی اثر قدرت یونی.....
۶۰	جدول (۱۳-۳): نتایج حاصل از بررسی اثر هم زدن محلول گلوکاتایون بر روی حساسیت حسگر.....
۶۲	جدول (۱۴-۳): نتایج حاصل از بررسی زمان پاسخ حسگر.....
۶۳	جدول (۱۵-۳): نتایج حاصل از بهینه سازی یک متغیر در یک زمان برای اندازه گیری گلوکاتایون.....
۶۴	جدول (۱۶-۳): اطلاعات مربوط به منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۱/۵۰ تا ۲۲/۰ میلی گرم بر لیتر گلوکاتایون.....

- جدول (۳-۱۷): معادلات رگرسیون منحنی کالیبراسیون در زمان‌های پاسخ مختلف ۶۵
- جدول (۳-۱۸): حد تشخیص روش ۶۸
- جدول (۳-۱۹): بررسی دقت و صحت روش ۷۰
- جدول (۳-۲۰): نتایج حاصل از بررسی تکرارپذیری و تکثیرپذیری در ساخت حسگرها در زمان‌های پاسخ ۱۰ دقیقه و ۱۵ دقیقه ۷۲
- جدول (۳-۲۱): نتایج حاصل از بررسی تکرارپذیری و تکثیرپذیری در ساخت حسگرها در زمان‌های پاسخ ۲۰ دقیقه و ۲۵ دقیقه ۷۳
- جدول (۳-۲۲): جدول ANOVA ۷۴
- جدول (۳-۲۳): محاسبات جدول ANOVA برای حسگر نوری ۷۴
- جدول (۳-۲۴): نتایج حاصل از بررسی پایداری حسگر ۷۶
- جدول (۳-۲۵): نتایج حاصل از بررسی زمان عمر حسگر در بافر فسفات‌ی با $\text{pH} = 4/00$ ۷۸
- جدول (۳-۲۶): نتایج حاصل از بررسی زمان عمر حسگر در محلول اسید نیتریک $0/005$ مولار ۷۹
- جدول (۳-۲۷): نتایج حاصل از بررسی زمان عمر حسگر در محلول حاوی اسید نیتریک $0/005$ مولار و $5/00$ میلی‌گرم بر لیتر پالادیوم (II) ۸۰
- جدول (۳-۲۸): نتایج حاصل از بازیابی حسگر در محلول پالادیوم (II) ۸۲
- جدول (۳-۲۹): نتایج حاصل از بررسی اثر گونه‌های مزاحم در اندازه‌گیری محلول $10/0$ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتینون ۸۴ جدول (۳-۳۰): نتایج حاصل از اندازه‌گیری گلوکاتینون در آب شهر شاهرود در زمان پاسخ ۱۰ دقیقه ۸۵
- جدول (۳-۳۱): نتایج حاصل از اندازه‌گیری گلوکاتینون در آب شهر شاهرود در زمان پاسخ ۱۵ دقیقه ۸۶

جدول (۳-۳۲): نتایج حاصل از اندازه‌گیری گلوکاتیون در سرم خون در زمان پاسخ ۱۰ دقیقه..... ۸۷

جدول (۳-۳۳): نتایج حاصل از اندازه‌گیری گلوکاتیون در سرم خون در زمان پاسخ ۱۵ دقیقه..... ۸۷

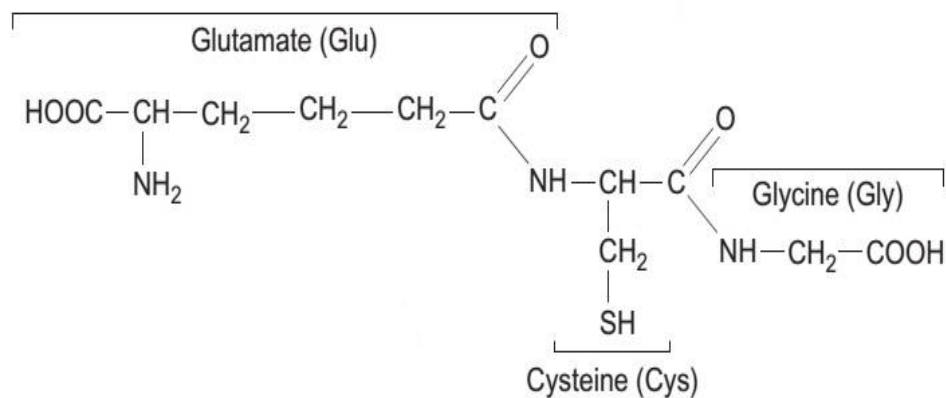
جدول (۴-۱): مقایسه روش پیشنهادی با روش‌های گزارش شده در اندازه‌گیری گلوکاتیون..... ۹۴

فصل اول

مقدمه

۱-۱- گلوتاتیون^۱

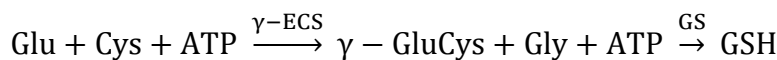
تیول‌هایی با وزن مولکولی کم (گلوتاتیون^۲، سیستئین^۳، هموسیستئین^۳ و غیره) یک گروه خیلی مهم از ترکیبات با خصوصیات منحصر بفرد هستند که اساساً در مواد غذایی و سیالات بیولوژیکی یافت می‌شوند [۱]. گلوتاتیون، L-γ-glutamyl-L-cysteinyl-Glycine، که به اختصار GSH نمایش داده می‌شود، فراوان‌ترین ترکیب تیول‌دار غیرپروتئینی است که به طور گسترده در ارگانیسم‌های زنده حضور دارد [۲]. این ترکیب یک تری‌پپتید متشکل از آمینو اسیدها می‌باشد [۳] که ساختار شیمیایی آن بر اساس پیوندهای پپتیدی بین گلوتامیک اسید^۴ (Glu)، سیستئین (Cys) و گلیسین^۵ (Gly) است. این توالی و پیوندهای بین آمینو اسیدها خواص شیمیایی گلوتاتیون را تعیین می‌کند.



شکل (۱-۱): ساختار شیمیایی گلوتاتیون [۴].

-
- 1- Glutathione
 - 2- Cysteine
 - 3- Homocysteine
 - 4- Glutamic Acid
 - 5- Glycine

اساس سنتز زیستی گلوتاتیون شامل دو واکنش پی در پی بین آمینواسیدها می باشد:



مرحله اول سنتز زیستی گلوتاتیون تشکیل γ - گلوتامیل سیستئین^۱ می باشد. در واقع یک پیوند پپتیدی بین گروه کربوکسیل گلوتامات و گروه آمین سیستئین تشکیل می شود. در مرحله بعد، گلیسین به γ - گلوتامیل سیستئین اضافه می شود و یک پیوند پپتیدی بین N - انتهای گلیسین و C - انتهای γ - گلوتامیل سیستئین به وجود می آید [۴].

۱-۲- اهمیت گلوتاتیون

اهمیت گلوتاتیون به وسیله فواید گسترده آن در گیاهان، پستانداران، قارچها و بعضی از پروکاریوتها آشکار می شود. گلوتاتیون به عنوان یک آنتی اکسیدان ضروری، نقش مهمی در سم زدایی از ترکیبات متنوع الکتروفیلی و پراکسیدها ایفا می کند [۵].

گلوتاتیون نه فقط مستقیماً گونه های اکسیژن فعال را سم زدایی می کند بلکه عملکرد سایر آنتی اکسیدان های ضروری مثل ویتامین های C، E و آسکوربیک اسید را بهبود می بخشد [۶]. علاوه بر این، گلوتاتیون برای متابولیسم های درون سلولی بسیاری از آنزیمها، هورمونها و آمینواسیدها مثل ال - سیستئین ضروری بوده و از بدن در مقابل بسیاری از مواد سمی، مواد جهش زا و داروها محافظت می کند [۷].

نقش گلوتاتیون در متابولیسم های انسانی شامل محافظت در مقابل استرس اکسیداتیو^۲ و سم زدایی از زنبیوتیکها^۳ است. گلوتاتیون مهم ترین ملکول برای سالم ماندن و جلوگیری از پیری، آسیب های قلبی و زوال عقل می باشد و برای درمان هر بیماری از اوتیسم^۴ تا اختلال آلزایمر ضروری

1- Glutamyl Cysteine
2- Oxidative stress
3- Xenobiotic
4- Autism

است [۸].

گلوپتاتیون به عنوان یک ترکیب تیول دار درون سلولی مهم، نقش کلیدی در بسیاری از فرایندهای بیولوژیکی مثل چرخه‌های متابولیکی اکسایش - کاهش درون سلولی، انتقال و سنتز پروتئین‌ها، سوخت و ساز مواد غذایی در بافت‌ها، سوخت و ساز بدن، انتقال سیگنال درون سلولی، متابولیسم زنبیوتیک‌ها، تنظیم تکثیر سلولی، سنتز DNA، انتقال آمینواسیدها و بیان ژن را دارا می‌باشد [۳، ۵، ۹].

۱-۳- اهمیت اندازه‌گیری گلوپتاتیون

گلوپتاتیون درون سلول می‌تواند در دو حالت اکسید شده (GSSG) و کاهش یافته (GSH) وجود داشته باشد. حفظ نسبت بهینه GSH/GSSG در سلول برای بقا لازم است [۵]. این نسبت به عنوان یک شناساگر برای استرس اکسیداتیو و نیز شناساگری پراهمیت در آسیب شناسی و کاربردهای بالینی است. همچنین ارتباط مستقیمی بین مقدار GSH کاهش یافته در سیالات درون سلولی و طول عمر وجود دارد [۱۰]. مقدار گلوپتاتیون در خون حالت آن را در بافت‌هایی با دسترسی کمتر مشخص می‌کند. بنابراین اندازه‌گیری GSH در خون برای تعیین حالت گلوپتاتیون در کل بدن و به عنوان شاخص بیماری‌ها ضروری است [۱۱].

همچنین مشخص شده است که مقادیر GSH در بافت‌های سرطانی انسان در مقایسه با بافت‌های نرمال در ناحیه‌هایی مثل سینه، روده بزرگ، ریه، مغز استخوان، تخمدان و حنجره بالا می‌رود. مدارک مشابه نشان می‌دهد که مقادیر بالای GSH در بافت تومور، با مقاومت به شیمی درمانی همراه است [۷].

مقادیر GSH درون سلولی در پاسخ به استرس اکسیداتیو تغییر می‌کند [۱۲]. بسیاری از بیماری‌ها مثل آسیب کبدی، سرطان، ایدز، مشکلات قلبی، عروقی، آسیب‌های DNA و سایر

بیماری‌های مزمن و پیری از علائم مقادیر غیر عادی GSH در سلول‌ها می‌باشد [۱۳، ۱۴].

مقادیر غیرعادی GSH در پلاسما، دلالت بر بعضی از بیماری‌ها نظیر بیماری آلزایمر، پارکینسون، دیابت‌ها، تخریب لکه زرد^۱ و بیماری HIV دارد [۶].

به علت درگیری گسترده گلوتاتیون در بسیاری از عملکردهای بیولوژیکی، تلاش‌های زیادی برای توسعه روش‌های گزینش‌پذیر و حساس برای اندازه‌گیری آن انجام شده است [۱۰].

۴-۱- مروری بر کارهای انجام شده برای اندازه‌گیری گلوتاتیون

در زمینه اندازه‌گیری گلوتاتیون گزارش‌های زیادی وجود دارد که در ادامه به بعضی از آن‌ها اشاره می‌شود:

در سال ۲۰۰۱ لارسیو روور^۲ و همکارانش، روشی برای اندازه‌گیری گلوتاتیون در سرم با استفاده از یک حسگر زیستی آمپرومتری گزارش دادند. این حسگر زیستی بر اساس تثبیت گلوتاتیون پراکسیداز روی الکتروود کار پیرولیتیک^۳ گرافیت با استفاده از کاربودی ایمید^۴ بود. در روش پیشنهادی اکسایش گلوتاتیون کاهش یافته (GSH) به گلوتاتیون دی سولفید، طی یک واکنش آنزیمی در حضور هیدروژن پراکسید انجام می‌شود. محدوده خطی پاسخ این حسگر زیستی از $1/90 \times 10^{-5}$ تا $1/40 \times 10^{-4}$ مولار گزارش شده است [۱۵].

در سال ۲۰۰۹ بینگ یان هان^۵ و همکارانش، یک حسگر حساس و گزینش‌پذیر برای اندازه‌گیری تیول‌های زیستی از جمله گلوتاتیون، هموسیستئین و سیستئین، براساس بازیابی فلئوئورسانس سیستم نقاط کوانتومی^۶ Hg(II) – CdTe گزارش دادند. فلئوئورسانس نقاط کوانتومی (QDs) به مقدار زیاد به

1- Macular Degeneratin

2- Laercio rover

۳- Pyrolytic

۴- Carbodiimide

5- Bingyan Han

۶- Quantom Dots

وسيله (II) Hg خاموش می‌شود. در حضور تیول‌های زیستی، (II) Hg با تیول‌ها واکنش می‌دهد. بنابراین فلئورسانس نقاط کوانتومی CdTe بازیابی می‌شود. رابطه خطی خوبی برای گلوکاتایون از ۰/۶۰۰ تا ۲۰/۰ میکرومولار گزارش شده و حد تشخیص ۰/۱۰۰ میکرو مولار به دست آمده است [۱۶].

در سال ۲۰۱۱ بینگ یان هان^۱ و همکارانش، روشی ساده و حساس برای اندازه‌گیری تیول‌های زیستی از جمله گلوکاتایون، هموسیستین و سیستئین، با استفاده از نانو کلاسترهای نقره فلئورسانس کننده و پایدار شده به وسیله DNA تک رشته‌ای (DNA-AgNCs) ارائه دادند. شدت فتولومینسانس DNA-AgNCs با افزایش غلظت تیول‌های زیستی کاهش می‌یابد که باعث جابجایی قرمز در طول موج نشری می‌شود. نتایج رابطه خطی خوبی در ناحیه $۸/۰۰ \times ۱۰^{-۹}$ تا $۱/۰۰ \times ۱۰^{-۷}$ مولار با حد تشخیص ۴/۰۰ نانومولار نشان داده است [۱۷].

در سال ۲۰۱۲ قدمعلی باقریان دهقی و همکارانش، یک روش الکتروشیمیایی برای اندازه‌گیری گلوکاتایون بر اساس اکسایش ۴،۱- دی آمینوبنزن روی سطح الکتروکد کربن شیشه‌ای با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای ارائه دادند. گلوکاتایون هیچ پیک اکسایشی یا کاهش‌ی مشخصی بر روی سطح الکتروکد کربن شیشه‌ای نشان نمی‌دهد ولی ولتاموگرام مربوط به ۴،۱- دی آمینوبنزن در $\text{pH} = ۶/۰۰$ یک پیک اکسایش - کاهش برگشت پذیر در حدود ۰/۲۵ ولت نشان می‌دهد. در حضور گلوکاتایون، جریان اکسایشی مربوط به ۴،۱- دی آمینوبنزن متناسب با غلظت گلوکاتایون به طور خطی افزایش می‌یابد. دامنه خطی روش ۵/۰۰ تا ۶۰۰ میکرومولار گزارش شده و حد تشخیص روش نیز ۳/۸۰ میکرومولار به دست آمده است [۱۸].

در سال ۲۰۱۲ هرمزی نژاد و همکارانش، یک روش رنگ سنجی با حساسیت بالا برای اندازه‌گیری گلوکاتایون و سیستئین براساس تجمع آن‌ها روی نانوذرات طلا پوشیده شده با سیترات به وسیله

1- Bingyan Han

برهمکنش‌های الکترواستاتیکی بین مولکولی یا پیوندهای هیدروژنی گزارش دادند. در اثر این تجمع در نزدیکی طول موج ۵۲۱ نانومتر، باند پلاسمون^۱ به تدریج کاهش می‌یابد. هم چنین یک باند جذبی جدید با جابجایی قرمز ایجاد می‌شود. نمودار کالیبراسیون در ناحیه غلظتی $5/00 \times 10^{-6}$ تا 200×10^{-6} مولار گلوپتاتینون خطی و حد تشخیص در این روش $3/30 \times 10^{-6}$ مولار گزارش شده است [۱۹].

در سال ۲۰۱۲ نیدهی چائوچان^۲ و همکارانش، روشی برای ساخت یک حسگر زیستی آمپرومتری برای اندازه‌گیری گلوپتاتینون به وسیله تثبیت کووالانسی گلوپتاتینون اکسیداز روی سطح الکتروود اصلاح شده پلاتین ارائه دادند. الکتروود بیشترین پاسخ را در زمان ۴ ثانیه نشان داد. رابطه خطی بین پاسخ الکتروود و غلظت گلوپتاتینون در ناحیه $5/00$ تا 4000 میکرومولار با حد تشخیص $0/100$ میکرومولار وجود داشت [۱۰].

در سال ۲۰۱۳ کوبیلای گوکلو^۳ و همکارانش، یک حسگر نوری جدید با استفاده از معرف المان^۴، $5'$ و 5 - دی تیو - بیس (۲-نیترو بنزوئیک اسید) (DTNB) جذب شده روی نانو ذرات طلا، برای اندازه‌گیری گزینش‌پذیر تیول‌های زیستی ارائه دادند. ابتدا DTNB در اثر برهمکنش غیر کووالانسی، روی نانو ذرات جذب شده سپس در اثر واکنش با تیول‌های زیستی، با تشکیل آنیون زرد رنگ TNB^{2-} ، تغییرات جذب در 410 نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. نمودار کالیبراسیون در ناحیه غلظتی $0/550$ تا $29/2$ میکرومولار خطی بوده و حد تشخیص $0/680$ میکرومولار حاصل شده است [۲۰].

در سال ۲۰۱۳ لیو^۵ و همکارانش، یک روش رنگ سنجی جدید و ساده برای اندازه‌گیری گلوپتاتینون ارائه دادند. در روش پیشنهادی، ابتدا نانو ذرات دی اکسید منگنز اکسایش $3'$ ، 3 ، $5'$ ، 5 - تترا متیل بنزیدین (TMB) را کاتالیز می‌کند که باعث ایجاد رنگ سبز در محلول می‌شود. حضور گلوپتاتینون سبب

1- Plasmon Band
2- Nidhi Chauchan
3 - Kubilay Guclu
4- Ellman Reagent
5- Xing Liu

کاهش TMB اکسید شده و محو شدن رنگ سبز می‌شود. در روش پیشنهادی رابطه خطی خوبی از ۰/۲۶۰ تا ۲۶/۰ میکرومولار با حد تشخیص ۰/۱۰۰ میکرومولار برای گلوکاتایون گزارش شده است [۲۱].

در سال ۲۰۱۳ کیوانفرد و همکارانش، یک حسگر الکتروشیمیایی حساس و گزینش پذیر برای اندازه‌گیری گلوکاتایون، با استفاده از الکتروود نانو لوله کربنی چند دیواره اصلاح شده با ۳ و ۴- دی هیدروکسی سینامیک اسید ارائه دادند. این الکتروود اصلاح شده، فعالیت الکتروکاتالیکی بسیار بالایی برای اکسایش آندی گلوکاتایون نشان می‌دهد. در شرایط بهینه جریان پیک الکتروکاتالیستی رابطه خطی با غلظت گلوکاتایون در ناحیه ۰/۵۰۰ تا ۴۰۰/۰ میکرومولار با حد تشخیص ۰/۱۰۰ میکرومولار نشان می‌دهد [۲۲].

در سال ۲۰۱۴ شمسی پور و همکارانش، با استفاده از یک حسگر رنگ سنجی روشی برای اندازه‌گیری گلوکاتایون گزارش دادند. در روش پیشنهادی، رادیکال‌های کاتیونی آزاد و آبی رنگ به وسیله واکنش اکسایش تترامتیل بنزیدین (TMB) توسط هیدروژن پراکسید ایجاد می‌شوند که این واکنش با کمک نانو نقاط کربنی^۱ (CDS) کاتالیز می‌شود. نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت رادیکال کاتیونی آزاد به طور معکوس وابسته به غلظت گلوکاتایون می‌باشد و در ناحیه ۰/۰۰۰ تا ۷/۰۰ میکرومولار خطی و دارای حد تشخیص ۰/۳۰۰ میکرومولار می‌باشد [۲۳].

در سال ۲۰۱۴ یو پنگ شی^۲ و همکارانش روشی برای تشخیص گلوکاتایون در پلاسمای انسان با استفاده از یک نانو حسگر با روش دوگانه فلورئوریمتری و رنگ سنجی بر اساس نقاط کوانتومی کربنی (CQDs) و نانو ذرات طلا گزارش دادند. با اضافه کردن CQDs به محلول کلوئیدی نانو ذرات طلا و تجمع آن‌ها با نانو ذرات، رنگ نانو ذرات طلا از قرمز به آبی تغییر می‌کند و به دنبال آن فلورئورسانس CQDs خاموش می‌شود. گلوکاتایون از تجمع نانوذرات جلوگیری کرده و تغییر رنگ در محلول ایجاد

۱- Carbon nanodots

۲-Yupeng Shi

می‌کند و به دنبال آن فلوئورسانس CQDs بازیابی می‌شود. نانو حسگر پیشنهادی گزینش‌پذیری خوبی نسبت به گلوکاتایون نشان داده است و دارای رابطه‌ای خطی با غلظت گلوکاتایون در ناحیه ۴/۰۰ - ۱/۰۰ میکرومولار می‌باشد [۲۴].

در سال ۲۰۱۵ پنگ ژوان نی^۱ و همکارانش، یک روش رنگ سنجی جدید و ساده برای تشخیص گلوکاتایون به صورت متمایز از سیستئین و هموسیستئین گزارش دادند. اساس روش پیشنهادی اکسایش ۳، ۳'، ۵، ۵' -تترا متیل بنزیدین (TMB) توسط یون Ag^+ و ایجاد رنگ آبی در محلول و نیز یک پیک جذبی در طول موج ۶۵۲ نانومتر بود. GSH باعث کاهش TMB اکسید شده می‌شود. هم چنین می‌تواند با Ag^+ ترکیب شده که هر دو باعث محو شدن رنگ آبی و کاهش جذب در طول موج ۶۵۲ نانومتر می‌شود. تغییرات جذب در ناحیه غلظتی ۸/۰۰ - ۰/۰۵۰۰ میکرومولار گلوکاتایون خطی گزارش شد [۱۳].

فصل دوم

تئوری

۱-۲ - حسگرهای شیمیایی^۱

یکی از جدیدترین تکنیک‌های شیمی تجزیه در اندازه‌گیری گونه‌های مختلف، استفاده از حسگرهای شیمیایی می‌باشد. حسگرهای شیمیایی محیط اطراف ما را تجزیه و تحلیل می‌کنند، یعنی آن‌ها تشخیص می‌دهند چه موادی در اطراف ما وجود دارد و چه مقداری دارند [۲۵].

زمینه‌های کاربردی مختلفی برای استفاده از حسگرهای شیمیایی وجود دارد. به طور مثال در اندازه‌گیری‌های زیست محیطی برای تعیین آلاینده‌های مختلف از حسگرهای شیمیایی به طور عمده استفاده می‌شود. انواع مختلفی از حسگرهای شیمیایی برای آشکارسازی و اندازه‌گیری گازهایی مانند اکسیژن، دی‌اکسید کربن و گروهی از گازهای دیگر به کار برده شده‌اند. از موارد دیگر کاربردهای حسگرها می‌توان کنترل فرایند را در صنایع غذایی نام برد [۲۶].

طبق تعریفی که آیوپاک^۲ در سال ۱۹۹۱ ارائه داده است، یک حسگر شیمیایی وسیله‌ای است که اطلاعات شیمیایی اعم از غلظت یک جزء از نمونه‌ای خاص تا آنالیز کل ترکیب را به یک سیگنال مفید تجزیه‌ای تبدیل می‌کند. طبق تعریفی دیگر، حسگرهای شیمیایی وسایلی با اندازه کوچک هستند که شامل یک عنصر تشخیصی، یک مبدل و یک پردازشگر سیگنال می‌باشند که قادرند به طور پیوسته و برگشت‌پذیر غلظت شیمیایی را گزارش دهند [۲۵].

حسگرهای شیمیایی باید :

- کمیت‌های شیمیایی را به سیگنال‌های الکتریکی تبدیل کنند.
- سریع پاسخ دهند.
- در مدت زمان طولانی فعالیت خود را حفظ کنند.
- کوچک و ارزان باشند.

1- Chemical Sensor
2- IUPAC

- اختصاصی باشند، یعنی منحصرأ باید به یک آنالیت پاسخ دهند یا حداقل نسبت به یک گروه از آنالیت‌ها گزینش پذیر باشند.

به خصوصیات فوق، می توان حد تشخیص پایین و حساسیت بالا را نیز اضافه نمود [۲۵].

معمولاً حسگرهای شیمیایی شامل دو جزء اصلی هستند: یک سیستم تشخیص شیمیایی یا مولکولی (پذیرنده)^۱ و یک مبدل فیزیکی شیمیایی^۲ [۲۵]. بعضی از حسگرها ممکن است شامل یک بخش جداساز^۳ (تفکیک کننده) مانند یک غشاء باشند [۲۷] و یا ممکن است دارای یک بخش برای تقویت سیگنال^۴ [۲۵] باشند. در اکثر حسگرهای شیمیایی، پذیرنده با مولکول‌های آنالیت برهم‌کنش دارد و در نتیجه خواص فیزیکی پذیرنده تغییر می‌کند و مبدل یک سیگنال الکتریکی تولید می‌کند. در بسیاری از موارد عملکرد پذیرنده، به وسیله یک لایه نازک تکمیل می‌شود که قادر است با مولکول‌های آنالیت برهم‌کنش داشته باشد یا یک واکنش را به طور گزینش‌پذیر کاتالیز کند یا در یک تعادل شیمیایی با آنالیت سهیم شود. امروزه سیگنال‌ها به وسیله دستگاه‌های الکتریکی پردازش می‌شوند. در نتیجه هر حسگر باید شامل یک تابع تبدیل باشد یعنی باید مقدار واقعی غلظت که یک کمیت غیر الکتریکی است را به یک کمیت الکتریکی مثل ولتاژ، جریان یا مقاومت تبدیل کند [۲۵].

۲-۲- طبقه بندی حسگرها

طبقه بندی حسگرها، به چند طریق انجام می‌شود. رایج‌ترین طبقه بندی، بر اساس اصول انتقال سیگنال است که در این صورت حسگرها شامل انواع حسگرهای نوری، حسگرهای الکتروشیمیایی، حسگرهای الکتریکی، حسگرهای حساس جرمی، حسگرهای مغناطیسی، حسگرهای گرماسنجی می‌باشند. طرح طبقه بندی دیگری وجود دارد که از اصول مبدل پیروی نمی‌کند اما از اصول پذیرنده یا

1- Chemical Recognition System (Receptor)

2- Physicochemical Transducer

3- Separator

4- Signal Amplification

زمینه‌های کاربردی حسگر تبعیت می‌نماید. در این طرح، گروه بزرگ و مهم حسگرهای زیستی^۱ جای دارند. حسگرهای زیستی حسگرهایی هستند که سیستم تشخیص آن‌ها از مکانیسم زیست شیمیایی استفاده می‌کند. هم‌چنین حسگرهایی برای اندازه‌گیری pH، یون‌های فلزی و یا اندازه‌گیری اکسیژن یا سایر گازها وجود دارند که براساس کاربردهای حسگر برای تشخیص و اندازه‌گیری آنالیت‌هاست [۲۵]، [۲۷].

۲-۲-۱- حسگرهای جرمی^۲

حسگرهای حساس جرمی، تغییرات جرم در یک سطح اصلاح شده خاص را به تغییر در یک خصوصیت مواد تکیه گاه تبدیل می‌کنند. تغییر جرم در اثر تجمع آنالیت ایجاد می‌شود [۲۷]. در واقع حسگرهای جرمی به تغییرات کوچک جرم، با ایجاد سیگنال الکتریکی قابل اندازه‌گیری عکس العمل نشان می‌دهند [۲۵].

شناخته شده‌ترین حسگر جرمی براساس اثر پیزوالکتریک^۳ استوار است [۲۵]. ابزارهای پیزوالکتریک اساساً در فاز گازی استفاده می‌شود، اما در محلول‌ها هم قابل استفاده هستند. این حسگرها بر اساس اندازه‌گیری تغییر فرکانس صفحه نوسانگر کوارتزی، در اثر جذب سطحی آنالیت در روی نوسانگر عمل می‌کنند [۲۷]. طبق اصل پیزوالکتریک که توسط برادران کوری^۴ کشف شد، بلورهای نامتجانسی مثل کوارتز که فاقد مرکز تقارن هستند، هنگامی که تحت تاثیر یک میدان الکتریکی قرار می‌گیرند از نظر مکانیکی تغییر شکل می‌دهند. بنابراین به طور مکانیکی مرتعش می‌شوند و یک ولتاژ متناوب ایجاد می‌کنند. فرکانس این ارتعاش که به آن فرکانس رزونانس^۵ می‌گویند، می‌تواند تحت تاثیر محیط خود تنظیم شود. در عمل فرکانس ارتعاش یک بلور پیزوالکتریک

1- Biosensor

2- Mass Sensor

3- Piezoelectric Effect

4- Curie Brothers

5- Resonance Frequency

متناسب با جرم بلور و سایر موادی است که سطح بلور را می‌پوشاند [۲۵، ۲۸]. دسته دیگر حسگرهای جرمی، بر پایه‌ی ابزارهای امواج اکوستیک^۱ ساخته می‌شوند. در واقع نوسان کریستال‌های پیزوالکتریک ممکن است به انتشار صدا مربوط باشد که امواج اکوستیک می‌توانند در سراسر توده کریستالی یا در سطح آن انتشار یابند. هر دو نوع انتشار می‌تواند برای ساخت حسگرهای شیمیایی و حساس جرمی استفاده شود. انتشار این امواج درون توده، اساس ابزارهای امواج اکوستیک توده‌ای^۲ (BAW) هستند. از انتشار امواج در سطح، در ساخت حسگرهای اکوستیک سطحی^۳ (SAW) استفاده می‌شود [۲۵].

۲-۲-۲- حسگرهای گرمایی^۴

گرما یکی از عمومی‌ترین خواص هر واکنش شیمیایی است. بنابراین گرما می‌تواند یک پارامتر فیزیکی ایده آل برای استفاده در حسگرها باشد [۲۶]. این حسگرها، می‌توانند به آسانی به وسیله پوشاندن سطح یک گرماسنج با یک لایه کاتالیکی تهیه شوند. ترمیستورها^۵، گرماسنج‌های مفیدی هستند که برای ساخت حسگرهای گرمایی قابل استفاده می‌باشند. آن‌ها اساساً از یک بدنه نیمه رسانا با هدایت وابسته به دما تشکیل شده‌اند. به عنوان مثال یک حسگر هیدروژن به وسیله پوشاندن یک ترمیستور با لایه نازکی از پلاتین سیاه ساخته می‌شود. ترمیستورها در اندازه‌ها و اشکال مختلف در دسترس هستند. رایج‌ترین شکل آن‌ها، گوی‌هایی با قطر ۰/۱ میلی‌متر یا فیلم‌های نازک روی یک لایه می‌باشد. نوع دیگر گرماسنج که در ساخت این حسگرها کاربرد دارد، ترمیستور مقاومتی پلاتین است که به عنوان یک پلیستور^۶ شناخته می‌شود که در آن یک سیم پیچ نازک پلاتینی درون یک بدنه سرامیکی قرار می‌گیرد. پلیستورها حساسیت دمایی کمتری از ترمیستورها دارند [۲۵].

هم چنین ابزارهای پیزوالکتریک به دلیل دارا بودن حساسیت بالا برای ساخت حسگرهای گرمایی

1- Acoustic Waves
2- Bulk Acoustic Wave Device
3- Surface Acoustic Wave Sensor
4- Thermal Sensor
5- Thermistor
6- Pellistor

پیشنهاد شده اند. نشان داده شده است که این ابزارها قادر به اندازه‌گیری گرمای جذب سطحی تک لایه گاز هستند [۲۶].

۲-۲-۳- حسگرهای الکتروشیمیایی^۱

ابزارهای الکتروشیمیایی، نتیجه برهم‌کنش الکتروشیمیایی آنالیت و الکتروود را به یک سیگنال مفید تبدیل می‌کنند. چنین برهم‌کنش‌هایی می‌توانند به صورت الکتریکی ایجاد شوند یا ممکن است ناشی از برهم‌کنش‌های خودبخودی در شرایط جریان صفر باشد [۲۷]. یک حسگر الکتروشیمیایی شامل یک الکتروود حس کننده (الکتروود کار) و یک الکتروود مخالف است که با یک لایه نازک الکتروولیت از هم جدا می‌شوند.

بر اساس ماهیت سیگنال الکتریکی ایجاد شده، اکثر حسگرهای الکتروشیمیایی به سه گروه بزرگ تقسیم می‌شوند: حسگرهای پتانسیومتری براساس اندازه‌گیری ولتاژ سل، حسگرهای آمپرومتری و ولتامتری براساس اندازه‌گیری جریان سل و حسگرهای هدایت سنجی بر اساس اندازه‌گیری هدایت سل [۲۶، ۲۹].

۲-۲-۳-۱- حسگرهای پتانسیومتری^۲

در این حسگرها، اختلاف پتانسیل بین الکتروود کار و الکتروود مرجع اندازه‌گیری می‌شود. حسگرهای پتانسیومتری در جریان صفر استفاده می‌شوند و پتانسیل اندازه‌گیری شده وابسته به فعالیت یا غلظت گونه‌های ایجاد شده یا مصرف شده در واکنش است [۲۹]. این اندازه‌گیری‌ها می‌تواند در هر دو فاز مایع و گازی انجام شود [۳۰]. حسگرهای پتانسیومتری به دو دسته تقسیم می‌شوند: دسته اول دستگاه‌های متقارن هستند که شامل الکتروودهای یون گزین سنتی می‌باشند [۳۰]. یک pH متر، یکی از رایج‌ترین کاربردهای پتانسیومتری است که در آن اندازه‌گیری یون H^+ انجام می‌شود

1- Electrochemical Sensor
2- Potentiometric Sensor

[۲۹]. دسته دوم دستگاه‌های نامتقارن است. در این دسته از حسگرهای پتانسیومتری یک طرف غشای حساس به گونه مورد نظر، در تماس با یک فاز جامد و طرف دیگر آن در معرض محلول حاوی گونه مورد نظر قرار می‌گیرد. حسگرهای گازی حالت جامد در این دسته قرار می‌گیرند، چون آن‌ها همواره نامتقارن هستند [۳۰]. اندازه‌گیری‌های پتانسیومتری بر اساس معادله نرنست انجام می‌شود [۲۵]. یکی از مهم‌ترین کاربردهای حسگرهای پتانسیومتری، آنالیز مقدارهای کم است از جمله تشخیص یون‌های مس و سرب موجود در آب آشامیدنی، تشخیص یون‌های مس موجود در آب دریا و میزان یون‌های کادمیم جذب شده توسط ریشه گیاهان [۲۹].

۲-۲-۳-۲- حسگرهای ولتامتری و آمپرومتری^۱

در این حسگرها، جریان بین الکتروود کار و الکتروود مرجع اندازه‌گیری می‌شود. در یک حسگر ولتامتری، جریان به صورت تابعی از پتانسیل اعمال شده، اندازه‌گیری می‌شود. پتانسیل به صورت مرحله به مرحله و یا به صورت پیوسته تغییر می‌کند. در این حسگرها به منظور اندازه‌گیری جریان به صورت تابعی از پتانسیل که ولتاگرام نامیده می‌شود، سل الکتروشیمیایی شامل سه الکتروود (الکتروود کار، الکتروود کمکی، الکتروود مرجع) می‌باشد. با عبور جریان از سل، ثابت نگهداشتن پتانسیل سل سخت است. بنابراین استفاده از الکتروود سوم، اجازه به کار بردن صحیح پتانسیل را می‌دهد و جریان اندازه‌گیری می‌شود [۲۹].

قدیمی‌ترین مثال حسگر آمپرومتری، حسگر اکسیژن کلارک^۲ است که برای اندازه‌گیری اکسیژن در خون استفاده شده است. حسگر آمپرومتری سیگنال جریان تولید می‌کند که طبق قانون فارادی و قوانین انتقال جرم وابسته به غلظت آنالیت است. این نوع حسگر در اشکال مختلف و برای انواع گسترده‌ای از آنالیت‌ها مانند مونوکسید کربن، اکسیدهای نیتروژن، هیدروژن سولفید، اکسیژن، گلوکز، هیدرازین و غیره ساخته شده است [۳۱]. زمان پاسخ حسگرهای آمپرومتری کوتاه‌تر از حسگرهای پتانسیومتری

1- Voltammetric and Amperometric Sensor
2- Clark-Oxygen Sensor

است. هم چنین این حسگرها راحت تر از حسگرهای پتانسیومتری مینیاتوری می شوند [۲۵].

۲-۲-۳-۳- حسگرهای هدایت سنجی^۱

یک حسگر هدایت سنجی، براساس مواد نیمه رسانا یا رساناست که هدایت آن‌ها در واکنش با گونه‌های شیمیایی تغییر می‌کند. حسگرهای هدایت سنجی از دو جزء اصلی تشکیل شده اند: الکترودها و یک لایه حساس. زمانی که لایه حس کننده در تماس با یک آنالیت خاص قرار می‌گیرد، مقاومت بین دو الکتروود حس کننده تغییر می‌کند. زمانی که آنالیت‌های بیشتری به سمت الکتروود حس کننده می‌روند، تغییر مقاومت بیشتر می‌شود. یکی از مهم‌ترین فواید حسگرهای هدایت سنجی، هزینه کم ساخت آن‌هاست [۲۹].

۲-۲-۴- حسگرهای الکتریکی^۲

این حسگرها براساس اندازه‌گیری‌هایی هستند که در آن هیچ فرآیند الکتروشیمیایی‌ای اتفاق نمی‌افتد اما سیگنال در اثر تغییر خواص الکتریکی افزایش می‌یابد که ناشی از برهم‌کنش با آنالیت است و به چند دسته تقسیم می‌شوند که عبارتند از:

- حسگرهای اکسید فلزی نیمه رسانا^۳ که عمدتاً به عنوان آشکارسازهای فاز گازی استفاده می‌شوند و براساس فرآیندهای ردوکس برگشت پذیر اجزای گازی آنالیت است.
- حسگرهای نیمه رسانای آلی^۴ که براساس تشکیل کمپلکس‌های انتقال بار هستند،
- حسگرهای الکترولیتی دارای رسانایی^۵،
- حسگرهای گذردهی الکتریکی^۶ [۲۷].

1- Conductance Sensor
2- Electrical Sensor
3- Metal Oxide Semiconductor Sensor
4- Organic Semiconductor Sensor
5- Electrolytic Conductivity Sensor
6- Electric Permittivity Sensor

۵-۲-۲- حسگرهای مغناطیسی^۱

حسگرهای مغناطیسی براساس تغییر خواص پارامغناطیسی گازی است که آنالیز می شود [۲۷].

۶-۲-۲- حسگرهای نوری^۲

آخرین دسته از حسگرهای شیمیایی، حسگرهای نوری هستند و از آنجایی که هدف اصلی در این پروژه ساخت حسگرهای نوری می باشد، این دسته از حسگرها با تفصیل بیشتر در این فصل مورد بررسی قرار خواهند گرفت.

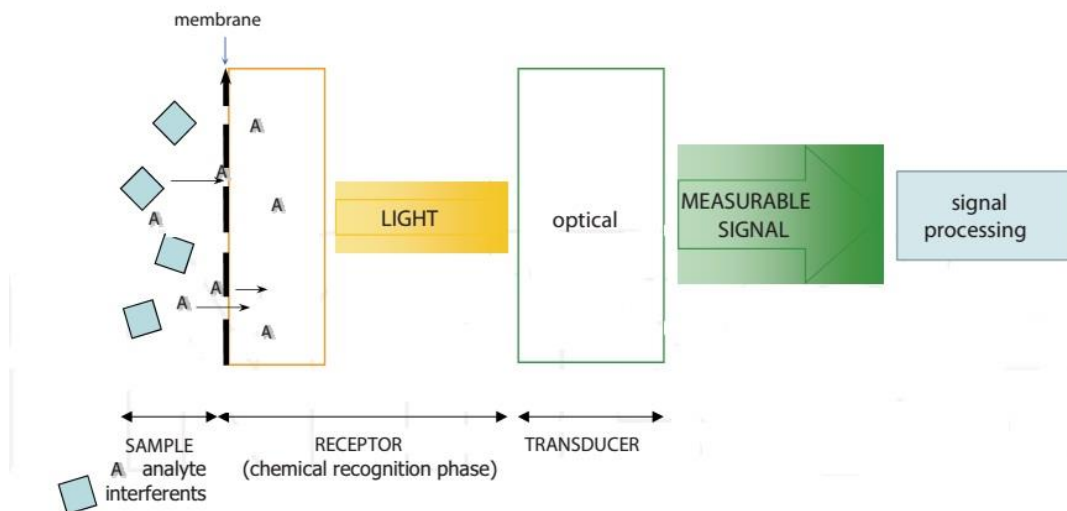
۳-۲- حسگرهای شیمیایی نوری

حسگرهای شیمیایی نوری، یک راه ارزان و آسان برای اندازه گیری غلظت کاتیون ها، آنیون ها و بعضی ترکیبات مولکولی ارائه می دهند. حسگر شیمیایی نوری یا اپتودها^۳، توجه زیادی در طی دو دهه اخیر کسب کرده اند [۳۲]. در این حسگرها از تابش الکترومغناطیس در عنصر مبدل برای ایجاد سیگنال تجزیه ای استفاده می شود. برهم کنش این تابش با نمونه، از تغییر در یک خصوصیت نوری ارزیابی شده و به غلظت آنالیت مرتبط می شود [۳۳].

یک حسگر نوری شامل اجزای زیر می باشد:

- عنصر تشخیص (پذیرنده) که در آن جا برهم کنش با آنالیت و شناسایی آن اتفاق می افتد.
- عنصر مبدل که سیگنال تولید شده توسط پذیرنده را به یک سیگنال نوری قابل اندازه گیری تبدیل می کند.
- دستگاه نوری که شامل حداقل یک منبع نوری باشد.
- آشکارساز که تغییرات خواص نوری را بعد از تقویت سیگنال اولیه آشکار کند [۳۴].

1- Magnetic Sensor
2- Optical Sensor
3- Optode



شکل (۱-۲): نمایش شماتیکی اجزاء و عملکرد یک حسگر شیمیایی نوری [۳۳].

حسگرهای نوری می‌توانند براساس خواص نوری مختلف مثل جذب، انعکاس، لومینسانس و فلوئورسانس عمل کنند و نواحی مختلف طیفی نظیر نواحی فرابنفش، مرئی، مادون قرمز را پوشش دهند [۳۵].

به دلیل کاربردهای ممکن حسگرهای نوری در بیولوژی، بیوتکنولوژی و غیره و نیز فواید گسترده آن، توسعه و ساخت حسگرهای نوری در شیمی تجزیه اهمیت زیادی پیدا کرده است [۳۶]. حسگرهای نوری در مقایسه با روش‌های الکتریکی فواید بسیاری دارند از جمله گزینش‌پذیری مناسب، نداشتن مزاحمت الکترومغناطیسی و امنیت داشتن در حین کار کردن با ترکیبات قابل اشتعال و مواد منفجره. هم‌چنین این حسگرها حساس، ارزان و غیر مخرب هستند [۳۷]. البته این حسگرها معایبی هم نشان می‌دهند. پایداری آن‌ها به علت شسته شدن شناساگر محدود است، ناحیه دینامیکی محدودی دارند، ممکن است گزینش‌پذیری آن‌ها کم باشد و نیز انتقال جرم آنالیت از نمونه به فاز شناساگر به منظور به دست آوردن سیگنال تجزیه‌ای لازم باشد. هم‌چنین نور محیط می‌تواند در عملکرد آن‌ها مزاحمت ایجاد کند [۳۳]. عموماً حسگرهای شیمیایی نوری می‌توانند به دو گروه حسگرهای مستقیم و حسگرها با

معرف‌های واسطه تقسیم‌بندی شوند.

۲-۳-۱- حسگر مستقیم^۱

در این حسگرها، آنالیت به طور مستقیم با بعضی خواص نوری ذاتی خود اندازه‌گیری می‌شود. براساس تکنیک‌های متداول طیف بینی بکار گرفته شده در حسگرهای مستقیم، این حسگرها می‌توانند به سه گروه تقسیم شوند که عبارتند از: حسگرها بر پایه جذب، حسگرها بر پایه اندازه‌گیری فلورسانس و حسگر بر پایه طیف سنجی رامان [۳۸].

در حسگرهایی که بر پایه جذب هستند، ناحیه طول موجی تابش، از ۲۰۰ نانومتر تا ۴ میکرومتر، می‌تواند برای اهداف حسگری به کار برده شود [۳۸]. بسیاری از حسگرهای مستقیم، برای مثال حسگر-های گازی، جذب گونه‌هایی مانند دی‌اکسیدکربن، مونوکسیدکربن، آمونیاک، متان، کلرین، نیتریک-اکسید و نیتروژن دی‌اکسید را در ناحیه IR اندازه‌گیری می‌گیرند. به این صورت که نمونه گازی درون یک سل محبوس شده و جذب در طول موج‌های خاصی از IR که مولکول در این طول موج‌ها دارای مدهای ارتعاشی خاصی است، اندازه‌گیری می‌شود [۳۸، ۳۹]. دو نوع روش برای حس کردن شیمیایی نوری وجود دارد که عبارتند از روش غیرپراکنده^۲ و روش پراکنده^۳. در روش اول، از یک خط منفرد لیزر برای به دست آوردن اطلاعات تجزیه‌ای استفاده می‌شود. این روش فقط زمانی کاربرد دارد که مولکول‌های آنالیت یک باند جذبی منحصربفرد در یکی از خطوط مناسب لیزر دارند. این در حالی است که در روش پراکنده، از کل طیف استفاده می‌گردد که غالباً به وسیله تکنیک تبدیل فوریه^۴ انجام می‌شود [۳۸]. در حسگرهای غیرپراکنده مادون قرمز (NDIR)، از یک باند فیلتر شده برای انتخاب طول موج جذبی یک آنالیت خاص استفاده می‌شود. این نوع حسگر برای اندازه‌گیری غلظت دی‌اکسیدکربن در آب دریا و اقیانوس‌ها به منظور نظارت بر اثر دی‌اکسیدکربن اتمسفری رو به افزایش بر روی چرخه جهانی کربن

1- Direct Sensors
2- Dispersive Methods
3- Nondispersive Methods
4- Fourier Transform Technique

استفاده می‌شود [۳۸، ۳۹]. طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR)، یک ابزار بسیار قدرتمند تجزیه‌ای است که می‌تواند برای به دست آوردن طیف نشری مادون قرمز از نمونه استفاده شود و قادر است داده‌های خام را به طیف تبدیل کند [۳۸]. هم‌چنین طیف‌سنج‌های FTIR امروزی، روشی دقیق برای تعیین مقدار آنالیت‌هایی با غلظت‌های کمتر از مقادیر ppb ارائه می‌دهند که در مقایسه با دستگاه‌های قدیمی کامل‌تر و فشرده‌تر می‌باشند. هم‌چنین توانایی FTIR برای اندازه‌گیری همزمان چند آنالیت، این تکنیک را از حسگرهای NDIR متمایز می‌سازد. در حالی که FTIR برای آنالیز چند جزئی گازها و سایر گونه‌های شیمیایی مناسب است، طیف بینی لیزری^۱، روشی است که به دلیل حساسیت و اختصاصی بودن آن، برای آنالیز مقادیر کم گازها انتخاب می‌شود [۳۹]. در دهه‌های گذشته، افزایش آلودگی‌های ساخت انسان در جو زمین باعث توجه زیادی به طراحی و ساخت سیستم‌هایی برای نظارت دقیق و صحیح بر مقادیر کم گازها شده است. دیود لیزرها^۲ برای نظارت بر مقادیر کم گازها در جو زمین به کار می‌روند [۳۸]. همانطور که بیان شد، از دیود لیزرها برای نظارت بر مقادیر کم گازها در جو زمین استفاده می‌شود ولی از طیف بینی جذبی فرابنفش می‌توان در کاربردهای محیطی و برای تشخیص و تعیین مقدار آلوده‌کننده‌هایی مثل فلزات سنگین، هیدروکربن‌ها و ترکیبات آلی گازی در هوا و آب استفاده کرد [۳۸، ۳۹].

حسگرهای مستقیمی که بر پایه فلئوئورسانس هستند، به طور گسترده در کاربردهای پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۳۹]. هم‌چنین، در سال‌های گذشته، طیف سنجی فلئوئورسانس برای اهداف نظارت بر محیط زیست به کار برده شده است [۴۰، ۴۱، ۴۲].

زمانی که تابش ورودی از یک منبع به نمونه برخورد می‌کند، برخی از پرتوها جذب شده و برخی هم پخش می‌شوند. اگر فرکانس پرتو پخش شده با فرکانس تابش ورودی یکسان نباشد، گفته می‌شود

1- Laser Spectroscopy
2- Diode Laser

پخش نور از نوع غیرالاستیک است. طیف بینی رامان^۱ نیز یک تکنیک نشری براساس پخش غیرالاستیک نور جذب شده می باشد [۳۸]. همانند طیفسنجی جذبی IR، طیفسنجی رامان، سطح انرژی ارتعاشی مولکولها را بررسی می کند و می تواند به عنوان یک تکنیک بسیار گزینش پذیر برای تمایز بین مولکولهای مشابه به کار برده شود. این تکنیک برای حس کردن آنالیت های گازی و مایع مفید است. برتری خاصی که این تکنیک نسبت به تکنیک جذبی IR برای حس کردن مایعات دارد، این است که در این روش مزاحمت ناشی از طیفهای ارتعاشی آب وجود ندارد. بنابراین تکنیک رامان در تشخیص های پزشکی و مطالعه سلول های زنده مفید می باشد [۳۹]. طیف بینی رامان بهبود یافته سطحی^۲ (SERS)، یک نوع تکنیک رامان است که سیگنال های رامان بهبود یافته از مولکول هایی ایجاد می کند که روی سطوح فلزی خاصی جذب شده اند [۴۳]. از این تکنیک در زمینه های مختلفی مانند پزشکی و آنالیزهای محیطی استفاده می شود [۳۸].

۲-۳-۲- حسگر با معرف های واسطه^۳

در این نوع حسگرها، از تغییر در خواص نوری یک عامل واسطه که معمولاً یک مولکول رنگی حساس به آنالیت است، برای پیگیری غلظت آنالیت استفاده می شود [۳۳]. در مواردی که آنالیت خاصیت نوری ذاتی و مناسب ندارد تا به صورت مستقیم اندازه گیری شود، فرایند حس کردن آنالیت با وارد کردن شناساگری مناسب به سیستم حسگر انجام می شود که خصوصیات طیفی آن، غلظت آنالیت را منعکس می کند [۳۸]. در واقع، در این تکنیک یک معرف واسطه (شناساگر) در یک فاز جامد تثبیت می شود تا برهم کنش با آنالیت را آسان نماید [۳۹]. معرف های تثبیت شده (لایه های حساس)، در چندین شکل ساخته می شوند، از جمله به صورت فیلم های نازک، ژل ها، قرار گرفتن در سطح فیبرهای نوری و نانو ذرات [۳۳].

1- Raman Spectroscopy
2- Surface Enhanced Raman Scattering
3- Reagent-Mediated Sensors

۴-۲- شناساگرهای^۱ مورد استفاده در حسگرهای نوری

هدف استفاده از این شناساگرها در حسگرهای نوری، تبدیل غلظت آنالیت شیمیایی به سیگنال نوری قابل اندازه‌گیری است. به عبارت دیگر، شناساگر به عنوان یک مبدل برای گونه‌های شیمیایی عمل می‌کند که امکان اندازه‌گیری این گونه‌ها به صورت مستقیم وجود ندارد [۴۴].

انواع مختلفی از شناساگرها در این نوع حسگرها به کار برده می‌شود که عبارتند از: شناساگرهای رنگ سنجی^۲ بر اساس جذب نور و شناساگرهای دارای لومینسانس^۳ بر اساس نشر نور [۳۳].

۴-۲-۱- شناساگرهای رنگ سنجی

یک حسگر رنگ سنجی، از شناساگری استفاده می‌نماید که رنگ آن در اثر پیوند دادن با آنالیت تغییر می‌کند. این تغییر به صورت اسپکتروسکوپی اندازه‌گیری شده و به صورت مرئی هم قابل مشاهده است [۳۳].

یک دسته از این شناساگرها، شناساگرهای pH هستند. این شناساگرها اکثراً اسیدهای ضعیف می‌باشند (گاهی اوقات هم بازهای ضعیف هستند) که رنگ یا فلورسانسی متفاوت در حالت تجمع یافته و تفکیک شده دارند. یک پارامتر مهم در تعیین خصوصیات یک شناساگر pH مقدار pK_a آن‌ها می‌باشد. مقدار pK_a این شناساگرها مرکز ناحیه pH قابل اندازه‌گیری را نشان می‌دهد. رنگ‌های آزو، نیترو فنول‌ها، فتالئین‌ها، سولفوفتالئین‌ها، آنیلین سولفوفتالئین‌ها و رنگ‌های تری فنیل متان، مثال‌هایی از این نوع شناساگرها هستند [۳۳، ۴۴].

شناساگرهای ردوکس^۴، مثال دیگری از معرف‌های رنگ سنجی هستند که این شناساگرها مواد

1- Indicators
2- Colorimetric indicators
3- Luminescent indicators
4- Redox Indicator

رنگی آلی می‌باشند و واکنش‌های ردوکس برگشت پذیر انجام می‌دهند، مانند آنیلینیک اسید، دی فنیل آمین، اریوگرین، متیلن بلو و غیره [۳۳].

با استفاده از شناساگرهای فلزی^۱، حس کردن یون‌ها امکان پذیر است که می‌توانند کمپلکس‌های رنگی با یون‌های فلزی تشکیل دهند. این شناساگرها که به آن‌ها یونوفر^۲ گفته می‌شود، لیگاندهایی هستند که به طور گزینش‌پذیر با یون‌ها پیوند می‌دهند. اخیراً مواردی هم گزارش شده است که از نانو ذرات برای حس کردن یون‌های فلزی استفاده شده است. به طور مثال نانوذرات طلا برای حس کردن یون‌های کادمیم (II)، آهن (II)، سرب (II) و یون‌های نیتریت و نیترات به کار برده شده است [۳۳].

۲-۴-۲- شناساگرهای دارای لومینسانس

در حسگرهایی که از این نوع شناساگرها استفاده می‌کنند، غلظت آنالیت به واسطه تغییر در خواص نوری یک لومینوفر^۳ اندازه‌گیری می‌شود. لومینسانس به عنوان یک تکنیک حس کننده حساس-تر از جذب می‌باشد بنابراین کاربردهای زیادی برای این حسگرها گزارش شده است. مواد فلوروسانس کننده و لومینسانس کننده متنوعی در شکل مولکول‌ها، کمپلکس‌ها و نانوذرات وجود دارد که در بین آن‌ها مواد فلوروسانس کننده آلی از همه مهم‌تر هستند که داری فوایدی از جمله در دسترس بودن، قیمت کم و تنوع زیاد می‌باشند. شناخته شده‌ترین آن‌ها، فلوروسین‌ها، رودامین‌ها و رنگ‌های سیانین هستند که به دفعات استفاده شده اند [۳۳].

1- Metal Indicator
2- Ionophore
3- Luminophore

۲-۵- پلیمرهای^۱ مورد استفاده در حسگرهای نوری

در حسگرهایی که بر اساس معرف واسطه هستند، پلیمرها نقش بسیار مهمی ایفا می‌کنند. در این حسگرها، پلیمرها باید از نظر نوری بی اثر باشند و عملکرد آن‌ها به صورت زیر است:

- یک تکیه گاه^۲ جامد ایجاد می‌کنند که شناساگرها می‌توانند روی آن‌ها تثبیت شوند.
- موادی هستند که دارای نفوذپذیری خاص و گزینش‌پذیری برای گونه‌های مورد نظر هستند ولی سایر گونه‌ها را رد می‌کنند [۴۴].

انتخاب پلیمر بر مبنای نفوذپذیری آن برای آنالیت، پایداری و در دسترس بودن آن، مناسب بودن آن برای تثبیت شناساگر، سازگاری آن با نمونه و سایر مواد استفاده شده در ساخت اپتود انجام می‌گیرد. پلیمر انتخاب شده، تأثیر زیادی روی خواص طیفی شناساگر تثبیت شده، مقدار pK_a آن، طول عمر لومینسانس و غیره دارد و در نتیجه انتخاب مواد پلیمری بر روی عملکرد حسگر و خصوصیات آن مثل گزینش‌پذیری، حساسیت، کالیبراسیون، زمان پاسخ و پایداری نوری حسگر تأثیر گذار است [۳۳].

انواع مختلفی از پلیمرها در ساخت حسگرهای نوری استفاده می‌شود که در ادامه به اختصار توضیح داده می‌شوند.

۲-۵-۱- پلیمرهای آب‌گریز^۳

پلیمرهای چربی دوست، پلیمرهایی هستند که آب داخل بافت آن‌ها نفوذ نمی‌کند و دارای دمای تبدیل شیشه‌ای^۴ بالا هستند. برای استفاده از این پلیمرها در ساخت حسگرهای نوری معمولاً از نرم‌کننده‌ها^۵ استفاده می‌شود تا بافت پلیمری آن‌ها نرم و قابل انعطاف شود [۴۵]. یکی از این پلیمرها سیلیکون می‌باشد که خواص مکانیکی و نوری خوبی دارد. کاربرد اصلی مواد سیلیکونی در حسگرها،

1- Polymers
2- Support
3- Hydrophobic Polymer
4- Glass Transition Temperature
5- Plasticizer

برای اکسیژن و سایر خاموش کننده‌های بدون بار مانند سولفور دی‌اکسید و کلرین است. پلی‌وینیل کلراید (PVC)، پلی‌متیل متاکریلات (PMMA)، پلی‌اتیلن، پلی (تترافلورواتیلن) (PTFE) و پلی استایرن (PS) گروه دیگری از مواد آب‌گریز را تشکیل می‌دهند [۳۳].

۲-۵-۲- پلیمرهای آبدوست^۱

این پلیمرها بافتی را فراهم می‌کنند که در ارتباط با یک محیط آبی است. آب می‌تواند در بافت این پلیمرها نفوذ کند و باعث متورم شدن آن‌ها شود. متورم شدن بافت پلیمری روی خواص نوری حسگر اثر می‌گذارد و به دنبال آن پاسخ حسگر را تغییر می‌دهد [۳۳]. پلیمرهای آبدوست به دو دسته تقسیم می‌شوند. دسته اول شامل پلیمرهایی هستند که دارای گروه‌های عاملی $-OH$ یا $-NH_2$ می‌باشند. دسته دوم پلیمرهایی با گروه‌های عاملی $-COO^-$ و یا $-SO_3^-$ در زنجیره پلیمری هستند [۴۵]. پلی ساکاریدها (سلولز)، پلی‌اکریلات، پلی‌اکریلامیدها، پلی‌ایمین‌ها و ژل‌های آبدوست^۲ نمونه‌هایی از پلیمرهای آبدوست هستند [۳۳]. مشتقات سلولز نیز نمونه‌ای دیگر از پلیمرها می‌باشند. سلولز به علت وجود پیوند هیدروژنی قوی بین زنجیرهای سلولز ذوب نمی‌شود و در حلال‌های متداول هم انحلال‌ناپذیر است. غشاهای سلولزی به وسیله تبدیل سلولز خالص به مشتقات قابل حل ساخته می‌شوند. سلولز استات^۳ مشتقی از سلولز است که به طور گسترده استفاده می‌شود و دارای خصوصیات با ارزشی می‌باشد. سلولز استات یک پلیمر گرمانرم^۴ و روان بوده و در محلول‌های آبی انحلال پذیر است. در تبدیل سلولز به پلیمرهای گرمانرم، تعدادی از گروه‌های هیدروکسیل سطح سلولز با گروه‌های عاملی استری (استات و نترات) جایگزین می‌شود. سلولزتری‌استات از واکنش کرک پنبه با اسیداستیک یا انیدریک‌استیک تولید می‌شود. سلولزتری‌استات را هیدرولیز کرده و آن را به سلولزاستات نوع دوم تبدیل می‌نمایند که در آن تعدادی از گروه‌های استات با گروه‌های هیدروکسیل جایگزین شده است. سلولز استات نوع دوم

1- Hydrophilic Polymer
2- Hydrogel
3- Cellulose Acetate
4- Thermoplastic

همان سلولز استات تجارتي است که در زمينه های مختلف از جمله تهیه فیلم های عکاسی مورد استفاده قرار می گیرد [۴۵].

۲-۵-۳- پلیمرهای آب گریز / آبدوست

شیشه^۱ به طور گسترده برای ساخت فیبرهای نوری استفاده می شود و سطح آن را می توان به وسیله یک عامل اصلاح کننده سطحی مناسب، آبدوست یا آبگریز کرد. مشتق سازی سطح با معرف هایی مانند آمینو- پروپیل - تری اتوکسی سیلان انجام می گیرد که با استفاده از آن ها گروه های آمین آزاد به سطح شیشه وارد شده و رنگ ها می توانند به صورت کووالانسی به شیشه اضافه شوند. شیشه در حین اندازه گیری متورم نمی شود اما به کاربردن شیشه به دلیل شکنندگی آن سخت است [۳۳].

سل - ژل ها^۲ یک جایگزین مناسب برای شیشه ها می باشند [۳۳]. فرایند سل - ژل، تهیه فیلم های شیشه ای شفاف، نازک و متخلخل را در دمای پایین ممکن می سازد. این فرایند شامل دو مرحله تشکیل سل و به دنبال آن تشکیل ژل می باشد. شناساگر یا واکنشگر مورد نظر برای ساخت غشاء، در اولین مرحله به عنوان یکی از اجزای ساختاری غشاء به مخلوط اضافه شده و فرایندهای تثبیت و تشکیل پلیمر به صورت همزمان انجام گرفته یعنی شناساگر در بین زنجیرهای تشکیل شده محبوس می شود. استفاده از این پلیمرها در ساخت فیلم های نازک حساس برای تولید حسگرهای نوری به دلیل فرایند ساخت آسان و خواص ساختاری خوب از قبیل تخلخل و پایداری مکانیکی بالا رو به افزایش است [۲۸].

۲-۵-۴- پلیمرهای یونی^۳

پلیمرهای یونی یا پلی الکترولیت ها^۴ که اغلب در کروماتوگرافی تبادل یون به کار گرفته می شوند، در ساخت حسگرهای نوری نیز استفاده شده اند. فرایند تثبیت در این پلیمرها از طریق تبادل یون پلیمر

1- Glass
2- Sol-gel
3- Ionic Polymers
4- Polyelectrolytes

با شناساگر انجام می‌شود. این دسته از پلیمرها به دو گروه پلیمرهای تبادلاگر کاتیونی و پلیمرهای تبادلاگر آنیونی تقسیم می‌شوند [۴۵].

۲-۶- روش‌های تثبیت^۱ شناساگر

پس از انتخاب شناساگر و بافت پلیمری مناسب، مرحله بعد در طراحی حسگر نوری تثبیت شناساگر درون یا روی بافت پلیمری است. روش تثبیت شناساگر روی یک بافت پلیمری مناسب، تأثیر مهمی روی خصوصیات حسگر دارد. بنابراین تثبیت شناساگر رنگی یک مرحله مهم در آماده سازی حسگر نوری است و می‌تواند به روش‌های فیزیکی (مکانیکی)، الکتروستاتیکی و کووالانسی (شیمیایی) انجام شود [۳۳، ۴۴].

ساده‌ترین روش تثبیت شناساگر روی بافت پلیمری، روش فیزیکی است که این نوع تثبیت به دو روش جذب سطحی و محبوس سازی در غشاء^۲ انجام می‌شود. در روش جذب سطحی واکنشگر بر روی بافت پلیمری جذب سطحی می‌شود و در روش محبوس سازی واکنشگر چربی دوست از ابتدای ساخت غشاء در مخلوط اولیه قرار گرفته و طی ساخت غشاء در داخل آن محبوس می‌گردد [۴۵]. این روش ساده است اما حسگر ساخته شده با این روش طول عمر نسبتاً کوتاهی به علت شسته شدن ملکول‌های شناساگر درون محلول نمونه دارد [۴۶].

در روش تثبیت کووالانسی یا شیمیایی که شناساگر به صورت کووالانسی به بافت پلیمری پیوند می‌شود، کارآمدترین روش برای تهیه حسگرهای شیمیایی نوری است [۴۶]. تثبیت کووالانسی باعث می‌شود حسگر پایداری خوب و طول عمر بیشتری داشته باشد. عیب این روش این است که اغلب پیوندهای کووالانسی حساسیت کمتری برای آنالیت ایجاد می‌کند و زمان پاسخ حسگر طولانی می‌شود [۳۳]. غشاهای سلولز استات شفاف یکی از بسترهای پلیمری هستند که به میزان زیاد در انجام تثبیت

1- Immobilization Techniques
2- Membrane Entrapment

شیمیایی برای ساخت حسگرهای نوری به کار رفته‌اند. ایجاد گروه‌های فعال هیدروکسیل در سطح پلیمر، پس از هیدرولیز، امکان تثبیت را فراهم می‌سازد [۲۸].

در تثبیت الکتروستاتیکی از پلیمرهای یونی استفاده می‌شود. اگر سطح پلیمر دارای گروه‌های عاملی باردار نظیر گروه‌های سولفو و گروه‌های آمونیوم چهارگانه باشد، قادر است با یون‌هایی با بار مخالف متصل شود. این روش به سادگی انجام می‌شود. به این طریق که سوسپانسیون پلیمر با محلول شناساگر مخلوط می‌شود یا اینکه صفحه پلیمری درون محلول شناساگر فروبرده می‌شود [۲۸، ۴۵].

۲-۷- تقسیم بندی حسگرها بر اساس نوع پلیمر و نوع تثبیت

حسگرهای نوری بر اساس نوع پلیمر و روش تثبیت به دو دسته تقسیم می‌شوند که عبارتند از : حسگرهای توده‌ای و حسگرهای سطحی. در حسگرهای توده‌ای، اجزای چربی دوست به طور فیزیکی در لایه احساس کننده آلی^۱ قرار داده می‌شوند. در حسگر سطحی، اجزای فعال روی سطح لایه احساس کننده یا به طور مستقیم روی عنصر نوری به روش الکتروستاتیکی یا کووالانسی تثبیت می‌شوند [۴۵].

فصل سوم

تجربی

مطابق آنچه که در فصل اول درباره اهمیت اندازه‌گیری گلوکاتینون ذکر گردید، در این مطالعه یک حسگر نوری جدید برای اندازه‌گیری گلوکاتینون طراحی و به کار گرفته شده‌است. این حسگر نوری بر پایه تثبیت کمپلکس پالادیوم با واکنشگر ۱-(۲-تiazolیل آزو)-۲-نفتول^۱ (Pd - TAN)، بر روی فیلم پلیمری سلولز استات می‌باشد. در این فصل نتایج تجربی حاصل از تهیه، بهینه‌سازی، مشخصه‌یابی و کاربردهای تجزیه‌ای حسگر ارائه خواهد شد.

۱-۳- مواد شیمیایی مورد استفاده

مواد شیمیایی مورد استفاده به همراه شرکت سازنده در جدول (۱-۳) آمده است. کلیه مواد استفاده شده در این پروژه (غیر از پالادیوم کلرید) دارای خلوص تجزیه‌ای بوده‌اند.

جدول (۱-۳): مواد شیمیایی مورد استفاده

نام ماده شیمیایی	فرمول	شرکت سازنده
اتانول	C ₂ H ₆ O	مرک ^۲
اتیلن دی آمین	C ₂ H ₈ N ₂	مرک
۱-(۲-تiazolیل آزو)-۲-نفتول	C ₃ H ₉ N ₃ SO	فلوکا ^۳
پالادیوم کلراید (۵۹٪ پالادیوم)	PdCl ₂	مرک
هیدروکلریک اسید	HCl	مرک
گلوکاتینون	C ₁₀ H ₁₇ N ₃ O ₆ S	مرک
سدیم دی هیدروژن فسفات	NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	مرک
سدیم هیدروژن فسفات	Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	مرک
سیتریک اسید	C ₆ H ₈ O ₇	مرک
سدیم هیدروکسید	NaOH	مرک
فیلم‌های عکاسی	--	فوجی ^۴
آب زاول تجاری	NaOCl	--

1- 1-(2-Thiazolylazo)-2-naphtol
 2- Merck
 3- Fluka
 4- Fuji

۲-۳- محلول‌های استفاده شده و طرز تهیه آن‌ها

برای تهیه همه محلول‌ها از آب دو بار تقطیر استفاده گردید.

- محلول مادر گلوکاتایون با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، روزانه از حل کردن ۰/۰۲۰۰ گرم گلوکاتایون در آب مقطر در یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری تهیه شد. محلول فوق بعد از تهیه درون یخچال و در تاریکی نگهداری شد. محلول‌های با غلظت کمتر، از رقیق سازی محلول فوق تهیه شدند.
- محلول مادر پالادیوم (II) با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، ابتدا با حل کردن ۰/۰۴۲۴ گرم پالادیوم کلرید در دو میلی‌لیتر محلول هیدروکلریک اسید یک مولار و سپس رقیق شدن به وسیله آب مقطر در یک بالن حجمی ۵۰/۰ میلی‌لیتری تهیه شد. محلول‌های با غلظت کمتر از رقیق سازی محلول فوق تهیه شدند.
- برای تهیه محلول اتانولی ۳/۰۰ میلی مولار از واکنشگر ۱- (۲-تیازولیل آزو)-۲-نفتول (TAN)، ۰/۰۱۹۱ گرم از این ماده در اتانول حل و در بالن حجمی ۲۵/۰ میلی‌لیتری به حجم رسانده شد.
- محلول مادر هیدروکلریک اسید با غلظت ۱/۰۰ مولار، از رقیق سازی ۸/۲۵ میلی‌لیتر محلول غلیظ هیدروکلریک اسید با غلظت ۱۲/۰۷ نرمال در بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری تهیه شد. سپس در مقابل سدیم کربنات به عنوان استاندارد اولیه، استاندارد شد. برای تهیه محلول‌هایی با غلظت کمتر از محلول فوق استفاده گردید.
- محلول‌های بافر فسفاتی در ناحیه $\text{pH} = ۴/۰۰ - ۸/۰۰$ ، از اختلاط حجم‌های مناسبی از محلول ۰/۰۶۶۰ مولار دی سدیم هیدروژن فسفات و محلول ۰/۰۶۶۰ مولار سدیم دی هیدروژن فسفات و تنظیم pH آن‌ها به کمک pH متر تهیه شدند.
- محلول بافر سیتراتی با $\text{pH} = ۶/۰۰$ ، از اختلاط حجم‌های مناسبی از محلول ۰/۱۰۰ مولار

سیتریک اسید و محلول ۱/۰۰ مولار سود و تنظیم pH آن به کمک pH متر تهیه شد.

۳-۳- دستگاه‌های مورد استفاده

ثبت طیف‌های جذبی نوری محلول‌ها و فیلم‌های پلیمری در ناحیه مرئی (طول موج ۴۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر)، با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر دو پرتویی شیمادزو^۱ مدل UV-160 و با کمک یک جفت سل شیشه‌ای انجام شد. اندازه‌گیری pH محلول‌ها با استفاده از یک دستگاه pH-متر دیجیتالی ساخت شرکت متراهم^۲ مدل ۷۸۰ با دقت ۰/۰۰۱ واحد pH مجهز به الکتروود ترکیبی شیشه‌ای - کالومل (۳/۰۰ مولار پتاسیم کلرید) صورت گرفت. عمل توزین برای ساخت محلول‌های مختلف توسط ترازوی سارتریوس^۳ مدل A200S با دقت ۰/۱ میلی‌گرم انجام شد. هم‌چنین برای هم زدن محلول گلوکاتینون از یک همزن مغناطیسی اسیستنت^۴ مدل TMA 2071 استفاده شد.

۳-۴- آماده سازی حسگر نوری

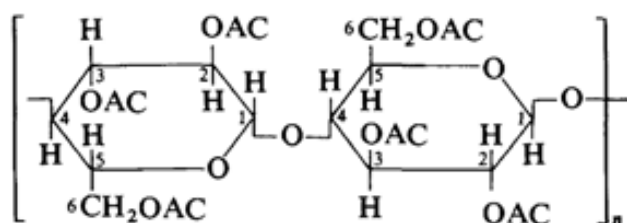
تهیه غشای حسگر نوری طبق مراحل زیر انجام شد. در مرحله اول، غشاهای پلیمری سلولزی که از فیلم‌های عکاسی به دست آمده بودند، به ابعاد ۴۳×۹ میلی متر برش داده شد و به مدت چند ثانیه در محلول تجاری هیپوکلریت سدیم قرار گرفتند تا لایه رنگی ژلاتینی روی سطح آن حذف گردد. سپس این غشاها با استفاده از ماده شوینده و آب مقطر کاملاً شسته شدند. غشاهای رنگ بری شده درون آب مقطر نگهداری شده تا در مرحله بعد مورد استفاده قرار گیرند. در مرحله بعد، فیلم‌های شسته شده در مدت زمان مورد نظر در محلول اتیلن دی آمین قرار گرفته و سپس هرکدام با آب مقطر شسته شد تا اتیلن دی آمین از سطح آن‌ها پاک گردد و تا زمان استفاده در مرحله بعد درون آب مقطر قرار گرفتند. در گام بعدی، ابتدا فیلم‌ها خشک شدند و سپس هرکدام در مدت زمان معینی درون محلول واکنشگر TAN با غلظت مشخص قرار گرفته و پس از تثبیت TAN بر روی آن‌ها، فیلم‌ها با

1- Shimadzu
2 - Metrohm
3- Sartorius
4- Assistent

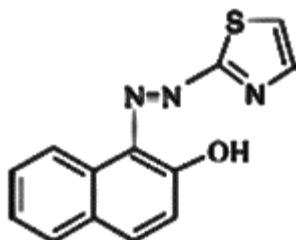
ماده شوینده و آب مقطر شسته شدند تا واکنشگر تثبیت نشده از سطح آن‌ها کاملاً حذف گردد و پس از آن فیلم‌های تهیه شده درون آب مقطر نگهداری شدند. در مرحله آخر، غشاهای آماده شده به صورت جداگانه درون محلولی با غلظت مشخص نسبت به یون‌های پالادیوم (II) و هیدروکلریک اسید، در مدت زمان مشخص قرار داده شده تا یون‌های پالادیوم (II) با واکنشگر تثبیت شده بر روی فیلم تشکیل کمپلکس دهند. سپس حسگرها با آب مقطر شسته شدند. حسگرهای آماده شده تا زمان استفاده شدن درون بافر فسفاتی با $\text{pH} = 4.00$ قرار گرفتند.

۳-۵- بررسی طیف جذبی حسگر

در این پروژه از واکنشگر ۱- (۲- تiazolیل آزو) - ۲- نفتول (TAN)، به عنوان شناساگر استفاده شده است که بایستی بر روی فیلم پلیمری تری استیل سلولز تثبیت گردد. ساختار شیمیایی غشای تری استیل سلولز و واکنشگر TAN به ترتیب در شکل‌های (۳-۱) و (۳-۲) نشان داده شده است.



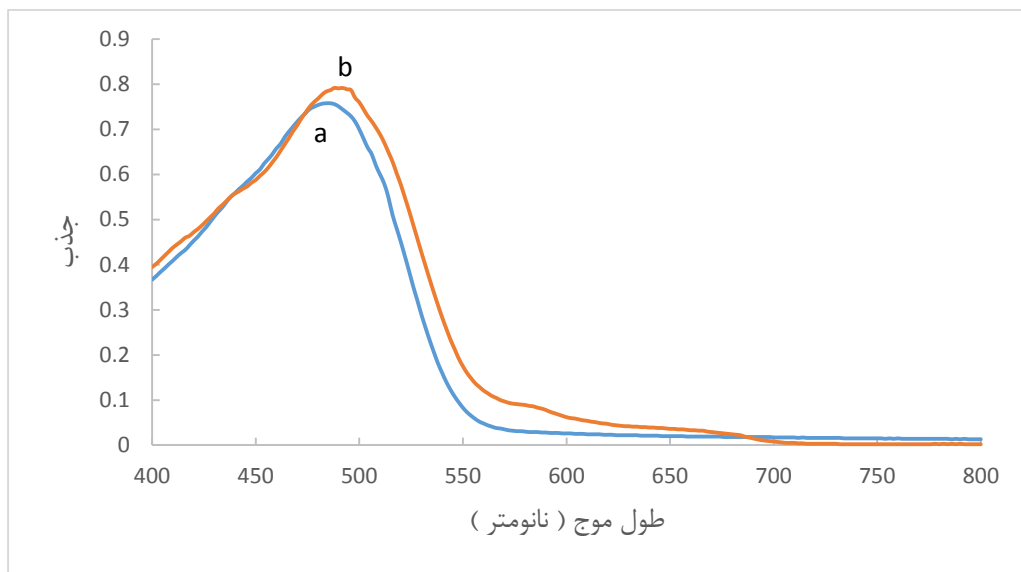
شکل (۳-۱): ساختار شیمیایی تری استیل سلولز [۴۷].



شکل (۳-۲): ساختار شیمیایی واکنشگر TAN [۴۸].

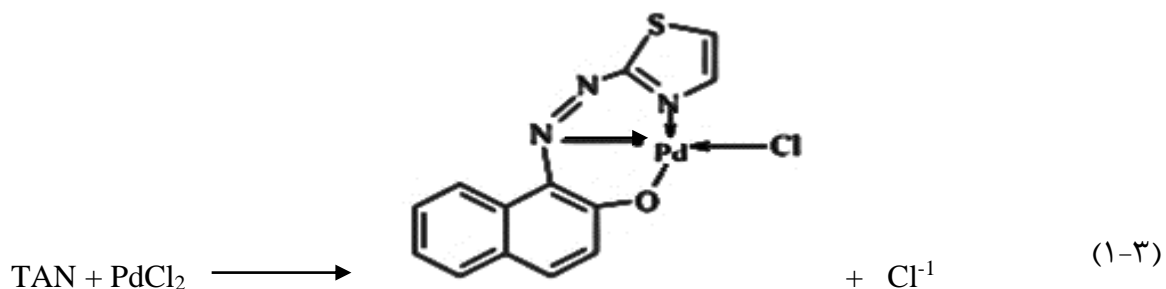
در ساخت حسگرهای نوری، غشای تری استیل سلولز پس از قرار گرفتن در معرض یک هیدرولیز بازی به سلولز تبدیل شده و سپس مورد استفاده قرار می‌گیرد. در واقع، به منظور افزایش تخلخل غشای تری استیل سلولز، فیلم هیدرولیز شده تا گروه‌های استیل، استرزدایی^۱ شود [۲۸، ۴۶]. مطالعات نشان می‌دهد واکنشگر TAN در حضور اتیلن دی آمین می‌تواند روی فیلم پلیمری تثبیت شود. با توجه به ساختار واکنشگر TAN که دارای عاملی مناسب برای پیوند با سلولز نمی‌باشد و همین‌طور با توجه به این حقیقت که فقط واکنشگرهای دارای گروه آمین می‌توانند به صورت شیمیایی به غشای تری استیل سلولز متصل شوند [۴۶]، می‌توان نتیجه گرفت احتمالاً تثبیت واکنشگر TAN بر روی فیلم سلولزی از طریق جذب سطحی صورت می‌گیرد.

طیف جذبی واکنشگر TAN در حالت محلول در شکل (۳-۳-a) نشان داده شده است. با توجه به شکل، ماکزیمم جذب مربوط به واکنشگر در حالت محلول در طول موج ۴۸۳ نانومتر مشاهده می‌شود. همچنین طیف جذبی واکنشگر تثبیت شده بر روی حسگر در معرض محلول شاهد در شکل (۳-۳-b) نشان داده شده است. به این منظور برای ساخت حسگر، بعد از قرار دادن فیلم پلیمری سلولزی درون محلول تجاری هیپوکلریت سدیم و سپس شستن آن با آب مقطر، به مدت ۴ دقیقه درون محلول اتیلن دی آمین قرار داده شده تا هیدرولیز گردد. سپس به مدت ۵ دقیقه درون محلول ۳/۰۰ میلی‌مولار TAN قرار داده شد. همانطور که در شکل (۳-۳) نشان داده شده است، ماکزیمم جذب واکنشگر تثبیت شده بر روی حسگر، در طول موج ۴۹۰ نانومتر مشاهده می‌شود. این جابجایی طول موج تأییدی بر تثبیت واکنشگر TAN بر روی فیلم سلولزی می‌باشد.

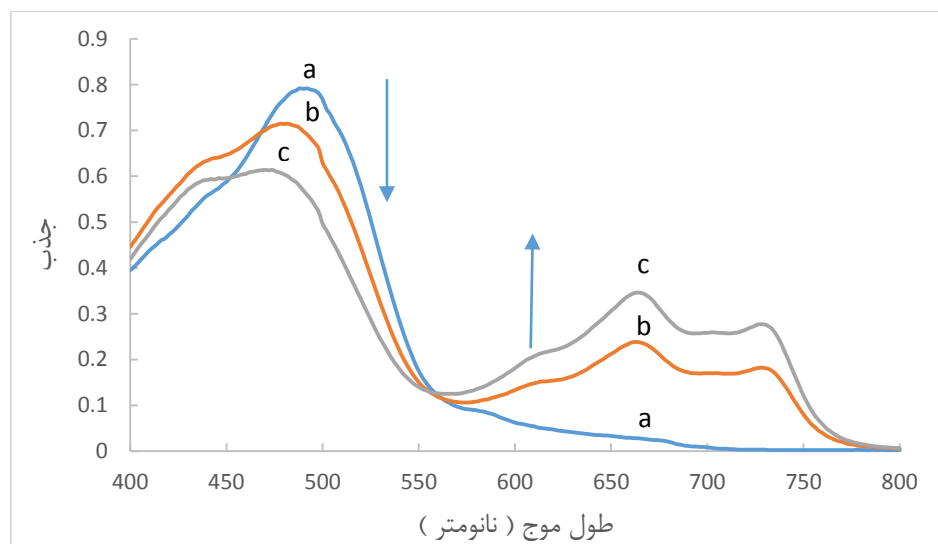


شکل (۳-۳): a- طیف جذبی واکنشگر TAN در حالت محلول در $\text{pH} = 6/00$ b- طیف جذبی واکنشگر تثبیت شده بر روی حسگر در معرض محلول شاهد. شرایط: ۴ دقیقه هیدرولیز در محلول اتیلن دی آمین و ۵ دقیقه قرار گرفتن درون محلول $3/00$ میلی مولار در $\text{pH} = 6/00$.

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که واکنشگر TAN یک واکنشگر بسیار حساس نسبت به پالادیوم می‌باشد [۴۵]. در حضور محلول پالادیوم (II)، واکنشگر TAN تثبیت شده بر روی حسگر با یون‌های پالادیوم (II)، کمپلکس Pd-TAN تشکیل می‌دهد. واکنش تشکیل کمپلکس احتمالی میان واکنشگر TAN و یون‌های پالادیوم (II) را می‌توان به صورت زیر نشان داد [۴۸]:



به منظور تعیین طول موج ماکزیمم کمپلکس تشکیل شده، حسگر در شرایط ۴ دقیقه هیدرولیز درون محلول اتیلن دی آمین و ۵ دقیقه قرار گرفتن درون محلول ۳/۰۰ میلی مولار TAN تهیه شد و غشاء تهیه شده درون سل اسپکتروفتومتر حاوی محلول شاهد قرار گرفته و جذب پایه آن در ناحیه طول موجی ۴۰۰-۸۰۰ نانومتر اندازه گیری شد. محلول شاهد با افزودن یک میلی لیتر بافر سیتراتی با $\text{pH} = 6.00$ به بالن حجمی ده میلی لیتری و سپس رقیق شدن تا خط نشانه، تهیه گردید. پس از اندازه گیری جذب پایه غشاء، سل نمونه با محلولی که نسبت به یون پالادیوم (II) ۲۵/۰ میلی گرم بر لیتر و نسبت به هیدروکلریک اسید ۰/۰۱۰۰ مولار بود، پر شده و همان حسگر داخل سل اسپکتروفتومتر قرار داده شد و طیف جذبی حسگر در زمان های مختلف ثبت گردید (شکل ۳-۴).



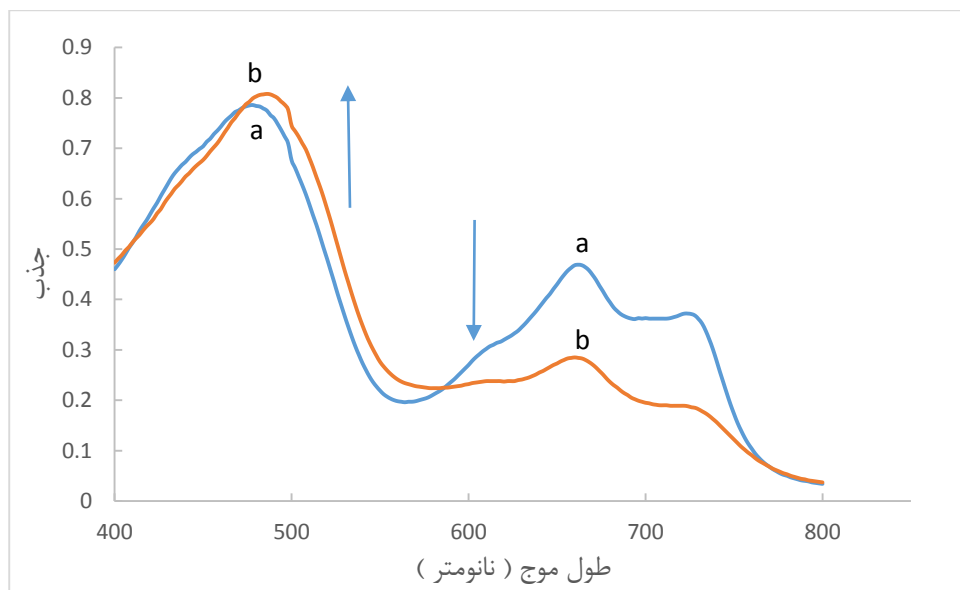
شکل (۳-۴) -a طیف جذبی واکنشگر TAN تثبیت شده بر روی غشاء درون محلول شاهد حاوی بافر با $\text{pH} = 6.00$. شرایط: زمان هیدرولیز ۴ دقیقه، ۵ دقیقه قرار گرفتن در محلول ۳/۰۰ میلی مولار TAN. b- طیف جذبی کمپلکس Pd-TAN تشکیل شده بر روی غشاء. شرایط: فیلم تهیه شده در قسمت a بعد از چهار دقیقه قرار گرفتن درون محلول ۲۵/۰ میلی گرم بر لیتر پالادیوم (II) و ۰/۰۱۰۰ مولار هیدروکلریک اسید c- بعد از ده دقیقه قرار گرفتن درون محلول ۲۵/۰ میلی گرم بر لیتر پالادیوم (II) و ۰/۰۱۰۰ مولار هیدروکلریک اسید.

همان طور که از شکل مشخص می باشد، در حضور محلول پالادیوم (II)، به علت تشکیل کمپلکس میان واکنشگر TAN تثبیت شده بر روی حسگر و یون های پالادیوم (II)، از طرفی نوارهای

جذبی در طول موج‌های ۶۶۰ و ۷۲۸ نانومتر ظاهر شده و با گذشت زمان میزان جذب آن‌ها افزایش می‌یابد و از طرف دیگر باند جذبی در طول موج ۴۹۰ نانومتر که مربوط به واکنشگر TAN تثبیت شده بر روی حسگر می‌باشد، کاهش می‌یابد.

۳-۶- تعیین طول موج تجزیه‌ای

به منظور بررسی تغییرات جذب حسگر در حضور محلول گلوکاتایون، غشای تهیه شده درون سل اسپکتروفتومتر حاوی محلول شاهد قرار گرفت و طیف جذبی آن در ناحیه طول موجی ۴۰۰-۸۰۰ نانومتر ثبت گردید (شکل ۳-۵ -a). سپس این غشاء به صورت عمودی درون ۱۰/۰ میلی‌لیتر محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتایون بافری شده با یک میلی‌لیتر بافر سیتراتی $\text{pH} = 6/00$ قرار داده شد و پس از ۱۲ دقیقه هم زدن محلول، حسگر با آب مقطر شسته شده و درون سل اسپکتروفتومتر حاوی محلول شاهد قرار گرفت و طیف جذبی آن ثبت گردید (شکل ۳-۵ -b).



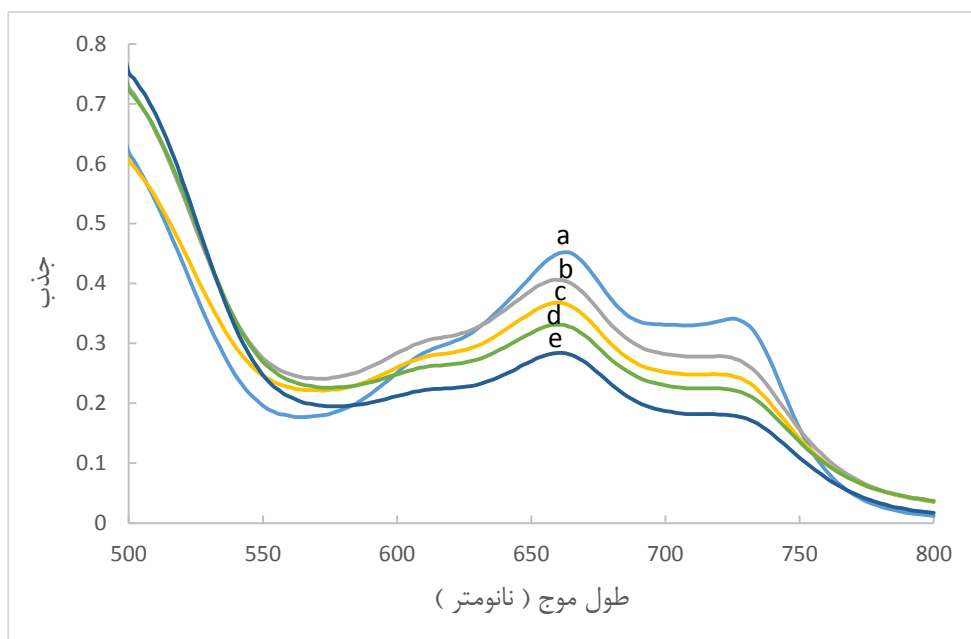
شکل (۳-۵): a - طیف جذبی حسگر ساخته شده در سل اسپکتروفتومتر حاوی محلول شاهد. شرایط: زمان هیدرولیز ۴ دقیقه، ۵ دقیقه قرار گرفتن در محلول ۳/۰۰ میلی‌مولار TAN، بعد از ۱۰ دقیقه قرار گرفتن درون محلول ۲۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر پالادیوم (II) و ۰/۰۱۰۰ مولار هیدروکلریک اسید b - طیف جذبی حسگر ساخته شده پس از قرار گرفتن درون محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتایون در $\text{pH} = 6/00$ بعد از زمان پاسخ ۱۲ دقیقه.

بررسی‌ها نشان می‌دهند هر دو گروه -SH و -NH₂ می‌توانند به Pd(II) کئوردینه شوند ولی از آنجایی که کمپلکس‌های پالادیوم (II)، دارای میل ترکیبی زیادتری برای اتصال به ترکیبات دارای گروه عاملی -SH هستند، می‌توان نتیجه گرفت که واکنش میان پالادیوم موجود در روی سطح حسگر و گلوکاتایون، از طریق گروه عاملی تیول موجود در ملکول گلوکاتایون ارجحیت دارد [۴۹، ۵۰].

پس از اندازه‌گیری سیگنال تجزیه‌ای محلول گلوکاتایون با استفاده از یک حسگر، جذب پالادیوم این محلول با استفاده از دستگاه جذب اتمی شعله‌ای اندازه‌گیری شد. از آنجایی که محلول دارای جذب نسبت به پالادیوم بود، می‌توان نتیجه گرفت احتمالاً گلوکاتایون با پالادیوم موجود در سطح حسگر تشکیل کمپلکس داده و آن را از واکنشگر TAN جدا کرده و وارد محلول می‌کند. همین‌طور این احتمال وجود دارد که گلوکاتایون با کلر موجود در کمپلکس Pd(TAN)Cl جایگزین شده و میان پالادیوم و گلوکاتایون در سطح حسگر کمپلکس تشکیل گردد. هم‌چنین گروه -NH₂ موجود در گلوکاتایون، می‌تواند با کمپلکس Pd-TAN روی حسگر وارد واکنش گردد [۴۹].

همان‌طور که در شکل (۳-۵) مشخص است، در حضور گلوکاتایون، به علت واکنش بین آن و پالادیوم موجود در سطح حسگر، پالادیوم از سطح حسگر جدا شده و وارد محلول می‌شود. از این‌رو باندهای جذبی در طول موج‌های ۶۶۰ و ۷۲۸ نانومتر مربوط به کمپلکس Pd-TAN تشکیل شده بر روی حسگر، کاهش می‌یابد. هم‌چنین باند جذبی در طول موج ۴۹۰ نانومتر افزایش می‌یابد.

هم‌چنین نتایج بررسی‌های انجام شده (شکل ۳-۶) نشان می‌دهند با افزایش غلظت گلوکاتایون، میزان تغییرات جذب (کاهش جذب) در طول موج‌های ۶۶۰ و ۷۲۸ نانومتر افزایش می‌یابد.



شکل (۳-۶): طیف جذبی حسگرهای ساخته شده در شرایط ۴ دقیقه هیدرولیز در اتیلن دی آمین، ۵ دقیقه زمان تثبیت در محلول ۳/۰۰ میلی مولار TAN، ۱۰ دقیقه قرار گرفتن در محلول ۲۵/۰ میلی گرم بر لیتر پالادیوم (II) با غلظت ۰/۰۱۰۰ مولار هیدروکلریک اسید و سپس قرار گرفتن - a درون محلول شاهد، b - محلول ۵/۰۰ میلی گرم بر لیتر گلوپتاتیون c - محلول ۱۰/۰ میلی گرم بر لیتر گلوپتاتیون d - محلول ۱۵/۰ میلی گرم بر لیتر گلوپتاتیون و e - محلول ۲۰/۰ میلی گرم بر لیتر گلوپتاتیون به مدت ۱۲ دقیقه.

نتایج تجربی (جدول (۳-۲))، نشان می دهند که تغییرات جذب و در نتیجه حساسیت در طول موج ۶۶۰ نانومتر بیشتر از طول موج ۷۲۸ نانومتر می باشد. بنابراین از تغییرات جذب در طول موج ۶۶۰ نانومتر به عنوان سیگنال تجزیه ای برای بهینه سازی و رسم منحنی کالیبراسیون در اندازه گیری گلوپتاتیون استفاده گردید.

جدول (۳-۲): بررسی حساسیت در طول موج های ۶۶۰ نانومتر و ۷۲۸ نانومتر بعد از ۱۲ دقیقه قرار گرفتن حسگرها درون محلول های مختلف گلوپتاتیون

سیگنال تجزیه ای در طول موج ۶۶۰ نانومتر	* سیگنال تجزیه ای در طول موج ۷۲۸ نانومتر	غلظت محلول گلوپتاتیون (میلی گرم بر لیتر)
۰/۰۵۱	۰/۰۴۰	۵/۰۰
۰/۰۸۲	۰/۰۵۶	۱۰/۰
۰/۱۰۰	۰/۰۶۶	۱۵/۰

*طریقه محاسبه سیگنال تجزیه ای در قسمت ۳-۷ آمده است.

۳-۷- روش کار

برای اندازه‌گیری سیگنال نمونه (سیگنال کل نمونه یا استاندارد)، ابتدا حسگر تهیه شده در داخل سل اسپکتروفوتومتر حاوی محلول شاهد قرار گرفته و جذب آن (جذب پایه) در طول موج ۶۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (A_0). در مرحله بعدی، میزان مناسبی از محلول مادر گلوکاتایون با غلظت معین و یک میلی‌لیتر بافر با pH مورد نظر به یک بالن حجمی ده میلی‌لیتری اضافه و به وسیله آب مقطر تا خط نشانه رقیق شد. سپس محلول تهیه شده به یک ویال مناسب منتقل و حسگر ساخته شده به طور عمودی درون محلول قرار گرفت و در مدت زمان معینی به کمک همزن مغناطیسی هم زده شد. سپس همان حسگر دوباره در سل اسپکتروفوتومتر حاوی محلول شاهد قرار داده شد و جذب حسگر در طول موج ۶۶۰ نانومتر ثبت گردید (A_s). پاسخ حسگر در حضور گلوکاتایون (سیگنال کل نمونه یا استاندارد) به صورت $\Delta A_s = A_0 - A_s$ محاسبه گردید. از آنجا که حسگرهای نوری ساخته شده، در محلول شاهد (در غیاب گلوکاتایون) نیز کاهش جذب در طول موج ۶۶۰ نانومتر نشان می‌دهند، در همه اندازه‌گیری‌ها تغییرات جذب حسگر در محلول شاهد نیز ثبت گردید و به عنوان سیگنال شاهد در نظر گرفته شد. محلول شاهد با افزودن یک میلی‌لیتر بافر به بالن حجمی ده میلی‌لیتری و رقیق کردن تا خط نشانه با آب مقطر، تهیه شد. برای اندازه‌گیری سیگنال شاهد نیز ابتدا جذب پایه حسگر در طول موج ۶۶۰ نانومتر (A_0) ثبت شد و پس از آن که حسگر در مدت زمان مورد نظر درون محلول شاهد در روی همزن مغناطیسی هم زده شد. سپس جذب آن در طول موج ۶۶۰ نانومتر ثبت گردید (A_b). پاسخ حسگر در محلول شاهد (سیگنال شاهد) به صورت $\Delta A_b = A_0 - A_b$ محاسبه گردید. در نهایت سیگنال تجزیه‌ای (ΔA) به صورت $\Delta A = \Delta A_s - \Delta A_b$ محاسبه و در تمام مراحل بهینه سازی و اندازه‌گیری از آن استفاده شد.

۳-۸- بررسی و بهینه سازی پارامترهای مؤثر بر حساسیت حسگر

به منظور فراهم نمودن بهترین حساسیت و در نتیجه بهترین حد تشخیص، متغیرهای مؤثر بر سیگنال تجزیه‌ای حسگر در طول موج ۶۶۰ نانومتر مورد بررسی و بهینه سازی قرار گرفتند. این پارامترها شامل دو دسته می‌باشند که عبارتند از پارامترهای مؤثر در ساخت حسگر (زمان هیدرولیز، غلظت محلول TAN، زمان تثبیت واکنشگر TAN، غلظت محلول پالادیوم (II)، غلظت HCl و مدت زمان قرار گرفتن حسگر درون محلول پالادیوم) و پارامترهای مؤثر در اندازه‌گیری نمونه (pH محلول گلوکاتایون، نوع بافر، حجم بافر، اثر هم زدن محلول، قدرت یونی و زمان پاسخ حسگر).

در بررسی اثر پارامترها از روش بهینه سازی تک متغیره^۱ استفاده گردید. در این روش، برای بهینه سازی یک متغیر، سایر متغیرها ثابت نگه داشته شده و متغیر مورد نظر تغییر می‌کند تا حداکثر پاسخ ایجاد شود. سایر متغیرها نیز به همین روش بهینه می‌شوند. بعد از انجام کلیه آزمایش‌ها، معمولاً مجموعه‌ای از نمودارها تهیه می‌شود که این نمودارها نحوه تأثیرپذیری متغیر پاسخ از تغییر ایجاد شده در یکی از عامل‌ها، زمانی که سایر عوامل ثابت نگاه داشته شده‌اند را نشان می‌دهد [۵۱].

۳-۸-۱ بررسی اثر غلظت HCl

طبق بررسی‌های انجام شده، با کاهش pH محلول پالادیوم (II)، پالادیوم بیشتری با واکنشگر تثبیت شده بر روی سطح حسگر تشکیل کمپلکس می‌دهد. بنابراین نیاز است که محلول پالادیوم (II) اسیدی گردد که این هدف با افزودن اسید به محلول انجام می‌گیرد. هم‌چنین مشخص شده است از میان اسیدهای مختلف بیشترین میزان تشکیل کمپلکس میان یون‌های پالادیوم (II) و واکنشگر تثبیت شده بر روی سطح حسگر با افزودن هیدروکلریک اسید به محلول پالادیوم، فراهم می‌شود [۴۵]. به منظور بررسی اثر غلظت HCl بر روی حساسیت حسگر، ابتدا حسگرهایی با شرایط ۵ دقیقه هیدرولیز در محلول اتیلن دی آمین و ۵ دقیقه تثبیت در محلول ۴/۰۰ میلی‌مولار واکنشگر TAN

1- One – at – a - time

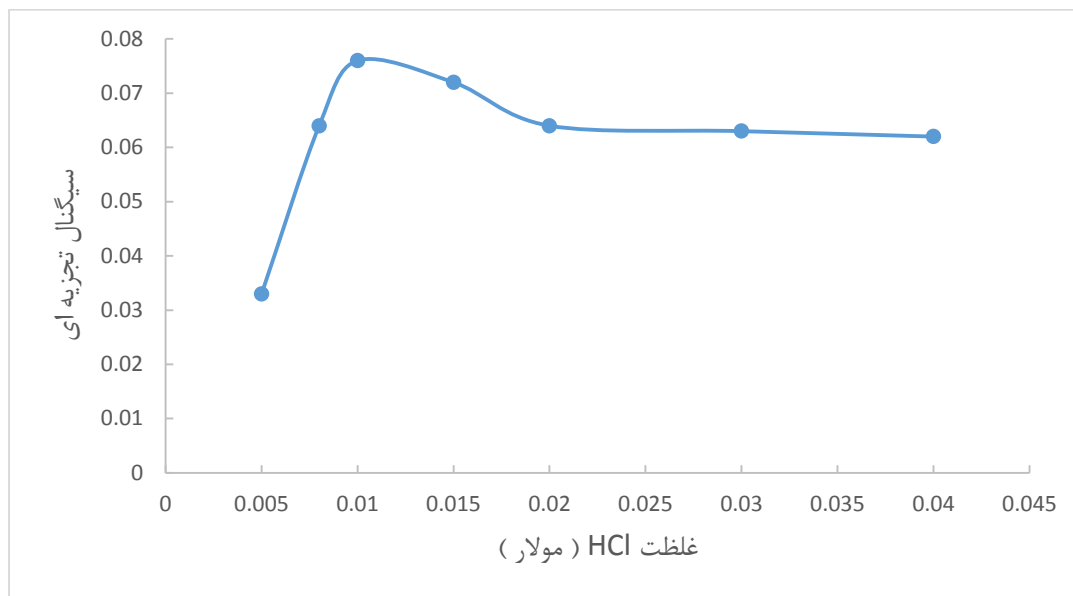
تهیه شد. سپس محلول‌های ۲۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر پالادیوم (II) با غلظت HCl در دامنه غلظتی ۰/۰۴۰۰ - ۰/۰۰۵۰ مولار تهیه و حسگرها به صورت جداگانه درون این محلول‌ها به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شده و در نهایت از این حسگرها برای ثبت سیگنال تجزیه‌ای درون محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتایون بافری شده در $pH = ۶/۰۰$ با استفاده از یک میلی‌لیتر بافر فسفاتی در زمان پاسخ ۱۲ دقیقه استفاده گردید. نتایج تجربی حاصل در جدول (۳-۳) و شکل (۷-۳) نشان داده شده است.

جدول (۳-۳): نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت HCl

سیگنال تجزیه‌ای	غلظت HCl (مولار)
۰/۰۳۳	۰/۰۰۵۰
۰/۰۶۴	۰/۰۰۸۰
۰/۰۷۶	۰/۰۱۰۰
۰/۰۷۲	۰/۰۱۵۰
۰/۰۶۴	۰/۰۲۰۰
۰/۰۶۳	۰/۰۳۰۰
۰/۰۶۲	۰/۰۴۰۰

همانطور که داده‌های تجربی به دست آمده نشان می‌دهند، بیشترین سیگنال تجزیه‌ای در غلظت ۰/۰۱۰۰ مولار هیدروکلریک اسید به دست آمد. در مقادیر غلظت کم‌تر از ۰/۰۱۰۰ مولار هیدروکلریک اسید، تمایل واکنشگر TAN برای تشکیل کمپلکس با یون‌های پالادیوم (II) کم است و در نتیجه میزان پالادیوم تثبیت شده، کم می‌باشد و لذا سیگنال تجزیه‌ای کاهش می‌یابد. در غلظت‌های بالاتر از ۰/۰۱۰۰ مولار، احتمالاً به دلیل تشکیل کمپلکس‌های پالادیوم با یون‌های کلرید در محلول و نیز پروتونه شدن واکنشگر TAN تثبیت شده بر روی حسگر، میزان پالادیوم تثبیت شده بر روی سطح حسگر کم شده و در نتیجه میزان سیگنال تجزیه‌ای و حساسیت حسگر کم می‌گردد.

بنابراین در اندازه‌گیری‌های بعدی، غلظت ۰/۰۱۰۰ مولار هیدروکلریک اسید برای تثبیت یون‌های پالادیوم در سطح حسگر انتخاب گردید.



شکل (۳-۷): بررسی اثر غلظت هیدروکلریک اسید بر روی حساسیت حسگر. شرایط: ۵ دقیقه هیدرولیز درون محلول اتیلن دی آمین، ۵ دقیقه تثبیت درون محلول شناساگر TAN با غلظت ۴/۰۰ میلی‌مولار، ۱۰ دقیقه قرار گرفتن درون محلول ۲۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر پالادیوم (II) با غلظت‌های متفاوت هیدروکلریک اسید و اندازه‌گیری در محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکوتاتیون بافری شده در pH = ۶/۰۰ با استفاده از یک میلی‌لیتر بافر فسفات‌ی پس از ۱۲ دقیقه.

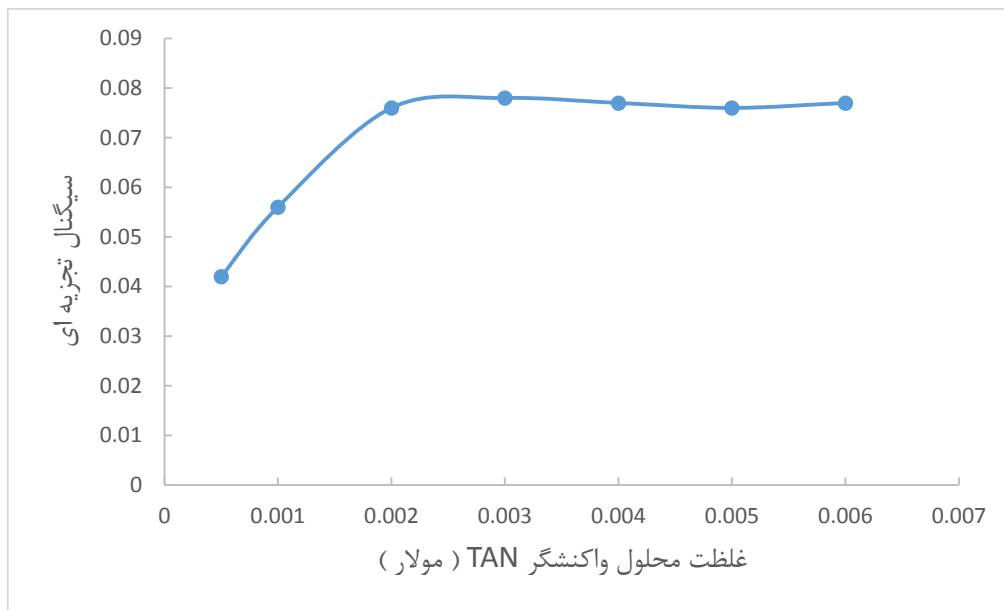
۳-۸-۲- بررسی اثر غلظت محلول واکنشگر TAN

به منظور بررسی اثر غلظت محلول واکنشگر TAN، ابتدا فیلم‌های رنگ بری شده به مدت ۵ دقیقه در محلول اتیلن دی آمین قرار گرفتند. پس از آن، فیلم‌ها در محلول واکنشگر TAN با غلظت‌های مورد نظر در دامنه غلظتی $۶/۰۰ \times ۱۰^{-۳} - ۵/۰۰ \times ۱۰^{-۴}$ مولار به مدت ۵ دقیقه قرار داده شدند. پس از شستشوی فیلم‌های تهیه شده، هر کدام به صورت جداگانه به مدت ده دقیقه درون ۴ میلی‌لیتر محلول ۲۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر پالادیوم (II) که نسبت به هیدروکلریک اسید ۰/۰۱۰۰ مولار بود، قرار داده شده و سپس با استفاده از حسگرهای تهیه شده، سیگنال‌های تجزیه‌ای برای محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکوتاتیون در pH = ۶/۰۰ و زمان پاسخ ۱۲ دقیقه ثبت گردید. نتایج تجربی

حاصل در جدول (۴-۳) و شکل (۸-۳) نشان داده شده است.

جدول (۴-۳): نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت واکنشگر TAN

سیگنال تجزیه‌ای	غلظت واکنشگر TAN (مولار)
۰/۰۴۲	$۵/۰۰ \times ۱۰^{-۴}$
۰/۰۵۶	$۱/۰۰ \times ۱۰^{-۳}$
۰/۰۷۶	$۲/۰۰ \times ۱۰^{-۳}$
۰/۰۷۸	$۳/۰۰ \times ۱۰^{-۳}$
۰/۰۷۷	$۴/۰۰ \times ۱۰^{-۳}$
۰/۰۷۶	$۵/۰۰ \times ۱۰^{-۳}$
۰/۰۷۷	$۶/۰۰ \times ۱۰^{-۳}$



شکل (۸-۳): بررسی اثر غلظت محلول واکنشگر TAN بر روی حساسیت حسگر. شرایط: ۵ دقیقه هیدرولیز در محلول اتیلن دی آمین، ۵ دقیقه تثبیت در محلول‌های واکنشگر در ناحیه غلظتی $۵/۰۰ \times ۱۰^{-۴}$ - $۶/۰۰ \times ۱۰^{-۳}$ مولار، ۱۰ دقیقه قرار گرفتن درون محلول ۲۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر پالادیوم (II) و غلظت ۰/۰۱۰۰ مولار HCl و اندازه‌گیری محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکوتایون بافری شده در $pH = ۶/۰۰$ با استفاده از یک میلی‌لیتر بافر فسفاتنی پس از ۱۲ دقیقه.

نتایج بدست آمده نشان می‌دهند که سیگنال تجزیه‌ای، از غلظت $2/00 \times 10^{-3}$ مولار واکنشگر تقریباً ثابت بوده است. به نظر می‌رسد با افزایش غلظت واکنشگر TAN تا غلظت $2/00 \times 10^{-3}$ ، واکنشگر کاملاً سطح فیلم پلیمری را می‌پوشاند و با افزایش بیشتر غلظت، تثبیت بیشتری صورت نمی‌گیرد. در نتیجه میزان کمپلکس Pd-TAN تشکیل شده و به دنبال آن میزان واکنش میان گلوکاتایون و پالادیوم موجود در سطح حسگر ثابت شده و در نتیجه سیگنال تجزیه‌ای حسگر ثابت می‌گردد. بنابراین از غلظت $3/00 \times 10^{-3}$ مولار واکنشگر به عنوان غلظت بهینه برای تهیه حسگر در اندازه‌گیری‌های بعدی استفاده شد.

۳-۸-۳- بررسی اثر زمان تثبیت واکنشگر TAN

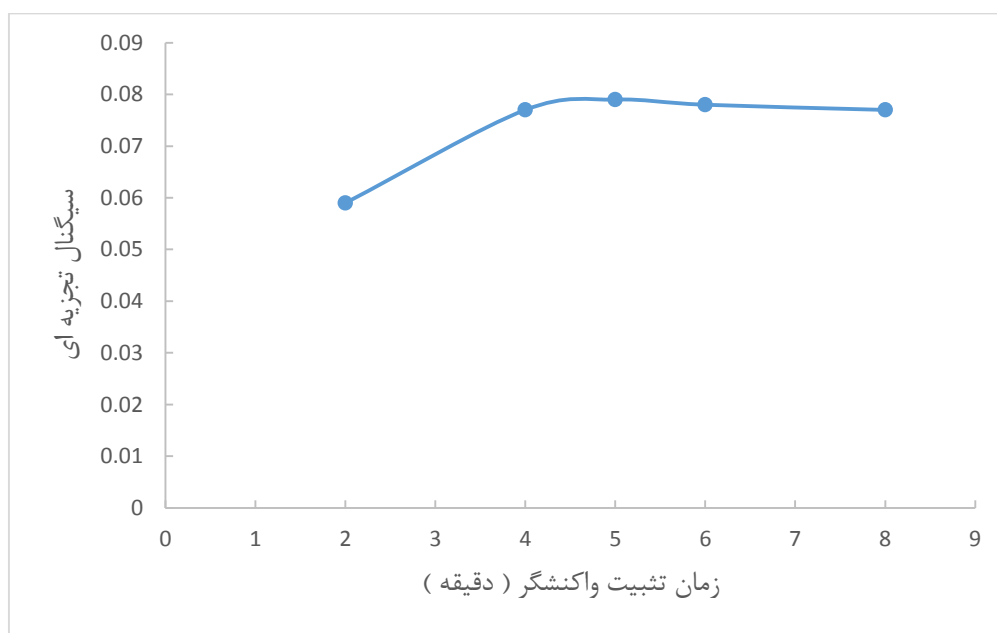
به منظور بررسی اثر زمان تثبیت واکنشگر TAN بر روی حساسیت حسگر، فیلم‌های رنگ بری شده به مدت ۵ دقیقه درون محلول اتیلن دی آمین قرار داده شده و پس از آن به صورت جداگانه درون محلول واکنشگر TAN با غلظت $3/00$ میلی مولار در زمان‌های ۸-۲ دقیقه قرار گرفتند. سپس غشاهای تهیه شده با زمان‌های تثبیت متفاوت به مدت ۱۰ دقیقه و به صورت جداگانه درون محلول $2/0$ میلی گرم بر لیتر پالادیوم (II) که نسبت به هیدروکلریک اسید $0/0100$ مولار قرار داده شد و سیگنال‌های تجزیه‌ای حسگرها با قرار گرفتن آن‌ها درون محلول $10/0$ میلی گرم بر لیتر گلوکاتایون بافری شده در $pH = 6/00$ با استفاده از یک میلی لیتر بافر فسفاتی در زمان پاسخ ۱۲ دقیقه ثبت گردید. نتایج حاصل از آن در جدول (۳-۵) و شکل (۳-۹) نشان داده شده است.

داده‌های تجربی نشان می‌دهند که با افزایش زمان تثبیت واکنشگر TAN از ۲ دقیقه به ۴ دقیقه، سیگنال تجزیه‌ای افزایش می‌یابد و بعد از آن بدون تغییر می‌ماند. برای اطمینان از کافی بودن زمان لازم برای تثبیت واکنشگر TAN، زمان تثبیت ۵ دقیقه انتخاب شد. این طور به نظر می‌رسد در زمان ۵ دقیقه بیشترین مقدار واکنشگر بر روی فیلم پلیمری تثبیت می‌گردد و بعد از این زمان جایگاه فعال جهت ایجاد پیوند TAN با پلیمر سلولز باقی نمی‌ماند. در نتیجه از این زمان به بعد کمپلکس

Pd-TAN بیشتری بر روی سطح حسگر تشکیل نمی‌شود و میزان واکنش میان گلوکاتایون و پالادیوم موجود بر روی سطح حسگر افزایش نیافته و در نتیجه سیگنال تجزیه‌ای حسگر ثابت می‌شود. بنابراین در اندازه‌گیری‌های بعدی، از زمان ۵ دقیقه برای تثبیت واکنشگر استفاده شد.

جدول (۳-۵): نتایج حاصل از بررسی اثر زمان تثبیت واکنشگر TAN

سیگنال تجزیه‌ای	زمان تثبیت (دقیقه)
۰/۰۵۹	۲
۰/۰۷۷	۴
۰/۰۷۹	۵
۰/۰۷۸	۶
۰/۰۷۷	۸



شکل (۳-۹): بررسی اثر زمان تثبیت واکنشگر بر روی حساسیت حسگر. شرایط: ۵ دقیقه هیدرولیز در محلول اتیلن دی آمین، تثبیت شناساگر TAN با غلظت ۳/۰۰ میلی‌مولار در بازه زمانی ۲-۸ دقیقه، ۱۰ دقیقه قرار گرفتن درون محلول ۲۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر پالادیوم (II) و غلظت ۰/۰۱۰۰ مولار HCl و اندازه‌گیری در محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتایون بافری شده در pH = ۶/۰۰ با استفاده از یک میلی‌لیتر بافر فسفاتی پس از ۱۲ دقیقه.

۳-۸-۴- بررسی اثر زمان هیدرولیز

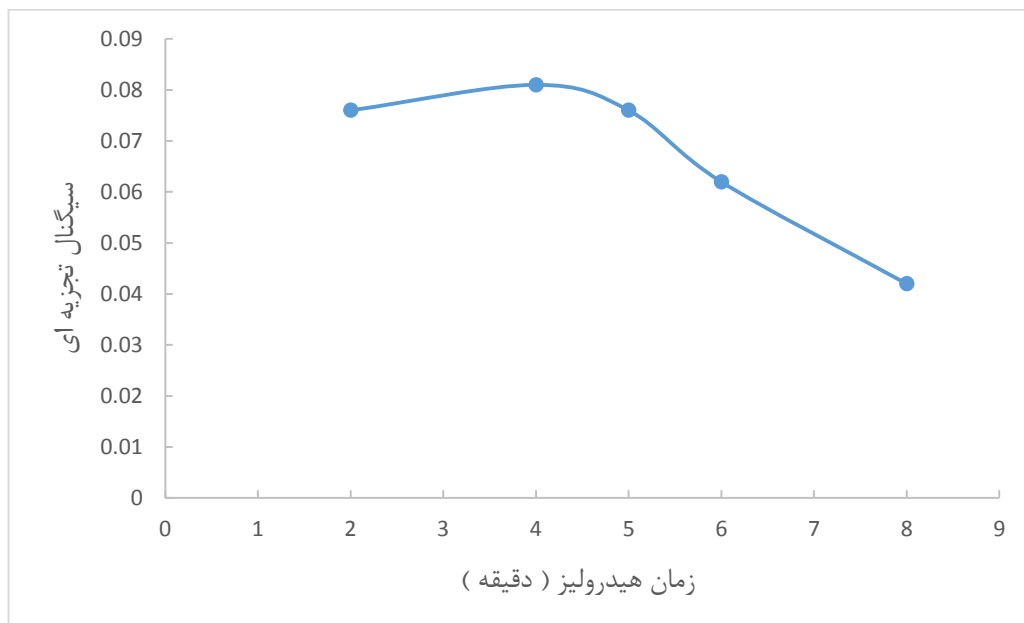
به منظور بررسی اثر زمان هیدرولیز، فیلم‌های رنگ بری شده به طور جداگانه در محلول اتیلن دی‌آمین در محدوده زمانی ۲-۸ دقیقه قرار گرفتند. سپس فیلم‌های هیدرولیز شده به مدت ۵ دقیقه درون محلول ۳/۰۰ میلی مولار TAN قرار داده شدند. غشاهای تهیه شده به صورت جداگانه درون محلول ۲۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر پالادیوم (II) با غلظت ۰/۰۱۰۰ مولار نسبت به هیدروکلریک اسید، به مدت ده دقیقه قرار داده شدند و سیگنال‌های تجزیه‌ای حسگرها با قرار گرفتن آن‌ها درون محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتینون بافری شده با استفاده از یک میلی‌لیتر بافر فسفاتی با $\text{pH} = ۶/۰۰$ در زمان پاسخ ۱۲ دقیقه ثبت گردید که نتایج حاصل از آن در جدول (۳-۶) و شکل (۳-۱۰) نشان داده شده است.

جدول (۳-۶): نتایج حاصل از بررسی اثر زمان هیدرولیز

سیگنال تجزیه‌ای	زمان هیدرولیز (دقیقه)
۰/۰۷۶	۲
۰/۰۸۱	۴
۰/۰۷۶	۵
۰/۰۶۲	۶
۰/۰۴۲	۸

همانطور که مشاهده می‌شود، در زمان هیدرولیز ۶ دقیقه و بالاتر، احتمالاً به دلیل گسستگی زنجیر سلولزی فیلم‌ها، توانایی فیلم پلیمری برای تثبیت شناساگر TAN کاهش می‌یابد. در نتیجه تثبیت شناساگر بر روی حسگر کاهش یافته و میزان کمپلکس تشکیل شده میان شناساگر و پالادیوم در سطح حسگر و به دنبال آن واکنش بین گلوکاتینون و پالادیوم کم می‌گردد. در نتیجه سیگنال تجزیه‌ای

از زمان ۶ دقیقه به بعد کاهش می‌یابد. بنابراین زمان ۴ دقیقه به عنوان زمان هیدرولیز بهینه انتخاب گردید.



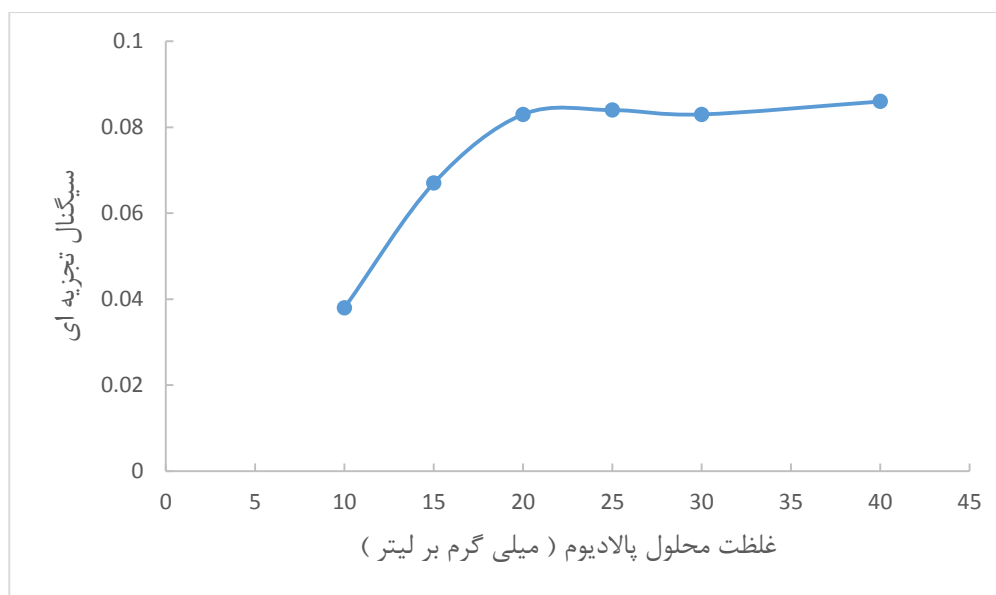
شکل (۳-۱۰): بررسی اثر زمان هیدرولیز بر روی حساسیت حسگر. شرایط: هیدرولیز درون محلول اتیلن دی آمین در بازه زمانی ۲-۸ دقیقه، ۵ دقیقه تثبیت درون محلول شناساگر TAN با غلظت ۳/۰۰ میلی‌مولار، ۱۰ دقیقه قرار گرفتن درون محلول ۲۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر پالادیوم (II) و غلظت ۰/۰۱۰۰ مولار HCl و اندازه‌گیری محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتینون بافری شده در $pH = 6/00$ با استفاده از یک میلی‌لیتر بافر فسفاتی پس از ۱۲ دقیقه.

۳-۸-۵- بررسی اثر غلظت محلول پالادیوم (II)

جهت بررسی غلظت محلول پالادیوم (II)، حسگرهایی با شرایط ۴ دقیقه هیدرولیز در محلول اتیلن دی آمین و ۵ دقیقه تثبیت در محلول واکنشگر TAN با غلظت $3/00 \times 10^{-3}$ مولار ساخته شد. سپس این حسگرها، در محلول‌های متفاوت پالادیوم (II) با غلظت‌های ۱۰/۰، ۱۵/۰، ۲۰/۰، ۲۵/۰، ۳۰/۰ و ۴۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر که همه آن‌ها دارای غلظت برابر با ۰/۰۱۰۰ مولار نسبت به هیدروکلریک اسید بودند، به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند و نهایتاً از آن‌ها برای اندازه‌گیری سیگنال تجزیه‌ای محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتینون در $pH = 6/00$ و در زمان پاسخ ۱۲ دقیقه استفاده گردید. نتایج تجربی حاصل در جدول (۳-۷) و شکل (۳-۱۱) نشان داده شده است.

جدول (۳-۷): نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت محلول پالادیوم (II)

سیگنال تجزیه‌ای	غلظت محلول پالادیوم (II) (میلی گرم بر لیتر)
۰/۰۳۸	۱۰/۰
۰/۰۶۷	۱۵/۰
۰/۰۸۳	۲۰/۰
۰/۰۸۴	۲۵/۰
۰/۰۸۳	۳۰/۰
۰/۰۸۶	۴۰/۰



شکل (۳-۱۱): بررسی اثر غلظت محلول پالادیوم (II) بر روی حساسیت حسگر. شرایط: ۴ دقیقه هیدرولیز در اتیلن دی آمین، ۵ دقیقه تثبیت در محلول واکنشگر TAN با غلظت $3/0 \times 10^{-3}$ مولار، ده دقیقه قرار گرفتن در محلول‌های متفاوت پالادیوم (II) با غلظت هیدروکلریک اسید $0/100$ مولار و اندازه‌گیری سیگنال تجزیه‌ای محلول $10/0$ میلی گرم بر لیتر گلوکاتینون در $pH = 6/00$ پس از ۱۲ دقیقه.

نتایج تجربی نشان می‌دهند با افزایش غلظت محلول پالادیوم (II) تا $20/0$ میلی گرم بر لیتر، سیگنال تجزیه‌ای افزایش یافته و پس از آن سیگنال تجزیه‌ای ثابت می‌گردد. با افزایش غلظت پالادیوم (II)، میزان کمپلکس Pd-TAN تشکیل شده بر روی حسگر افزایش یافته و به دنبال آن واکنش میان

گلوکاتسیون و پالادیوم زیاد می‌شود. اینطور به نظر می‌رسد که در غلظت‌های بالاتر از ۲۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر پالادیوم (II)، واکنش میان گلوکاتسیون و پالادیوم کامل شده و با افزایش غلظت پالادیوم، سیگنال تجزیه‌ای ثابت باقی می‌ماند. بنابراین غلظت ۲۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر پالادیوم (II) به عنوان غلظت بهینه انتخاب شد.

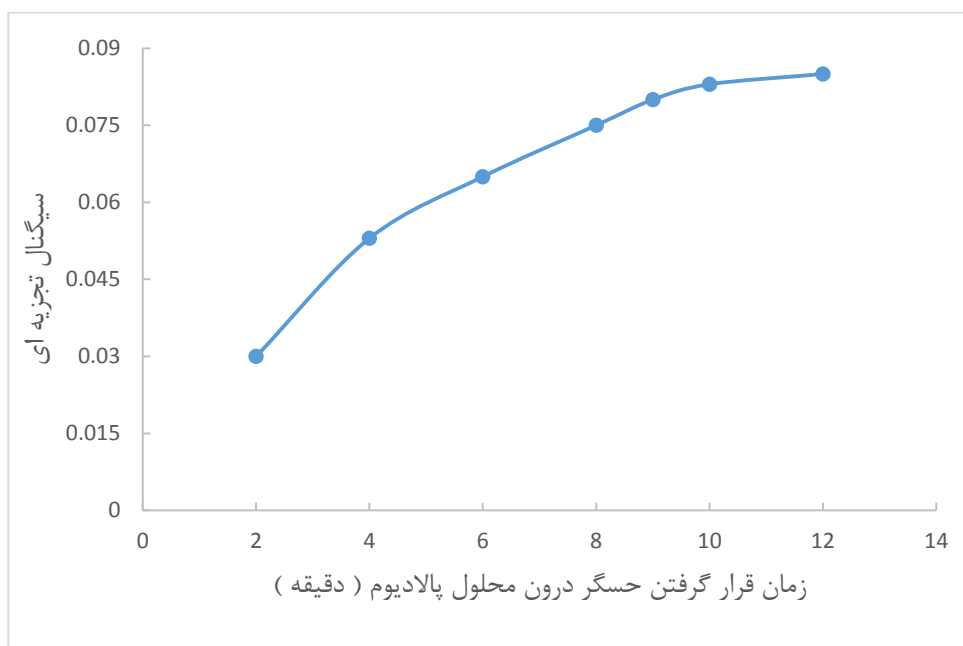
۳-۸-۶- بررسی اثر زمان قرار گرفتن حسگر درون محلول پالادیوم (II)

به منظور بررسی اثر زمان قرار گرفتن حسگر درون محلول پالادیوم (II)، پس از ساخت حسگرهایی با شرایط ۴ دقیقه هیدرولیز در محلول اتیلن دی آمین، ۵ دقیقه تثبیت شناساگر بر روی حسگر با غلظت ۳/۰۰ میلی‌مولار، حسگرها به طور جداگانه درون محلول ۲۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر پالادیوم (II) با غلظت ۰/۰۱۰۰ مولار نسبت به هیدروکلریک اسید، در بازه زمانی ۲-۱۲ دقیقه قرار داده شدند. سپس از آن‌ها برای اندازه‌گیری سیگنال تجزیه‌ای محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتسیون در $pH = 6/00$ استفاده گردید. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۸) و شکل (۳-۱۲) نشان داده شده است.

جدول (۳-۸): نتایج حاصل از بررسی اثر زمان قرار گرفتن حسگر درون محلول پالادیوم (II)

سیگنال تجزیه‌ای	زمان قرار گرفتن حسگر درون محلول پالادیوم (II) (دقیقه)
۰/۰۳۰	۲
۰/۰۵۳	۴
۰/۰۶۵	۶
۰/۰۷۵	۸
۰/۰۸۱	۹
۰/۰۸۳	۱۰
۰/۰۸۵	۱۲

همانطور که مشخص است، با افزایش زمان قرار گرفتن حسگر درون محلول پالادیوم تا زمان ۹ دقیقه سیگنال تجزیه‌ای افزایش می‌یابد و پس از آن سیگنال تجزیه‌ای تقریباً ثابت باقی می‌ماند. با افزایش زمان، میزان کمپلکس Pd-TAN تشکیل شده بر روی حسگر افزایش یافته و به دنبال آن واکنش میان گلوکاتینون و پالادیوم زیاد می‌شود. تا زمان ۹ دقیقه میزان کمپلکس تشکیل شده میان واکنشگر تثبیت شده بر روی حسگر و پالادیوم (II) افزایش می‌یابد و بعد از این زمان میزان کمپلکس تشکیل شده ثابت شده و به دنبال آن سیگنال تجزیه‌ای ثابت باقی می‌ماند. بنابراین زمان ۱۰ دقیقه به عنوان زمان بهینه انتخاب شد.



شکل (۳-۱۲): بررسی اثر زمان قرار گرفتن حسگر درون محلول پالادیوم (II) بر روی حساسیت حسگر. شرایط: ۴ دقیقه هیدرولیز در محلول اتیلن دی آمین، ۵ دقیقه تثبیت در محلول واکنشگر TAN با غلظت $3/00 \times 10^{-3}$ مولار، قرار گرفتن در محلول ۲۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر پالادیوم (II) با غلظت هیدروکلریک اسید ۰/۰۱۰۰ مولار در بازه زمانی ۱۲-۲ دقیقه و اندازه‌گیری سیگنال تجزیه‌ای محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتینون در $pH = 6/00$ پس از ۱۲ دقیقه.

۳-۸-۷- بررسی اثر pH محلول گلوکوتاتیون

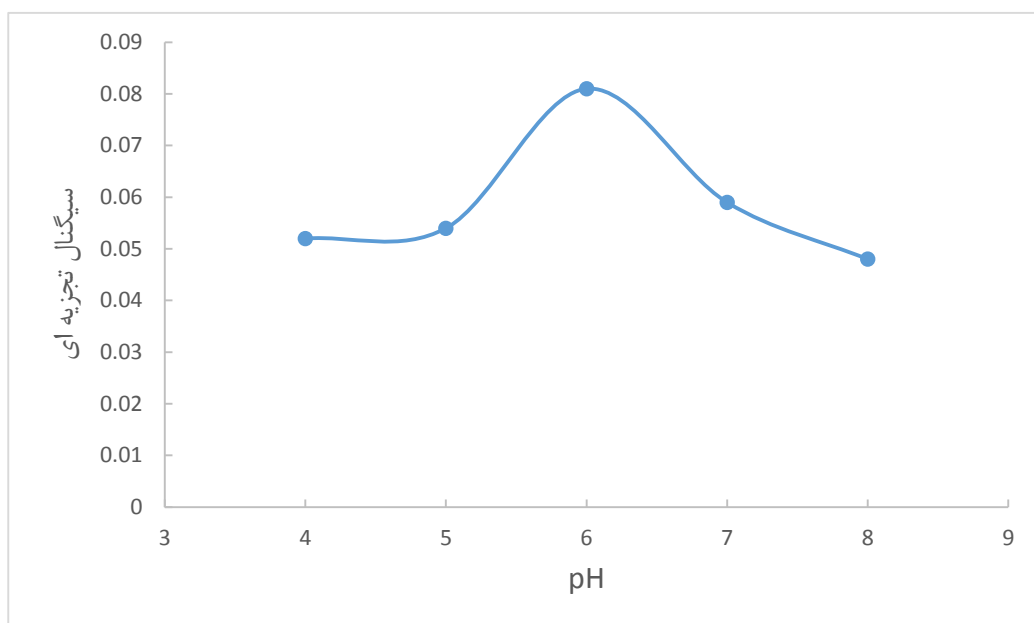
به منظور بررسی اثر pH محلول گلوکوتاتیون، ابتدا حسگرهایی با شرایط زمان هیدرولیز ۴ دقیقه، غلظت واکنشگر TAN برای عمل تثبیت $10^{-3} \times 3/00$ مولار و زمان تثبیت ۵ دقیقه ساخته شد. سپس محلولی از یون پالادیوم (II) با غلظت ۲۵/۰ میلی گرم بر لیتر تهیه شد که غلظت این محلول نسبت به هیدروکلریک اسید برابر با ۰/۰۱۰۰ مولار بود. پس از آن حسگرهای ساخته شده به صورت جداگانه به مدت ده دقیقه درون ۴ میلی لیتر از محلول فوق فرو برده شده و در نهایت از آنها برای اندازه‌گیری سیگنال تجزیه‌ای محلول ۱۰/۰ میلی گرم بر لیتر گلوکوتاتیون بافری شده در pHهای مختلف در ناحیه ۸/۰۰ - ۴/۰۰ به وسیله یک میلی لیتر بافر فسفاتی، پس از ۱۲ دقیقه استفاده گردید. نتایج حاصل از بررسی اثر pH در جدول (۳-۹) و شکل (۳-۱۳) آورده شده است.

جدول (۳-۹): نتایج حاصل از بررسی اثر pH محلول گلوکوتاتیون

سیگنال تجزیه‌ای	pH
۰/۰۵۲	۴/۰۰
۰/۰۵۴	۵/۰۰
۰/۰۸۱	۶/۰۰
۰/۰۵۹	۷/۰۰
۰/۰۴۸	۸/۰۰

نتایج تجربی نشان می‌دهند در $\text{pH} = 6/00$ بیشترین سیگنال تجزیه‌ای مشاهده می‌گردد و در مقادیر pH کمتر و بیشتر از آن، سیگنال تجزیه‌ای کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد در pHهای اسیدی گروه تیول موجود در ملکول گلوکوتاتیون پروتونه شده [۵۲] و در نتیجه میزان واکنش میان پالادیوم و گلوکوتاتیون و سیگنال تجزیه‌ای کاهش می‌یابد. در محیط‌های بازی گلوکوتاتیون به صورت خود به خودی اکسید شده و به گلوکوتاتیون دی سولفید (GSSG) تبدیل می‌شود [۵۳]. در نتیجه سیگنال تجزیه‌ای

کاهش می‌یابد. بنابراین از $\text{pH} = 6/00$ به عنوان pH بهینه در اندازه‌گیری‌های بعدی استفاده شد.



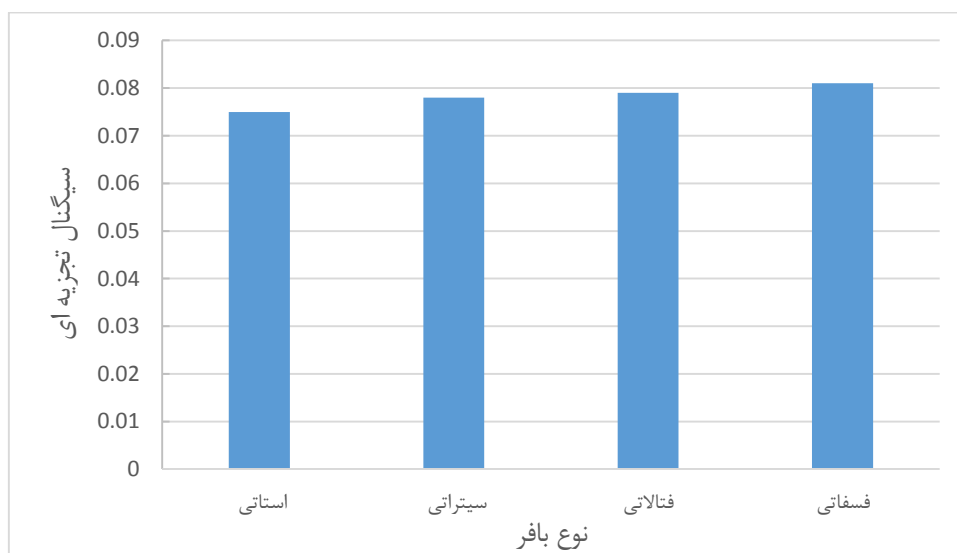
شکل (۳-۱۳): بررسی اثر pH محلول گلوکاتایون بر روی حساسیت حسگر. شرایط: ۴ دقیقه هیدرولیز در اتیلن دی آمین، ۵ دقیقه تثبیت در محلول واکنشگر TAN با غلظت $3/00 \times 10^{-3}$ مولار، ده دقیقه قرار گرفتن در محلول ۲۵/۰ میلی گرم بر میلی لیتر نسبت به یون‌های پالادیوم (II) و ۰/۰۱۰۰ مولار نسبت به هیدروکلریک اسید و اندازه‌گیری سیگنال تجزیه‌ای محلول ۱۰/۰ میلی گرم بر لیتر گلوکاتایون در pH های مختلف پس از ۱۲ دقیقه.

۳-۸-۸- بررسی اثر نوع بافر در اندازه‌گیری گلوکاتایون

برای بررسی اثر نوع بافر بر تغییرات جذب، حسگرهایی با شرایط ۴ دقیقه هیدرولیز در محلول اتیلن دی آمین، غلظت ۳/۰۰ میلی مولار محلول TAN، زمان تثبیت ۵ دقیقه و مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتن درون محلول ۲۵/۰ میلی گرم بر لیتر پالادیوم (II) با غلظت ۰/۰۱۰۰ مولار نسبت به هیدروکلریک اسید، ساخته شدند. سپس این حسگرها برای بررسی اثر بافرهای مختلف (فسفات، سیترات، استات، فتالات) با $\text{pH} = 6/00$ بر روی تغییرات جذب با افزودن یک میلی لیتر از این بافرها به بالن حجمی ده میلی لیتری، مطابق روش ذکر شده در بخش (۳-۷) مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۰) و شکل (۳-۱۴) آمده است.

جدول (۳-۱۰): نتایج حاصل از بررسی اثر نوع بافر

سیگنال تجزیه‌ای	نوع بافر
۰/۰۷۵	استاتی
۰/۰۷۸	سیتراتی
۰/۰۸۱	فسفاتی
۰/۰۷۹	فتالاتی



شکل (۳-۱۴): بررسی اثر نوع بافر بر روی حساسیت حسگر. شرایط: ۴ دقیقه هیدرولیز در محلول اتیلن دی آمین، ۵ دقیقه تثبیت در محلول ۳/۰۰ میلی مولار TAN، ۱۰ دقیقه قرار گرفتن در محلول ۲۵/۰ میلی گرم بر لیتر پالادیوم (II) و ۰/۰۱۰۰ مولار هیدروکلریک اسید و اندازه‌گیری محلول ۱۰/۰ میلی گرم بر لیتر گلوکاتایون در $\text{pH} = ۶/۰۰$ پس از ۱۲ دقیقه.

نتایج نشان می‌دهند که سیگنال تجزیه‌ای درون محلول‌های بافری شده با بافرهای فسفاتی، سیتراتی و فتالاتی تفاوت زیادی ندارند. ولی از آنجایی که بافر سیتراتی می‌تواند برای برخی از گونه‌های مزاحم از جمله کاتیون‌ها اثر پوشانندگی داشته باشد، برای ادامه اندازه‌گیری‌ها از بافر سیتراتی برای تنظیم pH محلول گلوکاتایون استفاده گردید.

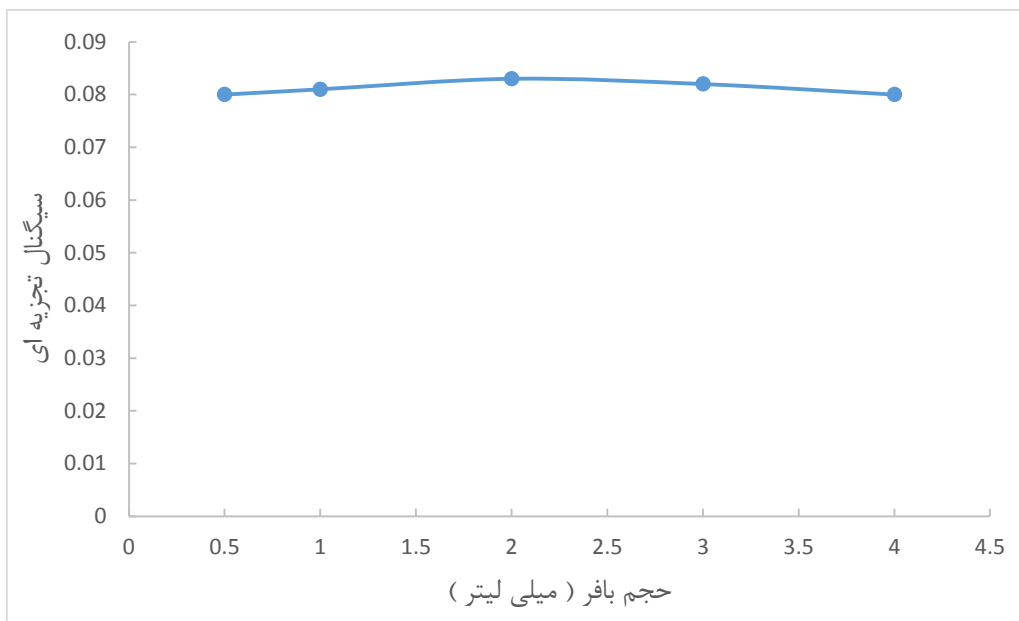
۳-۸-۹- بررسی اثر حجم بافر در اندازه‌گیری گلوکاتایون

پس از بررسی نوع بافر، اثر حجم بافر بر اندازه‌گیری گلوکاتایون مورد بررسی قرار گرفت. به این ترتیب که ابتدا حسگرهایی با شرایط بهینه ذکر شده در بخش‌های قبل ساخته شدند. سپس به ترتیب حجم‌های ۰/۵۰۰، ۱/۰۰، ۲/۰۰، ۳/۰۰ و ۴/۰۰ میلی‌لیتر از بافر سیتراتی با $\text{pH} = 6/00$ به بالن حجمی ۱۰/۰ میلی‌لیتری اضافه گردید و تغییرات جذب برای محلول گلوکاتایون با غلظت ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر در مدت زمان ۱۲ دقیقه ثبت شد و نتایج حاصل از آن در جدول (۳-۱۱) و شکل (۳-۱۵) نمایش داده شده است.

جدول (۳-۱۱): نتایج حاصل از بررسی اثر حجم بافر سیتراتی.

سیگنال تجزیه ای	حجم بافر (میلی لیتر)
۰/۰۸۰	۰/۵۰۰
۰/۰۸۱	۱/۰۰
۰/۰۸۳	۲/۰۰
۰/۰۸۲	۳/۰۰
۰/۰۸۰	۴/۰۰

همانطور که در جدول (۳-۱۱) نشان داده شده است، تغییرات جذب در حجم‌های متفاوت بافر تقریباً ثابت بوده است. در نتیجه از حجم یک میلی لیتر بافر برای تثبیت pH محیط استفاده گردید و هرگاه تثبیت pH نیاز به حجم‌های بیشتری از بافر داشته باشد، می‌توان از حجم‌های بیشتر استفاده کرد.



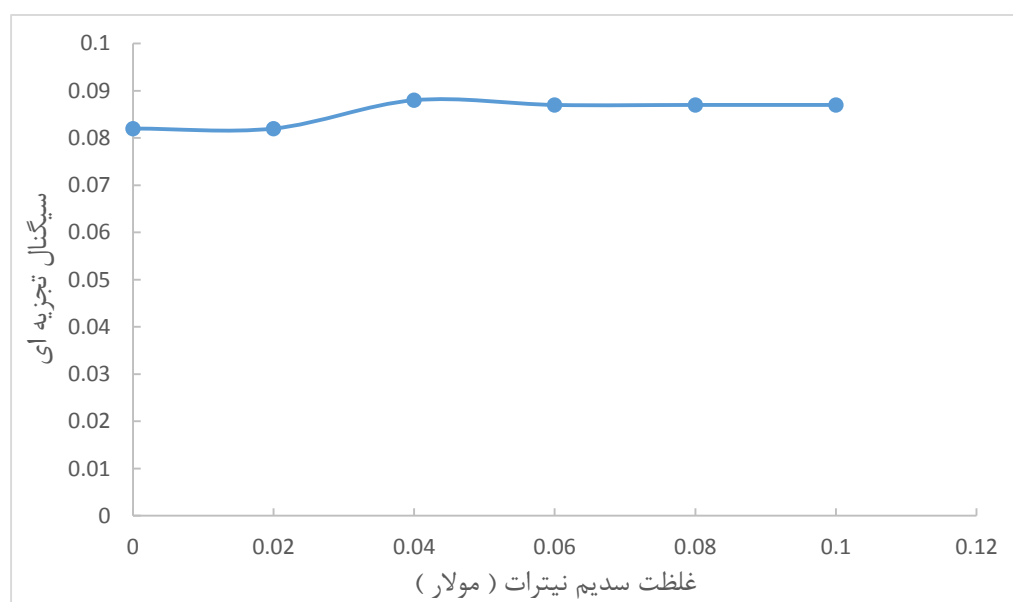
شکل (۳-۱۵): بررسی اثر حجم بافر سیتراتی بر روی حساسیت حسگر. شرایط: ۴ دقیقه هیدرولیز در محلول اتیلن دی آمین، ۵ دقیقه تثبیت در محلول واکنشگر TAN با غلظت $3/00 \times 10^{-3}$ مولار، ده دقیقه قرار گرفتن در محلول ۲۵/۰ میلی گرم بر میلی لیتر نسبت به یون‌های پالادیوم (II) و $0/100$ مولار نسبت به هیدروکلریک اسید و اندازه‌گیری سیگنال تجزیه‌ای محلول ۱۰/۰ میلی گرم بر لیتر گلوکوتایون در $pH = 6/00$ پس از ۱۲ دقیقه.

۳-۸-۱۰- بررسی اثر قدرت یونی

پارامتر دیگری که می‌تواند بر تغییرات جذب اثر بگذارد، اثر قدرت یونی می‌باشد. به منظور بررسی قدرت یونی از محلول سدیم نیترات استفاده گردید. در یک بالن حجمی ده میلی لیتری ۲/۰۰ میلی لیتر محلول ۵۰/۰ میلی گرم بر لیتر گلوکوتایون، یک میلی لیتر بافر سیتراتی با $pH = 6/00$ و حجم‌های متفاوتی از محلول سدیم نیترات ۲/۰۰ مولار اضافه و در نهایت با استفاده از آب مقطر تا خط نشانه رقیق شد. سپس از حسگرهای ساخته شده در شرایط بهینه برای اندازه‌گیری تغییرات جذب استفاده گردید و سیگنال‌های تجزیه‌ای با قرار گرفتن حسگرها در محلول‌های تهیه شده پس از ۱۲ دقیقه ثبت شد و نتایج تجربی آن در جدول (۳-۱۲) و شکل (۳-۱۶) نشان داده شده است. مشاهده می‌شود سیگنال‌های تجزیه‌ای در حضور سدیم نیترات تغییرات چشمگیری ندارد. بنابراین متفاوت بودن قدرت یونی در بافت نمونه‌های حقیقی مشکلی در اندازه‌گیری ایجاد نمی‌کند.

جدول (۳-۱۲): نتایج حاصل از بررسی اثر قدرت یونی

سیگنال تجزیه‌ای	غلظت سدیم نیترات (مولار)
۰/۰۸۲	۰/۰۰۰
۰/۰۸۲	۰/۰۲۰
۰/۰۸۸	۰/۰۴۰
۰/۰۸۷	۰/۰۶۰
۰/۰۸۷	۰/۰۸۰
۰/۰۸۷	۰/۱۰۰



شکل (۳-۱۶): بررسی اثر قدرت یونی بر روی حساسیت حسگر. شرایط: زمان هیدرولیز ۴ دقیقه، غلظت ۳/۰۰ میلی‌مولار محلول TAN، زمان تثبیت ۵ دقیقه و ۱۰ دقیقه قرار گرفتن درون محلول ۲۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر پالادیوم (II) و ۰/۰۱۰۰ مولار هیدروکلریک اسید و اندازه‌گیری محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتینون در غیاب سدیم نیترات و در حضور سدیم نیترات در محدوده غلظت ۰/۰۰۰ - ۰/۱۰۰ مولار در $pH = 6.00$ پس از دوازده دقیقه.

۳-۸-۱۱- بررسی اثر هم زدن محلول گلوکوتاتیون

به منظور بررسی اثر هم زدن محلول گلوکوتاتیون بر روی حساسیت حسگر، ابتدا حسگرهایی در شرایط ۴ دقیقه هیدرولیز در محلول اتیلن دی آمین، ۵ دقیقه تثبیت درون محلول ۳/۰۰ میلی مولار واکنشگر TAN، ۱۰ دقیقه قرار گرفتن درون محلول ۲۵/۰ میلی گرم بر لیتر پالایوم (II) و ۰/۰۱۰۰ مولار هیدروکلریک اسید ساخته شد. برای اندازه گیری سیگنال کل نمونه بدون هم زدن محلول گلوکوتاتیون، ابتدا حسگر تهیه شده درون سل اسپکتروفتومتر حاوی محلول شاهد قرار گرفته و جذب پایه آن در طول موج ۶۶۰ نانومتر اندازه گیری شد (A_0). سپس سل نمونه با محلول گلوکوتاتیون با غلظت مورد نظر در $pH = ۶/۰۰$ پر شده و همان حسگر دوباره درون سل اسپکتروفتومتر قرار گرفت. پس از گذشت ۱۲ دقیقه جذب حسگر در طول موج ۶۶۰ نانومتر اندازه گیری شد (A_s). برای بدست آوردن سیگنال کل نمونه، جذب حسگر در حضور محلول گلوکوتاتیون پس از ۱۲ دقیقه (A_s) از جذب پایه حسگر (A_0) کسر گردید ($\Delta A_s = A_0 - A_s$). این مراحل برای شاهد نیز تکرار و سیگنال حسگر درون محلول شاهد ثبت گردید (ΔA_b). در انتها سیگنال تجزیه ای حسگر درون محلول گلوکوتاتیون بدون هم زدن، از رابطه $\Delta A = \Delta A_s - \Delta A_b$ محاسبه گردید. برای محاسبه سیگنال تجزیه ای حسگر درون محلول گلوکوتاتیون با هم زدن، مطابق روش ذکر شده در بخش (۳-۷) عمل شد. نتایج تجربی حاصل از بررسی اثر هم زدن محلول گلوکوتاتیون بر روی حساسیت حسگر در جدول (۳-۱۳) نشان داده شده است.

جدول (۳-۱۳): نتایج حاصل از بررسی اثر هم زدن محلول گلوکوتاتیون بر روی حساسیت حسگر

غلظت گلوکوتاتیون (میلی گرم بر لیتر)	سیگنال تجزیه ای بدون هم زدن محلول	سیگنال تجزیه ای با هم زدن محلول
۳/۰۰	۰/۰۱۳	۰/۰۳۶
۵/۰۰	۰/۰۳۳	۰/۰۵۴
۱۰/۰	۰/۰۴۴	۰/۰۸۱

همانطور که در جدول (۳-۱۳) مشاهده می‌گردد، زمانی که محلول گلوکاتایون هم زده می‌شود، حساسیت حسگر افزایش می‌یابد. بنابراین می‌بایست محلول گلوکاتایون هم زده شود.

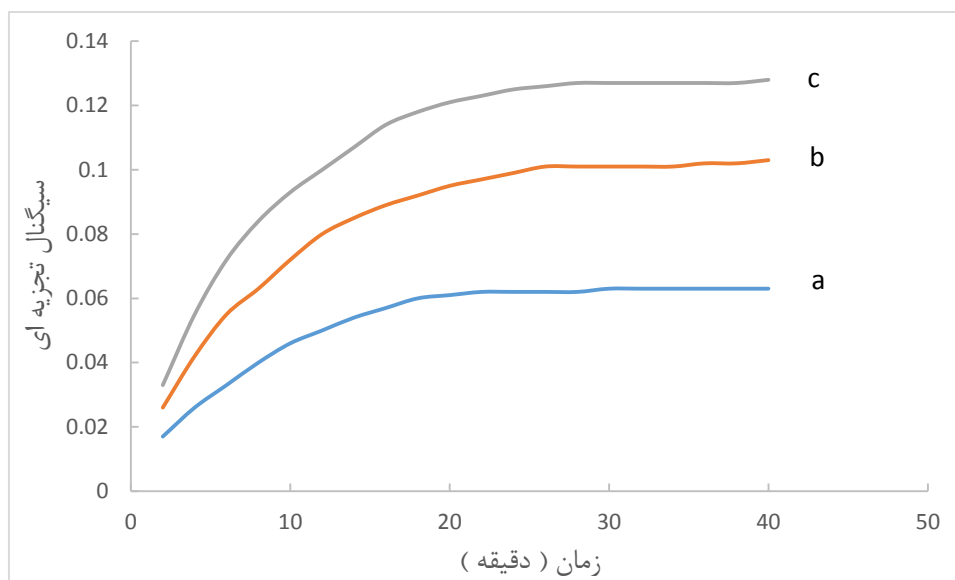
۳-۸-۱۲- بررسی زمان پاسخ حسگر^۱

یکی از خصوصیات مهم تجزیه‌ای هر حسگر، زمان پاسخ آن می‌باشد. زمان پاسخ هر حسگر به صورت زمان مورد نیاز برای رسیدن سیگنال حسگر به حدود ۹۵٪ از مقدار نهایی خود، تعریف می‌شود (حالت پایا^۲) [۵۴]. در این پروژه زمان پاسخ حسگر گلوکاتایون به صورت زمان مورد نیاز برای واکنش گلوکاتایون با پالادیوم روی سطح حسگر تعریف گردید. جهت بررسی زمان پاسخ حسگر، حسگرهای تهیه شده در شرایط بهینه، در دامنه زمانی ۴۰-۰ دقیقه به صورت عمودی درون ده میلی‌لیتر از محلول گلوکاتایون با غلظت‌های ۵/۰۰، ۱۰/۰ و ۱۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر، بر روی همزن مغناطیسی هم زده شدند و طیف زمانی آن‌ها در این مدت، هر دو دقیقه ثبت گردید. نتایج تجربی حاصل در جدول (۳-۱۴) و شکل (۳-۱۷) آورده شده است. همانطور که در شکل (۳-۱۷) مشخص است، با افزایش مدت زمان تماس حسگر با محلول گلوکاتایون تا زمان ۱۶ دقیقه، سیگنال تجزیه‌ای افزایش یافته و از ۱۶ دقیقه به بعد تغییرات جذب تقریباً ثابت می‌شود که نشان دهنده برقراری تعادل بین محلول گلوکاتایون و پالادیوم روی سطح حسگر می‌باشد. با توجه به اینکه سیگنال تجزیه‌ای و حدتشخیص روش به زمان پاسخ وابسته است، لذا بررسی پارامترهای تجزیه‌ای حسگر در چهار زمان پاسخ ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه انجام گرفت.

1- Response Time
2- Steady State

جدول (۳-۱۴): نتایج حاصل از بررسی زمان پاسخ حسگر

سیگنال تجزیه‌ای حسگر در غلظت‌های مختلف گلوکاتینون			زمان (دقیقه)
۱۵/۰ میلی گرم بر لیتر	۱۰/۰ میلی گرم بر لیتر	۵/۰۰ میلی گرم بر لیتر	
۰/۰۳۳	۰/۰۲۶	۰/۰۱۷	۲
۰/۰۵۵	۰/۰۴۲	۰/۰۲۶	۴
۰/۰۷۲	۰/۰۵۵	۰/۰۳۳	۶
۰/۰۸۴	۰/۰۶۳	۰/۰۴۰	۸
۰/۰۹۳	۰/۰۷۲	۰/۰۴۶	۱۰
۰/۱۰۰	۰/۰۸۰	۰/۰۵۰	۱۲
۰/۱۰۷	۰/۰۸۵	۰/۰۵۴	۱۴
۰/۱۱۴	۰/۰۸۹	۰/۰۵۷	۱۶
۰/۱۱۸	۰/۰۹۲	۰/۰۶۰	۱۸
۰/۱۲۱	۰/۰۹۵	۰/۰۶۱	۲۰
۰/۱۲۳	۰/۰۹۷	۰/۰۶۲	۲۲
۰/۱۲۵	۰/۰۹۹	۰/۰۶۲	۲۴
۰/۱۲۶	۰/۱۰۱	۰/۰۶۲	۲۶
۰/۱۲۷	۰/۱۰۱	۰/۰۶۲	۲۸
۰/۱۲۷	۰/۱۰۱	۰/۰۶۳	۳۰
۰/۱۲۷	۰/۱۰۱	۰/۰۶۳	۳۲
۰/۱۲۷	۰/۱۰۱	۰/۰۶۳	۳۴
۰/۱۲۷	۰/۱۰۲	۰/۰۶۳	۳۶
۰/۱۲۷	۰/۱۰۲	۰/۰۶۳	۳۸
۰/۱۲۸	۰/۱۰۳	۰/۰۶۳	۴۰



شکل (۳-۱۷): بررسی زمان پاسخ حسگر. شرایط: زمان هیدرولیز ۴ دقیقه، غلظت ۳/۰۰ میلی مولار محلول TAN، زمان تثبیت ۵ دقیقه و مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتن درون محلول ۲۵/۰ میلی گرم بر لیتر پالادیوم (II) و ۰/۰۱۰۰ مولار هیدروکلریک اسید و اندازه گیری محلول a- ۵/۰۰ میلی گرم بر لیتر گلوکاتایون، b- ۱۰/۰ میلی گرم بر لیتر گلوکاتایون و c- ۱۵/۰ میلی گرم بر لیتر گلوکاتایون در pH=۶/۰۰ در بازه زمانی ۰-۴۰ دقیقه.

۳-۸-۱۳- نتایج حاصل از بهینه سازی یک متغیر در زمان

نتایج به دست آمده در بررسی و بهینه سازی پارامترهای مؤثر بر روی حساسیت حسگر به روش

یک متغیر در یک زمان، در جدول (۳-۱۵) نشان داده شده است.

جدول (۳-۱۵): نتایج حاصل از بهینه سازی یک متغیر در زمان برای اندازه گیری گلوکاتایون

پارامتر	مقدار بهینه
غلظت هیدروکلریک اسید (مولار)	۰/۰۱۰۰
زمان هیدرولیز (دقیقه)	۴
غلظت واکنشگر TAN (میلی مولار)	۳/۰۰
زمان تثبیت (دقیقه)	۵
غلظت پالادیوم (میلی گرم بر لیتر)	۲۵/۰
زمان قرار گرفتن حسگر در محلول پالادیوم (دقیقه)	۱۰
pH محلول گلوکاتایون	۶/۰۰
نوع بافر	سیتراتی
حجم بافر (میلی لیتر)	۱/۰۰

۳-۹- رسم منحنی کالیبراسیون

پس از دستیابی به شرایط بهینه حسگر در اندازه‌گیری گلوکاتایون، منحنی کالیبراسیون در این شرایط و در زمان‌های مختلف از پاسخ حسگر رسم گردید. به منظور به دست آوردن داده‌های لازم برای رسم منحنی کالیبراسیون، ابتدا حسگرهایی در شرایط بهینه مطابق با روش ذکر شده در بخش (۳-۴) ساخته شدند. همانطور که قبلاً بیان شد، ابتدا چند اندازه‌گیری در محلول شاهد طبق روش توضیح داده شده در بخش (۳-۷) انجام شد و تغییرات جذب حسگرها در طول موج ۶۶۰ نانومتر در زمان‌های پاسخ ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه ثبت گردید. سپس محلول‌های استاندارد از گلوکاتایون در غلظت‌های مختلف و بافری شده با استفاده از یک میلی‌لیتر بافرسیتراتی با $\text{pH} = ۶/۰۰$ تهیه گردید و سیگنال‌های تجزیه‌ای هر کدام از این محلول‌های استاندارد با استفاده از یک حسگر جداگانه در طول موج ۶۶۰ نانومتر و در زمان‌های مختلف اندازه‌گیری شد. نتایج تجربی حاصل آن در جدول (۳-۱۶) آورده شده است.

جدول (۳-۱۶): اطلاعات منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۱/۵۰ تا ۲۲/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتایون

سیگنال تجزیه‌ای حسگر در زمان‌های پاسخ مختلف				غلظت محلول گلوکاتایون (میلی‌گرم بر لیتر)
۲۵ دقیقه	۲۰ دقیقه	۱۵ دقیقه	۱۰ دقیقه	
۰/۰۲۲	۰/۰۱۹	۰/۰۱۷	۰/۰۱۳	۱/۰۰
۰/۰۳۹	۰/۰۳۸	۰/۰۳۴	۰/۰۲۹	۱/۵۰
۰/۰۵۱	۰/۰۴۷	۰/۰۴۴	۰/۰۳۷	۳/۰۰
۰/۰۶۲	۰/۰۵۸	۰/۰۵۴	۰/۰۴۶	۵/۰۰
۰/۰۹۴	۰/۰۹۲	۰/۰۸۵	۰/۰۷۲	۱۰/۰
۰/۱۲۰	۰/۱۱۴	۰/۱۰۵	۰/۰۸۷	۱۵/۰
۰/۱۴۵	۰/۱۳۷	۰/۱۲۵	۰/۱۰۶	۲۰/۰
۰/۱۵۵	۰/۱۴۷	۰/۱۴۰	۰/۱۱۷	۲۲/۰
۰/۱۵۶	۰/۱۵۰	۰/۱۴۲	۰/۱۲۰	۲۵/۰
۰/۱۵۷	۰/۱۵۴	۰/۱۴۵	۰/۱۲۳	۲۸/۰

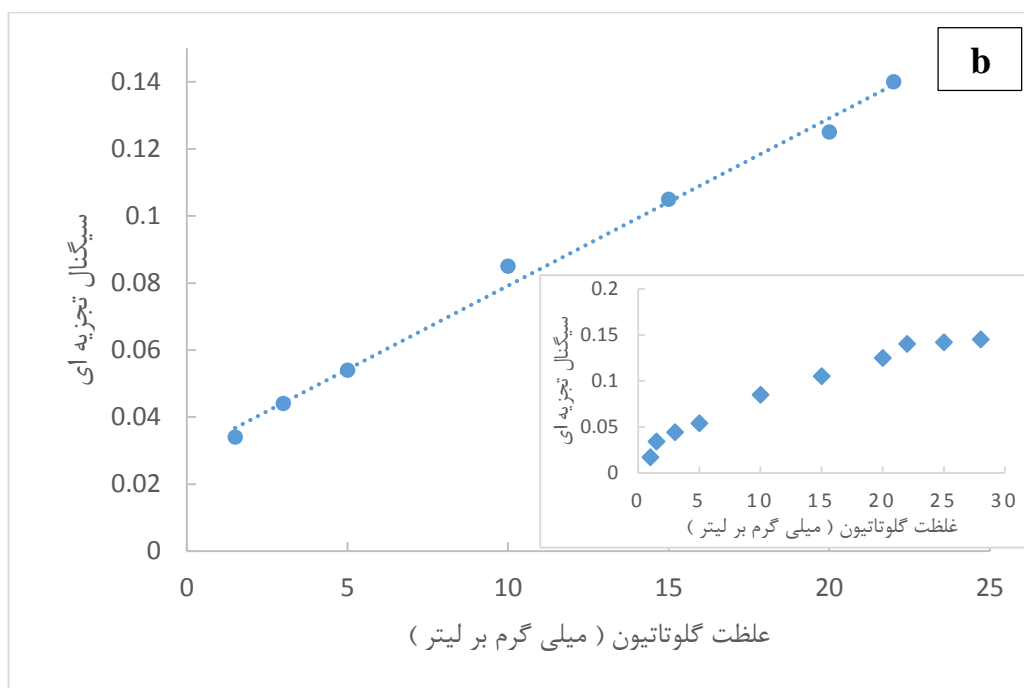
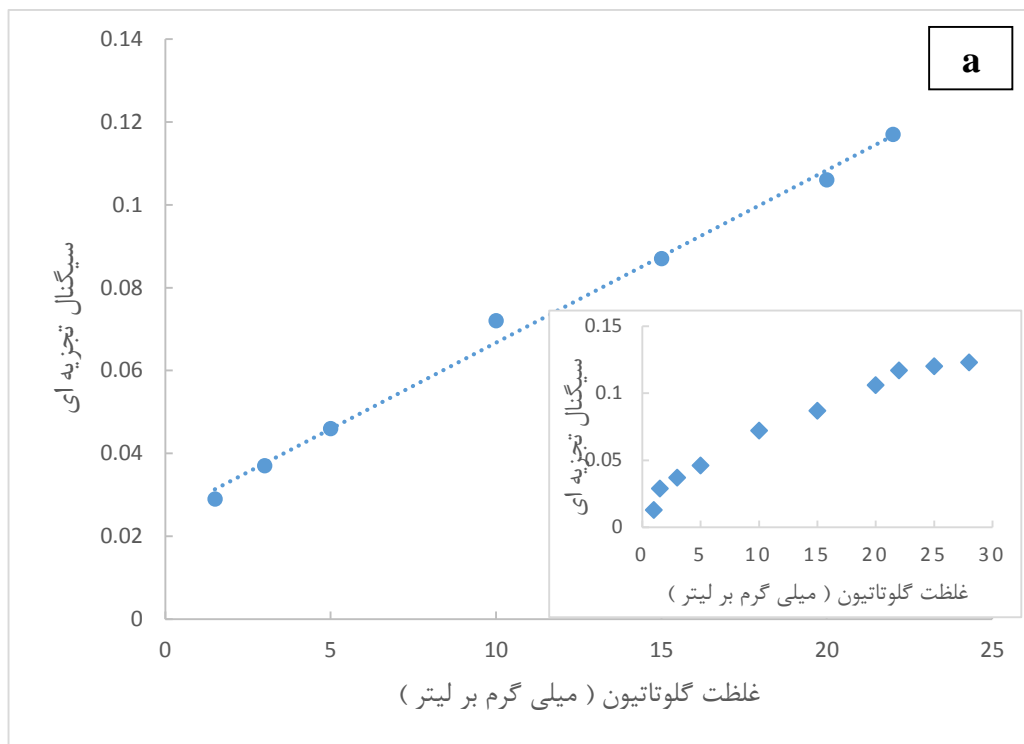
در نهایت نمودار سیگنال‌های تجزیه‌ای به دست آمده نسبت به غلظت گلوکوتایون در زمان‌های مختلف، به عنوان منحنی کالیبراسیون رسم شد که این نمودارها در شکل‌های (۳-۱۸) و (۳-۱۹) نشان داده شده است. همانطور که از شکل‌ها مشخص است، در شرایط بهینه، در محدوده غلظتی ۲۲/۰ - ۱/۵۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکوتایون، در تمام زمان‌ها، رابطه خطی مناسبی میان سیگنال تجزیه‌ای اندازه‌گیری شده و غلظت گلوکوتایون وجود دارد که با استفاده از روش حداقل مربعات، معادله رگرسیون برای این محدوده از غلظت گلوکوتایون در زمان‌های مختلف به صورت زیر به دست آمد:

جدول (۳-۱۷): معادلات رگرسیون منحنی کالیبراسیون در زمان‌های پاسخ مختلف

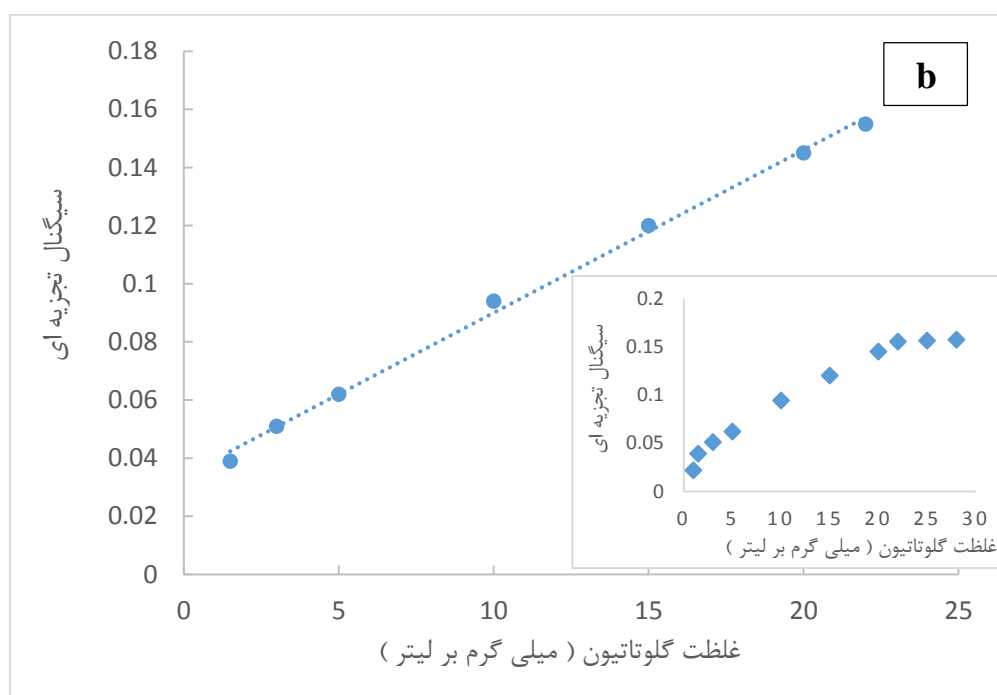
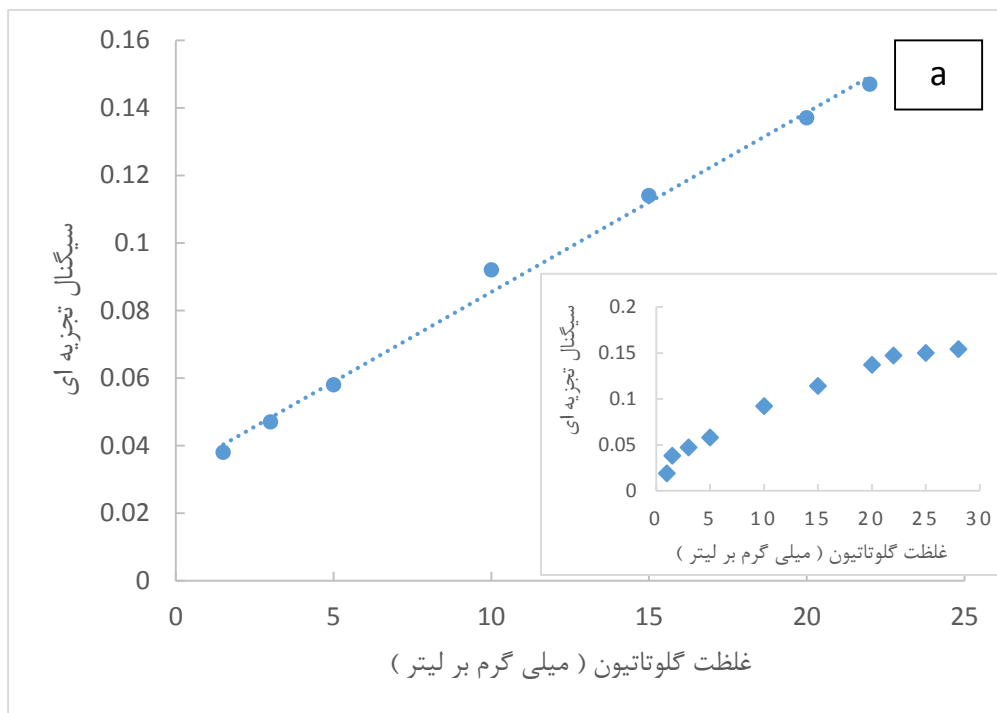
زمان (دقیقه)	معادله رگرسیون	R ²
۱۰	$\Delta A = 0.0042 C + 0.0250$	۰/۹۹۴۵
۱۵	$\Delta A = 0.0050 C + 0.0293$	۰/۹۹۴۴
۲۰	$\Delta A = 0.0053 C + 0.0324$	۰/۹۹۴۷
۲۵	$\Delta A = 0.0056 C + 0.0339$	۰/۹۹۷۱

در روابط فوق ΔA نشان دهنده سیگنال تجزیه‌ای است که در واقع از اختلاف میان کاهش جذب در محلول گلوکوتایون و کاهش جذب در محلول شاهد در طول موج ۶۶۰ نانومتر حاصل شده است و C نیز غلظت گلوکوتایون بر حسب میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد.

همان‌طور که از معادلات رگرسیون مشخص است، عرض از مبدأ معادلات مقادیر بزرگی می‌باشند. با توجه به این‌که محلول ۱/۰۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکوتایون دارای سیگنال تجزیه‌ای بوده ولی در محدوده خطی منحنی کالیبراسیون قرار نمی‌گیرد، مقادیر بزرگ عرض از مبدأ قابل توجیه می‌باشند.



شکل (۳-۱۸): منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۱/۵۰ تا ۲۲/۰ میلی گرم بر لیتر گلوکز. شرایط: ۴ دقیقه هیدرولیز در محلول اتیلن دی آمین، ۵ دقیقه تثبیت در محلول ۳/۰۰ میلی مولار TAN، ۱۰ دقیقه قرار گرفتن در محلول ۲۵/۰ میلی گرم بر لیتر پالادیوم (II) و ۰/۰۱۰۰ مولار هیدروکلریک اسید و اندازه گیری محلول های گلوکز در pH = ۶/۰۰ - پس از ده دقیقه و b - پس از پانزده دقیقه.



شکل (۳-۱۹): منحنی کالیبراسیون در ناحیه غلظتی ۱/۵۰ تا ۲۲/۰ میلی گرم بر لیتر گلوآنتیون. شرایط: ۴ دقیقه هیدرولیز در محلول اتیلن دی آمین، ۵ دقیقه تثبیت در محلول ۳/۰۰ میلی مولار TAN، ۱۰ دقیقه قرار گرفتن در محلول ۲۵/۰ میلی گرم بر لیتر پالادیوم (II) و ۰/۰۱۰۰ مولار هیدروکلریک اسید و اندازه گیری محلول های گلوآنتیون در pH = ۶/۰۰ - a - پس از بیست دقیقه و b - پس از بیست و پنج دقیقه.

۳-۱۰- حد تشخیص روش

کمترین غلظت نمونه که توسط یک روش پیشنهادی در سطح اطمینان معینی قابل آشکارسازی است، حد تشخیص آن روش نامیده می‌شود. حد تشخیص روش طبق معادله زیر قابل محاسبه است:

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

در رابطه فوق S_{bl} انحراف استاندارد سیگنال شاهد و m شیب منحنی کالیبراسیون می‌باشد.

برای محاسبه حد تشخیص روش، ده حسگر در شرایط بهینه ساخته شدند. ابتدا جذب پایه آن‌ها در سل حاوی محلول شاهد در طول موج ۶۶۰ نانومتر خوانده شد. پس از آن حسگرها به صورت جداگانه در مدت زمان‌های ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه درون محلول شاهد در روی همزن مغناطیسی هم زده شدند و سپس دوباره درون سل اسپکتروفتومتر حاوی محلول شاهد قرار گرفتند و کاهش جذب در طول موج ۶۶۰ نانومتر ثبت گردید. کاهش جذب در این طول موج به عنوان سیگنال شاهد در نظر گرفته شد. میانگین سیگنال‌های شاهد، انحراف استاندارد سیگنال‌های شاهد و حد تشخیص محاسبه شده در زمان‌های پاسخ مختلف با استفاده از رابطه (۳-۱) در جدول (۳-۱۸) نشان داده شده است.

جدول (۳-۱۸): حد تشخیص روش

زمان (دقیقه)	میانگین سیگنال شاهد	انحراف استاندارد سیگنال شاهد	حد تشخیص (میلی گرم بر لیتر)
۱۰	۰/۰۱۶	۰/۰۰۱۸	۱/۳۰
۱۵	۰/۰۲۴	۰/۰۰۱۵	۰/۹۰
۲۰	۰/۰۲۸	۰/۰۰۱۳	۰/۷۴
۲۵	۰/۰۳۵	۰/۰۰۱۱	۰/۵۹

۱۱-۳- بررسی دقت و صحت روش

به منظور بررسی دقت و صحت روش، با توجه به دامنه خطی روش، محلول‌های استاندارد از گلوکاتایون با غلظت‌های ۲/۵۰، ۱۰/۰ و ۲۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر انتخاب شدند و با استفاده از حسگرهای ساخته شده در شرایط بهینه، ۵ اندازه‌گیری تکراری در هر غلظت صورت گرفت و در هر مورد سیگنال به دست آمده ثبت گردید. قبل از آن چند اندازه‌گیری روی محلول شاهد نیز انجام شد. در نهایت سیگنال تجزیه‌ای حاصل برای هر اندازه‌گیری محاسبه گردید. لازم به ذکر است که در اینجا نیز سیگنال‌های تجزیه‌ای در زمان‌های ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه به دست آمدند. پس از آن با استفاده از معادلات به دست آمده از رسم منحنی کالیبراسیون، غلظت معادل سیگنال‌های تجزیه‌ای، انحراف استاندارد نسبی و درصد بازیابی برای هر غلظت محاسبه شد.

مقدار t بحرانی در سطح اطمینان ۹۵٪ برای ۵ اندازه‌گیری، ۲/۷۸ می‌باشد. بررسی آزمون t نشان می‌دهد که میان غلظت گلوکاتایون اندازه‌گیری شده و غلظت واقعی گلوکاتایون موجود در محلول، تفاوت معناداری وجود ندارد و روش دارای خطای سیستماتیک یا خطای معین نمی‌باشد. نتایج حاصل در جدول (۳-۱۹) نشان داده شده است که این نتایج نشان دهنده دقت و صحت خوب روش می‌باشند.

جدول (۳-۱۹): بررسی دقت و صحت روش

درصد بازیابی	نتایج آزمون t	% RSD (n = ۵)	غلظت گلوکوتاتیون اندازه گیری شده (میلی گرم بر لیتر)	زمان (دقیقه)	غلظت گلوکوتاتیون (میلی گرم بر میلی لیتر)
۹۷/۲	۰/۹۲۰	۷/۰۰	۲/۴۳ ± ۰/۱۷	۱۰	۲/۵۰
۹۹/۲	۰/۲۰۳	۸/۸۰	۲/۴۸ ± ۰/۲۲	۱۵	
۱۰۴	۱/۴۰	۶/۱۵	۲/۶۰ ± ۰/۱۶	۲۰	
۱۰۴	۱/۵۰	۵/۸۰	۲/۶۰ ± ۰/۱۵	۲۵	
۹۱/۲	۲/۵۴	۸/۴۴	۹/۱۲ ± ۰/۷۷	۱۰	۱۰/۰
۹۵/۰	۱/۶۴	۷/۶۰	۹/۵۰ ± ۰/۷۲	۱۵	
۹۴/۰	۲/۴۰	۶/۴۰	۹/۴۰ ± ۰/۶۰	۲۰	
۹۵/۰	۱/۵۰	۷/۶۰	۹/۵۰ ± ۰/۷۲	۲۵	
۹۴/۵	۲/۴۰	۵/۹۰	۱۸/۹ ± ۱/۰	۱۰	۲۰/۰
۹۶/۰	۲/۵۵	۳/۶۴	۱۹/۲ ± ۰/۷۰	۱۵	
۹۶/۵	۲/۵۲	۳/۲۱	۱۹/۳ ± ۰/۶۲	۲۰	
۹۹/۶	۰/۴۵۵	۲/۷۰	۱۹/۹ ± ۰/۴۹	۲۵	

۱۲-۳- بررسی مشخصه‌های حسگر

در ساخت یک حسگر نوری، خصوصیات زیر باید مورد بررسی قرار گیرد:

تکرارپذیری و تکثیرپذیری^۱ در ساخت حسگر

پایداری^۲ حسگر

زمان عمر^۳ حسگر

بازیابی و برگشت‌پذیری^۴ حسگر

۱-۱۲-۳ بررسی تکرارپذیری و تکثیرپذیری در ساخت حسگر

تکثیرپذیری و تکرارپذیری حسگرهای نوری، دو خصوصیت مهم حسگرها می‌باشند. منظور از تکرارپذیری حسگر وجود شباهت ساختاری بین حسگرهایی است که در یک دفعه^۵ به همراه همدیگر ساخته می‌شوند و منظور از تکثیرپذیری وجود شباهت ساختاری بین حسگرهایی است که در دفعات جداگانه^۶ ساخته می‌شوند [۲۸]. تکرارپذیری و تکثیرپذیری حسگر در طی چهار روز متفاوت بررسی شد. به این صورت که در هر روز هشت حسگر در شرایط بهینه تهیه گردید و پس از آن، مطابق روش بیان شده در بخش (۷-۳) از آن‌ها برای اندازه‌گیری سیگنال تجزیه‌ای محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکزاتیون در هر روز استفاده شد که نتایج حاصل در جداول (۳-۲۰) و (۳-۲۱) نمایش داده شده است.

1- Repeatability and Reproducibility
2- Stability
3- Life Time
4- Regeneration and Reversibility
5- Within-run
6- Between-run

جدول (۳-۲۰): نتایج حاصل از بررسی تکرارپذیری و تکثیرپذیری در ساخت حسگرها در زمان‌های پاسخ ۱۰ دقیقه و ۱۵ دقیقه

ΔA در روز اول		ΔA در روز دوم		ΔA در روز سوم		ΔA در روز چهارم		
۱۰ دقیقه	۱۵ دقیقه	۱۰ دقیقه	۱۵ دقیقه	۱۰ دقیقه	۱۵ دقیقه	۱۰ دقیقه	۱۵ دقیقه	
۰/۰۶۸	۰/۰۸۷	۰/۰۷۷	۰/۰۹۱	۰/۰۷۱	۰/۰۸۹	۰/۰۷۰	۰/۰۸۷	نمونه شماره ۱
۰/۰۶۹	۰/۰۸۵	۰/۰۷۰	۰/۰۸۳	۰/۰۶۸	۰/۰۸۱	۰/۰۷۲	۰/۰۸۶	نمونه شماره ۲
۰/۰۷۰	۰/۰۸۷	۰/۰۷۲	۰/۰۸۸	۰/۰۶۹	۰/۰۸۲	۰/۰۷۱	۰/۰۸۴	نمونه شماره ۳
۰/۰۶۶	۰/۰۸۰	۰/۰۷۴	۰/۰۸۴	۰/۰۷۴	۰/۰۹۰	۰/۰۶۸	۰/۰۸۳	نمونه شماره ۴
۰/۰۷۸	۰/۰۹۰	۰/۰۷۳	۰/۰۸۸	۰/۰۷۰	۰/۰۸۸	۰/۰۷۰	۰/۰۸۱	نمونه شماره ۵
۰/۰۷۱	۰/۰۸۲	۰/۰۶۹	۰/۰۸۲	۰/۰۷۰	۰/۰۸۶	۰/۰۷۲	۰/۰۸۵	نمونه شماره ۶
۰/۰۷۱	۰/۰۷۹	۰/۰۷۲	۰/۰۸۵	۰/۰۷۱	۰/۰۸۴	۰/۰۷۶	۰/۰۹۱	نمونه شماره ۷
۰/۰۷۴	۰/۰۸۶	۰/۰۶۹	۰/۰۸۰	۰/۰۶۷	۰/۰۸۰	۰/۰۷۰	۰/۰۸۲	نمونه شماره ۸
۵/۲۰	۴/۵۰	۳/۷۵	۴/۳۰	۳/۰۰	۴/۵۰	۳/۲۰	۳/۷۵	% RSD

جدول (۳-۲۱): نتایج حاصل از بررسی تکرارپذیری و تکثیرپذیری در ساخت حسگرها در زمان‌های پاسخ ۲۰ دقیقه و ۲۵ دقیقه

ΔA در روز اول		ΔA در روز دوم		ΔA در روز سوم		ΔA در روز چهارم		
۲۰ دقیقه	۲۵ دقیقه	۲۰ دقیقه	۲۵ دقیقه	۲۰ دقیقه	۲۵ دقیقه	۲۰ دقیقه	۲۵ دقیقه	
۰/۰۹۲	۰/۰۹۶	۰/۰۹۶	۰/۰۹۸	۰/۰۹۲	۰/۰۹۴	۰/۰۹۲	۰/۰۹۵	نمونه شماره ۱
۰/۰۹۰	۰/۰۹۴	۰/۰۸۸	۰/۰۹۰	۰/۰۸۶	۰/۰۹۲	۰/۰۹۱	۰/۰۹۵	نمونه شماره ۲
۰/۰۹۳	۰/۰۹۶	۰/۰۹۳	۰/۰۹۹	۰/۰۸۷	۰/۰۹۲	۰/۰۸۹	۰/۰۹۱	نمونه شماره ۳
۰/۰۸۵	۰/۰۸۸	۰/۰۸۹	۰/۰۹۳	۰/۰۹۵	۰/۱۰۰	۰/۰۸۸	۰/۰۹۰	نمونه شماره ۴
۰/۰۹۷	۰/۰۹۹	۰/۰۹۳	۰/۰۹۸	۰/۰۹۳	۰/۰۹۷	۰/۰۸۶	۰/۰۸۸	نمونه شماره ۵
۰/۰۸۷	۰/۰۹۰	۰/۰۸۷	۰/۰۹۰	۰/۰۹۱	۰/۰۹۶	۰/۰۹۰	۰/۰۹۳	نمونه شماره ۶
۰/۰۹۱	۰/۱۰۰	۰/۰۹۰	۰/۰۹۷	۰/۰۸۹	۰/۰۹۱	۰/۰۹۶	۰/۱۰۰	نمونه شماره ۷
۰/۰۸۴	۰/۰۹۲	۰/۰۹۱	۰/۰۹۴	۰/۰۸۵	۰/۰۹۰	۰/۰۸۷	۰/۰۹۰	نمونه شماره ۸
۴/۸۰	۴/۵۰	۳/۳۰	۳/۸۰	۴/۰۰	۳/۶۰	۳/۵۵	۴/۱۰	% RSD

به منظور اثبات عدم وجود اختلاف معناداری بین نتایج گزارش شده، از آزمون تحلیل واریانس دو جانبه^۱ (ANOVA) استفاده گردید. تحلیل واریانس بررسی می‌کند که آیا تفاوت بین میانگین‌های نمونه‌ها در چنان حدی است که بتواند به کمک خطای تصادفی توجیه شود. برای استفاده از این آزمون جدول ANOVA تشکیل داده شد و با انجام محاسبات نتایج زیر حاصل گردید:

1- Analysis of Variance

جدول (۳-۲۲): ANOVA

منبع تغییرات	مجموع مربعات ^۱ (SS)	درجه آزادی ^۲ (df)	میانگین مربعات ^۳ (MS)
بین نمونه‌های ^۴	$SS_b = n \sum_i (\bar{x}_i - \bar{x})^2$	$K - 1$	$MS_b = \frac{SS_b}{K - 1}$
درون نمونه‌های ^۵	$SS_w = \sum_i \sum_j (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$	$N - K$	$MS_w = \frac{SS_w}{N - K}$

عبارت‌های K ، n و N به ترتیب نشان دهنده تعداد گروه‌های اندازه‌گیری، تعداد اندازه‌گیری تکراری در هر گروه و تعداد کل اندازه‌گیری‌های تکراری هستند که در این مطالعه به ترتیب برابر با ۴، ۸ و ۳۲ می‌باشند. در این جدول x_{ij} نماینده زامین اندازه‌گیری روی i امین گروه است. میانگین گروه‌ها نیز عبارتند از \bar{x}_1 ، \bar{x}_2 ، \bar{x}_3 و \bar{x}_4 و میانگین تمام مقادیر هم گروه شده، \bar{X} می‌باشد [۵۵].

جدول (۳-۲۳): محاسبات جدول ANOVA برای حسگر نوری

	۱۰ دقیقه	۱۵ دقیقه	۲۰ دقیقه	۲۵ دقیقه
SS_b	$1/63 \times 10^{-5}$	$1/75 \times 10^{-6}$	$6/59 \times 10^{-6}$	$1/97 \times 10^{-5}$
SS_w	$2/20 \times 10^{-4}$	$3/68 \times 10^{-4}$	$3/56 \times 10^{-4}$	$4/02 \times 10^{-4}$
MS_b	$5/42 \times 10^{-6}$	$5/83 \times 10^{-7}$	$2/20 \times 10^{-6}$	$6/58 \times 10^{-6}$
MS_w	$7/85 \times 10^{-6}$	$1/31 \times 10^{-5}$	$1/27 \times 10^{-5}$	$1/44 \times 10^{-5}$
$F_{calculated}$	۰/۶۹۰	۰/۰۴۴	۰/۱۷۲	۰/۴۵۸

-
- 1- Sum of square
 - 2- Degree of freedom
 - 3- Mean square
 - 4- Between – sample variation
 - 5- Within – sample variation

آزمون F در سطح اطمینان ۹۵٪ و درجات آزادی ۳ و ۲۸ طبق رابطه زیر به کار برده شد:

$$F_{\text{calculated}} = \frac{SS_b}{SS_w} \quad (3-3)$$

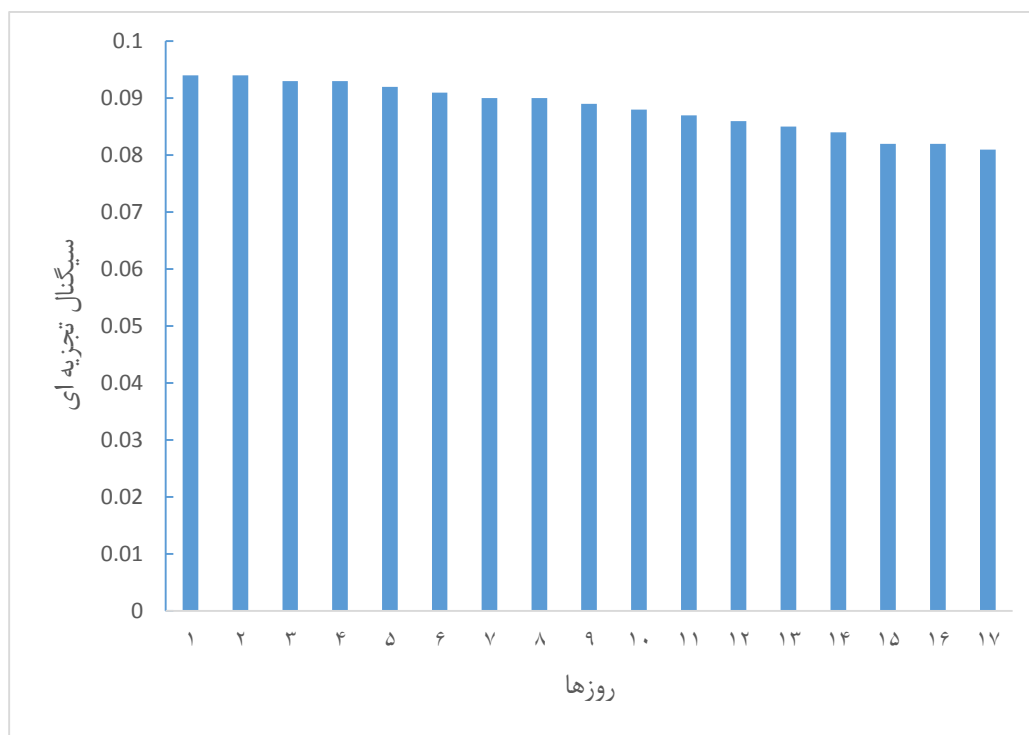
با استفاده از رابطه فوق مقدار F محاسبه شد که نتایج حاصل از آن در جدول (۳-۲۳) گزارش شده است و با توجه به مقدار F_{table} که برابر با ۳/۶۳ می‌باشد، عدم وجود اختلاف معنادار بین واریانس‌های محاسبه شده اثبات شد و این امر نشان می‌دهد حسگرها دارای تکرارپذیری و تکثیرپذیری می‌باشند.

۳-۱۲-۲- بررسی پایداری حسگر

پایداری حسگر یک پارامتر مهم در استفاده از حسگر در آزمایش‌های میدانی^۱ می‌باشد [۲۸]. منظور از پایداری یک حسگر این است که سیگنال تجزیه‌ای ایجاد شده توسط حسگر در حضور محلول شاهد و محلول گلوکاتایون با زمان تغییر نکند. به منظور بررسی پایداری حسگر، ابتدا دو حسگر در شرایط بهینه تهیه گردید. سپس از آنها برای اندازه‌گیری سیگنال محلول شاهد و محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتایون در $\text{pH} = 6.00$ مطابق روش ذکر شده در بخش (۳-۷) استفاده شد و سیگنال تجزیه‌ای بعد از زمان پاسخ ۲۵ دقیقه ثبت گردید. سپس این حسگرها درون محلول ۰/۰۰۵ مولار اسید نیتریک قرار داده شد و در روزهای متوالی سیگنال تجزیه‌ای آنها با قرار دادن حسگرها در سل اسپکتروفتومتر حاوی محلول شاهد ثبت گردید. نتایج حاصل در جدول (۳-۲۴) و شکل (۳-۲۰) نشان داده شده است. این نتایج نشان می‌دهند که سیگنال تجزیه‌ای بعد از دو هفته حدود ۱۰ درصد کاهش می‌یابد. در نتیجه حسگر از پایداری خوبی برخوردار است.

جدول (۳-۲۴): نتایج حاصل از بررسی پایداری حسگر

سیگنال تجزیه‌ای در ۶۶۰ نانومتر	تعداد روزها
۰/۰۹۴	۱
۰/۰۹۴	۲
۰/۰۹۳	۳
۰/۰۹۳	۴
۰/۰۹۲	۵
۰/۰۹۱	۶
۰/۰۹۰	۷
۰/۰۹۰	۸
۰/۰۸۹	۹
۰/۰۸۸	۱۰
۰/۰۸۷	۱۱
۰/۰۸۶	۱۲
۰/۰۸۵	۱۳
۰/۰۸۴	۱۴
۰/۰۸۲	۱۵
۰/۰۸۲	۱۶
۰/۰۸۱	۱۷



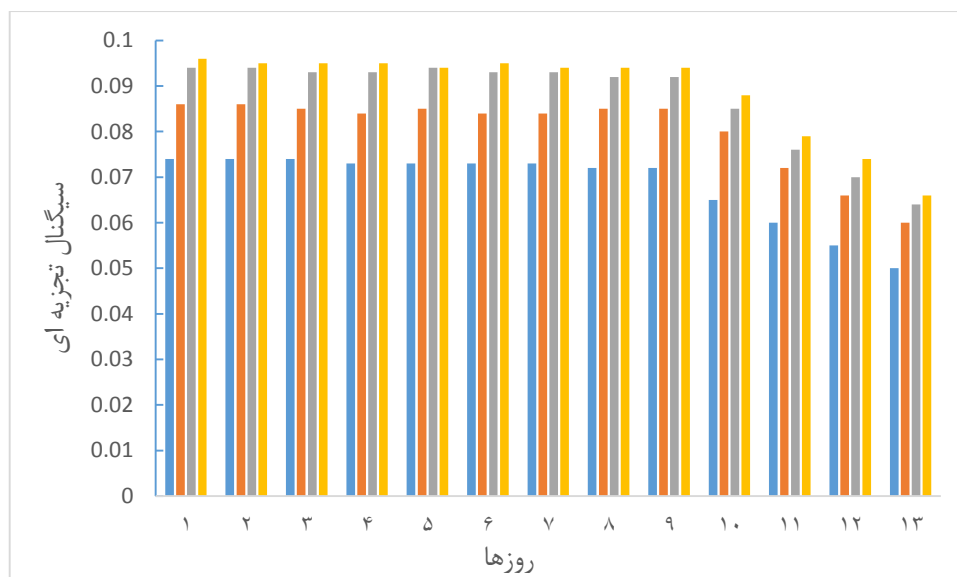
شکل (۳-۲۰): بررسی پایداری حسگر گلوکوتاتیون درون محلول ۰/۰۰۵ مولار نیتریک اسید پس از ۱۷ روز متوالی.

۳-۱۲-۳- بررسی زمان عمر حسگر

منظور از زمان پاسخ حسگر، مدت زمانی است که می‌توان حسگر ساخته شده را نگهداری کرد، بدون این‌که تغییری در پاسخ آن ایجاد شود [۴۵]. برای بررسی زمان عمر حسگر، ابتدا حسگرهایی مطابق روش ذکر شده در بخش (۳-۴) در شرایط بهینه و در یک روز ساخته شدند. سپس از آن‌ها به صورت روزانه برای اندازه‌گیری محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکوتاتیون در $\text{pH} = 6/00$ مطابق روش بیان شده در بخش (۳-۷) استفاده گردید. برای نگهداری حسگرها از محلول‌های مختلف از جمله بافر فسفاتی با $\text{pH} = 4/00$ ، اسید نیتریک ۰/۰۰۵ مولار و محلول حاوی اسید نیتریک ۰/۰۰۵ مولار و ۵/۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پالادیوم (II) استفاده شد که نتایج تجربی حاصل در ادامه نشان داده شده است.

جدول (۳-۲۵): نتایج حاصل از بررسی زمان عمر حسگر در بافر فسفات با $\text{pH} = 4/00$

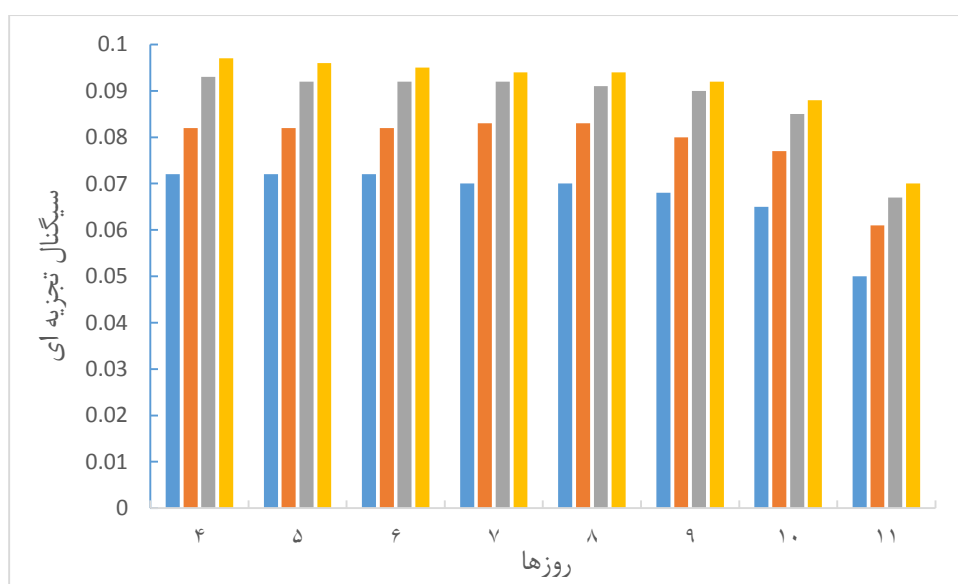
سیگنال تجزیه‌ای در زمان پاسخ ۲۵ دقیقه	سیگنال تجزیه‌ای در زمان پاسخ ۲۰ دقیقه	سیگنال تجزیه‌ای در زمان پاسخ ۱۵ دقیقه	سیگنال تجزیه‌ای در زمان پاسخ ۱۰ دقیقه	
۰/۰۹۶	۰/۰۹۴	۰/۰۸۶	۰/۰۷۴	روز اول
۰/۰۹۵	۰/۰۹۴	۰/۰۸۶	۰/۰۷۴	روز دوم
۰/۰۹۵	۰/۰۹۳	۰/۰۸۵	۰/۰۷۴	روز سوم
۰/۰۹۵	۰/۰۹۳	۰/۰۸۴	۰/۰۷۳	روز چهارم
۰/۰۹۴	۰/۰۹۴	۰/۰۸۵	۰/۰۷۳	روز پنجم
۰/۰۹۵	۰/۰۹۳	۰/۰۸۴	۰/۰۷۳	روز ششم
۰/۰۹۴	۰/۰۹۳	۰/۰۸۴	۰/۰۷۳	روز هفتم
۰/۰۹۴	۰/۰۹۲	۰/۰۸۵	۰/۰۷۳	روز هشتم
۰/۰۹۴	۰/۰۹۲	۰/۰۸۷	۰/۰۷۳	روز نهم
۰/۰۸۸	۰/۰۸۵	۰/۰۸۰	۰/۰۶۵	روز دهم
۰/۰۷۹	۰/۰۷۶	۰/۰۷۲	۰/۰۶۰	روز یازدهم
۰/۰۷۴	۰/۰۷۰	۰/۰۶۶	۰/۰۵۵	روز دوازدهم
۰/۰۶۶	۰/۰۶۴	۰/۰۶۰	۰/۰۵۰	روز سیزدهم



شکل (۳-۲۱): بررسی زمان عمر حسگر درون بافر فسفات با $\text{pH} = 4/00$ بعد از ۱۳ روز متوالی. نمودارهای میله‌ای برای زمان‌های ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه، به ترتیب از چپ به راست می‌باشند.

جدول (۳-۲۶): نتایج حاصل از بررسی زمان عمر حسگر در محلول اسید نیتریک ۰/۰۰۵ مولار

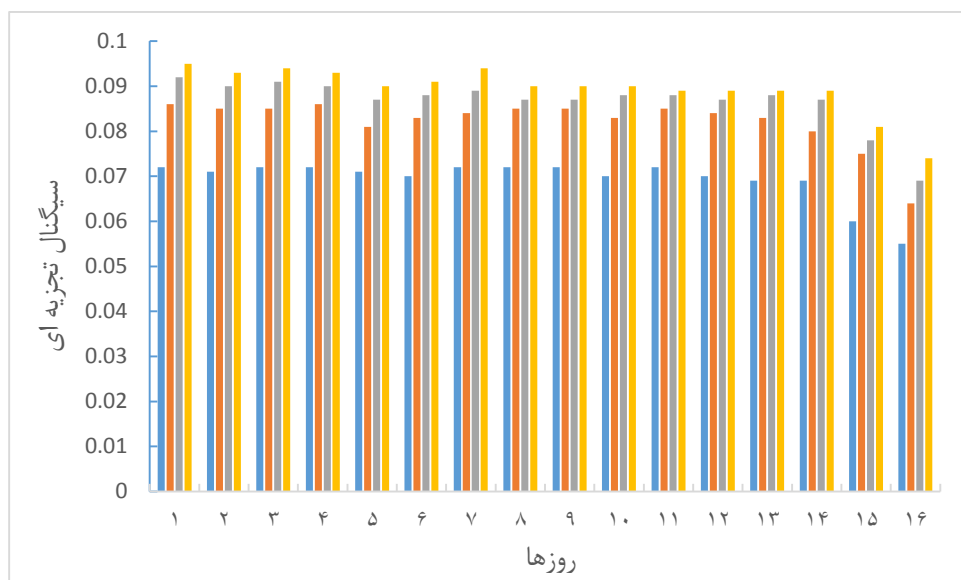
سیگنال تجزیه‌ای در زمان پاسخ ۲۵ دقیقه	سیگنال تجزیه‌ای در زمان پاسخ ۲۰ دقیقه	سیگنال تجزیه‌ای در زمان پاسخ ۱۵ دقیقه	سیگنال تجزیه‌ای در زمان پاسخ ۱۰ دقیقه	
۰/۰۹۸	۰/۰۹۵	۰/۰۸۴	۰/۰۷۳	روز اول
۰/۰۹۷	۰/۰۹۳	۰/۰۸۲	۰/۰۷۲	روز دوم
۰/۰۹۸	۰/۰۹۴	۰/۰۸۳	۰/۰۷۳	روز سوم
۰/۰۹۷	۰/۰۹۳	۰/۰۸۲	۰/۰۷۳	روز چهارم
۰/۰۹۶	۰/۰۹۲	۰/۰۸۲	۰/۰۷۳	روز پنجم
۰/۰۹۵	۰/۰۹۲	۰/۰۸۲	۰/۰۷۲	روز ششم
۰/۰۹۴	۰/۰۹۲	۰/۰۸۳	۰/۰۷۰	روز هفتم
۰/۰۹۴	۰/۰۹۱	۰/۰۸۳	۰/۰۶۹	روز هشتم
۰/۰۹۲	۰/۰۹۰	۰/۰۸۰	۰/۰۶۸	روز نهم
۰/۰۷۶	۰/۰۷۴	۰/۰۶۸	۰/۰۵۴	روز دهم
۰/۰۶۰	۰/۰۶۰	۰/۰۵۶	۰/۰۴۱	روز یازدهم



شکل (۳-۲۲): بررسی زمان عمر حسگر درون محلول اسید نیتریک ۰/۰۰۵ مولار بعد از ۱۱ روز متوالی. نمودارهای میله‌ای برای زمان‌های ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه، به ترتیب از چپ به راست، می‌باشند.

جدول (۳-۲۷): نتایج حاصل از بررسی زمان عمر حسگر در محلول حاوی اسید نیتریک ۰/۰۰۵ مولار و ۵/۰۰ میلی گرم بر لیتر پالادیوم (II)

سیگنال تجزیه‌ای در زمان پاسخ ۲۵ دقیقه	سیگنال تجزیه‌ای در زمان پاسخ ۲۰ دقیقه	سیگنال تجزیه‌ای در زمان پاسخ ۱۵ دقیقه	سیگنال تجزیه‌ای در زمان پاسخ ۱۰ دقیقه	
۰/۰۹۵	۰/۰۹۲	۰/۰۸۶	۰/۰۷۲	روز اول
۰/۰۹۳	۰/۰۹۰	۰/۰۸۵	۰/۰۷۱	روز دوم
۰/۰۹۴	۰/۰۹۱	۰/۰۸۵	۰/۰۷۲	روز سوم
۰/۰۹۳	۰/۰۹۰	۰/۰۸۶	۰/۰۷۲	روز چهارم
۰/۰۹۰	۰/۰۸۷	۰/۰۸۱	۰/۰۷۱	روز پنجم
۰/۰۹۱	۰/۰۸۸	۰/۰۸۳	۰/۰۷۰	روز ششم
۰/۰۹۴	۰/۰۸۹	۰/۰۸۴	۰/۰۷۲	روز هفتم
۰/۰۹۰	۰/۰۸۷	۰/۰۸۵	۰/۰۷۲	روز هشتم
۰/۰۹۰	۰/۰۸۷	۰/۰۸۵	۰/۰۷۲	روز نهم
۰/۰۹۰	۰/۰۸۸	۰/۰۸۳	۰/۰۷۰	روز دهم
۰/۰۸۹	۰/۰۸۸	۰/۰۸۵	۰/۰۷۲	روز یازدهم
۰/۰۸۹	۰/۰۸۷	۰/۰۸۴	۰/۰۷۰	روز دوازدهم
۰/۰۸۹	۰/۰۸۷	۰/۰۸۳	۰/۰۶۹	روز سیزدهم
۰/۰۸۹	۰/۰۸۷	۰/۰۸۰	۰/۰۶۹	روز چهاردهم
۰/۰۸۱	۰/۰۷۸	۰/۰۷۵	۰/۰۶۰	روز پانزدهم
۰/۰۷۴	۰/۰۶۹	۰/۰۶۴	۰/۰۵۵	روز شانزدهم



شکل (۳-۲۳): بررسی زمان عمر حسگر درون محلول حاوی اسید نیتریک ۰/۰۰۵ مولار و ۵/۰۰ میلی گرم بر لیتر پالادیوم (II) بعد از ۱۶ روز متوالی. نمودارهای میله‌ای برای زمان‌های ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه، به ترتیب از چپ به راست، می‌باشند.

نتایج تجربی نشان می‌دهند سیگنال تجزیه‌ای حسگرهای نگهداری شده درون بافر فسفاتی با $pH=4/00$ و محلول اسید نیتریک ۰/۰۰۵ مولار، تا روز دهم ثابت بوده و پس از آن کاهش یافته است. هم‌چنین سیگنال تجزیه‌ای حسگرهایی نگهداری شده درون محلول حاوی اسید نیتریک ۰/۰۰۵ مولار و ۵/۰۰ میلی گرم بر لیتر پالادیوم (II)، تا روز چهاردهم ثابت بوده و پس از آن کاهش می‌یابد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت حسگرهای تهیه شده زمان عمر خوبی داشته و می‌توان از آن‌ها برای انجام کارهای تجزیه‌ای استفاده نمود.

۳-۱۲-۴- بررسی بازیابی و برگشت پذیری حسگر

منظور از بازیابی یک حسگر این است که تغییر رنگ حسگر برگشت پذیر باشد و بتوان حسگر استفاده شده را مجدداً جهت اندازه‌گیری گونه موردنظر به کار برد، بدون اینکه تغییری در سیگنال آن مشاهده گردد [۴۵]. مفهوم بازیابی برای حسگر گلوکاتایون این است که مقداری از پالادیوم که توسط واکنش با گلوکاتایون از سطح حسگر جدا شده است، دوباره روی حسگر تثبیت شود و در نتیجه حسگر

بتواند در استفاده مجدد، سیگنالی برابر با سیگنال ایجاد شده در اولین اندازه‌گیری ایجاد کند. برای این منظور از محلول پالادیوم (II) با غلظت ۲۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر که نسبت به هیدروکلریک اسید ۰/۰۱۰ مولار بود، استفاده شد. روش کار به این صورت بود که ابتدا حسگر ساخته شده در شرایط بهینه درون سل اسپکتروفتومتر حاوی محلول شاهد قرار داده شد و جذب پایه آن در طول موج ۶۶۰ نانومتر ثبت گردید. سپس همان حسگر با آب مقطر شسته شده و درون محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتایون بافری شده در $pH = 6/00$ با استفاده از یک میلی‌لیتر بافر سیتراتی قرار داده شده و به مدت ۱۰ دقیقه بر روی همزن مغناطیسی هم زده شد و بعد از شستشو، حسگر درون سل اسپکتروفتومتر حاوی محلول شاهد قرار داده شد و جذب آن در طول موج ۶۶۰ نانومتر ثبت گردید. در نهایت سیگنال تجزیه‌ای حسگر در این طول موج محاسبه گردید. پس از آن همان حسگر درون محلول ۲۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر پالادیوم (II) که نسبت به هیدروکلریک اسید ۰/۰۱۰۰ مولار بود، قرار داده شد. پس از حدود ۳۰ ثانیه جذب حسگر در طول موج ۶۶۰ نانومتر به جذب پایه رسید و بعد از شستشوی حسگر با آب مقطر دوباره از آن برای اندازه‌گیری سیگنال تجزیه‌ای محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتایون استفاده شد. عمل بازیابی چندین بار تکرار گردید ولی مشاهده شد که پس از اولین مرتبه بازیابی حسگر، سیگنال حسگر کاهش می‌یابد.

جدول (۳-۲۸): نتایج حاصل از بازیابی حسگر در محلول پالادیوم (II)

سیگنال تجزیه‌ای	مرتبه بازیافت
۰/۰۷۰	۱
۰/۰۵۲	۲
۰/۰۳۷	۳

در ادامه برای بررسی بازیابی حسگرهای ساخته شده، از محلول‌های بازیابی کننده مختلفی استفاده شد. محلول بازیابی کننده بایستی به گونه‌ای باشد که بتواند کمپلکس احتمالی تشکیل شده میان گلوکاتایون و پالادیوم در سطح حسگر را از بشکند. به منظور بررسی محلول بازیابی کننده، پس از ثبت جذب اولیه حسگر در طول موج ۶۶۰ نانومتر درون محلول شاهد، از آن حسگر برای اندازه‌گیری سیگنال محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتایون استفاده گردید. پس از آن، همان حسگر درون محلول‌های بازیابی کننده مختلف از جمله محلول سود، هیدروکلریک اسید و تیواوره قرار گرفت. در ادامه پس از شستشوی حسگر، درون محلول پالادیوم ۲۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر قرار داده شد و پس از رسیدن جذب اولیه حسگر، مجدداً از همان حسگر برای ثبت سیگنال محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتایون استفاده گردید ولی باز هم مشاهده شد سیگنال حسگر در استفاده‌های بعدی کاهش می‌یابد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت حسگر ساخته شده به دلیل اینکه کمپلکس احتمالی تشکیل شده میان گلوکاتایون و پالادیوم در سطح حسگر شکسته نمی‌شود، قابل بازیابی نبوده و فقط یکبار می‌توان از آن استفاده کرد.

۳-۱۳- بررسی اثر مزاحمت‌ها

یکی از مهم‌ترین مراحل در توسعه یک روش تجزیه‌ای بررسی مزاحمت احتمالی گونه‌های مختلف در اندازه‌گیری گونه مورد نظر به منظور استفاده از آن در تجزیه نمونه‌های حقیقی است. برای تعیین میزان گزینش‌پذیری روش، اثر گونه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت و غلظت مجاز این گونه‌ها در حضور گلوکاتایون مشخص شد. بدین منظور محلول گلوکاتایون با غلظت ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر انتخاب شد و با استفاده از حسگرهای ساخته شده در شرایط بهینه، اندازه‌گیری این محلول مطابق روش ذکر شده در بخش (۳-۷) پنج بار تکرار گردید و سیگنال‌های تجزیه‌ای حاصل ثبت شد. سپس میانگین (\bar{x}) و انحراف استاندارد (s) سیگنال‌های تجزیه‌ای در غیاب گونه‌های مزاحم محاسبه گردید. برای بررسی مزاحمت‌های احتمالی، سیگنال تجزیه‌ای با استفاده از حسگرهای ساخته شده در

شرایط بهینه، در محلول‌های آبی حاوی گلوکاتایون با غلظت ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر و گونه مورد نظر با غلظت ۱۰^۴ میلی‌گرم بر لیتر ثبت شد. اگر سیگنال تجزیه‌ای حاصل، در محدوده $\bar{x} \pm 3s$ قرار بگیرد، به این معناست که گونه مورد نظر در این غلظت مزاحم نمی‌باشد. در غیر این صورت غلظت گونه مورد نظر مرتباً کاهش می‌یابد تا مزاحمت مشاهده نشود. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۲۹) آورده شده است. همانطور که در جدول نشان داده شده است، آنیون تیوسیانات و کاتیون Cu^{2+} مزاحمت جدی در اندازه‌گیری گلوکاتایون ایجاد می‌کنند. کاتیون Cu^{+2} به دلیل تشکیل کمپلکس با شناساگر TAN تثبیت شده در روی حسگر، مانع از واکنش دادن گلوکاتایون با پالادیوم در سطح حسگر می‌شوند. در نتیجه سیگنال تجزیه‌ای در حضور این کاتیون کاهش می‌یابد. آنیون تیوسیانات نیز به دلیل واکنش دادن با پالادیوم موجود در سطح حسگر، باعث افزایش سیگنال تجزیه‌ای می‌شوند. اثر مزاحمت کاتیون Cu^{2+} با اضافه کردن EDTA به محلول گلوکاتایون، به گونه‌ای که غلظت آن در بالن حجمی ده میلی‌لیتری برابر با ۸۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باشد، تا غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر این کاتیون برطرف گردید.

جدول (۳-۲۹): نتایج حاصل از بررسی اثر گونه‌های مزاحم در اندازه‌گیری محلول ۱۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتایون

حد مجاز غلظت گونه به غلظت گلوکاتایون	گونه‌های مورد بررسی
۱۰۰۰	$\text{Na}^+, \text{K}^+, \text{Ca}^{2+}, \text{Ba}^{2+}, \text{Al}^{3+}, \text{NO}_3^-, \text{SO}_4^{2-}$
۸۰۰	آسکوربیک اسید، اسید سیتریک، تارتاریک اسید، اوره، گلوکز، Mg^{2+} Zn^{2+} EDTA
۴۰۰	فرمات
۲۰۰	آلانین، Cd^{2+}
۱۰۰	$\text{Fe}^{3+}, \text{Br}^-$
۸۰	Cl^-
۵۰	F^-
۲۰	$\text{Co}^{2+}, \text{Ni}^{2+}, \text{Mn}^{2+}$
۱	$\text{SCN}^-, \text{Cu}^{2+}$

۳-۱۴- کاربرد روش در اندازه‌گیری گلوکوتایون در نمونه‌های حقیقی

به منظور بررسی کارایی حسگر پیشنهادی برای اندازه‌گیری گلوکوتایون در نمونه‌های حقیقی، نمونه‌های آب شهر و سرم خون مورد استفاده قرار گرفت.

در تهیه نمونه‌های آب شهر، از آب شهر شاهرود به عنوان بافت ثابت نمونه استفاده شد. روش کار به این صورت بود که سه غلظت از محلول گلوکوتایون در محدوده خطی منحنی کالیبراسیون انتخاب گردید و محلول‌های مادر گلوکوتایون به گونه‌ای تهیه شد که با افزودن نیم میلی‌لیتر از آن‌ها به بالن حجمی ده میلی‌لیتری، غلظت‌های مورد نظر حاصل شود. در ادامه پس از افزودن یک میلی‌لیتر بافر سیترات‌ی در $\text{pH} = 6.00$ ، آن محلول‌ها با آب شهر به حجم رسانده شد. در نهایت هر یک از نمونه‌های آب شهر به صورت جداگانه با استفاده از حسگرهای ساخته شده در شرایط بهینه، در زمان‌های پاسخ ۱۰ و ۱۵ دقیقه مورد تجزیه قرار گرفتند و گلوکوتایون موجود در آن‌ها اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری هر کدام از نمونه‌ها سه بار تکرار گردید و سیگنال‌های حاصل در معادلات منحنی کالیبراسیون قرار گرفته و غلظت گلوکوتایون به دست آمد. نتایج حاصل از این اندازه‌گیری در جدول (۳-۳۰) و (۳-۳۱) نشان داده شده است.

جدول (۳-۳۰): نتایج حاصل از اندازه‌گیری گلوکوتایون در آب شهر شاهرود در زمان پاسخ ۱۰ دقیقه

گلوکوتایون اضافه شده (میلی گرم بر لیتر)	گلوکوتایون اندازه‌گیری شده* (میلی گرم بر لیتر)	% RSD (n = 3)	نتایج آزمون t	درصد بازیابی	میلی گرم بر لیتر گلوکوتایون در نمونه اولیه
-	< LOD	-	-	-	-
۲/۵۰	$2/40 \pm 0/20$	۸/۳۳	۰/۸۶۵	۹۴/۸	-
۱۰/۰	$9/80 \pm 0/15$	۱/۵۳	۲/۳۰	۹۸/۰	-
۲۰/۰	$19/7 \pm 0/55$	۲/۸۰	۰/۹۴۴	۹۸/۵	-

* مقدار میانگین \pm انحراف استاندارد سه اندازه‌گیری تکراری

جدول (۳-۳۱): نتایج حاصل از اندازه‌گیری گلوکاتایون در آب شهر شاهرود در زمان پاسخ ۱۵ دقیقه

گلوکاتایون اضافه شده (میلی گرم بر لیتر)	گلوکاتایون اندازه‌گیری شده* (میلی گرم بر لیتر)	% RSD (n = 3)	نتایج آزمون t	درصد بازیابی	میلی گرم بر لیتر گلوکاتایون در نمونه اولیه
-	< LOD	-	-	-	-
۲/۵۰	۲/۷۰ ± ۰/۲۱	۷/۷۷	۱/۶۴	۱۰۸	-
۱۰/۰	۱۰/۲ ± ۰/۴۲	۴/۱۱	۰/۸۲۴	۱۰۲	-
۲۰/۰	۱۹/۶ ± ۰/۴۹	۲/۵۰	۱/۴۱	۹۸/۰	-

* مقدار میانگین ± انحراف استاندارد سه اندازه‌گیری تکراری

نحوه آماده سازی سرم به این صورت بود که ابتدا ۰/۶۰ میلی لیتر استونیتریل به یک میلی لیتر سرم به منظور جدا کردن پروتئین‌های موجود در آن اضافه گردید و با آب مقطر به حجم ده میلی لیتر رسانده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت [۵۶]. سپس یک میلی لیتر از محلول رویی آن برداشته و به بالن حجمی ده میلی لیتری اضافه گردید. در ادامه پس از انتخاب سه غلظت از ناحیه خطی منحنی کالیبراسیون، میزان مناسبی از محلول مادر گلوکاتایون و یک میلی لیتر بافر سیتراتی در pH = ۶/۰۰ به بالن حجمی ده میلی لیتری اضافه گردید و محلول با آب مقطر به حجم رسانده شد و با استفاده از حسگرهای تهیه شده در شرایط بهینه، گلوکاتایون موجود در نمونه‌های تهیه شده مطابق روش ذکر شده در بخش (۳-۷) در زمان‌های پاسخ ۱۰ و ۱۵ دقیقه اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری در هر غلظت سه بار تکرار گردید که نتایج آن در جدول (۳-۳۲) و (۳-۳۳) آورده شده است.

جدول (۳-۳۲): نتایج حاصل از اندازه‌گیری گلوکاتیون در سرم خون در زمان پاسخ ۱۰ دقیقه

گلوکاتیون اضافه شده (میلی گرم بر لیتر)	گلوکاتیون اندازه‌گیری شده* (میلی گرم بر لیتر)	% RSD (n = 3)	نتایج آزمون t	درصد بازیابی	میلی گرم بر لیتر گلوکاتیون در نمونه اولیه
-	< LOD	-	-	-	-
۲/۵۰	۲/۴۷±۰/۱۵	۶/۱۰	۰/۳۵۰	۹۸/۸	-
۱۰/۰	۹/۸۰±۰/۴۴	۴/۵۰	۰/۷۸۶	۹۸/۰	-
۲۰/۰	۱۹/۸۰±۰/۵۸	۲/۹۳	۰/۵۹۶	۹۸/۹	-

* مقدار میانگین ± انحراف استاندارد سه اندازه‌گیری تکراری

جدول (۳-۳۳): نتایج حاصل از اندازه‌گیری گلوکاتیون در سرم خون در زمان پاسخ ۱۵ دقیقه

گلوکاتیون اضافه شده (میلی گرم بر لیتر)	گلوکاتیون اندازه‌گیری شده* (میلی گرم بر لیتر)	% RSD (n = 3)	نتایج آزمون t	درصد بازیابی	میلی گرم بر لیتر گلوکاتیون در نمونه اولیه
-	< LOD	-	-	-	-
۲/۵۰	۲/۴۱±۰/۱۷	۷/۱۰	۰/۹۱۶	۹۶/۴	-
۱۰/۰	۹/۸۰±۰/۵۷	۵/۸۰	۰/۶۰۷	۹۸/۰	-
۲۰/۰	۱۹/۵±۰/۶۰	۳/۱۰	۱/۴۴	۹۷/۵	-

* مقدار میانگین ± انحراف استاندارد سه اندازه‌گیری تکراری

مقدار t بحرانی برای سه اندازه‌گیری تکراری و سطح اطمینان ۹۵ درصد، برابر با ۴/۳۰ می‌باشد. از مقایسه مقادیر t محاسبه شده با مقدار t بحرانی و نیز با توجه به درصد‌های بازیابی برای هر غلظت، می‌توان نتیجه گرفت روش پیشنهادی دارای صحت خوبی برای اندازه‌گیری گلوکاتیون در نمونه‌های حقیقی می‌باشد.

فصل چهارم

بحث و نتیجه گیری

در طول دو دهه گذشته توسعه و کاربرد حسگرهای نوری (اپتودها)، به سرعت در حال رشد بوده است. این حسگرها برای اندازه‌گیری آنالیت‌های گوناگون مانند کاتیون‌ها، آنیون‌ها و گونه‌های خنثی و گازی به کار برده شده‌اند. توسعه حسگرهای نوری در شیمی تجزیه به دلیل کاربردهای متنوع آن‌ها و نیز مزایای این حسگرها از جمله اندازه کوچک، نداشتن مزاحمت‌های الکتریکی، قیمت پایین، ساخت آسان، حساسیت و گزینش‌پذیری خوب و غیره، بسیار مفید می‌باشد.

همان‌طور که در فصل دوم بیان شد، حسگرهای شیمیایی نوری به دو گروه حسگرهای مستقیم و حسگرهای دارای معرف‌های واسطه تقسیم می‌شوند. اساس کار حسگرهای دارای معرف‌های واسطه به این صورت است که یک شناساگر در یک فاز جامد تثبیت می‌شود تا بتواند با آنالیت برهم‌کنش داشته باشد. به این منظور، از غشاهای پلیمری به عنوان یک تکیه‌گاه (فاز جامد) برای تثبیت شناساگرها استفاده می‌شود.

۴-۱- حسگر پیشنهادی برای اندازه‌گیری گلوکاتیون

از میان پلیمرهای متنوع مورد استفاده در حسگرهای نوری، می‌توان از مشتقات سلولز از جمله تری استیل سلولز به عنوان بستر پلیمری مناسب، استفاده کرد. از جمله دلایل استفاده از این فیلم‌های پلیمری می‌توان به قیمت ارزان و مناسب آن‌ها، نفوذپذیری بالای این پلیمرها نسبت به آب و ظرفیت بالای جذب واکنشگر به دلیل وجود تعداد زیادی از گروه‌های هیدروکسیل در سطح آن‌ها، اشاره کرد. شکل (۳-۱) ساختار شیمیایی تری استیل سلولز را نمایش می‌دهد. در این پروژه، غشای تری استیل سلولز برای تثبیت شناساگر مورد استفاده قرار گرفته که از فیلم‌های عکاسی باطله تهیه می‌گردد. هم‌چنین واکنشگر ۱- (۲- تیاژولیل آزو) -۲- نفتول (TAN) که ساختمان آن در شکل (۳-۲) نشان داده شده است، به عنوان شناساگر مورد استفاده قرار گرفته است. طیف جذبی واکنشگر TAN در حالت‌های محلول و تثبیت شده بر روی حسگر، در شکل (۳-۳) نشان داده شده است. همان‌طور که در فصل دوم بیان شد، واکنشگر TAN در حضور اتیلن دی آمین می‌تواند از طریق جذب سطحی بر روی

سطح فیلم پلیمری تثبیت شود.

همانطور که در فصل سوم بیان شد، در حضور محلول پالادیوم (II) به علت تشکیل کمپلکس میان واکنشگر TAN تثبیت شده بر روی حسگر و یون‌های پالادیوم (II)، باند جذبی در طول موج‌های ۶۶۰ و ۷۲۸ نانومتر افزایش می‌یابد (شکل ۳-۴). در حضور گلوکاتینون، به علت واکنش بین آن و پالادیوم موجود در سطح حسگر، باند جذبی در طول موج‌های ۶۶۰ و ۷۲۸ نانومتر مربوط به کمپلکس Pd-TAN تشکیل شده بر روی حسگر، کاهش می‌یابد (شکل ۳-۵). نتایج موجود در جدول (۳-۲) نشان می‌دهند، سیگنال تجزیه‌ای و در نتیجه حساسیت حسگر در طول موج ۶۶۰ نانومتر بیشتر از طول موج ۷۲۸ نانومتر می‌باشد. بنابراین از تغییرات جذب در طول موج ۶۶۰ نانومتر به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در تمام اندازه‌گیری‌ها استفاده گردید.

۲-۴- بررسی و بهینه سازی پارامترها

در این پروژه، به منظور دستیابی به بالاترین حساسیت، اثر پارامترهای مختلف (زمان هیدرولیز، غلظت محلول TAN، زمان تثبیت واکنشگر TAN، غلظت محلول پالادیوم (II)، غلظت HCl، مدت زمانی که حسگر درون محلول پالادیوم (II) قرار می‌گیرد، pH اندازه‌گیری، نوع و حجم بافر، قدرت یونی و زمان پاسخ)، به روش بهینه سازی تک متغیره، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این بررسی در بخش (۳-۸-۱۳) بیان شده است.

۳-۴- ارقام شایستگی روش^۱

همانطور که در بخش (۳-۶) بیان شد، از طول موج ۶۶۰ نانومتر، برای اندازه‌گیری سیگنال تجزیه‌ای و رسم منحنی کالیبراسیون استفاده گردید. نتایج حاصل از منحنی کالیبراسیون در جدول (۳-۱۶) نشان می‌دهند، در زمان‌های پاسخ مختلف در محدوده غلظتی ۲۲/۰ - ۱/۵۰ میلی‌گرم بر لیتر

1- Figure of merit

گلوکاتایون، رابطه خطی خوبی بین غلظت گلوکاتایون و سیگنال تجزیه‌ای وجود دارد. معادلات رگرسیون مربوطه و مقادیر ضرایب تعیین در جدول (۳-۱۷) آورده شده است. همچنین حد تشخیص روش در زمان‌های پاسخ مختلف در جدول (۳-۱۸) نشان داده شده است.

مقدار انحراف استاندارد نسبی برای ۵ اندازه‌گیری تکراری غلظت‌های ۲/۵۰، ۱۰/۰ و ۲۰/۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکاتایون در زمان‌های پاسخ مختلف در جدول (۳-۱۹) نشان داده شده است که نشان دهنده دقت خوب روش است. به منظور بررسی صحت روش از آزمون t استفاده گردید و کوچک‌تر بودن مقادیر t محاسبه شده از مقدار t بحرانی، عدم وجود خطای سیستماتیک و صحت خوب روش را نشان می‌دهد.

۴-۴- بررسی مشخصه‌های حسگرهای ساخته شده

جداول (۳-۲۰) و (۳-۲۱)، نشان دهنده بررسی تکثیرپذیری و تکرارپذیری حسگرهای ساخته شده می‌باشند که با ساختن ۳۲ حسگر طی ۴ روز متفاوت (هر روز ۸ حسگر) حاصل شده است. با توجه به نتایج موجود در بخش ۳-۱۲-۱، با بکار بردن آزمون F، اثبات گردید حسگرها دارای تکرارپذیری و تکثیرپذیری مناسب می‌باشند.

اگر حسگرهای ساخته شده پس از اندازه‌گیری گلوکاتایون، در محلول اسید نیتریک ۰/۰۰۵ مولار قرار گیرند، با توجه به نتایج موجود در جدول (۳-۲۴) تا دو هفته پایدار می‌باشند. این نتایج نشان می‌دهند حسگرهای ساخته شده از پایداری خوبی برخوردار می‌باشند.

برای بررسی زمان عمر حسگرهای ساخته شده، از محلول‌های مختلف از جمله بافر فسفاتی با pH=۴/۰۰، اسید نیتریک ۰/۰۰۵ مولار و محلول حاوی اسید نیتریک ۰/۰۰۵ مولار و ۵/۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پالادیوم (II) استفاده شد که نتایج تجربی حاصل در بخش (۳-۱۲-۳) نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهند که سیگنال تجزیه‌ای حسگرهای نگهداری شده در محلول‌های مختلف بین ۱۰

روز تا ۱۴ روز تقریباً ثابت بوده است. بنابراین می توان نتیجه گرفت حسگرهای تهیه شده زمان عمر خوبی داشته و می توان از آن ها برای انجام کارهای تجزیه ای استفاده نمود.

برای بررسی بازیابی و برگشت پذیری حسگرهای ساخته شده، از محلول پالادیوم (II) با غلظت ۲۵/۰ میلی گرم بر لیتر که نسبت به هیدروکلریک اسید ۰/۰۱۰ مولار بود، استفاده شد. اما مشاهده گردید حسگرها قابل بازیابی نبوده و در نتیجه از هر حسگر فقط یکبار می توان استفاده نمود.

۴-۵- بررسی اثر مزاحمت ها

نتایج موجود در جدول (۳-۲۹)، بیانگر کارایی حسگر ساخته شده در اندازه گیری گلوکاتایون در حضور کاتیون ها، آنیون ها و ترکیبات مختلف می باشد. نتایج نشان می دهند فقط کاتیون Cu^{2+} و آنیون تیوسیونات مزاحمت جدی در اندازه گیری گلوکاتایون ایجاد می کنند که مزاحمت کاتیون Cu^{2+} با افزودن EDTA به محلول برطرف می گردد. بنابراین روش پیشنهادی از گزینش پذیری خوبی برخوردار می باشد.

۴-۶- تجزیه نمونه های حقیقی

به منظور بررسی قابلیت حسگر ساخته شده در اندازه گیری گلوکاتایون در نمونه های حقیقی، از نمونه های آب شهر شاهرود و سرم خون انسان استفاده گردید و نتایج حاصل از آن در جداول (۳-۳۱) تا (۳-۳۴) نشان داده شده است. این نتایج نشان می دهند که روش پیشنهادی از دقت و صحت خوبی در اندازه گیری گلوکاتایون در نمونه های حقیقی برخوردار است.

۴-۷- مقایسه حسگر نوری پیشنهادی با سایر روش ها برای اندازه گیری گلوکاتایون

بر اساس بررسی های انجام شده، اندازه گیری گلوکاتایون توسط حسگرهای ساخته شده با استفاده از فیلم های باطله عکاسی، تا کنون گزارش نشده و برای اولین بار در این پروژه انجام گرفته است.

جدول (۱-۴) مقایسه روش پیشنهادی با برخی روش‌های دیگر برای اندازه‌گیری گلوکاتینون را نشان می‌دهد. روش پیشنهادی نسبت به روش‌های گزارش شده دارای حدتشخیص بهتری در زمان‌های پاسخ ۱۵ دقیقه و بالاتر می‌باشد. حدتشخیص روش پیشنهادی در جدول (۱-۴)، در زمان ۱۵ دقیقه گزارش شده است.

جدول (۱-۴): مقایسه روش پیشنهادی با روش‌های گزارش شده در اندازه‌گیری گلوکاتینون

مرجع	روش اندازه‌گیری	حدتشخیص (میکرومولار)	ناحیه خطی (میکرومولار)
روش پیشنهادی	اسپکتروفتومتری	۲/۹۲	۴/۸۸ - ۷۱/۶
۱۸	اسپکتروفتومتری	۳/۳۰	۵/۰۰ - ۲۰۰
۵۷	الکتروشیمیایی	۱۳/۲	---

۴-۸- نتیجه گیری

در سال‌های اخیر مطالعه در زمینه حسگرهای نوری و گسترش این روش‌ها در شیمی تجزیه به دلیل فواید بسیار آن‌ها مورد توجه زیادی قرار گرفته است. در این پروژه برای اولین بار از یک حسگر نوری جدید برای اندازه‌گیری گلوکاتینون استفاده شده است. آماده سازی حسگر نوری استفاده شده در این پروژه، سریع و آسان بوده و ساخت آن در مدت زمان کوتاهی انجام می‌گیرد. همچنین روش پیشنهادی به وسایل و دستگاه‌های ساده و ارزان برای اندازه‌گیری گلوکاتینون نیاز دارد.

۴-۹- آینده نگری

با استفاده از حسگر ساخته شده، می‌توان گلوکاتینون را در آب و نمونه‌های بیولوژیکی مانند سرم خون انسان اندازه‌گیری نمود. همچنین می‌توان از این روش، برای اندازه‌گیری نمونه‌هایی با خصوصیات مشابه گلوکاتینون که می‌توانند با پالادیوم واکنش دهند، استفاده کرد. با تثبیت شناساگرهای مختلف بر روی فیلم پلیمری، امکان اندازه‌گیری همزمان گونه‌های مختلف فراهم می‌شود. از اهداف دیگری که از این پروژه می‌توان دنبال کرد، ساخت حسگرهای تجاری و قابل حمل می‌باشد.

- [1]. E.-C. Tsardaka, C.K. Zacharis, P.D. Tzanavaras, A. Zotou (2013) "Determination of glutathione in baker's yeast by capillary electrophoresis using methyl propiolate as derivatizing reagent" **J. of Chromatogr A**, 1300, pp 204-208.
- [2]. L. Janeš, K. Lisjak, A. Vanzo (2010) "Determination of glutathione content in grape juice and wine by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection" **Anal. Chim. Acta**, 674, 2, pp 239-242.
- [3]. A.A. Ensafi, H. Karimi-Maleh, S. Mallakpour (2013) "A new strategy for the selective determination of glutathione in the presence of nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) using a novel modified carbon nanotube paste electrode" **Colloid. Surfaces.B.**, 104, pp 186-193.
- [4]. A. Waskiewicz, O. Gladysz, K. Szentner, P. Golinski (2014), "Oxidative damage to plants, Antioxidant networks and signaling", P. Ahmad (ed.), **Elsevier**, pp. 149-182.
- [5]. D.M. Townsend, K.D. Tew, H. Tapiero (2003) "The importance of glutathione in human disease" **Biomed. Pharmacother.**, 57, 3, pp 145-155.
- [6]. J.-B. Raoof, R. Ojani, M. Baghayeri (2009) "Simultaneous electrochemical determination of glutathione and tryptophan on a nano-TiO₂/ferrocene carboxylic acid modified carbon paste electrode" **Sensor. Actuat. B-Chem.**, 143, 1, pp 261-269.
- [7]. T. Schnelldorfer, S. Gansauge, F. Gansauge, S. Schlosser, H.G. Beger, A.K. Nussler (2000) "Glutathione depletion causes cell growth inhibition and enhanced apoptosis in pancreatic cancer cells" **Cancer**, 89, 7, pp 1440-1447.
- [8]. H. Karimi-Maleh, F. Tahernejad-Javazmi, A.A. Ensafi, R. Moradi, S. Mallakpour, H. Beitollahi (2014) "A high sensitive biosensor based on FePt/CNTs nanocomposite/N-(4-hydroxyphenyl)-3, 5-dinitrobenzamide modified carbon paste electrode for simultaneous determination of glutathione and piroxicam" **Biosens. Bioelectron.**, 60, pp 1-7.
- [9]. J. Ru, J. Du, D.-D. Qin, B.-M. Huang, Z.-H. Xue, X.-B. Zhou, X.-Q. Lu (2013) "An electrochemical glutathione biosensor: Ubiquinone as a transducer" **Talanta**, 110, pp 15-20.
- [10]. N. Chauhan, J. Narang, C. Pundir (2012) "An amperometric glutathione biosensor based on chitosan-iron coated gold nanoparticles modified Pt electrode" **Int. J. Biol. Macromol.**, 51, 5, pp 879-886.

- [11]. P. Calvo-Marzal, K.Y. Chumbimuni-Torres, N.F. Höehr, L.T. Kubota (2006) "Determination of glutathione in hemolysed erythrocyte with amperometric sensor based on TTF-TCNQ" **Clin. Chim. acta**, 371, 1, pp 152-158.
- [12]. H.-H. Cai, H. Wang, J. Wang, W. Wei, P.-H. Yang, J. Cai (2012) "Naked eye detection of glutathione in living cells using rhodamine B-functionalized gold nanoparticles coupled with FRET" **Dyes. Pigments.**, 92, 1, pp 778-782.
- [13]. P. Ni, Y. Sun, H. Dai, J. Hu, S. Jiang, Y. Wang, Z. Li (2015) "Highly sensitive and selective colorimetric detection of glutathione based on Ag [I] ion-3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine (TMB)" **Biosens. Bioelectron.**, 63, pp 47-52.
- [14]. M.R. Shahmiri, A. Bahari, H. Karimi-Maleh, R. Hosseinzadeh, N. Mirnia (2013) "Ethynylferrocene-NiO/MWCNT nanocomposite modified carbon paste electrode as a novel voltammetric sensor for simultaneous determination of glutathione and acetaminophen" **Sensor. Actuat. B-Chem.**, 177, pp 70-77.
- [15]. L. Rover, L.T. Kubota, N.F. Höehr (2001) "Development of an amperometric biosensor based on glutathione peroxidase immobilized in a carbodiimide matrix for the analysis of reduced glutathione from serum" **Clin. Chim. Acta**, 308, 1, pp 55-67.
- [16]. B. Han, J. Yuan, E. Wang (2009) "Sensitive and selective sensor for biothiols in the cell based on the recovered fluorescence of the CdTe quantum dots- Hg (II) system" **Anal. Chem.**, 81, 13, pp 5569-5573.
- [17]. B. Han, E. Wang (2011) "Oligonucleotide-stabilized fluorescent silver nanoclusters for sensitive detection of biothiols in biological fluids" **Biosens. and Bioelectron.**, 26, 5, pp 2585-2589.
- [۱۸]. قلی نژاد ملک‌شاه م، (۱۳۹۰)، پایان نامه ارشد: "اندازه‌گیری الکتروشیمیایی ساده و سریع کاپتوپریل و گلووتاتیون"، دانشکده شیمی، دانشگاه شاهرود.
- [19]. M. Hormozi-Nezhad, E. Seyedhosseini, H. Robotjazi (2012) "Spectrophotometric determination of glutathione and cysteine based on aggregation of colloidal gold nanoparticles" **Sci. Iran.**, 19, 3, pp 958-963.
- [20]. K. Güçlü, M. Özyürek, N. Güngör, S. Baki, R. Apak (2013) "Selective optical sensing of biothiols with Ellman's reagent: 5, 5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoic acid)-modified gold nanoparticles" **Anal. Chim. Acta**, 794, pp 90-98.

- [21]. X. Liu, Q. Wang, Y. Zhang, L. Zhang, Y. Su, Y. Lv (2013) "Colorimetric detection of glutathione in human blood serum based on the reduction of oxidized TMB" **New J. Chem.**, 37, 7, pp 2174-2178.
- [22]. M. Keyvanfard, H. Karimi-Maleh, K. Alizad (2013) "Multiwall carbon nanotube paste electrode with 3, 4-dihydroxy-cinnamic acid as mediator for the determination of glutathione in pharmaceutical and urine samples" **Chinese J. Catal.**, 34, 10, pp 1883-1889.
- [23]. M. Shamsipur, A. Safavi, Z. Mohammadpour (2014) "Indirect colorimetric detection of glutathione based on its radical restoration ability using carbon nanodots as nanozymes" **Sensor. Actuat. B-Chem.**, 199, pp 463-469.
- [24]. Y. Shi, Y. Pan, H. Zhang, Z. Zhang, M.-J. Li, C. Yi, M. Yang (2014) "A dual-mode nanosensor based on carbon quantum dots and gold nanoparticles for discriminative detection of glutathione in human plasma" **Biosens. and Bioelectron.**, 56, pp 39-45.
- [25]. P. Gründler (2007), "Chemical sensors: an introduction for scientists and engineers" **Springer Science & Business Media**, Berlin.
- [26]. J. Janata, A. Bezech (1998) "Chemical sensors" **Anal. Chem.**, 60, 12, pp 62R-74R.
- [27]. A. Hulanicki, S. Glab, F. Ingman (1991) "Chemical sensors: definitions and classification" **Pure. Appl. Chem.**, 63, 9, pp 1247-1250.
- [28]. سلطان پناه س، (۱۳۸۶)، پایان نامه ارشد: "ساخت و تعیین خصوصیات حسگرهای نوری برای اندازه‌گیری مقادیر کم مس (II) با استفاده از یک لیگاند جدید و اندازه‌گیری مقادیر کم سیانید با استفاده از واکنشگر کریستال ویولت"، دانشکده شیمی، دانشگاه شاهرود.
- [29]. J.X. Zhang, K. Hoshino (2013) "Molecular Sensors and Nanodevices: Principles, Designs and Applications in Biomedical Engineering" **William Andrew**, United states of America, pp. 169-239.
- [30]. J. Janata, M. Josowicz, D.M. DeVaney (1994) "Chemical sensors" **Anal. Chem.**, 66, 12, pp 207R-228R.
- [31]. J.R. Stetter, W.R. Penrose, S. Yao (2003) "Sensors, chemical sensors, electrochemical sensors, and ECS" **J. Electrochem. Soc.**, 150, 2, pp S11-S16.
- [32]. M. Fouladgar, A.A. Ensafi (2010) "A novel optical chemical sensor for thallium (III) determination using 4-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-(diethylamino)-phenol" **Sensor. Actuat. B-Chem.**, 143, 2, pp 590-594.

- [33]. A. Lobnik, M. Turel, Š.K. Urek, (2012), “Advances in chemical sensors”, prof. W. Wang (ed.), **In-Tech**, pp. 1-28.
- [34]. Mayr T., (2002), Phd thesis, “Optical Sensors for the Determination of Heavy Metal Ions” Chem. and pharm. depart., Regensburg university.
- [35]. P.C. Jerónimo, A.N. Araújo, M.C.B. Montenegro (2007) “Optical sensors and biosensors based on sol–gel films” **Talanta**, 72, 1, pp 13-27.
- [36]. A. Afkhami, N. Sarlak (2007) “Design and characteristics of a sulfide and sulfite optode based on immobilization of methyl violet on a triacetylcellulose membrane” **Sensor. Actuat. B-Chem.**, 124, 2, pp 285-289.
- [37]. A. Lukowiak, W. Strek (2009) “Sensing abilities of materials prepared by sol–gel technology” **J. Sol-Gel sci. Techn.**, 50, 2, pp 201-215.
- [38]. H.H. Qazi, A.B.b. Mohammad, M. Akram (2012) “Recent progress in optical chemical sensors” **Sensors**, 12, 12, pp 16522-16556.
- [39]. C. McDonagh, C.S. Burke, B.D. MacCraith (2008) “Optical chemical sensors” **Chem. Rev.**, 108, 2, pp 400-422.
- [40]. E.M. Carstea, A. Baker, M. Bieroza, D. Reynolds (2010) “Continuous fluorescence excitation–emission matrix monitoring of river organic matter” **Water Res.**, 44, 18, pp 5356-5366.
- [41]. C.A. Stedmon, B. Seredyńska-Sobecka, R. Boe-Hansen, N. Le Tallec, C.K. Waul, E. Arvin (2011) “A potential approach for monitoring drinking water quality from groundwater systems using organic matter fluorescence as an early warning for contamination events” **Water Res.**, 45, 18, pp 6030-6038.
- [42]. N. Blamey, J. Conliffe, J. Parnell, A. Ryder, M. Feely (2009) “Application of fluorescence lifetime measurements on single petroleum-bearing fluid inclusions to demonstrate multicharge history in petroleum reservoirs” **Geofluids**, 9, 4, pp 330-337.
- [43]. K. Kneipp, Y. Wang, H. Kneipp, L.T. Perelman, I. Itzkan, R.R. Dasari, M.S. Feld (1997) “Single molecule detection using surface-enhanced Raman scattering (SERS)” **Phys. Rev. Lett.**, 78, 9, pp 1667-1670.
- [44]. O.S. Wolfbeis (1997) “**Optical Fiber Sensors**”, J. Dakin, B. Culshaw (eds.), Vol. 6, Artech House, Boston-London, pp. 53-107.

[۴۵]. کاوبان ص ، (۱۳۸۹)، پایان نامه ارشد: "ساخت و تعیین خصوصیات یک حسگر نوری جدید برای اندازه گیری یون های پالادیوم (II) با استفاده از واکنشگر ۱-(۲-تiazولیل آزو)-۲-نفتول"، دانشکده شیمی، دانشگاه شاهرود.

[46]. A.A. Ensafi, A.K. Far, S. Meghdadi (2008) "Highly selective optical sensor for mercury assay based on covalent immobilization of 4-hydroxy salophen on a triacetylcellulose membrane" **Sensor. Actuat. B-Chem.**, 133, 1, pp 84-90.

[47]. A.T. Ram (1990) "Archival preservation of photographic films—a perspective" **Polym. Degrad. and Stabil.** 29, 1, pp 3-29.

[48]. M. Omar, G.G. Mohamed (2005) "Potentiometric, spectroscopic and thermal studies on the metal chelates of 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthalenol" **Spectrochim. Acta A**, 61, 5, pp 929-936.

[49]. Ž.D. Bugarčić, D.M. Jančić, A.A. Shoukry, M.M. Shoukry (2004) "Rate and equilibrium data for substitution reactions of [Pd (dien) Cl]⁺ with L-cysteine and glutathione in aqueous solution" **Monatsh. Chem.**, 135, 2, pp 151-160.

[50]. K. Krinulović, Ž. Bugarčić, M. Vrvic, D. Krstić, V. Vasić (2006) "Prevention and recovery of (μ 3-diethylentriamino)-chloro-palladium (II)-chloride induced inhibition of Na/K-ATPase by SH containing ligands—L-cysteine and glutathione" **Toxicol. in vitro**, 20, 8, pp 1992-1999.

[۵۱]. داگلاس سی. مونتگمری، (۱۳۸۶) "طراحی و تحلیل آزمایش ها"، جلد اول، مترجم ر. نورالسنا، چاپ اول، مرکز انتشارات دانشگاه علم و صنعت ایران، تهران، ص ۶.

[52]. J. Ru, J. Du, D.-D. Qin, B.-M. Huang, Z.-H. Xue, X.-B. Zhou, X.-Q. Lu (2013) "An electrochemical glutathione biosensor: Ubiquinone as a transducer" **Talanta**, 110, pp 15-20.

[53]. I. Squellerio, D. Caruso, B. Porro, F. Veglia, E. Tremoli, V. Cavalca (2012) "Direct glutathione quantification in human blood by LC-MS/MS: comparison with HPLC with electrochemical detection" **J. Pharmaceut. Biomed.**, 71, pp 111-118.

[54]. M. Arab Chamjangali, S. Soltanpanah, N. Goudarzi (2009) "Development and

characterization of a copper optical sensor based on immobilization of synthesized 1-phenyl-1, 2-propanedione-2-oxime thiosemicarbazone on a triacetylcellulose membrane” **Sensor. Actuat. B-Chem.**, 138, 1, pp 251-256.

[۵۵]. ج. ان. میلر و ج. سی. میلر، (۱۳۸۳) " آمار و کمومتریکس برای شیمی تجزیه "، ترجمه م. گلابی، چاپ سوم، انتشارات دانشگاه تبریز، تبریز.

[56]. Z.A. Alothman, N. Bukhari, S.M .Wabaidur, S. Haider (2010) “Simultaneous electrochemical determination of dopamine and acetaminophen using multiwall carbon nanotubes modified glassy carbon electrode” **Sensor. Actuat. B-Chem.**, 146, 1, pp 314-320.

[57]. T. Inoue, J.R. Kirchhoff (2000) “Electrochemical detection of thiols with a coenzyme pyrroloquinoline quinone modified electrode” **Anal. Chem.**, 72, 23, pp 5755-5760.

Abstract

In this study, an optical sensor for determination of glutathione has been developed. This optical sensor is prepared by immobilization of 1-(2-Thiazolylazo)-2-naphtol (TAN) on triacetylcellulose membrane and subsequently formation of palladium (II) complex with immobilized ligand. The response of sensor is based on the reaction of glutathione with palladium (II)-TAN complex. The decrease of the absorbance of Pd-TAN complex in the presence of glutathione was measured spectrophotometrically at 660 nm and used as analytical signal. Effects of important variables on the sensitivity of sensor were studied and optimized. Under the optimum conditions and 10, 15, 20 and 25 min response times, calibration curve was linear in the range of 1.50 – 22.0 mg L⁻¹ of glutathione and the 3 σ limit of detection was found 1.30, 0.90, 0.74 and 0.59 mg L⁻¹, respectively. The relative standard deviations for five replicate measurements of 2.50, 10.0 and 20.0 mg L⁻¹ of glutathione in 15 min, was 8.80 %, 7.60 % and 3.60 %, respectively. Also, the proposed sensor shows sufficient repeatability and reproducibility. Finally, this method was successfully applied for determination of glutathione in real samples including water, human serum samples with satisfactory results.

Keywords

Optical sensor, Spectrophotometric, Glutathione, Triacetylcellulose, 1-(2-Thiazolylazo)-2-naphtol, Palladium.



University of Shahrood

Faculty of chemistry

**Development and characterization of an optical sensor for
determination of glutathione**

Maliheh Shahnama

Supervisor:

Dr. M. Arab Chamjangali

Adviser:

Dr. Naser Goudarzi

September 2015