



## تشخیص و اندازه گیری اسید آسکوربیک به روش الکتروشیمیایی و امیدانس اسپکتروسکوپی در نمونه های غذایی با بهره گیری از حسگرهای اصلاح شده با نانوکامپوزیت پلاتین/گرافن

زهرا پورشعب فلاح<sup>۱</sup>، سید احمد شهیدی<sup>۱\*</sup>، مهدی بقایری<sup>۲</sup>، آزاده قربانی حسن سرایی<sup>۱</sup>، فرهوش کیانی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت ... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

<sup>۲</sup> گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران

<sup>۳</sup> گروه شیمی، واحد آیت ... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۴۰۴/۰۲/۱۹، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۴۰۴/۰۴/۲۵، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۴۰۴/۰۴/۲۹

### چکیده

در این پژوهش یک حسگر الکتروآنالیتیکی جدید بسیار حساس و قدرتمند از الکتروود خمیر کربن تقویت شده با نانوکامپوزیت پلاتین/گرافن کاهش یافته در دمای اتاق ساخته شده و برای تشخیص و تعیین ویتامین C در نمونه های محیطی و مواد غذایی استفاده شده است. اصلاح حسگر طراحی شده باعث افزایش چشمگیر سیگنال ویتامین C شده و شرایط را برای طراحی یک حسگر فوق حساس برای اندازه گیری با محدوده خطی ۰/۰۷ تا ۱۵۰ میکرومولار و حد تشخیص ۱۰ نانومولار ایجاد کرده است. از سوی دیگر، حضور کاتالیست نانوکامپوزیت پلاتین/گرافن کاهش یافته در سطح حسگر باعث شده است که سیگنال اکسیداسیون ویتامین C حدود ۳/۳۳ برابر بهبود یابد و پتانسیل اکسیداسیون آن ۶۰ میلی ولت کاهش یابد، که به معنای ایجاد حسگری با گزینش پذیری بالا و حد تشخیص مناسب است. در نهایت، حسگر اصلاح شده با نانوکامپوزیت پلاتین/گرافن کاهش یافته به عنوان یک ابزار تحلیلی عالی در پایش نمونه های واقعی مانند آب پرتقال و آب سیب مورد استفاده قرار گرفت. نتایج، توانایی حسگر اصلاح شده با نانوکامپوزیت پلاتین/گرافن را در سنجش ویتامین C کاملاً تأیید کرد.

واژه های کلیدی: ویتامین C، آنالیز مواد غذایی، پلاتین/گرافن، ولتامتری.

### ۱. مقدمه

ویتامین ها را می توان بسته به حلالیت به دو گروه تقسیم کرد، ویتامین های محلول در آب (ویتامین B، C) و ویتامین های محلول در چربی (ویتامین A، D، E، K) [۱]. هم ویتامین های محلول در چربی و هم ویتامین های محلول در آب جزء ضروری مصرف

\* عهده دار مکاتبات: سید احمد شهیدی

نشانی: گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت ... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

پست الکترونیک: sa.shahidi@iaua.ac.ir, sashahidy@yahoo.com

تلفن: ۰۱۱۴۳۲۱۷۰۸۷

روزانه غذای ما به منظور حفظ سلامت مطلوب هستند، زیرا نقش بسیار مهمی در عملکردهای حیاتی بدن ما مانند رشد و متابولیسم دارند. نقش ویتامین‌ها در مهار بسیاری از بیماری‌های مرتبط با کمبودها ثابت شده است [۲].

ویتامین C محلول در آب است و به دو شکل اسید ال اسکوربیک و اسید دهیدرو ال اسکوربیک وجود دارد [۳]. برای انسان، نیاز روزانه به ویتامین C باید از طریق غذا و مکمل‌های غذایی تأمین شود. خاصیت آنتی‌اکسیدانی عالی دارد و به بدن در خنثی کردن انواع عفونت‌ها و سموم کمک می‌کند. ویتامین C در بدن برای فرآیندهایی مانند سنتز کلاژن، بازسازی سایر آنتی‌اکسیدان‌ها، جذب آهن و بهبود زخم ضروری است [۴]. کمبود این ویتامین منجر به اسکوربوت (بیماری کشنده پوست) و آسیب ماکرومولکول‌های بیولوژیکی توسط رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال می‌شود [۵].

تعیین مقدار ویتامین‌های موجود در مواد غذایی و مکمل‌ها (غذاهای غنی شده و کپسول‌های ویتامین) به منظور اطمینان از تأمین مناسب این مواد مغذی ضروری برای بدن ضروری است [۶]. کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) به‌طور کلی برای تجزیه و تحلیل کمی و کیفی ویتامین‌های مختلف در فرمولاسیون‌های دارویی و غذایی استفاده می‌شود. علیرغم داشتن ویژگی‌های سودمند مانند حساسیت و ویژگی بالا، هزینه عملیاتی بالای آن و تأثیرات خطرناک محیطی حلال‌های آلی، جستجوی فناوری جایگزین سازگار با محیط‌زیست را ضروری می‌سازد [۷]. همگرایی نانو تکنولوژی با بیوتکنولوژی و فناوری اطلاعات، امکانات جدیدی را در نانو حسگرهای الکتروشیمیایی گشوده است. ادغام گرافن، طلا و نانوذرات مغناطیسی در دستگاه‌های حسگر، عملکردهای تحلیلی درخشانی را در تشخیص ویتامین‌ها ارائه کرده است [۸].

هدف از طراحی حسگرهای مختلف توسط گروه‌های تحقیقاتی مختلف، بهبود عملکردی است که می‌توان آن را با گزینش بسیار بالا و اختصاصی کردن آنالیت هدف و با بهبود حساسیت تشخیص داد. اصلاح حسگر باعث می‌شود که حسگرها برای آنالیت هدف بسیار انتخابی و اختصاصی شوند. فرآیند انتقال در سنجش الکتروشیمیایی نیز یکی از راه‌های بهبود عملکرد است. بسیاری از محققان از خواص نوری، الکترونیکی و کاتالیزوری منحصربه‌فرد نانو مواد برای بهبود فرآیند انتقال استفاده کرده‌اند. نانو ساختارهای مختلف مانند نانولوله (NT)، نانو ذرات (NP)، نانو الیاف (nF)، نانو میله‌ها (NR) و نانو کامپوزیت‌ها نشان داده‌اند که عملکرد حسگرها را افزایش می‌دهند [۹، ۱۰]. حساسیت، گزینش پذیری، LOD و زمان پاسخ حسگر همگی با استفاده از اصلاح حسگر بهبود می‌یابند.

برخی از روش‌های اصلی مورد استفاده برای تعیین ویتامین C عبارت‌اند از طیف‌سنجی [۱۱]، آمپرومتری [۱۲] و ولتامتری. الکترودهای خمیر کربن (CPEs) از جمله الکترودهای پرکاربردی هستند که برای سنجش مبتنی بر ولتامتری به دلیل قابلیت رسانایی و اصلاح عالی استفاده می‌شوند [۱۳]. الکترودهای CPE با لایه‌ای از هیدروکسی آپاتیت (HAP) عامل دار شدند و سپس با نانوذرات اکسید فلز (اکسید روی و اکسید پالادیوم) پوشش داده شدند و الکترودهای اصلاح شده حاصل برای تعیین ویتامین C استفاده شد [۱۴].

نانوساختارهای کمپلکس اکسید پالادیوم که بر روی HAP بر روی الکترودهای CPE پشتیبانی می‌شوند، افزایش راندمان کاتالیزوری را برای واکنش‌های اکسیداسیون با الکل به دلیل زیست سازگاری عالی، پایداری مکانیکی، تجزیه بیولوژیکی آهسته [۱۵] HAP و سطح بالای اکسیداسیون نشان داده‌اند [۱۶]. الکترودهای عامل اکسید روی پتانسیل اکسیداسیون افزایشی برای تشخیص ویتامین C به دلیل برهمکنش ویتامین C/ZnO که توسط گروه‌های کربوکسیلیک یا هیدروکسیل موجود در بیومولکول ویتامین C تسهیل می‌شود، نشان دادند [۱۷]. ولتاموگرام‌های به دست آمده توسط مطالعات ولتامتری حلقوی در محدوده پتانسیل ۰/۱ تا ۱/۵ V که روی الکترودهای HAP-ZnO-Pd/CPE همراه با سایر الکترودها (CPE اصلاح نشده و HAP/CPE) در حضور ویتامین C انجام شده است، پیک‌های اکسیداسیون را برای الکترودهای عامل دار نشان می‌دهد. اکسیداسیون بیشتر ویتامین C در سطح HAP CPE با افزایش جذب آنها به دلیل وجود نانوذرات اکسید روی در CPE کمک می‌کند [۱۴].

در پژوهش حاضر، حسگر اصلاح‌شده با الکترود نانوکامپوزیت به‌عنوان یک روش تجزیه‌ای قدرتمند برای سنجش و اندازه‌گیری ویتامین C در نمونه‌های غذایی طراحی و ساخته شد. این کار تأثیر اصلاح سازی الکترود بر کاهش مقاومت انتقال الکترون را بررسی کرده و توانایی روش‌های تجزیه‌ای برای اندازه‌گیری ترکیبات غذایی را نشان داد.

## ۲. مواد و روش تحقیق

### ۲-۱. دستگاه‌ها و مواد

دستگاه پتانسیواست/گالوانواستا Ivium vertex (هلند) برای ثبت سیگنال‌های تجزیه‌ای حاصل از برهمکنش ویتامین C در سطح الکترود و در محیط آبی بکار گرفته شد. در هنگام ثبت سیگنال از سل حاوی سه الکترود شامل: الکترود مرجع نقره/کلرید نقره (اشباع)، الکترود مخالف یا کمکی سیم پلاتین و خمیر کربن اصلاح‌شده با نانوکامپوزیت پلاتین/گرافن به‌عنوان الکترود کار استفاده شد.

برای ثابت نگه‌داشتن شرایط آزمایش و عدم ایجاد خطا و با توجه قابلیت بافر برای مقابله با تغییرات pH و همچنین تغییرات قدرت یونی محلول و کاهش مقاومت درونی، تمام آزمایش‌ها در بافر فسفات انجام شد. این بافر با توجه به گستردگی pH که می‌تواند ایجاد کند، انتخاب شد. غلظت بافر به کار گرفته شده برابر ۰/۱ مولار بوده و pHهای مورد نظر پس از محاسبه توسط معادله هندرسون هیزل‌باخ، توسط محلول‌های ۱ مولار فسفریک اسید و نمک‌های سدیمی اول، دوم و سوم آن با در نظر گرفتن pH مربوطه تهیه و سپس توسط pH متر تنظیم شدند.

محلول مادر ۰/۰۱ مولار ویتامین C به‌وسیله حل کردن ۰/۱۶ گرم ویتامین C در محلول آب دو بار تقطیرشده در ظرفی ۱۰ میلی‌لیتری تهیه و به‌عنوان محلول مادر به کار گرفته شد [۱۸] که تمام مراحل تحقیق به‌عنوان منبع آنالیت مورد استفاده قرار گرفت. مواد از جمله

پودر گرافیت، ویتامین C، فسفریک اسید و ... از شرکت سیگما آلدریچ خریداری شدند و در فرایند اندازه گیری الکتروشیمیایی مورد استفاده قرار گرفتند.

## ۲-۲. تهیه الکتروده الکتروشیمیایی اصلاح شده

برای تهیه الکتروده خمیر کربن اصلاح شده با نانو کامپوزیت گرافن/پلاتین جهت آنالیز ویتامین C مقدار ۰/۸۵ گرم پودر گرافیت و ۰/۱۵ گرم پلاتین در یک هاون دستی ریخته و با ساییدن، مخلوط شد. دی اتیل اتر به عنوان حلالی با فراریت بالا و برای ایجاد یکنواختی در مخلوط شدن جز جامد حس گر استفاده شد. از طرفی دی اتیل اتر به علت فراریت بالا و عدم اثربخشی شیمیایی بر اجزای موجود در ساخت حسگر گزینه مناسبی می باشد. عمل ساییدن اجزا الکتروده در هاون تا تبخیر کامل حلال (دی اتیل اتر) ادامه یافت. پس از خشک شدن کامل پودر، روغن پارافین به آهستگی به آن اضافه شده و بعد از هر مرحله اضافه شدن به مدت چندین دقیقه مخلوط ساییده شد تا خمیر کاملاً یکنواخت به دست آمد. خمیر کربن تهیه شده را به انتهای بازوی کاملاً صاف یک لوله شیشه‌ای وارد کرده و با مالیدن سطح بر روی یک ورق کاغذ گلاسه، سطح کاملاً صاف و یکنواختی حاصل گردید.

برای اتصال الکتریکی الکتروده، از یک سیم مسی استفاده شد که از یک طرف وارد لوله شیشه‌ای شده و با خمیر اتصال پیدا می کند و از طرف دیگر، توسط یک فیش به دستگاه الکتروشیمیایی مربوطه متصل می گردد. ساختار الکترودها مانند پیستون عمل کرده و به این طریق با فشار دادن سیم مسی موجود در لوله به طرف پایین، می توان خمیر کربن موجود در انتهای لوله را به راحتی از لوله خارج کرده و سطح الکتروده را تجدید نمود. اعداد بکار رفته در ساخت حسگر پس از بهینه سازی تعیین گردید [۱۹].

## ۲-۳. بررسی قابلیت حسگر اصلاح شده به عنوان حسگر تجزیه ای برای آنالیز ویتامین C

حسگر خمیر کربن طراحی شده و اصلاح شده جهت آنالیز ویتامین C بهینه سازی شد. بدین منظور، حسگرهای مختلف بر اساس طرح بهینه سازی با استفاده از درصدهای وزنی مختلف گرافن/پلاتین برای آنالیز ویتامین C تهیه شده و سیگنال غلظت مشخصی از ویتامین C در سطح حسگرهای تهیه شده ثبت شد. جریان های ثبت شده برای اکسایش آنالیت مورد نظر بر حسب درصد نانو کامپوزیت استفاده شده در ساخت حسگر ثبت و در نهایت بهترین شرایط در تهیه حسگر انتخاب شد. همچنین ولتاژهای پالس تفاضلی برای غلظت مشخصی از ویتامین C در سطح الکتروده خمیر کربن اصلاح شده جهت آنالیز ویتامین C در محدوده pH ۵ تا ۸ ثبت شد و مورد بررسی قرار گرفت. منحنی تغییرات جریان و پتانسیل بر حسب pH رسم شدند؛ و سایر موارد نظیر وابستگی یا عدم وابستگی فرآیند اکسایش یا احیای ماده مورد نظر به پروتون و سایر بررسی ها و تفاسیر مربوط به این حوزه از طریق رسم منحنی های مربوطه انجام شد.

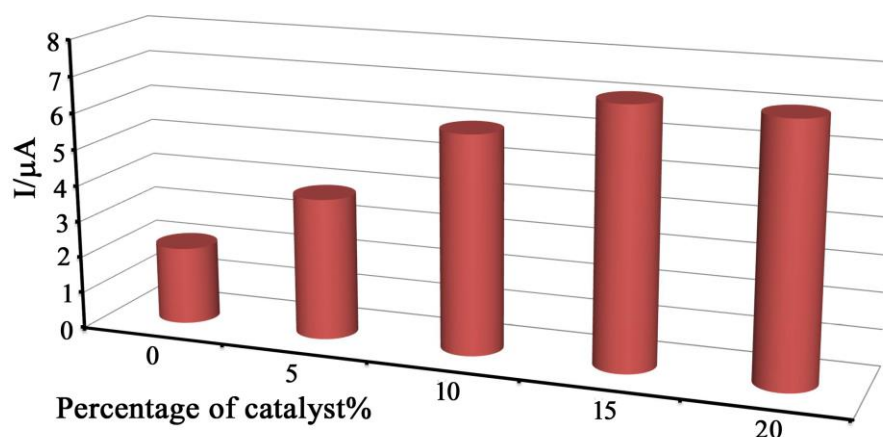
## ۲-۴. آماده سازی نمونه واقعی

برای بررسی توانایی الکتروکد خمر کرن اصلاص شده با نانو کامپوزیت گرافن جهت آنالیز ویتامین C در آنالیز نمونه‌های حقیقی، به بررسی این مهم پرداخته شد. برای این آنالیت غذایی، نمونه‌های آب پرتغال و آب سیب انتخاب شدند و نمونه‌ها پس از سانتریفیوژ کردن اولیه و عبور از فیلتر با بافر مخلوط و مقدار موجود در این نمونه‌ها تعیین شد. از روش افزایش استاندارد به عنوان یک روش مناسب برای اندازه‌گیری در نمونه‌های حقیقی استفاده شد.

### ۳. نتایج و بحث

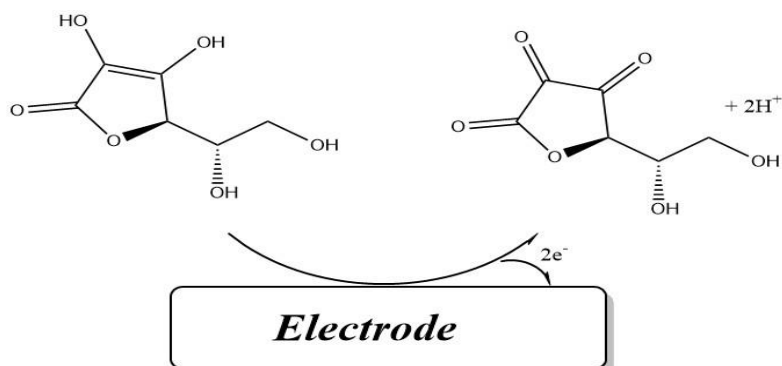
#### ۳-۱. بهینه‌سازی شرایط

به منظور ساخت الکتروکد خمر کرن اصلاص شده با نانو کامپوزیت گرافن / پلاتین ابتدا بهینه‌سازی پارامتر مؤثر در ساخت حسگر، مانند بهینه‌سازی درصد نانو مواد مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور منحنی تغییرات جریان خالص آندی بر حسب وزنی اصلاصگر بکار رفته در ساخت حسگر در حضور ۵۰ میکرومولار بررسی شد (شکل ۱).



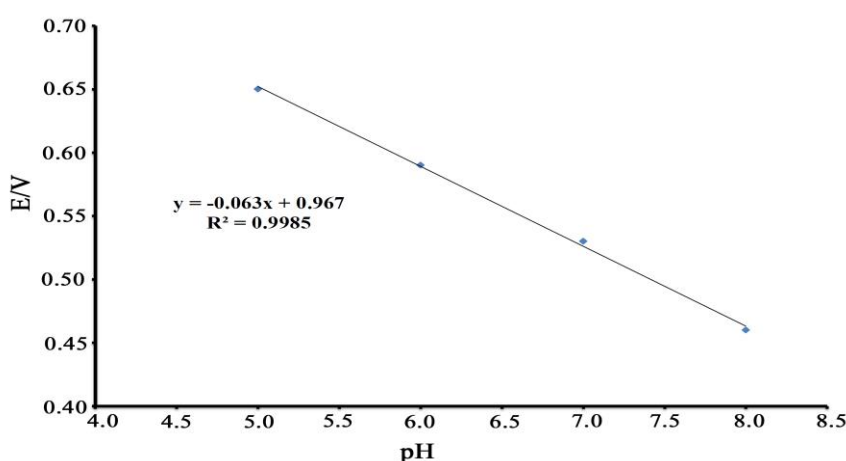
شکل ۱. تغییرات جریان اکسیداسیون ویتامین C در سطح الکترودهای اصلاص شده با درصد‌های مختلف از کاتالیست در شرایط بهینه‌شده.

همان‌طور که مشاهده شده است، با افزایش درصد با نانو کامپوزیت گرافن / پلاتین، سیگنال افزایش یافته که مربوط به هدایت الکتریکی مناسب کاتالیست و جایگزینی یک ترکیب رسانا با کرن به عنوان جز نیمه‌رسانا می‌باشد. بعد از ۱۵ درصدی وزنی/وزنی، سیگنال الکتریکی ثابت شده و نشان می‌دهد که رسانایی سطح الکتروکد به مقدار ماکزیمم رسیده است. با توجه به مکانیسم ارائه شده در شکل ۲، پیش‌بینی می‌شود که فرایند الکترواکسیداسیون ویتامین C در سطح حسگر وابسته به تغییرات pH بوده و لذا بهینه‌سازی این فاکتور مهم به نظر می‌رسد [۲۰].



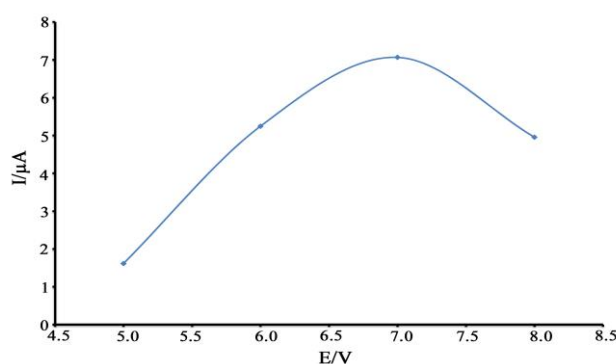
شکل ۲. مکانیسم الکترواکسیداسیون ویتامین C در سطح الکتروود.

ویتامین C جزء دسته‌های مواد الکترو اکتیو هست، لذا انتظار می‌رود که پاسخ ردوکس آن به pH بستگی داشته باشد. بدین علت محدوده تأثیر pH برای آنالیز این ترکیب بررسی شد. برای تعیین محدوده pH در آنالیز این ترکیب، ولتاموگرام پالس تفاضلی الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانوکامپوزیت گرافن/پلاتین در حضور ۵۰ میکرومولار ویتامین C در pHهای مختلف ثبت و جریان آنودی بر حسب تغییرات pH رسم شد. شکل ۳ منحنی تغییرات پتانسیل به دست آمده از داده‌های ولتاموگرام را نشان می‌دهد. با توجه به ساختار الکترو اکتیو و حضور پروتون در مبادله الکترون این گونه بهینه‌سازی ساخت الکتروود برای به دست آوردن بیشینه حساسیت و کاهش اورولتاژ (ولتاژ اضافی) ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به این موضوع انتظار می‌رود بر طبق اصل لوشاتولیه با افزایش pH پتانسیل اکسایش این گونه به سمت مقادیر منفی‌تر جابه‌جا شود که نشان از تأثیر پروتون در فرایند انتقال الکترون است [۲۲، ۲۱، ۶].



شکل ۳. منحنی تغییرات پتانسیل اکسایشی بر تغییرات pH در سطح الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانوکامپوزیت گرافن/پلاتین.

از طرفی نتایج نمودار تغییرات جریان برحسب تغییرات pH (شکل ۴) نشان می‌دهد با افزایش pH تا ۷ جریان افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد. رابطه خطی بین پتانسیل و تغییرات pH برای الکترواکسیداسیون ویتامین C نشان داده شده در شکل ۳ که یک شیب منفی تقریباً نزدیک به مقدار  $-63/0$  میلی ولت/pH است را نشان می‌دهد که برابری تعداد الکترون‌ها و پروتون‌های دخیل در فرایند الکترواکسیداسیون ویتامین C را تأیید می‌کند. نتایج پژوهش حاضر با نتایج مهری و همکاران [۲۲] و تصفایه و همکاران [۲۱] مطابقت داشت. شکل ۴ نیز تأیید می‌کند که شرایط خنثی بهترین نتایج را در کارایی حسگر به خود اختصاص داده و این شرایط به‌عنوان شرایط بهینه برای ادامه کار در نظر گرفته شده است.



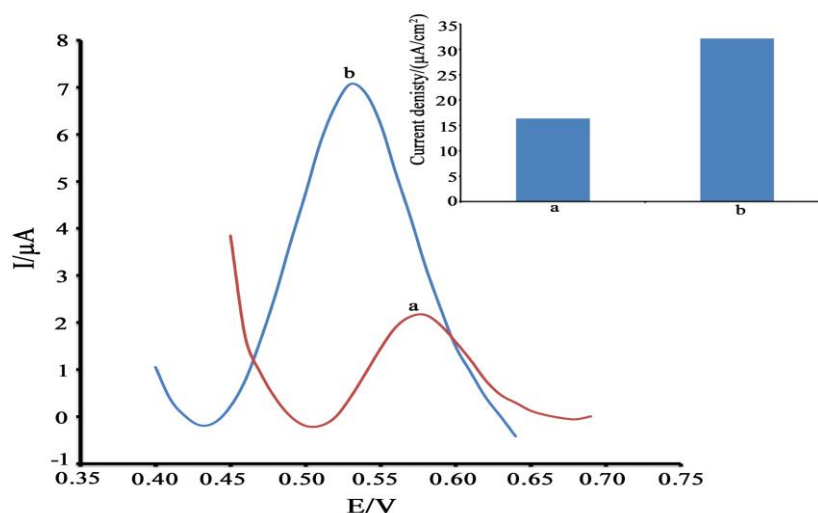
شکل ۴. منحنی تغییرات جریان بر حسب pH برای ۵۰ میکرومولار ویتامین C در سطح الکترواد اصلاح‌شده.

### ۳-۲. بررسی‌های الکتروشیمیایی

شکل ۵ ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی الکترودهای مختلف در حضور ۵۰ میکرومولار ویتامین C را نشان می‌دهد. ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی ۵۰ میکرومولار ویتامین C در سطح الکترواد خمیر کربن اصلاح‌شده نانوکامپوزیت گرافن/پلاتین و خمیر کربن ساده به ترتیب در شکل ۵ (a، b) نشان داده شده است. جریان اکسیداسیون ویتامین C از ۲/۱۲۳ میکروآمپر به ۷/۰۶۵ میکروآمپر ارتقا پیدا کرده است و همچنین پتانسیل اکسیداسیون نیز به اندازه ۶۰ میلی ولت به سمت مقادیر کمتر جابجا شده است. داده‌های دانسیته جریان در شکل ۵ داخلی نیز هدایت الکتریکی مناسب کاتالیزور را تأیید می‌کند.

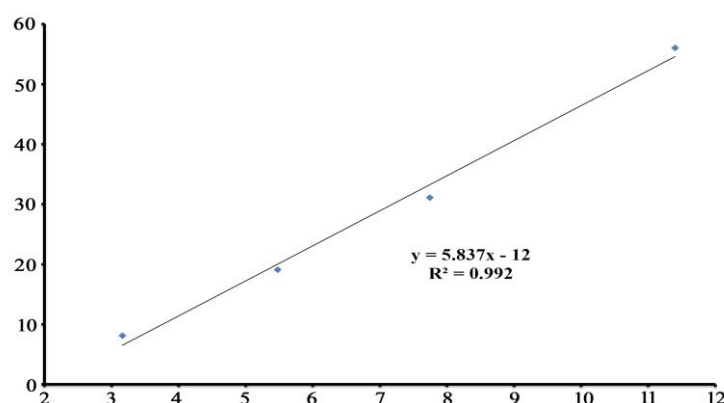
همان‌طور که مشاهده می‌شود، با اصلاح سازی الکترواد با نانوکامپوزیت گرافن/پلاتین، سیگنال به‌صورت چشمگیری افزایش یافته است. این موضوع نشان می‌دهد که این کاتالیست به تنهایی قابلیت الکتروکاتالیستی مناسبی دارند. برای بررسی نفوذی و یا جذب سطحی بودن فرایند اکسایش ترکیبات مورد بررسی از روش ولتامتری روبش خطی در سرعت‌های روبش مختلف استفاده شد. شکل ۶ منحنی تغییرات شدت جریان اکسایشی بر حسب جذر سرعت روبش را برای الکترواد اصلاح‌شده با نانوکامپوزیت گرافن/پلاتین

برای ویتامین C به همراه ولتاموگرام‌های روبش خطی مربوطه را نشان می‌دهد. این موضوع تأییدی برای کنترل فرایند ردوکس با نفوذ گونه به سطح حسگر است.



شکل ۵. ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی: (a) الکتروود خمیر کربن تنها و (b) الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانوکامپوزیت گرافن/پلاتین و مایع یونی در غلظت ۵۰ میکرومولار ویتامین C؛ شکل داخلی منحنی تغییرات دانسیته جریان بر حسب نوع الکتروود.

با توجه به نتایج حاصل، مشاهده می‌گردد که جریان دماغه‌ای اکسایش ویتامین C تحت تأثیر سرعت روبش پتانسیل قرار دارد و جریان اکسایش ویتامین C تقریباً به‌طور خطی با افزایش سرعت روبش پتانسیل، کاهش می‌یابد؛ بنابراین می‌توان این گونه نتیجه گرفت که در سرعت روبش پتانسیل کم، ویتامین C مورد اندازه‌گیری زمان کافی و مورد نیاز را برای رسیدن به سطح الکتروود و اکسید شدن را دارا است ولی در سرعت روبش پتانسیل بالا با توجه به زمان کمتر برای انجام واکنش الکتروشیمیایی مقدار کمتری از گونه مورد اندازه‌گیری فرصت رسیدن به سطح الکتروود و انجام واکنش الکتروشیمیایی را دارند [۲۳].

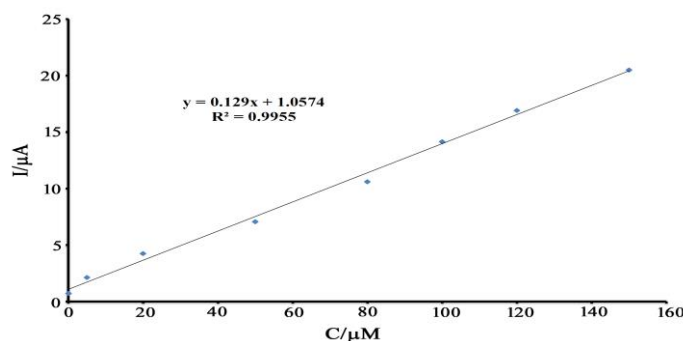




شکل ۶. نمودار تغییرات جریان بر حسب جذر سرعت روبش برای اکسیداسیون ویتامین C در سطح الکترود اصلاح شده.

### ۳-۳. محدوده دامنه خطی دینامیکی و حد تشخیص

گستره خطی و حد تشخیص به عنوان دو فاکتور مهم تجزیه‌ای برای حسگر جدید هستند از روش ولتامتری پالس تفاضلی به علت حساسیت بالای آن نسبت به ولتامتری چرخه‌ای برای تعیین گستره خطی و حد تشخیص ویتامین C استفاده شد. نتایج در شکل ۷ به نمایش گذاشته شده است. همان‌طور که مشاهده شده است، سیگنال‌ها یک گستره خطی ۰/۰۷ تا ۱۵۰ میکرومولار را برای اندازه‌گیری ویتامین C در سطح حسگر نشان دادند. از طرفی، حد تشخیص مورد نظر ۱۰ نانومولار به دست آمده است.



شکل ۷. منحنی تغییرات جریان آنودی بر حسب غلظت‌های مختلف ویتامین C در سطح حسگر اصلاح شده. منحنی ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی ویتامین C در محدوده غلظتی ۰/۰۷ تا ۱۵۰ میکرومولار در سطح حسگر اصلاح شده.

### ۳-۴. بررسی مزاحمت‌ها

در ادامه به بررسی اثر مزاحمت‌های احتمالی بر روی اکسایش ویتامین C در محیط‌های غذایی در سطح این الکترود اصلاح شده پرداخته شد. بدین منظور از تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی در شرایط بهینه استفاده شد. جدول ۱ میزان مزاحمت‌های گونه‌های غذایی را بر اکسایش ویتامین C نشان می‌دهد. داده‌ها نشان می‌دهد که اکثر گونه‌های موجود در نمونه‌های غذایی تأثیر چشمگیری در آنالیز ویتامین C را نشان نداده و تأیید کننده توانایی این حسگر در آنالیز آنالیت‌های مورد نظر می‌باشد.

جدول ۱. بررسی اثر مزاحمت اکسایش ۱۰ میکرومولار ویتامین C در سطح الکترود اصلاح شده

| گونه‌های مورد بررسی                                                   | حد مجاز غلظت گونه به غلظت آنالیت نسبت وزنی/وزنی |
|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| گلوکز                                                                 | ۵۰۰                                             |
| Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> , Ca <sup>2+</sup> | ۱۰۰۰                                            |

## گلايسين و متيونين

۶۰۰

در آنالیز ویتامین C و دیگر ترکیبات غذایی شناخته شده یکی از مهم ترین مراحل، شناسایی عوامل مزاحم در انجام آنالیز است زیرا با شناسایی آن ها می توان آن ها را از محیط آنالیز حقیقی خارج نمود و محیطی کاربردی و بهینه تر برای حسگر پیشنهادی ارائه داد. نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج گزارش شده توسط سایر پژوهشگران نظیر مصطفی و همکاران [۲۳] و مهری و همکاران [۲۲] مطابقت داشت.

## ۳-۵. اندازه گیری در نمونه های حقیقی

توانایی حسگر در اندازه گیری نمونه های حقیقی مورد بررسی قرار گرفت. برای آنالیز نمونه های حقیقی برای ویتامین C از نمونه آب سیب و آب پرتغال استفاده شد. نتایج در جدول ۲ گزارش شده است. همان طور که مشاهده شده است، درصدهای بازیابی در محدوده قابل قبول (خطای ۵ درصد) قرار گرفته و این موضوع تأییدی برای کارایی حسگر در اندازه گیری ویتامین C در نمونه های حقیقی است.

## ۳-۶. بررسی پایداری و تکرارپذیری الکتروود اصلاح شده

پایداری حسگر فاکتور حائز اهمیت دیگری است که میزان کاربرد حسگر اصلاح شده را در بازه زمانی مشخص می کند و هرچه پایداری حسگر در طول زمان بیشتر باشد، کاربرد بیشتری دارد. حسگر اصلاح شده در این پژوهش بعد از ۷۵ روز ۹۰٪ سیگنال پاسخ اولیه را برای ویتامین C نشان داد و نتیجه آن تأیید ثبات الکتروود اصلاح شده بود. در بررسی دقت و تکرارپذیری نتایج نشان داد که انحراف معیار نسبی (RSD٪) برای ۹ تکرار تعیین غلظت ۵۰ میکرومولار ویتامین C، ۳/۶٪ بود. این نشان دهنده سطح بالایی از دقت و تکرارپذیری در عملکرد حسگر هنگام اندازه گیری غلظت ۵۰ میکرومولار ویتامین C است.

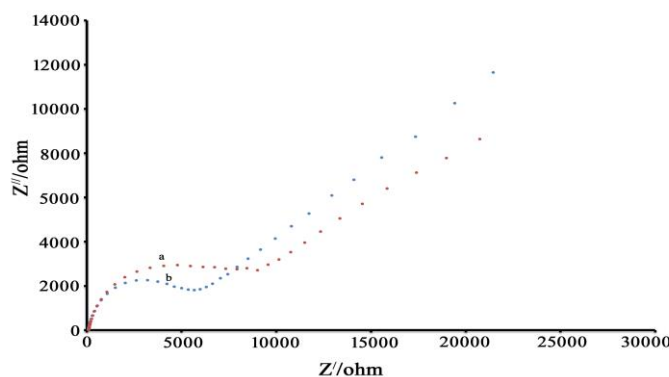
جدول ۲. جدول حاصل از آنالیز ویتامین C در نمونه های مختلف غذایی

| نمونه     | ویتامین C افزوده شده<br>( $\mu\text{M}$ ) | ویتامین C یافت شده توسط<br>روش پیشنهادی ( $\mu\text{M}$ ) | ویتامین C قابل انتظار ( $\mu\text{M}$ ) | درصد بازیابی برای<br>ویتامین C |
|-----------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------|
| ---       | ---                                       | <LOD                                                      | ---                                     | ---                            |
| آب سیب    | ۱۰/۰۰                                     | $۱۰/۳۳ \pm ۰/۴۳$                                          | ۱۰/۰۰                                   | ۱۰۳/۳                          |
|           | ۲۰/۰۰                                     | $۲۰/۶۵ \pm ۰/۷۸$                                          | ۲۰/۰۰                                   | ۱۰۳/۲۵                         |
| آب پرتغال | ---                                       | <LOD                                                      | .....                                   | ---                            |

|       |       |                  |       |
|-------|-------|------------------|-------|
| ۹۸/۲  | ۵/۰   | $4/91 \pm 0/37$  | ۵/۰۰  |
| ۱۰۴/۱ | ۱۰/۰۰ | $10/41 \pm 0/59$ | ۱۰/۰۰ |

### ۳-۷. مطالعات اسپکتروسکوپی امپدانس الکتروشیمیایی

در این بخش منحنی‌های نایکوئیست مورد بررسی قرار گرفت. شکل ۸ منحنی نایکوئیست حسگر طراحی شده و الکتروود اصلاح نشده را در محلول یک میلی‌مولار فرو/فری سیانید نشان می‌دهد. بررسی مقایسه‌ای مقاومت انتقال الکترون در سطح دو حسگر به‌خوبی نشان می‌دهد که با اصلاح الکتروود با نانوکامپوزیت، مقاومت اهمی کاهش یافته و بهترین شرایط در سطح حسگر طراحی شده مشاهده شده است که تأثیر تقویت‌کنندگی کاتالیست را نمایان می‌کند.



شکل ۷. منحنی نایکوئیست الکتروودهای خمیر کربن ساده (a) و الکتروود خمیر کربن ساده و (b) الکتروود اصلاح شده با نانوکامپوزیت پلاتین/گرافن کاهش یافته در محلول در محلول یک میلی‌مولار فرو/فری سیانید به‌عنوان محلول استاندارد.

### ۴. نتیجه‌گیری

به‌منظور ساخت حسگر جدید با کارایی بالا برای اندازه‌گیری ویتامین C از الکتروود خمیر کربن اصلاح شده با نانوکامپوزیت گرافن/پلاتین استفاده شد. در مرحله اول درصد وزنی و زنی نانوکامپوزیت به پودر گرافیت در ساخت حسگر بهینه شد. برای حسگر در شرایط بهینه سیگنال‌ها یک گستره خطی ۰/۰۷ تا ۱۵۰ میکرومولار را برای اندازه‌گیری ویتامین C در سطح حسگر نشان دادند. از طرفی، حد تشخیص مورد نظر ۱۰ نانومولار به دست آمد. برای آنالیز نمونه‌های حقیقی برای ویتامین C از نمونه آب سیب و آب پرتغال استفاده شد. همان‌طور که مشاهده شد، درصدهای بازیابی در محدوده قابل قبول (خطای ۵ درصد) قرار گرفته و این موضوع تأییدی برای کارایی حسگر در اندازه‌گیری ویتامین C در نمونه‌های حقیقی است. بنابراین حسگر اصلاح شده‌ای با حساسیت و انتخاب‌گری بالا برای اندازه‌گیری و تشخیص الکتروشیمیایی ویتامین C در محیط غذایی طراحی و معرفی شد.

### ۵. مراجع

- [1] L. Huang, S. Tian, W. Zhao, K. Liu, J. Guo, Electrochemical vitamin sensors: A critical review, *Talanta* 222 (2021) 121645.
- [2] S. Jafari, S. Jabari, D. Dehnad, S. Shahidi, Effects of thermal processing by nanofluids on vitamin C, total phenolics and total soluble solids of tomato juice, *Journal of food science and technology* 54 (2017) 679-686.
- [3] R.R. Eitenmiller, W. Landen Jr, L. Ye, *Vitamin analysis for the health and food sciences*, CRC press 2016.
- [4] T. Brody, *Nutritional biochemistry*, Elsevier 199. <sup>^</sup>
- [5] A.C. Carr, S. Maggini, Vitamin C and immune function, *Nutrients* 9 (2017) 1211.
- [6] H. Sadeghi, S.-A. Shahidi, S.N. Raeisi, A. Ghorbani-HasanSaraei, F. Karimi, Electrochemical determination of vitamin B6 in water and juice samples using an electrochemical sensor amplified with NiO/CNTs and Ionic liquid, *Int. J. Electrochem. Sci* 15 (2020) 10488-10498.
- [7] I. Škugor Rončević, D. Skroza, I. Vrca, A.M. Kondža, N. Vladislavić, Development and optimization of electrochemical method for determination of vitamin C, *Chemosensors* 10 (2022) 283.
- [8] H. Beitollahi, Z. Dourandish, R. Zaimbashi, S. Tajik, Electroanalysis of Vitamins Using Carbon Sensors. (۲۰۲۴) ,
- [9] T. Sarkar, H. Bohidar, P.R. Solanki, Carbon dots-modified chitosan based electrochemical biosensing platform for detection of vitamin D, *International journal of biological macromolecules* 109 (2018) 687-697.
- [10] D. Chauhan, A.K. Yadav, P.R. Solanki, Carbon cloth-based immunosensor for detection of 25-hydroxy vitamin D3, *Microchimica Acta* 188 (2021) 1. <sup>۴۵</sup>
- [11] J.F.Y. Fong, S.F. Chin, S.M. Ng, A unique “turn-on” fluorescence signalling strategy for highly specific detection of ascorbic acid using carbon dots as sensing probe, *Biosensors and Bioelectronics* 85 (2016) 844-852.
- [12] B. Su, Y. Chen, X. Yang, J. Han, H. Jia, P. Jing, Y. Wang, Amperometric sensor based on carbon nanotubes and polycations for the determination of vitamin C, *International Journal of Electrochemical Science* 12 (2017) 6417-6427.
- [13] H. Beitollahi, S. Tajik, S. Jahani, Electrocatalytic determination of hydrazine and phenol using a carbon paste electrode modified with ionic liquids and magnetic core-shell Fe3O4@ SiO2/MWCNT nanocomposite, *Electroanalysis* 28 (2016) 1093-1099.
- [14] S.A. Shahamirifard, M. Ghaedi, A new electrochemical sensor for simultaneous determination of arbutin and vitamin C based on hydroxyapatite-ZnO-Pd nanoparticles modified carbon paste electrode, *Biosensors and Bioelectronics* 141 (2019) 111474.
- [15] Z. Yang, C. Zhang, Molecularly imprinted hydroxyapatite thin film for bilirubin recognition, *Biosensors and Bioelectronics* 29 (2011) 167-171.
- [16] F.-m. Liu, Y. Zhang, W. Yin, C.-j. Hou, D.-q. Huo, B. He, L.-l. Qian, H.-b. Fa, A high-selectivity electrochemical sensor for ultra-trace lead (II) detection based on a nanocomposite consisting of nitrogen-doped graphene/gold nanoparticles functionalized with ETBD and Fe3O4@ TiO2 core-shell nanoparticles, *Sensors and Actuators B: Chemical* 242 (2017) 889-896.
- [17] J. Rochford, D. Chu, A. Hagfeldt, E. Galoppini, Tetrachelate porphyrin chromophores for metal oxide semiconductor sensitization: effect of the spacer length and anchoring group position, *Journal of the American Chemical Society* 129 (2007) 4655-4665.
- [18] M.M. Motaghi, H. Beitollahi, S. Tajik, R. Hosseinzadeh, Nanostructure electrochemical sensor for voltammetric determination of vitamin C in the presence of vitamin B6: Application to real sample analysis, *International Journal of Electrochemical Science* 11 (2016) 7849-7860.

- [19] Z. Poorshaab-Fallah, S.-A. Shahidi, M. Baghayeri, A. Ghorbani-HasanSaraei, F. Kiani, Two fold amplification of paste electrode with Pt/graphene nanocomposite and room temperature ionic liquid to monitoring of vitamin B6 in environmental and food samples, *Topics in Catalysis* 68 (2025) 51. ۵۱۸-۵۰
- [20] M. Ansari, S. Kazemi, M.A. Khalilzadeh, H. Karimi-Maleh, M.B.P. Zanousi, Sensitive and stable voltammetric measurements of norepinephrine at ionic liquid-carbon nanotubes paste electrodes, *International Journal of Electrochemical Science* 8 (20.۱۹۴۸-۱۹۳۸ (۱۳
- [21] G. Tesfaye, M. Tessema, N. Negash, Electrochemical determination of vitamin B6 in pharmaceutical and energy drink samples, *Journal of Electrochemical Science and Engineering* 13 (2023) 297-319.
- [22] F. Mehri-Talarposhti, A. Ghorbani-Hasan Saraei, L. Golestan, S. Shahidi, Electrochemical determination of Vitamin B6 in fruit juices using a new nanostructure voltammetric sensor, *Asian J. Nanosci. Mater* 3 (2020) 313-320.
- [23] A. Moustafa, R.S. El-Kamel, S. Abdelgawad, A. Fekry, M. Shehata ,Electrochemical determination of vitamin B6 (pyridoxine) by reformed carbon paste electrode with iron oxide nanoparticles, *Ionics* 28 (2022) 4471-4484.

## Detection and measurement of ascorbic acid by electrochemical and impedance spectroscopy in food samples using modified sensors with Pt/Graphene nanocomposite

Zahra Poorshaab-Fallah<sup>1</sup>, Seyed-Ahmad Shahidi<sup>1,\*</sup>, Mehdi Baghayeri<sup>2</sup>, Azade Ghorbani-HasanSaraei<sup>1</sup>, Farhoush Kiani<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Department of Food Science and Technology, Am.C., Islamic Azad University, Amol, Iran*

<sup>2</sup>*Department of Chemistry, Faculty of Science, Hakim Sabzevari University, P.O. Box 397, Sabzevar, Iran*

<sup>3</sup>*Department of Chemistry, Am.C., Islamic Azad University, Amol, Iran*

Submitted: 09 May 2025, Revised: 16 July 2025, Accepted: 20 July 2025

### Abstract:

In this research a new highly sensitive and powerful electroanalytical tool fabricated by paste electrode (PE) with Pt/graphene nanocomposite (Pt/Gr-NC) for detection and determination of vitamin C in environmental and food samples. The modification with a synergistic effect in the designed sensor has caused the vitamin C signal to increase greatly, and the conditions for designing an ultra-sensitive sensor for the measurement with linear range 0.07 - 150  $\mu$ M and the detection limit 10 nM created. On the other hand, this sensor to presence of has caused the vitamin C oxidation signal to improve about 3.33 times and its oxidation potential to decrease by 60 mV, which means creating a sensor with high selectivity and suitable detection limit. Finally, sensor was used as a perfect analytical tool in monitoring of real samples such as orange juice and apple juice. Results was completely confirm ability of sensor in sensing vitamin C.

**Keywords:** Vitamin C, Food analysis, Pt/graphene, Voltammetry.

---

\* Corresponding author : Seyed-Ahmad Shahidi

Address: Department of Food Science and Technology, Am.C., Islamic Azad University, Amol, Iran

Tel: 01143217087

E-mail: sashahidy@yahoo.com, sa.shahidi@iau.ac.ir