



Semnan University

Journal of Applied Chemistry

Journal homepage: <https://chemistry.semnan.ac.ir/>



Research Article

Designing a Chemical Sensor to Detect and Determine Citric Acid Using the Indicator Displacement Assay Method

Amin Hemmati Yadkoori, Habibollah Khajehsharifi*^{ORCID}, Zahra Aryan

Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Yasouj University, Under Hill, Yasouj, Iran

PAPER INFO

Article history:

Received: 28/Jan/2021

Revised: 12/Jul/2022

Accepted: 18/Jul/2022

Keywords:

Chemosensor, Indicator Displacement Assay, Citric Acid, Chrome Azurol S, Gadolinium (III).

ABSTRACT

In this research, a colorimetric sensor was introduced to determine citric acid using the indicator displacement assay. This sensor was made from the complex formation reaction between chromazurol S as an indicator and gadolinium (III) ions in an aqueous solution. At the optimum pH of 7.00, chromazurol S (yellow) reacts with gadolinium (III) in a ratio of 1:1, and the color of the chromazurol S - gadolinium complex solution changes to purple. By adding citric acid to the designed sensor, citric acid replaces chromazurol S and reacts with gadolinium (III) ions at a ratio of 1:1. The reason for this displacement is the larger formation constant of citric acid-gadolinium complex ($\log K_F = 6.86$) compared to the formation constant of chromazurol S - gadolinium ($\log K_F = 5.67$). The linear range of this determination and the detection limit ($S/N=3$) of the sensor are 2.27×10^{-6} M - 112.90×10^{-6} M and 2.08×10^{-6} M, respectively. To investigate the selectivity of the designed sensor, the effect of different anions, including pyrophosphate, salicylic acid, periodic acid, benzoic acid, and other compounds was checked on the response of the sensor under the same conditions, and no significant color change was observed, which indicates the selectivity of the sensor for the determination of this analyst is high. The efficacy of the method was evaluated by determining the citric acid in the orange juice sample using the standard increase method.

Keywords: chemical sensor, indicator displacement assay, citric acid, chromazurol S, gadolinium (III)

DOI: <https://doi.org/10.22075/CHEM.2022.18699.1946>

This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)

*.Corresponding author: Associate Professor of Analytical Chemistry. E-mail address: khajeh_h@yahoo.com.

How to cite this article: Khajehsharifi, H., & Arian, Z. (2023). Design of a chemical sensor for the detection and determination of citric acid using indicator displacement assay method. *Applied Chemistry*, 18(67), 165-180. (in Persian)

طراحی یک حسگر شیمیایی برای شناسایی و اندازه‌گیری اسید سیتریک با استفاده از

روشن جا به جایی شناساگر

امین همتی یادگوری، حبیب‌الله خواجه‌شریفی*، زهرا آرین

گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۱/۰۹

تاریخ تصحیح: ۰۱/۰۴/۲۱

تاریخ پذیرش: ۰۱/۰۴/۲۷

چکیده

در این تحقیق به معرفی یک حسگر رنگ‌سنجی برای اندازه‌گیری اسید سیتریک به روش سنجش جانشینی شناساگر پرداخته شد. این حسگر از واکنش تشکیل کمپلکس بین شناساگر کرومازورول S و یون گادولینیم(III) در محلول آبی ساخته شد. در pH بهینه ۷/۰۰، کرومازورول S (زرد رنگ) با گادولینیم(III) به نسبت ۱ به ۱ واکنش داده و رنگ محلول کمپلکس کرومازورول S - گادولینیم به بنفش تغییر می‌کند. با افزایش اسید سیتریک به حسگر طراحی شده، اسید سیتریک جایگزین کرومازورول S شده و با یون گادولینیم(III) به نسبت ۱:۱ واکنش می‌دهد. دلیل این جانشینی شناساگر با آنالیت در ترکیب با پذیرنده یونی گادولینیم، ثابت تشکیل بزرگتر کمپلکس اسید سیتریک - گادولینیم ($\log K_F = 6/86$) نسبت به ثابت تشکیل کرومازورول S - گادولینیم ($\log K_F = 5/67$) می‌باشد. دامنه خطی این اندازه‌گیری و حد تشخیص ($S/N=3$) این حسگر به ترتیب $M = 112/9 \times 10^{-6}$ - $2/27 \times 10^{-6}$ و $2/08 \times 10^{-6}$ مولار می‌باشد. جهت بررسی گزینش‌پذیری حسگر طراحی شده، اثر آنیون‌های مختلف از جمله پیروفسفات، سالیسیلیک اسید، پریدویک اسید، بنزوئیک اسید و ترکیبات دیگر، بر روی پاسخ حسگر در شرایط مشابه بررسی شد و تغییر رنگ قابل توجهی دیده نشد که نشان‌دهنده گزینش‌پذیری بالای حسگر برای اندازه‌گیری این آنالیت است. کارایی روش با اندازه‌گیری اسید سیتریک در نمونه آب پرتقال با روش افزایش استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفت.

کلمات کلیدی: حسگر شیمیایی، سنجش جا به جایی شناساگر، اسید سیتریک، کرومازورول S، گادولینیم(III).

۱- مقدمه

اسید سیتریک توسط کارل ویلهلم شیل در سال ۱۷۸۴ میلادی به وسیله‌ی یک نوع قارچ به نام آسپرژیلوس نایجر از لیمو جدا شد [۱]. اسید سیتریک دارای وضعیت به طور کلی ایمن از طرف انجمن غذایی آمریکا می‌باشد. در حقیقت، بیشتر اسید سیتریکی که به صورت تجاری در صنعت مواد غذایی به عنوان نگهدارنده مورد استفاده قرار می‌گیرد، از ذرت اصلاح شده ژنتیکی جدا می‌شود [۲]. اسید سیتریک در بیوشیمی به عنوان واسطه در متابولیسم موجودات هوازی مورد استفاده قرار می‌گیرد و باعث تنفس سلولی طبیعی در متابولیسم بدن انسان می‌شود و در تولید انرژی نقش مهمی دارد و بدون آن بدن نمی‌تواند به خوبی در سم‌زدایی و همچنین درمان عمل نماید. علاوه بر این، اسید سیتریک برای پوست انسان نیز بسیار مفید است و چروکیدگی پوست را کاهش داده و سلول‌های آن را بازسازی کرده و پوست را روشن و شفاف می‌سازد. به همین دلیل از اسید سیتریک در ماسک‌های صورت استفاده می‌شود [۳-۵]. در سال ۲۰۱۴ تحقیقی درباره محصولات دارویی منتشر شد. محققان رابطه بین اسید سیتریک و

اکسیداتیو ناشی از اندوتوکسین مغز و کبد موش‌ها را بررسی کردند و متوجه شدند که این اسید باعث کاهش پراکسیداسیون لیپید مغزی، آسیب‌های کبدی و تکه‌تکه شدن DNA در موش‌ها می‌شود که به منظور ایجاد استرس اکسیداتیو در مغز و کبد آن‌ها انجام شده بود [۶].

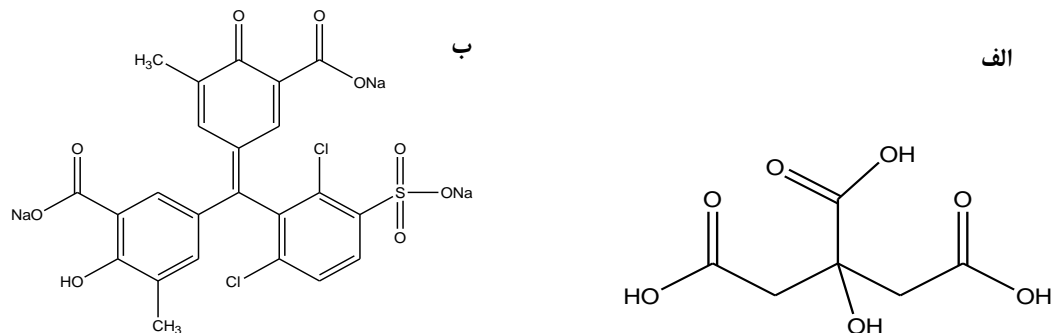
مصرف طولانی مدت اسید سیتریک به میزان زیاد باعث عوارض گوارشی و احساس طعم نامطبوع و آلکالوز متابولیک می‌شود. مصرف مکرر اثرات مخرب بر روی مینای دندان دارد. مبتلایان به آسم، ناراحتی‌های ریه و همچنین تشنج، باید از خوردن بیش از حد این اسید خودداری کنند. زیاده روی در مصرف جوهر لیمو باعث افزایش آب بزاق، بی‌خوابی، تشدید ناراحتی معده و عدم جذب ویتامین آ در بدن می‌شود [۷ و ۸].

تاکنون روش‌های گوناگونی در اندازه‌گیری اسید سیتریک از جمله رادیوسنجی [۹]، رنگ‌سنجی در حضور تری‌کلرو استیک اسید و پیریدین [۱۰]، اسپکتروفوتومتری بر پایه‌ی واکنش با پیریدین و آنیدرید استیک [۱۱]، آنزیمی [۱۲ و ۱۳]، کروماتوگرافی مایع با بازده بالا [۱۴ و ۱۵]، کروماتوگرافی یونی [۱۶]، کروماتوگرافی گازی [۱۷]، اسپکتروسکوپی فلورسانسی [۱۸] و تیتراسیون اسید - باز [۲۰ و ۱۹] به کار گرفته شده‌اند. این روش‌ها، بعضی مراحل آماده‌سازی فراوان و شرایط آزمایش سخت داشته و تعدادی نیز پیچیده و دور از دسترس بوده و نیاز به زمان و هزینه‌ی بالا دارند. در چند سال اخیر استفاده از حسگرهای رنگ‌سنجی با توجه به مزایایی نظیر حساسیت و گزینش‌پذیری بالا، در دسترس بودن، سادگی، عدم نیاز به آماده‌سازی‌های پیچیده نمونه، سرعت، ارزان بودن و دقت بالای آن و همچنین زیست سازگار بودن آن، گسترش چشمگیری داشته و در حال حاضر در حال توسعه روزافزون بوده و مورد توجه فراوان پژوهشگران شیمی تجزیه قرار گرفته است [۲۱-۲۵].

یک حسگر مولکولی یا حسگر شیمیایی عبارت است از یک ساختار مولکولی (مجموعه‌های آلی یا غیر آلی) که به منظور تشخیص یک آنالیت برای تولید یک سیگنال قابل اندازه‌گیری به کار می‌رود [۲۶]. طراحی یک ساختار مولکولی جدید از طریق فرآیند جاننشینی شناساگر برای تشخیص و اندازه‌گیری آنالیت‌های مهم یک جنبه‌ی تحقیقی مهم در شیمی ابرمولکولی^a و تجزیه است. روش جاننشینی شناساگر، به یک روش در حال گسترش برای شناسایی کاتیون‌های فلزی، آنیون‌های آلی و معدنی، آمینو اسیدها و مولکول‌های زیستی تبدیل شده است. این روش به طور گسترده برای نشان دادن رفتار پیوندی میزبان - میهمان، تعیین ثابت‌های تشکیل و به طور کلی تشخیص نوری آنالیت‌های مختلف از جمله آنیون‌ها و کاتیون‌ها در محلول استفاده شده است. در روش جابه‌جایی شناساگر، یک پذیرنده به طوری انتخاب و یا طراحی می‌گردد که تمایل بالایی برای پیوند با آنالیت هدف داشته باشد و از دیگر سو شناساگری انتخاب می‌شود که تمایل ضعیف‌تری نسبت به آنالیت برای ترکیب شدن با این پذیرنده داشته باشد. همزمان با انجام فرآیند جاننشینی، حسگر باید تغییر رنگ قابل توجهی نشان دهد که به راحتی با چشم غیر مسلح

^a Supramolecular

و یا دستگاه اسپکتروفوتومتر قابل اندازه‌گیری باشد. در این تحقیق ابتدا شناساگر رنگی کرومازورول S با یون گادولینیم (III) در شرایط بهینه ترکیب شده و یک حسگر جدید برای اندازه‌گیری اسید سیتریک طراحی شد و سپس به محلول مورد نظر، آنالیت اسید سیتریک اضافه شد. به علت تمایل زیاد اسید سیتریک به پیوند با یون گادولینیم (III)، کمپلکس اسید سیتریک-گادولینیم تشکیل و بدین ترتیب شناساگر در محیط آزمایش آزاد شده و رنگ محلول مورد آزمایش به رنگ اولیه خود برمی‌گردد.



شکل ۱- ساختار شیمیایی: اسید سیتریک (الف)، شناساگر کرومازورول S (ب)

۲- بخش تجربی

۲-۱- دستگاه‌ها

اندازه‌گیری‌های جذبی در ناحیه مرئی - فرابنفش در یک سل کوارتز به طول ۱۰ میلی‌متر توسط دستگاه اسپکترومتر پریکین المر مدل لامبدا ۲۵ انجام شد. برای اندازه‌گیری pH از دستگاه pH متر شرکت AZ مدل ۸۶۵۰۲ استفاده شد. همه‌ی آزمایش‌ها در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) انجام گردید. همچنین سانتریفیوژ استفاده شده در این آزمایش ساخت شرکت سهند آزما تجهیز می‌باشد.

۲-۲- مواد شیمیایی

مواد شیمیایی شامل کرومازورول S ($C_{23}H_{13}C_{12}Na_3O_9S$)، گادولینیم (III) نیترات ($Gd(NO_3)_3$)، اسید سیتریک ($C_6H_8O_7$)، بوریک اسید (H_3BO_3)، کلریدریک اسید (HCl) و سدیم هیدروکسید (NaOH) دارای درجه خلوص تجزیه‌ای بوده و از شرکت مرک خریداری شده است. همه‌ی آزمایش‌ها با آب دو بار تقطیر انجام شدند. محلول‌های مادر کرومازورول S، گادولینیم (III) نیترات و اسید سیتریک (۱/۰ mM) با حل کردن مقادیر مناسب در آب دو بار تقطیر آماده شدند. محلول‌های دیگر با رقیق کردن محلول‌های مادر با غلظت‌های مختلف تهیه گردید.

۲-۳- تهیه نمونه حقیقی

در این آزمایش مقدار اسید سیتریک در آب پرتقال سن ایچ ساخت شرکت عالی فرد (شهر صنعتی کاوه در استان مرکزی) ایران به عنوان نمونه حقیقی با حسگر ساخته شده اندازه‌گیری شد. آب پرتقال ابتدا با نسبت ۱ به ۵۰ رقیق گردید و سپس آب پرتقال

رقیق شده به لوله سانتریفیوژ منتقل شده و به مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۲۵۰۰ دور بر دقیقه در سانتریفیوژ قرار داده شد. مایع رویی لوله سانتریفیوژ به آرامی جدا گردید و به بشر منتقل شد و به $\text{pH}=7/00$ رسید.

۲-۴- روش جابه‌جایی شناساگر

در این تحقیق از کرومازورول S به عنوان شناساگر و از گادولینیم (III) به عنوان پذیرنده برای اندازه‌گیری اسید سیتریک استفاده شد. با افزودن گادولینیم (III) به این شناساگر، طول موج بیشینه از ۴۲۷ نانومتر به ۵۴۶ نانومتر تغییر کرده (۱۱۹ نانومتر شیفت قرمز) و به‌طور هم‌زمان رنگ محلول از زرد به بنفش تبدیل می‌شود. به این مخلوط، محلول اسید سیتریک اضافه شد که با توجه به بالاتر بودن ثابت پایداری کمپلکس $\text{Gd}^{3+}\text{-CA}$ ، اسید سیتریک جای کرومازورول S در کمپلکس را گرفته و باعث آزاد شدن شناساگر در محلول می‌شود و رنگ محلول به رنگ اولیه‌ی زرد برگشته و طول موج محلول نیز به سمت ۴۲۷ نانومتر جابه‌جا می‌شود.

۳-۳- بحث و نتیجه‌گیری

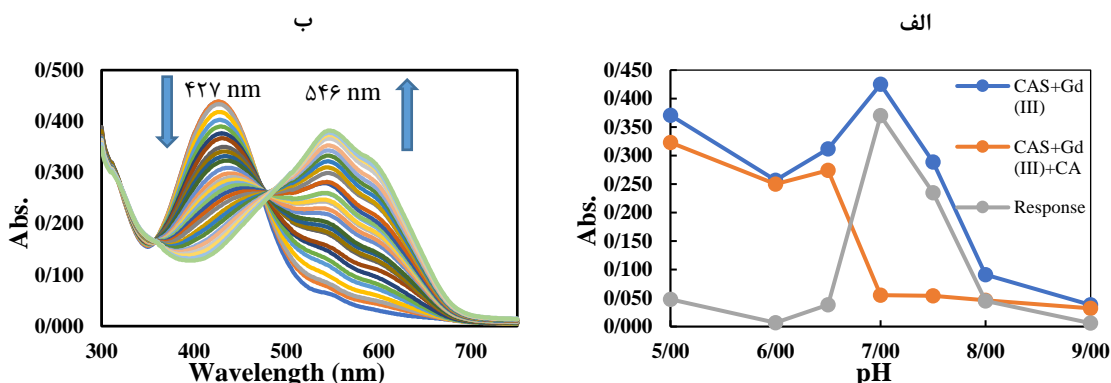
۳-۱- بهینه‌سازی pH

در یک حسگر شیمیایی، pH عامل تعیین‌کننده‌ای می‌باشد و تغییر آن گاهی باعث می‌شود که حسگر حساسیت خود را نسبت به آنالیت مورد نظر از دست دهد. از این رو اولین پارامتر طراحی یک حسگر شیمیایی، بهینه‌کردن pH به عنوان یک متغیر می‌باشد. با توجه به ثابت‌های اسیدی بوریک اسید (۱۳/۳، ۱۲/۴، $\text{pK}_a=9/24$)، این بافر در $\text{pH}=7$ واکنشی با گادولینیم ندارد. در این مورد، حسگر مورد نظر در pH های مختلف در بازه‌ی ۵/۰۰ تا ۹/۰۰ بافر بوریک اسید مورد بررسی قرار گرفت. از آنجا که $\text{pH}=7/00$ بهترین pH جهت تشخیص آنالیت بود، بنابراین جهت اطمینان بیشتر pH های ۶/۵۰ و ۷/۵۰ نیز مورد آزمایش قرار گرفت. همانطور که در نمودار شکل ۲-الف مشاهده می‌شود، pH بهینه برابر با ۷/۰۰ بوده که اختلاف بین طیف مشاهده شده‌ی کرومازورول S، کرومازورول S - گادولینیم (III) و کرومازورول S - گادولینیم (III) - اسید سیتریک شاهد این موضوع می‌باشد.

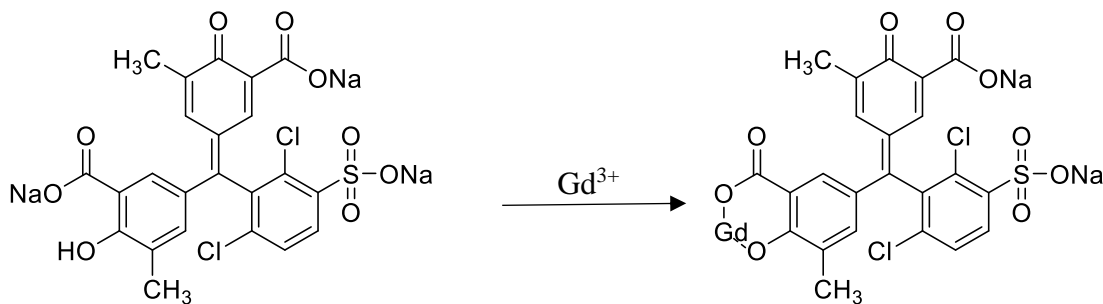
۳-۲- تیتراسیون کرومازورول S (لیگاند) با یون گادولینیم (III)

در راستای بررسی قدرت برهم‌کنش شناساگر و یون فلزی مورد آزمایش، ابتدا کرومازورول S با محلول یونی گادولینیم (III) تیترا شد. بر این اساس محلول‌هایی با غلظت ۰/۰۰۱ مولار شناساگر کرومازورول S و گادولینیم (III) تهیه شد. ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول بافر ۰/۰۲ مولار بوریک اسید با $\text{pH}=7/00$ فراهم گردید. در سل کوآرتز ۲ میلی‌لیتر بافر بوریک اسید ۰/۰۲ مولار و ۱۰۰ میکرولیتر کرومازورول S ۰/۰۰۱ مولار باهم مخلوط شد. سپس به محلول موجود در سل به آرامی محلول یونی گادولینیم (III) اضافه گردید و پس از هر بار افزایش طیف آن ثبت شد. به همین ترتیب افزایش ادامه داده شد تا جذب ثابت گردید و تغییری در طیف ایجاد نشد. در این مرحله تیتراسیون با یون فلزی از حجم ۵ میکرولیتر تا ۸۰۰ میکرولیتر گادولینیم (III) ادامه پیدا

کرد. با افزایش تدریجی گادولینیم (III)، ارتفاع پیک در ۴۲۷ نانومتر کاهش یافته و یک پیک جدید در ناحیه ۵۴۶ نانومتر ظاهر می‌شود که ناشی از تشکیل کمپلکس CAS-Gd³⁺ می‌باشد. هم‌زمان با این شیفت قرمز طول موج، رنگ محلول نیز از زرد به بنفش تغییر می‌کند. نمودار این تیتراسیون و مکانیسم تشکیل کمپلکس به ترتیب در شکل‌های ۲-ب و ۳ آورده شده است [۲۸ و ۲۷].



شکل ۲: (الف) اثر pH بر روی حسگر شیمیایی طراحی شده برای شناسایی اسید سیتریک در گستره‌ی pH ۹/۰۰ - ۵/۰۰، طول موج ۵۴۶ نانومتر و در دمای ۲۵°C (ب) طیف جذبی کرومازورول S ($1 \times 10^{-3} M$) در محدوده غلظتی ۲/۳۸ - ۲۷۵/۸۶ میکرومولار گادولینیم (III) در pH=۷/۰۰ در ۲/۰۰ میلی‌لیتر بافر بوریک اسید ($2 \times 10^{-2} M$) و دمای ۲۵°C.

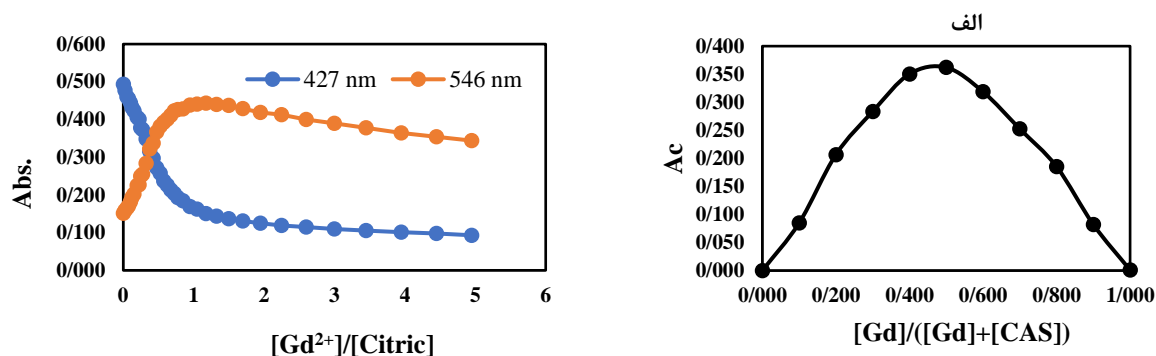


شکل ۳: مکانیسم پیشنهادی تشکیل کمپلکس کرومازورول S با گادولینیم (III)

۳-۳- تعیین نسبت شناساگر به یون فلزی با روش تغییرات پیوسته (جاب)

در روش جاب که به آن روش تغییرات پیوسته نیز گفته می‌شود، باید شرط تساوی غلظت‌های اولیه‌ی شناساگر و یون فلزی رعایت شود. در این روش محلول‌هایی از شناساگر و یون فلزی با غلظت معین ۰/۰۰۱ مولار در یک بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری تهیه شد. این محلول‌ها با بافر بوریک اسید با pH=۷/۰۰ به حجم رسانده و سپس به دو بورت منتقل شد. محلول‌های موجود در بورت، به بالن کوچک ۱۰ میلی‌لیتری در نسبت‌های حجمی متفاوت به‌صورت تقابلی از ۰ تا ۱۰ میلی‌لیتر از هر کدام از دو محلول منتقل شدند؛ به عبارت دیگر نسبت‌های حجمی کرومازورول S به گادولینیم (III) به ترتیب ۱۰:۰، ۹:۱، ۸:۲، ... و ۰:۱۰ بود.

سپس از هر کدام از محلول‌ها طیف UV-Vis ثبت شد. نمودار جاب^b از رسم جذب در هر مرحله بر حسب جزء غلظتی یون گادولینیم (III) به دست آمد. نمودار جاب به دست آمده در طول موج ۵۴۶ نانومتر در شکل ۴-الف آورده شده است. برای صحت سنجی نسبت شناساگر به یون فلزی، نمودار نسبت مولی کرومازورول S و گادولینیم (III) در دو طول موج بیشینه‌ی شناساگر (۴۲۷ نانومتر) و طول موج بیشینه‌ی کمپلکس (۵۴۵ نانومتر) در شکل ۴-ب آورده شده است.



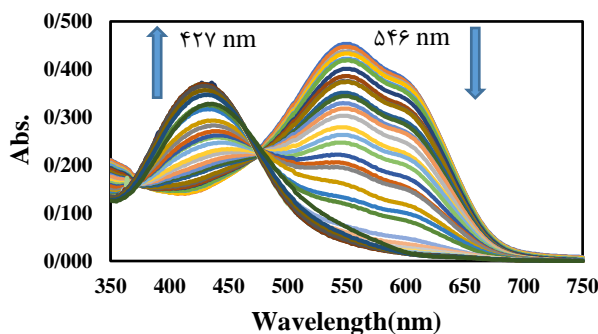
شکل ۴: الف) نمودار جذب تصحیح‌شده بر حسب جزء غلظتی گادولینیم (III) (روش جاب) در طول موج ۵۴۶ نانومتر و pH=۷/۰۰ در دمای ۲۵°C (ب) نمودار نسبت مولی کرومازورول S و یون گادولینیم (III) در دو طول موج ۴۲۷ و ۵۴۶ نانومتر در pH=۷/۰۰ و دمای ۲۵°C

همان گونه که در نمودار جاب ملاحظه می‌شود، نسبت میان یون فلزی و شناساگر ۱:۱ تعیین شد. این نسبت از این پس در بقیه مراحل آزمایش در نظر گرفته می‌شود.

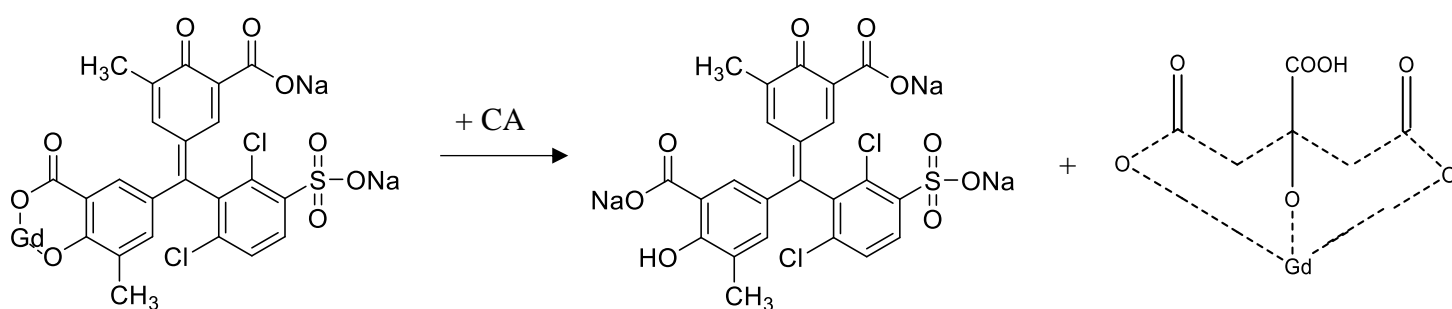
۳-۴- تیتراسیون اسپکتروفتومتری گادولینیم (III) با اسید سیتریک

در مرحله‌ی بعد به بررسی خواص طیفی در برهم‌کنش کمپلکس شناساگر - یون فلزی با آنالیت اسید سیتریک پرداخته شد. در این راستا به کمپلکس به دست آمده از مرحله‌ی قبل در pH بهینه، به آهستگی اسید سیتریک افزوده شد و با اسید سیتریک تیترا گردید. در این قسمت ابتدا ۲ میلی‌لیتر بافر بوریکی اسید (2×10^{-2} مولار) با pH=۷/۰۰ و ۱۰۰ میکرولیتر کرومازورول S (10^{-3}) در این 1×10^{-3} مولار) و ۱۰۰ میکرولیتر گادولینیم (III) (1×10^{-3} مولار) به سل افزوده شد و طیف مرئی - فرابنفش آن ثبت شد. سپس محلول به دست آمده با اسید سیتریک در حجم‌های مختلف ۵ تا ۵۰۰ میکرولیتر تیترا شد و پس از هر مورد افزودن اسید سیتریک، طیف ثبت شد. نمودار تیتراسیون از رسم مقدار جذب بر حسب طول موج در مقادیر مختلف اسید سیتریک افزوده شده ترسیم گردید (شکل ۵). با توجه به ثابت‌های اسیدی اسید سیتریک ($pK_{a1}=3/13$ ، $pK_{a2}=4/76$ ، $pK_{a3}=6/40$) در pH=۷، فرم (A^{2-}) اسید سیتریک غالب است و مکانیسم جانشینی کرومازورول S با اسید سیتریک و اتصال آن به گادولینیم (III) می‌تواند به صورت شکل ۶ باشد [۲۹ و ۳۰].

^b Job Plot



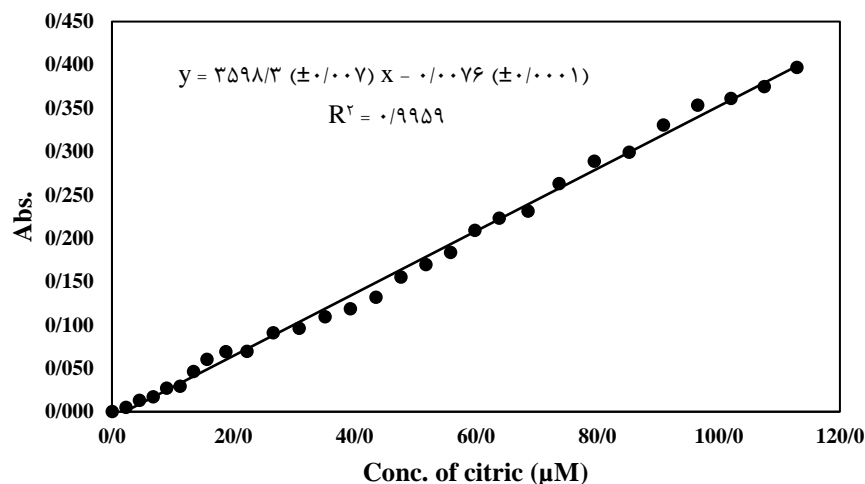
شکل ۵: تغییرات طیف جذبی محلول کمپلکس کرومازورول S ($1 \times 10^{-3} M$) - گادولینیم نترات ($1 \times 10^{-3} M$) با افزایش اسید سیتریک در گستره‌ی غلظتی ۲/۲۷ تا ۱۸۵/۱۸ میکرومولار در بافر بوریک اسید ($pH=7.0$) و دمای $25^\circ C$.



شکل ۶: مکانیسم پیشنهادی جانشینی کرومازورول S با اسید سیتریک در ترکیب با یون گادولینیم (III)

طبق نمودار شکل ۵، با افزایش اسید سیتریک، جذب در طول موج ۵۴۶ نانومتر کاهش یافته و هم‌زمان با این کاهش، جذب در طول موج ۴۲۷ نانومتر (طول موج شناساگر کرومازورول S)، افزایش پیدا می‌کند. بنابراین یک استدلال بر این مشاهده، می‌تواند این باشد که پیوند گادولینیم (III) با شناساگر گسسته شده و گادولینیم (III) با اسید سیتریک در این pH پیوند قوی‌تری ایجاد می‌کند و شناساگر در محیط آزاد شده و طیف اولیه‌ی خود را نشان می‌دهد. بنابراین در اینجا، آنالیت جانشین شناساگر شده است؛ از این جهت به این نوع واکنش‌ها، واکنش‌های جایگزینی شناساگر اطلاق می‌شود.

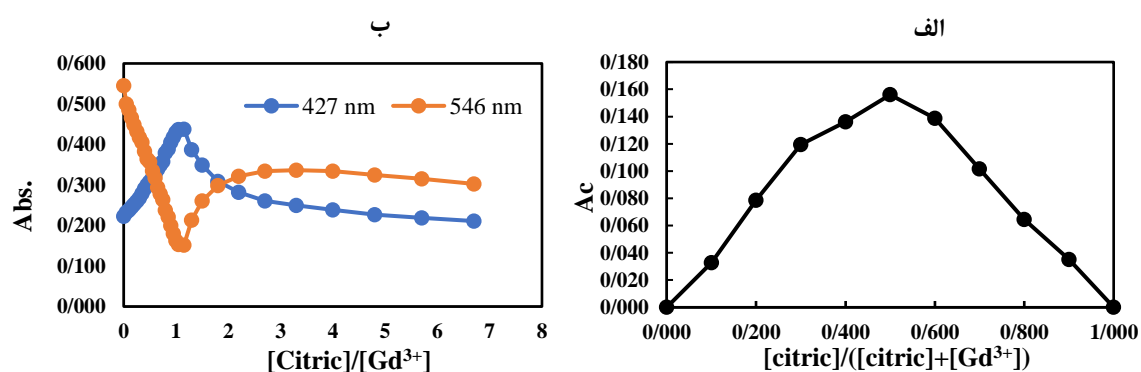
با توجه به داده‌هایی که از تیتراسیون به دست آمد، نمودار کالیبراسیون (رسم اختلاف جذب بین نمونه و شاهد، بر حسب غلظت آنالیت) واکنش گادولینیم (III) - اسید سیتریک در طول موج ۴۲۷ نانومتر رسم گردید (شکل ۷). بالا بودن نسبی مقدار شیب معادله‌ی کالیبراسیون نیز ناشی از حساسیت بالای روش است. همچنین با توجه به نمودار کالیبراسیون، دامنه‌ی خطی بودن اندازه‌گیری آنالیت از غلظت $2/27 \times 10^{-6}$ الی $112/90 \times 10^{-6}$ مولار می‌باشد.



شکل ۷: منحنی کالیبراسیون تشکیل کمپلکس Gd^{3+} -Citric در ۴۲۷ نانومتر در $pH=7/00$ و غلظت اولیه‌ی 1×10^{-3} مولار کرومازورول S و یون گادولینیم (III) و گستره‌ی غلظتی $112/90 \times 10^{-6} - 2/27 \times 10^{-6}$ مولار اسید سیتریک در $25^\circ C$

۳-۵- تعیین نسبت آنالیت به یون فلزی پذیرنده با روش جاب

در این راستا سه محلول کرومازورول S، گادولینیم (III) و اسید سیتریک با غلظت یکسان $0/001$ مولار تهیه شد. دو محلول کرومازورول S و گادولینیم (III) ترکیب شده و کمپلکس حاصل در یک بشر آماده شد و سپس به نسبت‌های مختلف و عکس هم از محلول‌های کمپلکس و آنالیت $10:0$ ، $9:1$ ، $8:2$ ، $7:3$ ، $6:4$ ، $5:5$ ، $4:6$ ، $3:7$ و $2:8$ در سل حاوی محلول بافر بوریک اسید با $pH=7/00$ ترکیب کرده و پس از هر ترکیب نسبی، یک طیف می‌گیریم. در شکل ۸-الف نمودار جاب این اندازه‌گیری در طول موج ۴۲۷ نانومتر آورده شده است که به خوبی مؤید نسبت به دست آمده از روش نسبت مولی یعنی یک به یک است.

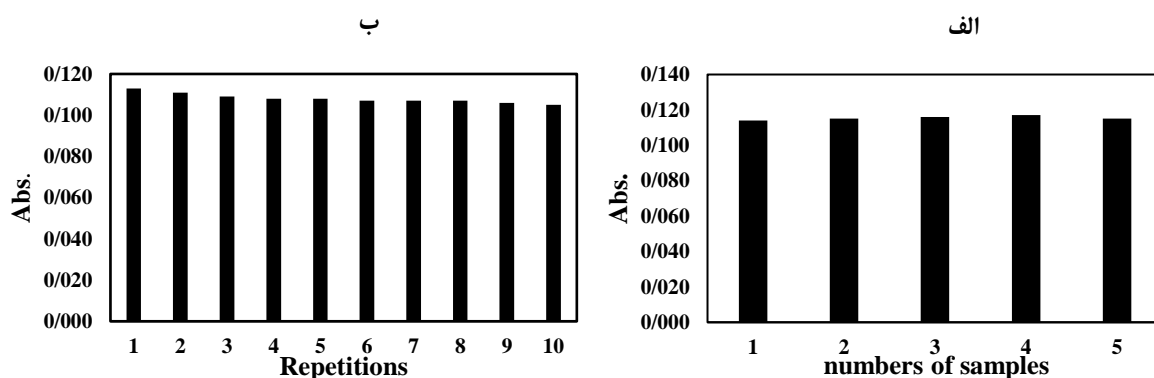


شکل ۸: الف) نمودار جاب گادولینیم (III) - اسید سیتریک در ۴۲۷ نانومتر و $pH=7/00$ ، ب) نمودار جذب بر حسب نسبت مولی اسید سیتریک به گادولینیم (III) در طول موج ۴۲۷ nm (آبی) و ۵۴۶ nm (قرمز) و $pH=7/00$ در $25^\circ C$

۳-۶- تکثیرپذیری و تکرارپذیری حسگر

جهت بررسی دقت روش اندازه گیری اسید سیتریک، تکثیرپذیری و قابلیت تهیهی چندین حسگر جداگانهی یکسان مورد بررسی قرار گرفت. در این مرحله تعداد ۵ حسگر با شرایط یکسان (شرایط بهینهی آزمایش) تهیه گردید و سپس ۱۰۰ میکرولیتر آنالیت اسید سیتریک ($10^{-3} \text{M} \times 1/0.0$) به هر کدام از ۵ حسگر طراحی شده افزوده شد و پس از هر افزایش، طیف نمونه ثبت شد و مشخص گردید که این حسگر شیمیایی از تکثیرپذیری قابل قبولی برخوردار می باشد. نمودار تکثیر پذیری این حسگر در طول موج ۵۴۶ نانومتر در شکل ۹-الف آورده شده است. مقدار انحراف استاندارد جذب ۵ حسگر ساخته شده در طول موج ۵۴۶ نانومتر، $0/0.11$ محاسبه گردید. درصد انحراف استاندارد نسبی در این مورد، $0/99$ درصد تعیین شد.

به منظور بررسی تکرارپذیری این حسگر شیمیایی در اندازه گیری اسید سیتریک، یک محلول با ترکیب کرومازول S و گادولینیم (III) با غلظت $0/0.1$ مولار و $\text{pH}=7/0$ تهیه شد و سپس از همین محلول، ده نمونه با شرایط یکسان تهیه شده و به هر کدام از آن ها ۱۰۰ میکرولیتر اسید سیتریک $0/0.1$ مولار اضافه گردید. طیف مربوط به هر کدام ثبت شد. نمودار تکرارپذیری در شکل ۹-ب آورده شده است. همانطور که از نمودار مشخص است، حسگر طراحی شده تکرارپذیری بالایی داشته که دال بر دقت بالای اندازه گیری اسید سیتریک با این روش می باشد. انحراف استاندارد جذب در این مرحله $0/0.23$ و درصد انحراف استاندارد نسبی این اندازه گیری نیز $0/58$ درصد تعیین شد.

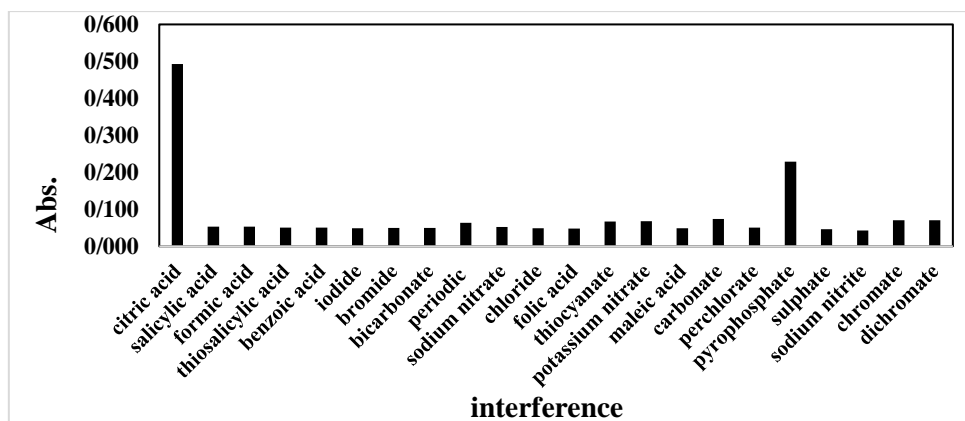


شکل ۹: (الف) تکثیرپذیری حسگر شیمیایی در طول موج ۵۴۶ نانومتر برای اندازه گیری غلظت $10^{-6} \text{M} \times 43/48$ از اسید سیتریک در $\text{pH}=7/0$ و دمای 25°C ، (ب) تکرارپذیری حسگر شیمیایی در طول موج ۵۴۶ نانومتر برای اندازه گیری غلظت $10^{-6} \text{M} \times 43/48$ از اسید سیتریک در بافر بورات $\text{pH}=7/0$ و دمای 25°C .

۳-۷- اثر مزاحمت ها بر اندازه گیری آنالیت با حسگر طراحی شده

یکی از مهم ترین پارامترهای مؤثر در انتخاب یک حسگر شیمیایی، گزینش پذیر بودن حسگر مورد نظر است. در واقع یک حسگر بدون گزینش پذیری هیچ مزیتی ندارد. گزینش پذیری یک حسگر بدین معناست که حسگر مورد نظر تنها به آنالیت مورد نظر پاسخ مثبت دهد. بدین منظور محلول چندین آنیون و اسید آلی از جمله سالیسیلیک اسید، بنزوئیک اسید، پرئودیک اسید،

فرمیک اسید، مالئیک اسید، پرکلرات، یدید و غیره که اکثراً ساختار تقریباً مشابه با آنالیت داشتند، با غلظت یکسان با آنالیت، تهیه شدند و اثر آن‌ها بر جذب محلول بررسی شد، که در بین این ترکیبات، پیروفسفات با توجه به مقدار جذب می‌تواند مزاحم محسوب شود ولی با وجود این در مشاهده با چشم غیر مسلح تغییر رنگ مشابه آنالیت را نشان نمی‌دهد. در شکل ۱۰ نمودار مربوطه قابل مشاهده است.



شکل ۱۰: نمودار مربوط به تاثیر اسید سیتریک و دیگر آنیون‌ها با غلظت اولیه $1/0 \times 10^{-3}$ مولار بر پاسخ حسگر طراحی شده در طول موج ۴۲۷ نانومتر، 25°C و $\text{pH}=7/00$.

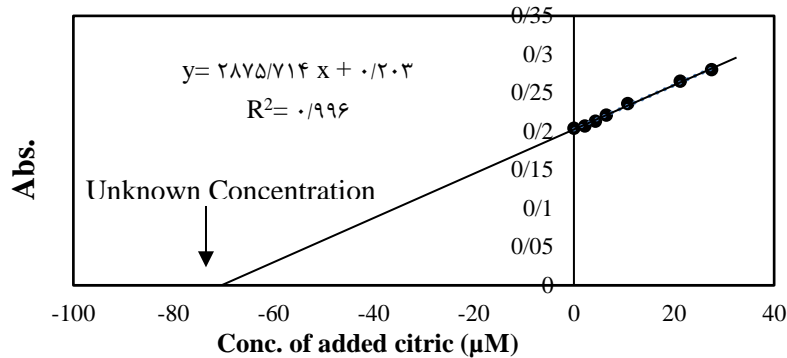


شکل ۱۱: تغییر رنگ محلول بافری حسگر طراحی شده نسبت به افزایش ۱۰۰ میکرولیتر اسید سیتریک و تعدادی از آنیون‌ها با غلظت اولیه $1/0 \times 10^{-3}$ مولار در بافر بورات $\text{pH}=7/00$ و دمای 25°C .

۳-۸- اندازه‌گیری اسید سیتریک در نمونه‌های حقیقی

با توجه به اینکه در نمونه‌های مرکبات مقدار زیادی اسید سیتریک وجود دارد، از این رو به اندازه‌گیری مقدار اسید سیتریک در نمونه‌ی آب پرتقال سن ایچ پرداخته شد. پس از تهیه آب پرتقال به روش گفته شده در بخش ۲-۳، ۱۰۰ میکرولیتر کرومازورول S، ۱۰۰ میکرولیتر گادولینیم (III) و ۱۰۰ میکرولیتر اسید سیتریک (همگی با غلظت ۰/۰۰۱ مولار) به سل منتقل گردید و مقادیر ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۵، ۳۵، ۵۰، ۶۵، ۸۰ و ۱۰۰ میکرولیتر آب پرتقال بعد از رقیق‌سازی و سانتی‌فیوژ و تنظیم pH در سل

ریخته شد و پس از هر مرحله، طیف ثبت شد. در پایان منحنی افزایش استاندارد رسم گردید و غلظت اسید سیتریک در نمونه آب پرتقال رقیق شده ۷۰/۴۲ میکرومولار تعیین شد (شکل ۱۲). درصد بازیابی حسگر در غلظت‌های مختلف اسید سیتریک از ۹۸٪ تا ۱۰۵٪ است. صحت اندازه‌گیری با محاسبه t بررسی شد. مقدار بحرانی $|t|$ برای سطح معنی دار بودن ۹۸٪ و تعداد ۳ اندازه‌گیری (یعنی ۲ درجه‌ی آزادی)، ۶/۹۶ ($t_{2, 98\%} = 6/96$) می‌باشد (جدول ۱).



شکل ۱۲: منحنی کالیبراسیون افزایش استاندارد نمونه حقیقی آب پرتقال و اندازه‌گیری اسید سیتریک موجود در آن در ۴۲۷ نانومتر و $\text{pH}=7.00$ و $^{\circ}\text{C}$ ۲۵.

جدول ۱- نتایج تجزیه‌ی اندازه‌گیری اسید سیتریک در نمونه‌های آب پرتقال

نمونه‌های آب پرتقال	مقدار اسید سیتریک (molL^{-1})		درصد بازیابی	$ t $ محاسبه شده
	مقدار اضافه شده	مقدار اندازه‌گیری شده		
نمونه ۱	-	-	-	
نمونه ۲	$2/22 \times 10^{-6}$	$2/17 \times 10^{-6} \pm 0.391$	۹۷/۷۵	۲/۲۲
نمونه ۳	$4/42 \times 10^{-6}$	$4/51 \times 10^{-6} \pm 0.41$	۱۰۲/۰۴	۳/۸۰
نمونه ۴	$6/62 \times 10^{-6}$	$6/51 \times 10^{-6} \pm 0.32$	۹۸/۳۴	۵/۹۵
نمونه ۵	$1/10 \times 10^{-5}$	$1/16 \times 10^{-5} \pm 0.39$	۱۰۵/۴۵	۲/۶۶
نمونه ۶	$2/13 \times 10^{-5}$	$2/17 \times 10^{-5} \pm 0.51$	۱۰۱/۸۸	۱/۳۶

$\text{SD} \pm$ میانگین سه اندازه‌گیری

همچنین ارقام شایستگی اندازه‌گیری اسید سیتریک با این روش در جدول ۲ ارائه شده است. در این جدول، R ضریب همبستگی، a عرض از مبدأ، b شیب خط، S_a انحراف معیار عرض از مبدأ، S_b انحراف معیار شیب، $S_{y/x}$ انحراف معیار خط برگشت y روی x ، S_{x0} انحراف معیار X_0 (داده‌ی تجربی) و S_{Xe} انحراف معیار مقدار ماده در نمونه آزمایشی می‌باشد.

جدول ۲- ارقام شایستگی اندازه‌گیری اسید سیتریک با حسگر

معادله خط برگشت	R	a	b	S_a	S_b
$Y=3598/34X-0.076$	۰/۹۹۱۷	۰/۰۰۷۶	۳۵۹۸/۳۴	۰/۰۰۶۵	۱۱۲/۱۱۸۷
$S_{y/x}$	S_{x0}	a/b	S_{Xe}	حد تشخیص	دامنه خطی
۰/۰۱۹۵	$5/7625 \times 10^{-6}$	$2/1121 \times 10^{-6}$	$1/7431 \times 10^{-6}$	$2/0.772 \times 10^{-6}$	$2/27 \times 10^{-6}$
				M	$112/90 \times 10^{-6}$
					M

۴- نتیجه‌گیری

در این تحقیق یک حسگر جدید رنگ سنجی با چشم غیر مسلح برای اندازه‌گیری اسید سیتریک با استفاده از مکانیسم جانشینی شناساگر طراحی شد. کرومازورول S به عنوان شناساگر رنگی و یون گادولینیم (III) به عنوان پذیرنده عمل می‌کند. این حسگر شیمیایی دقت و حساسیت بالایی داشته و گزینش‌پذیری خوبی به آنالیت نسبت به آنیون‌های مشابه دارد. همچنین این روش نیاز به آماده‌سازی نمونه‌ی چندانی ندارد و ساده و در دسترس است. برای اعتبارسنجی و قابل کاربرد بودن روش، مقدار اسید سیتریک موجود در نمونه‌ی آب پرتقال سن ایچ توسط حسگر طراحی شده اندازه‌گیری شد.

۵- تقدیر و تشکر

این تحقیق با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه یاسوج به سرانجام رسیده است.

۶- مراجع

- [1] Wisniak, J. (2009). Reseña de " Carl Wilhelm Scheele. *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 40(3), 165-173.
- [2] <https://www.globalhealingcenter.com/natural-health/what-is-citric-acid/>
- [3] Tang, S. C., & Yang, J. H. (2018). Dual effects of alpha-hydroxy acids on the skin. *Molecules*, 23(4), 863.
- [4] Morganti, P. (1996). Alpha hydroxy acids in cosmetic dermatology. *skin*, 1, 10.
- [5] Kornhauser, A., Coelho, S. G., & Hearing, V. J. (2012). Effects of cosmetic formulations containing hydroxyacids on sun-exposed skin: Current applications and future developments. *Dermatology Research and Practice*, 2012.
- [6] Abdel-Salam, O. M. E., Youness, E. R., Mohammed, N. A., Youssef Morsy, S. M., Omara, E. A. & Sleem, A. A. (2014). Citric acid effects on brain and liver oxidative stress in lipopolysaccharide-treated mice. *Journal of medicinal food*.
- [7] Brima, E. I. & Abbas, A. M. (2014). Determination of citric acid in soft drinks, juice drinks and energy drinks using titration. *Int. J. Chem. Stud*, 1(6), 30-34.
- [8] Penniston, K. L., Nakada, S. Y., Holmes, R. P., & Assimios, D. G. (2008). Quantitative assessment of citric acid in lemon juice, lime juice, and commercially-available fruit juice products. *Journal of Endourology*, 22(3), 567-570.
- [9] Jacobs, S. L., & Lee, N. D. (1964). Determination of citric acid in serum and urine using Br82. *Journal of Nuclear Medicine*, 5(4), 297-301.
- [10] Saffran, M., Denstedt, O. F. (1948). A rapid method for the determination of citric acid. *Journal of Biological Chemistry*, 175, 849-855.
- [11] Hartford, C. G. (1962). Rapid Spectrophotometric Method for the Determination of Itaconic, Citric, Aconitic, and Fumaric Acids. *Analytical Chemistry*, 34(3), 426-428.

- [12] Taraborelli, J. A., & Upton, R. P. (1975). Enzymatic determination of citrate in detergent products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 52(7), 248-251.
- [13] Mato, I., Huidobro, J. F., Cendo'n, Muniategui, V., Muniategui, S., Ferná'ndez-Muino, M. A. & Teresa Sancho, M. (1998). Enzymatic determination of citric acid in honey by using polyvinylpyrrolidone clarification. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(1), 141-144.
- [14] Guerrant, G. O., Lambert, M. A., & Moss, C. W. (1982). Analysis of short-chain acids from anaerobic bacteria by high-performance liquid chromatography. *Journal of Clinical Microbiology*, 16(2), 355-360.
- [15] Weikle, K. (2012). Determination of citric acid in fruit juices using HPLC. *Concordia college journal of analytical chemistry*, 3, 57-62.
- [16] Saccani, G., Gherardi, S., Trifiro, A., Soresi Bordini, C., Calza, M. & C. Freddi. (1995). Use of ion chromatography for the measurement of organic acids in fruit juices. *Journal of Chromatography A*, 706(1-2), 395-403.
- [17] Chepurnoi, I. & Bolbat, K. (1996). Development of methods for gas chromatographic measurement of sugars and organic acids in the urine of patients with diabetes mellitus. *Klinicheskaia laboratornaia diagnostika*, (3), 48-50.
- [18] Yedur, S., & Berglung, K. (1996). Use of fluorescence spectroscopy in concentration and supersaturation measurements in citric acid solutions. *Applied spectroscopy*, 50(7), 866-870.
- [19] van Staden, J. F., Mashamba, M. G., & Stefan, R. I. (2002). Determination of the total acidity in soft drinks using potentiometric sequential injection titration. *Talanta*, 58(6), 1109-1114.
- [20] Lahav, O., Shlafman, E., & Cochva, M. (2005). Determination of low citric acid concentrations in mixture of weak acid/bases. *Water SA*, 31(4), 497-502.
- [21] Khajehsharifi, H., & Bordbar, M. M. (2015). A highly selective chemosensor for detection and determination of cyanide by using an indicator displacement assay and PC-ANN and its logic gate behavior. *Sens. Actuators B Chem*, 209, 1015-1022.
- [22] Janowski, V., & Severin, K. (2011). Carbohydrate sensing with a metal-based indicator displacement assay. *Chem. Commun*, 47(30), 8521-8523.
- [23] Tavallali, H., Deilamy-Rad, G., & Mosallanejad, N. (2018). Development of a New Colorimetric Chemosensor for Selective Determination of Urinary and Vegetable Oxalate Concentration Through an Indicator Displacement Assay (IDA) in Aqueous Media. *Food Technol. Biotechnol*, 56(3), 329.
- [24] Khajehsharifi, H., & Sheini, A. (2014). A selective naked-eye detection and determination of cysteine using an indicator-displacement assay in urine sample. *Sens. Actuators B: Chem*, 199, 457-462.
- [25] Sasaki, Y., Zhang, Z. & Minami, T. (2019). A saccharide chemosensor array developed based on an indicator displacement assay using a combination of commercially available reagents. *Front. Chem*, 7, 49.

- [26] Wu, D., Sedgwick, A. C., Gunnlaugsson, T., Akkaya, E. U., Yoon, J., & James, T. D. (2017). Fluorescent chemosensors: the past, present and future. *Chem. Soc. Rev*, 46(23), 7105-7123.
- [27] Y. I. https://inis.iaea.org/search/search.aspx?orig_q=author:%22Sal%27nikov,%20Yu.I.%22 and F.V. Devyatov, *Zhur. Neorg. Khim.* **25** (1980) 2384.
- [28] Sangal, S. P. (1967). Metal chelates of lanthanoids in aqueous solution and their analytical applications. *J. Prakt. Chem*, 36(3-4), 126-137.
- [29] Salnikov, Y. I., Devyatov, F. V., Zhuravleva, N. E., & Golodnitskaya, D. V. (1984). Complex-formation of nickel (II) and cobalt (II) with citric-acid. *Zhur. Neorg. Khim*, 29(9), 2273-2276.
- [30] Zabiszak, M., Nowak, M., Taras-Goslinska, K., Kaczmarek, M. T., Hnatejko, Z., & Jastrzab, R. (2018). Carboxyl groups of citric acid in the process of complex formation with bivalent and trivalent metal ions in biological systems. *J. Inorg. Biochem*, 182, 37-47.

