



Semnan University



Research Article

Green Synthesis and Characterization of Carbon Dots Nanosensors Using Pumpkin Seed Shell for Spectrofluorimetric Determination of L-cysteine

Afsaneh Zarei Manujan, Alireza Bazmandegan-Shamili*, Mohammad Sabet, Masoud Rohani Moghadam

Department of Chemistry, Faculty of Science, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran

PAPER INFO

Article history:

Received: 04/Dec/2023

Revised: 28/Jan/2024

Accepted: 29/Jan/2024

Keywords:

L-cysteine, Luminescence, Pumpkin seed shell, Carbon dots, Nanosensor.

ABSTRACT

In this research, carbon dots with high luminescence intensity were synthesized using pumpkin seed shell as a new and green source with hydrothermal method. The prepared carbon dots were characterized using X-ray diffraction, Fourier transform infrared spectroscopy and Scanning electron microscopy. The average size of the synthesized carbon dots was estimated about 59 nm. In addition, the luminescence property of the synthesized carbon dots was evaluated using photoluminescence analysis and according to their high luminescence property at excitation wavelength of 340 nm and emission wavelength of 425 nm, they were used as nanosensor for the determination of L-cysteine. By addition of L-cysteine, the emission intensity of carbon dots solution was reduced. In order to enhancement of the method sensitivity, the effective parameters on the quenching intensity of L-cysteine such as pH, interaction time and environment ionic strength were examined and optimized. Under the laboratory optimum conditions, linear range of 5-500 μM , limit of detection of 1.0 μM and relative standard deviation (at 10 μM of L-cysteine) of 3% was obtained. The accuracy of the proposed method was evaluated using spiking procedure and according to the recoveries percent (96-102), the proposed method is a reliable method for determination of L-cysteine in the examined samples. Finally, the prepared nanosensor was successfully used for the determination of L-cysteine in tap water samples.

DOI: <https://doi.org/10.22075/chem.2024.32563.2232>

© 2024 Semnan University.

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

*.Corresponding author: Assistant Professor of Analytical Chemistry. E-mail address: a_bazmandegan@vru.ac.ir

How to cite this article: Zarei Manujan, A., Bazmandegan-shamili, A., Sabet, M., & Rohani Moghadam, M. (2024). Green Synthesis and Characterization of Carbon Dots Nanosensors Using Pumpkin Seed Shell for Spectrofluorimetric Determination of L-cysteine. *Applied Chemistry Today*, 19(71), 331-348. (in Persian)

سنتز سبز و مشخصه‌یابی نانو حسگرهای نقاط کربنی با استفاده از پوست تخمه کدو

جهت اندازه‌گیری اسپکتروفلوریمتری ال - سیستئین

افسانه زارعی منوجان، علیرضا بازماندگان شمیلی*، محمد ثابت، مسعود روحانی مقدم

گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۹/۱۳	در این تحقیق نقاط کربنی با شدت نورتایی بسیار بالا با استفاده از پوست تخمه کدو به عنوان یک منبع جدید و سبز توسط روش آب گرمایی سنتز شد. نقاط کربنی تهیه شده توسط آنالیز پراش اشعه ایکس، طیف‌سنجی تبدیل فوریه فرسوخ و آنالیز میکروسکوپی الکترونی روشی مشخصه‌یابی شدند. متوسط اندازه ذرات نقاط کربنی سنتز شده حدود ۵۹ نانومتر برآورد گردید. علاوه بر این ویژگی نورتایی نقاط کربنی سنتز شده نیز با استفاده از روش فوتولومینسانس بررسی گردید و با توجه به شدت نورتایی بالایی که در طول موج تحریک ۳۴۰ نانومتر و طول موج نشری ۴۲۵ نانومتر نشان دادند، از آنها به عنوان نانو حسگر برای اندازه‌گیری ال - سیستئین استفاده شد. با افزودن ال - سیستئین میزان نشر محلول نقاط کربنی کاهش یافت. جهت افزایش حساسیت روش پارامترهای موثر بر شدت خاموش‌کنندگی ال - سیستئین مانند pH، زمان برهمکنش و قدرت یونی محیط مورد ارزیابی و بهینه‌سازی قرار گرفت. در شرایط بهینه آزمایشگاهی، گستره خطی ۵۰۰-۵ میکرومولار، حد تشخیص ۱ میکرومولار و انحراف استاندارد نسبی (در غلظت ۱۰ میکرومولار از ال - سیستئین) ۳ درصد به دست آمد. از روش افزودن برای بررسی صحت روش پیشنهادی استفاده شد که با توجه به درصد بازیابی‌ها (۱۰۲-۹۶ درصد) روش پیشنهادی یک روش قابل اعتماد برای اندازه‌گیری ال - سیستئین در نمونه‌های مورد آزمایش می‌باشد. در نهایت نانوحسگر تهیه شده برای اندازه‌گیری ال - سیستئین در نمونه‌های آب شهر با موفقیت مورد استفاده قرار گرفت.
بازنگری مقاله: ۱۴۰۲/۱۱/۰۸	
پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱۱/۰۹	
کلمات کلیدی:	
ال - سیستئین، نورتایی، پوست تخمه کدو، نقاط کربنی، نانوحسگر.	

DOI: <https://doi.org/10.22075/chem.2024.32563.2232>

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

۱ - مقدمه

ال - سیستئین یک اسیدآمین نیمه ضروری و پروتئین‌زا، غیرسمی، زیست‌سازگار و محلول در آب است که دارای گروه‌های عاملی تیول (SH)، کربوکسیل (COOH-) و آمین نوع اول (NH₂-) می‌باشد و به علت وجود گروه SH- واکنش‌پذیری بسیار بالایی دارد. بنابراین این ترکیب مسئول بسیاری از عملکردهای بیولوژیکی در انسان می‌باشد [۱ و ۲]. ال - سیستئین به‌طور طبیعی در بسیاری از غذاها با پروتئین بالا مانند سبوس گندم، کلم بروکلی و تخم‌مرغ، در مقادیر مختلف وجود دارد. مصرف روزانه این غذاها مقدار کافی ال - سیستئین را برای بدن انسان فراهم می‌کند [۳]. کاربردهای ال - سیستئین در سطح صنعتی، عمدتاً در زمینه‌های مختلفی مانند داروسازی به عنوان مثال در برخی آنتی‌بیوتیک‌ها [۴]، در صنایع غذایی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان [۵] و صنایع آرایشی و بهداشتی به عنوان بخشی از فرمول‌های مراقبت از پوست یا مو در حال افزایش است [۶].

[۷]. از جمله ویژگی‌های ال-سیستئین می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی، تقویت سیستم ایمنی، کاهش خستگی، بهبود برخی اختلالات روانی اشاره کرد [۷، ۸]. کمبود و یا افزایش این ماده در بدن انسان می‌تواند منجر به آسیب‌هایی مانند ضایعات پوستی، بیماری‌های کبدی، آلزایمر، بی‌رنگی مو، رشد آهسته در کودکان، ضعف و از دست دادن عضله و چربی، عقب ماندگی رشد، بیماری‌های قلبی عروقی، بیماری آلزایمر و پوکی استخوان شود [۹ و ۱۰]. با توجه به موارد ذکر شده توسعه یک روش سریع، ساده و حساس برای اندازه‌گیری ال-سیستئین در نمونه‌های زیست محیطی و بیولوژیکی از اهمیت زیادی برای محققین برخوردار می‌باشد. تکنیک‌های گوناگونی مانند رنگ‌سنجی [۱۱ و ۱۲]، تجزیه تزریق جریان [۱۳]، کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا [۱۴]، طیف‌سنجی جرمی [۱۵]، الکتروفورز [۱۶]، نورتابی شیمیایی [۱۷]، روش‌های الکتروشیمیایی [۱۸] و اسپکتروفلوریمتری [۱۹ و ۲۰] برای اندازه‌گیری ال-سیستئین مورد استفاده قرار گرفته است. در میان این تکنیک‌ها، روش اسپکتروفلوریمتری به دلیل سادگی، سرعت و حساسیت بالا، غیر تخریبی بودن و ارزان بودن دستگاهوری نسبت به روش‌های دیگر به طور گسترده‌ای برای بررسی خواص و اندازه‌گیری گونه‌های آلی و معدنی به کار برده شده است [۲۵-۲۱]. نانوحسگرهای فلورسانس می‌توانند بر پایه ترکیبات آلی و یا نانومواد تهیه شوند و به دلیل داشتن خواص شیمیایی و فیزیکی ویژه و در بعضی موارد کم هزینه‌تر بودن در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. نانوحسگرها را می‌توان به روش‌های مختلف و با استفاده از پیش مواد گوناگونی تهیه کرد که نقاط کربنی به عنوان یکی از این پیش‌مواد توسط محققین مورد توجه قرار گرفته است. نقاط کربنی دسته جدیدی از مواد مبتنی بر کربن به عنوان نانوذرات شبه‌کروی و گسسته با اندازه معمولاً کمتر از ۱۰ نانومتر هستند [۲۶ و ۲۷]. نقاط کربنی دارای مزایایی مانند پایداری و مقاومت عالی در نورسفید، سازگاری با محیط‌زیست، سمیت و هزینه کم، فلورسانس پایدار و حلالیت خوب در آب می‌باشند. به همین دلیل در سال‌های اخیر نقاط کربنی در زمینه‌های گوناگونی مانند تصویربرداری زیستی و تحویل دارو [۲۸] و حسگرهای زیستی و شیمیایی [۲۹] کاربرد داشته‌اند. اساس اکثر سنسج‌های فلورسانس بر پایه فرونشانی فلورسانس نقاط کربنی توسط گونه‌های آلی یا معدنی از طریق برهمکنش بین گونه هدف و گروه‌های عاملی موجود در سطح نقاط کربنی صورت می‌گیرد [۳۰]. نقاط کربنی را می‌توان از پیش‌مواد گوناگونی مانند مواد بیولوژیکی [۳۱]، مواد معدنی [۳۲]، و نیز مواد زیست توده [۳۳] تهیه نمود. روش‌های آب گرمایی و ریزموج از جمله پرکاربردترین روش‌های تهیه نقاط کربنی می‌باشند [۳۰]. استفاده از زیست توده‌ها برای تولید نقاط کربنی می‌تواند کمک بزرگی برای حفظ محیط زیست باشد. به همین دلیل در سال‌های اخیر تلاش‌های زیادی برای استفاده از ضایعات کشاورزی، جنگل‌داری و مواد غذایی برای ساخت نقاط کربنی دارای فوتولومینسانس انجام شده است [۳۴]. به عنوان مثال در سال ۲۰۱۷ Prasetya Aji و همکاران نقاط کربنی را با استفاده از پیش ماده پوست ترنجبین و روش پیرولیز سنتز و خواص آنها را بررسی کردند [۳۵]. همچنین Thongsai و همکاران در سال ۲۰۱۹ با استفاده از پوسته برنج موفق به ساخت

نقاط کربنی شدند و از آنها برای تشخیص بخار الکل و ترکیبات آلی فرار استفاده نمودند [۳۶]. پیش ماده پایا نیز از جمله مواد زیست سازگاری بوده که در سال ۲۰۱۹ توسط Pooja D و همکاران برای تهیه نقاط کربنی و استفاده از آنها برای تشخیص کروم مورد استفاده قرار گرفته است [۳۷]. پوست تخمه کدو به عنوان یک زیست توده و منبع ارزان و پایدار می‌تواند به عنوان یک پیش‌ماده موثر و جایگزین مواد شیمیایی برای تهیه نقاط کربنی مورد استفاده قرار گیرد و بر طبق مطالعات انجام شده تاکنون پوست تخمه کدو برای تهیه نقاط کربنی به کار برده نشده است. بنابراین در این پژوهش برای اولین مرتبه جهت تهیه نقاط کربنی از پوست تخمه کدو به عنوان یک منبع سبز و نیز روش آب گرمایی استفاده شده است. مشخصه‌یابی نقاط کربنی سنتز شده توسط تکنیک‌های طیف‌سنجی پراش اشعه ایکس، طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ، و میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد ارزیابی قرار گرفت. در مرحله بعد از نقاط کربنی تهیه شده به عنوان نانوحسگر برای تشخیص و اندازه‌گیری ال-سیستئین استفاده شد. این اندازه‌گیری بر پایه اثر فرونشانی فلورسانس نقاط کربنی توسط ال-سیستئین انجام شد. عوامل موثر بر خاموش‌سازی شدت نشر نقاط کربنی توسط ال-سیستئین مورد بررسی و بهینه‌سازی قرار گرفت. در نهایت نانوحسگر تهیه شده برای اندازه‌گیری ال-سیستئین در نمونه‌های آب به کار برده شد.

۲- فعالیت‌های تجربی

۲-۱- مواد شیمیایی و تجهیزات

تمام مواد شیمیایی استفاده شده در این پژوهش دارای خلوص تجزیه‌ای بوده و از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. برای تهیه تمام محلول‌ها از آب دیونیزه استفاده شد. محلول استاندارد ال-سیستئین با غلظت ۰/۰۲ مولار از حل کردن مقدار محاسبه شده از این ترکیب در آب دیونیزه تهیه شد. محلول بافر ۱۰ میلی مولار با حل کردن مقادیر مناسب از بوریک اسید، فسفریک اسید و استیک اسید در آب دیونیزه تهیه و سپس با استفاده از سدیم هیدروکسید و هیدروکلریک اسید محلول‌هایی با pH های ۲ تا ۱۰ تهیه آماده شد. در این پژوهش جهت ثبت طیف‌های فلورسانس از اسپکتروفلوریمتر مدل PerkinElmer LS45 استفاده شد. همچنین مشخصه‌یابی نقاط کربنی سنتز شده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) مدل TESCAN، طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FT-IR) مدل Shimadzu Varian، طیف‌سنجی پراش اشعه ایکس (XRD) مدل X' Pert Pro انجام گرفت. تنظیم pH محلول‌ها مورد استفاده با استفاده از pH متر مدل Toledo-Mettler انجام شد.

۲-۲- سنتز نقاط کربنی

برای تهیه نقاط کربنی، ابتدا پوست‌های تخمه کدو آسیاب و پودر شدند و سپس ۸ گرم پودر تخم کدو با ۱۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه در یک بشر ریخته و به مدت ۱۲ ساعت هم زده شد. در مرحله بعد محتویات بشر به داخل اتوکلاو منتقل و به مدت

۲۴ ساعت و در دمای ۱۵۰ درجه سانتی گراد داخل آون نگهداری شد. در نهایت مخلوط حاصل سانتریفیوژ و محلول آن که حاوی نقاط کربنی می باشد توسط کاغذ صافی کاملاً جدا گردید.

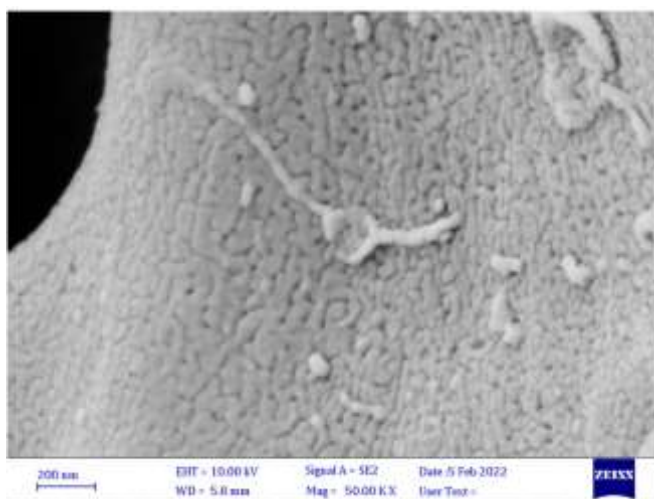
۳-۲- اندازه گیری ال - سیستئین توسط نقاط کربنی

۳ میلی لیتر محلولی حاوی ۱۰۰ میکرومولار ال - سیستئین، ۵۰۰ میکرولیتر نقاط کربنی و آب دیونیزه که pH آن توسط بافر در $\text{pH} = 8$ تنظیم شده بود تهیه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۲۵ دقیقه هم زده شد و سپس شدت نشر آن توسط دستگاه اسپکتروفلوریمتر در طول موج تحریک ۳۴۰ nm و طول موج نشر ۴۲۵ nm اندازه گیری شد. شدت نشر محلول شاهد نیز در عدم حضور ال - سیستئین در طول موج تحریک ۳۴۰ nm و طول موج نشر ۴۲۵ nm ثبت گردید.

۳- نتایج و بحث

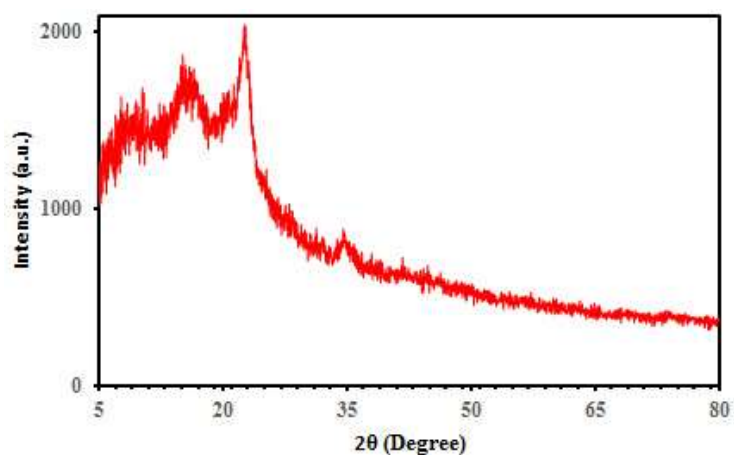
۳-۱- مشخصه یابی نقاط کربنی

جهت تعیین ویژگی های نقاط کربنی سنتز شده از پوست تخمه کدو به روش آب گرمایی، ریخت شناسی آنها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۱). همان گونه که مشاهده می شود محصول سنتز شده از ذرات بسیار ریز چسبیده شده به هم ایجاد شده است. میانگین قطر ذرات سنتز شده در حدود ۵۹ نانومتر می باشد. علت ایجاد چنین ریخت شناسی را می توان به نسبت سطح به حجم بسیار بالای نانو ساختارهای سنتز شده نسبت داد. در واقع به دلیل اندازه بسیار کوچک نقاط کربنی سنتز شده انرژی سطحی آنها بسیار بالاست که منجر به چسبیده شدن نقاط ریز و ایجاد ساختارهای کلوخه مانند می شود.



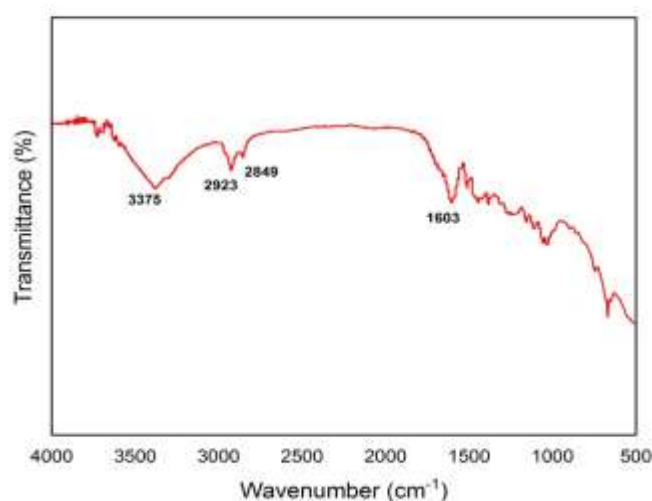
شکل ۱. تصویر FE-SEM مربوط به نقاط کربنی سنتز شده

از روش پراش پرتو ایکس (XRD) برای تعیین ساختار کریستالی نقاط کربنی تهیه شده استفاده شد. با توجه به نتایج (شکل ۲) این ساختار دارای دو نوار در حدود ۱۵ و ۲۲ درجه (دو تتا) می‌باشد که می‌توان به نقاط کربنی سنتز شده دارای ساختار آمورف نسبت داد.



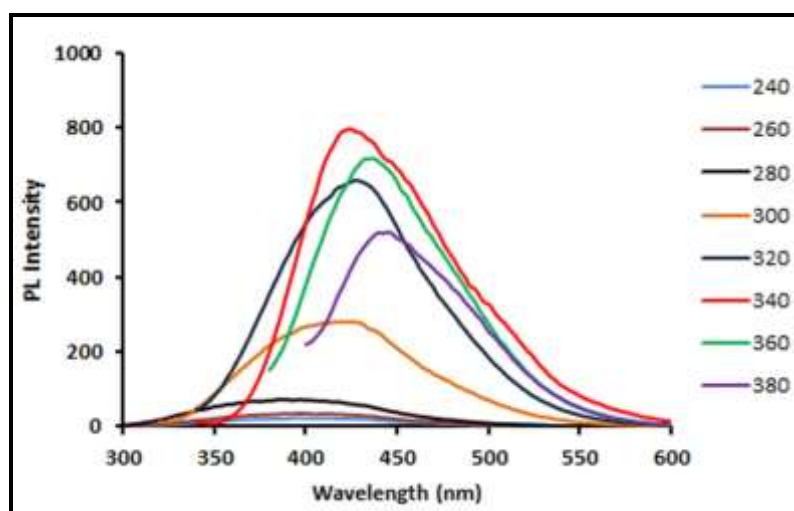
شکل ۲. تصویر XRD مربوط به نقاط کربنی سنتز شده

با توجه به اینکه گروه‌های عاملی روی سطح نقاط کربنی می‌توانند بر خواص نورتایی آنها موثر باشد، نقاط کربنی تهیه شده توسط طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه مشخصه‌یابی شدند. همانطور که در شکل ۳ مشخص می‌شود، نقاط کربنی یک نوار جذبی را در حدود 3375 cm^{-1} نشان می‌دهند که علاوه بر تایید وجود گروه‌های هیدروکسیل (OH) بر سطح نمونه، نشان‌دهنده توانایی جذب آب توسط محصول تهیه شده می‌باشد. همچنین نوارهای ارتعاشی ظاهر شده در 2923 cm^{-1} و 2849 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی C-H می‌باشند. علاوه بر این حضور نوار در ناحیه 1603 cm^{-1} مربوط به پیوند C=O در گروه‌های عاملی CONH و COOH است.

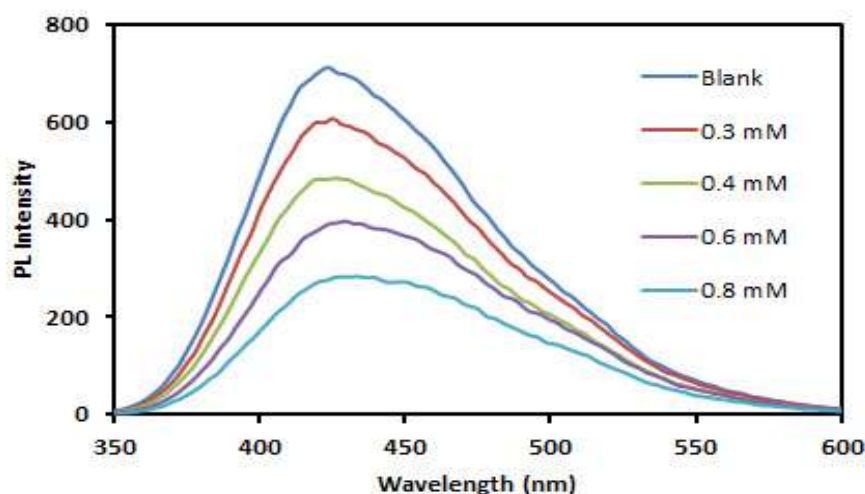


شکل ۳. طیف IR مربوط به نقاط کربنی سنتز شده

به منظور تعیین طول موج تحریک نقاط کربنی تهیه شده محلولی حاوی ۵۰۰ میکرولیتر از محلول نقاط کربنی رقیق شده در آب دیونیزه تهیه و سپس میزان نشر محلول‌ها در طول موج‌های تحریک متفاوت در محدوده ۲۴۰-۳۸۰ nm مورد بررسی قرار گرفت. نتایج (شکل ۴) نشان داد که بیشترین شدت نشر در طول موج تحریک ۳۴۰ nm مشاهده می‌شود. بنابراین این طول موج به عنوان طول موج تحریک انتخاب گردید. همچنین به منظور بررسی برهمکنش بین گروه‌های عاملی سطح نقاط کربنی و ال-سیستئین که باعث کاهش شدت نشر نقاط کربنی می‌شود، محلولی از ال-سیستئین را به محلولی حاوی ۵۰۰ میکرولیتر از محلول نقاط کربنی رقیق شده اضافه و سپس شدت نشر محلول در طول موج تحریک ۳۴۰ نانومتر ثبت گردید. همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود با افزودن ال-سیستئین شدت فلورسانس کاهش می‌یابد. پس می‌توان از نقاط کربنی به عنوان حسگر برای تشخیص و اندازه‌گیری ال-سیستئین استفاده نمود.



شکل ۴. طیف نقاط کربنی سنتر شده در طول موج‌های تحریک متفاوت



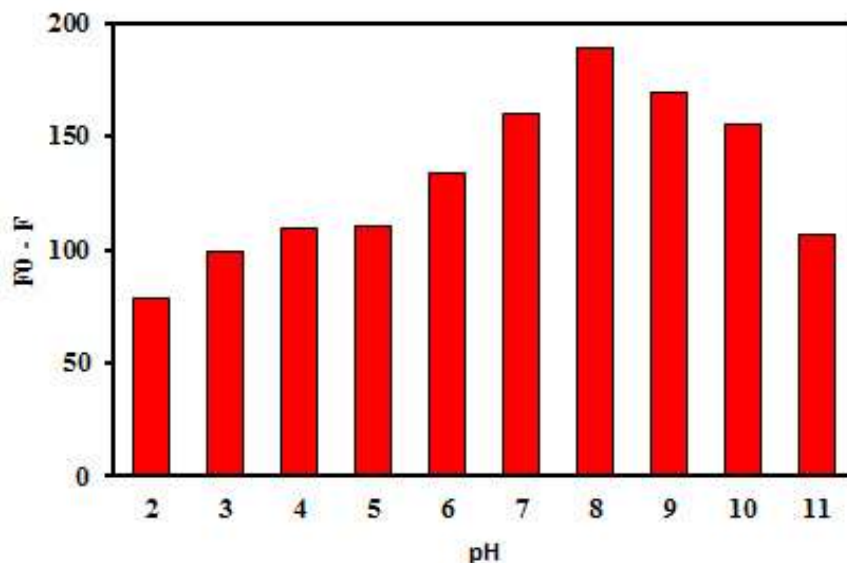
شکل ۵. اثر فرونشانی غلظت‌های مختلف ال-سیستئین بر شدت نقاط کربنی

۳-۲- بهینه‌سازی پارامترهای موثر بر شدت خاموش‌کنندگی ال - سیستمین بر شدت نشر نقاط کربنی

اثر پارامترهای pH محلول، زمان برهمکنش و قدرت یونی محیط به منظور افزایش حساسیت و در نتیجه کاهش حد تشخیص روش پیشنهادی مورد بررسی و بهینه‌سازی قرار گرفتند. ضمناً در آزمایش‌های اولیه مشخص شد که تغییر دما تاثیری بر میزان خاموش‌کنندگی ال - سیستمین ندارد. بنابراین تمام آزمایش‌های بعدی در دمای محیط انجام شد.

۳-۲-۱- بررسی تاثیر pH

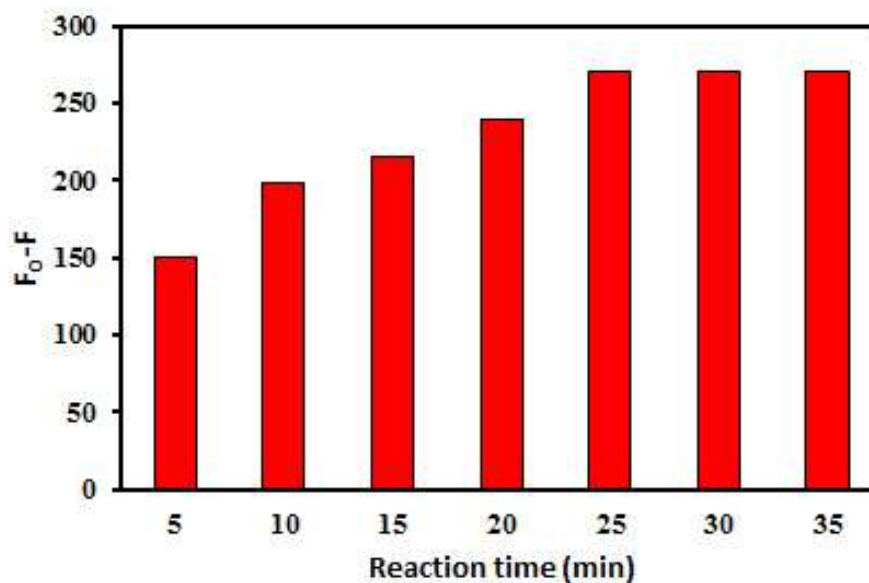
pH محیط می‌تواند نقش تعیین‌کننده‌ای در شدت نشر نقاط کربنی و نیز برهمکنش گروه‌های عاملی موجود در سطح نقاط کربنی با ال - سیستمین داشته باشد. تغییرات شدت نشر وابسته به pH می‌تواند مربوط به از دست دادن پروتون یا پروتونه شدن گروه‌های عاملی در سطح نقاط کربنی باشد. این تغییرات را همچنین می‌توان مربوط به حضور ال - سیستمین موجود در محلول نسبت داد. بنابراین شدت نشر نقاط کربنی در حضور و عدم حضور ال - سیستمین در pHهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، محلول‌هایی با غلظت ۱۰۰ میکرومولار از ال - سیستمین تهیه و pH آن‌ها با استفاده از بافرهای تهیه‌شده بین ۲ تا ۱۱ تنظیم شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه به وسیله همزن مغناطیسی هم‌زده شد و در نهایت شدت نشر نمونه توسط دستگاه اسپکتروفلوریمتر اندازه‌گیری گردید. در ضمن محلول‌های شاهد نیز تهیه و pH آن‌ها بین ۲ تا ۱۱ تنظیم و بعد از ۱۰ دقیقه هم‌زدن شدت نشر آن‌ها اندازه‌گیری شد. در نهایت اختلاف بین شدت نشر نمونه شاهد و نمونه حاوی ال - سیستمین محاسبه و این اختلاف بر حسب pH رسم شد. نتایج حاصل از نشر در شکل ۶ آمده است. همان‌طور که دیده می‌شود بیشترین اختلاف شدت نشر در $pH = 8$ مشاهده می‌شود. می‌توان علت را این‌گونه بیان کرد که در محیط بسیار اسیدی یا قلیایی پروتونه‌شدن - پروتون‌زدایی تاثیر می‌گذارد. بنابراین در آزمایش‌های بعدی از $pH = 8$ به عنوان pH بهینه استفاده گردید.



شکل ۶ اثر pH بر اختلاف شدت نشر محلول حاوی ال-سیستئین و محلول شاهد شرایط: غلظت ال - سیستئین: ۱۰۰ میکرومولار؛ حجم نقاط کربنی: ۵۰۰ میکرولیتر؛ زمان هم زد: ۱۰ دقیقه؛ غلظت سدیم کلرید: صفر درصد

۳-۲-۲- بررسی تاثیر زمان

مدت زمان برهمکنش نقاط کربنی با ال-سیستئین می‌تواند یکی از فاکتورهای مؤثر در تغییر شدت نشر باشد. بنابراین برای بررسی اثر این پارامتر محلول‌هایی با غلظت ۱۰۰ میکرومولار از ال-سیستئین تهیه و pH آن‌ها در ۸ تنظیم گردید. سپس محلول‌ها به صورت جداگانه در مدت‌زمان‌های بین ۵ تا ۳۵ دقیقه هم زده شد. در نهایت نشر آن‌ها در طول موج تحریک ۳۴۰ و طول موج نشر ۴۲۵ nm توسط دستگاه اسپکتروفلوریمتر اندازه‌گیری شد. ضمناً محلول‌های شاهد نیز به همین ترتیب بدون حضور ال-سیستئین آماده و در همین محدوده‌ی زمانی هم زده شدند. همان‌طور که در شکل ۷ مشاهده می‌شود بیشترین اختلاف شدت نشر در زمان ۲۵ دقیقه دیده شد و با افزایش زمان تغییر قابل توجهی در اختلاف شدت نشر مشاهده نمی‌شود. علت این روند را می‌توان به کامل شدن واکنش نسبت داد. بنابراین زمان ۲۵ دقیقه به‌عنوان زمان بهینه برای آزمایش‌های بعدی انتخاب شد.

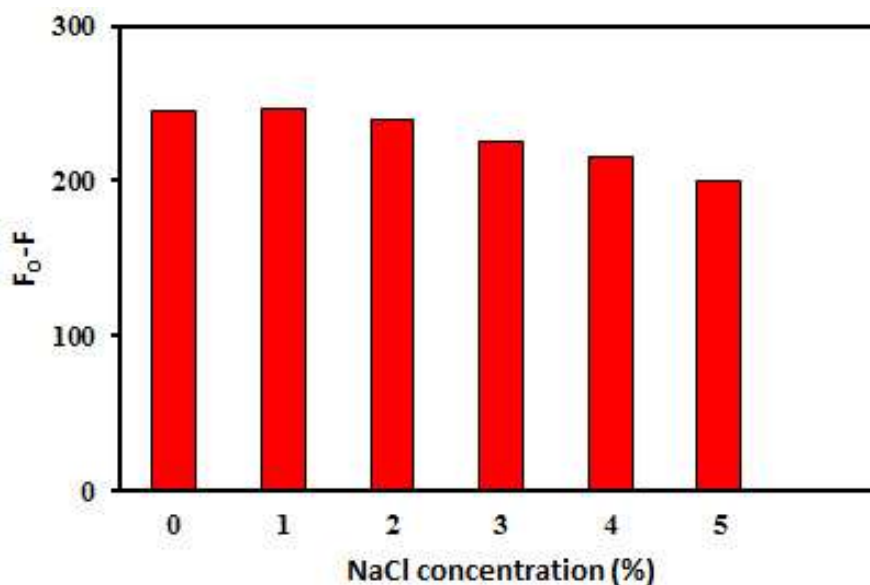


شکل ۷. اثر زمان برهمکنش بر اختلاف شدت نشر محلول حاوی ال - سیستئین و محلول شاهد

شکل ۳-۶- شرایط: غلظت ال - سیستئین: ۱۰۰ میکرومولار؛ حجم نقاط کربنی: ۵۰۰ میکرولیتر؛ $pH=8$ ؛ غلظت سدیم کلرید: صفر درصد

۳-۲-۳- بررسی اثر قدرت یونی

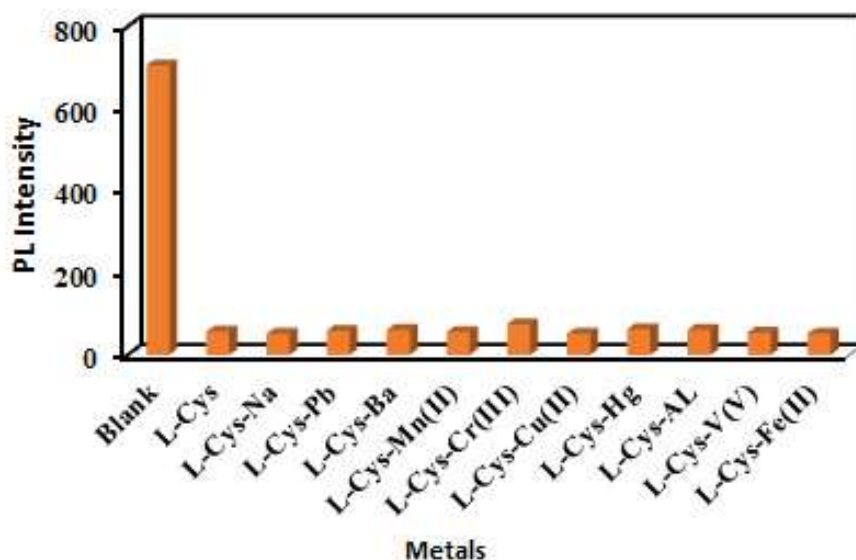
با توجه به نقش قدرت یونی در انجام واکنش‌ها، قدرت یونی محیط واکنش مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. به این صورت که محلول‌هایی با غلظت ۱۰۰ میکرومولار از ال - سیستئین تهیه و سپس غلظت‌های مختلف از نمک سدیم کلرید (۰٪ تا ۵٪) به محلول‌ها اضافه گردید. محلول‌های شاهد نیز به همین صورت بدون حضور ال - سیستئین تهیه و غلظت نمک در آن‌ها تنظیم شد. سپس شدت نشر محلول‌ها در طول موج نشری ۴۲۵ nm ثبت شد. نتایج (شکل ۸) نشان داد که با افزودن نمک تا ۱ درصد اختلاف شدت نشر تغییری نمی‌کند ولی با افزایش بیشتر غلظت نمک اختلاف شدت نشر به دلیل افزایش حضور یون‌ها و تغییر در فعالیت یون‌ها کاهش پیدا می‌کند. بنابراین آزمایش‌های بعدی بدون استفاده از نمک انجام شد.



شکل ۸. اثر قدرت یونی بر اختلاف شدت نشر محلول حاوی ال-سیستئین و محلول شاهد شرایط: غلظت ال - سیستئین: ۱۰۰ میکرومولار؛ حجم نقاط کربنی: ۵۰۰ میکرولیتر؛ pH=۸؛ زمان هم زدن: ۲۵ دقیقه

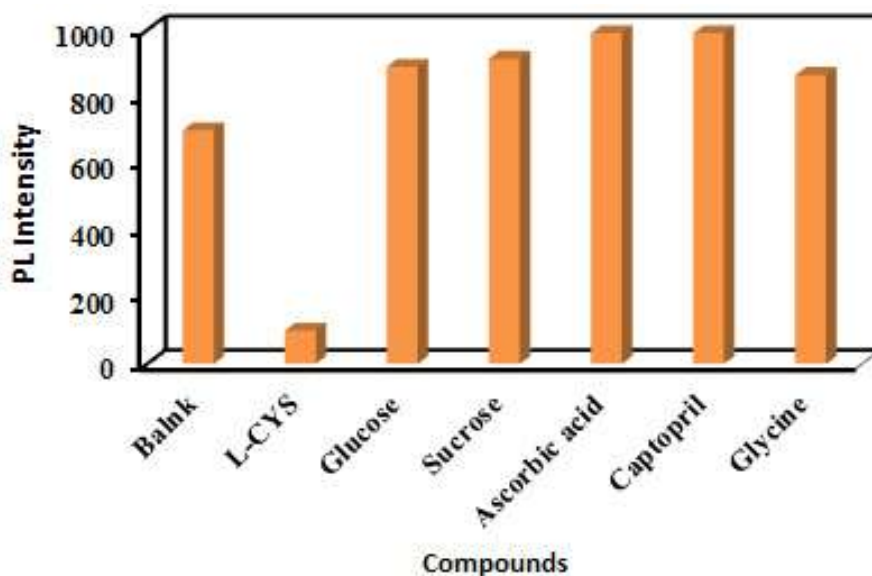
۳-۲-۴- گزینش پذیری

برای بررسی انتخابگری این حسگر نسبت به ال-سیستئین اثر یون‌های مختلف بر روی شدت نشر نقاط کربنی بررسی شد. به این صورت که مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از نقاط کربنی به لوله آزمایش منتقل و سپس غلظت‌های ۰/۱ میلی‌مولار از کاتیون‌های مختلف اضافه و شدت نشر آن‌ها اندازه‌گیری شد. همان‌طور که در شکل ۹ مشاهده می‌شود، افزودن کاتیون‌ها تاثیر قابل توجهی بر کاهش شدت نشر نقاط کربنی ندارند. همچنین اثر ترکیبات آلی مانند آسکوربیک اسید، گلوکز، ساکارز، کاپتوپریل و گلایسین نیز بر روی شدت نشر نقاط کربنی بررسی شد. همان‌طور که در شکل ۱۰ مشاهده می‌شود، افزودن ترکیبات ذکر شده برخلاف ال-سیستئین باعث افزایش شدت نشر می‌شوند. بنابراین نقاط کربنی تهیه شده می‌توانند به عنوان یک حسگر گزینشی جهت اندازه‌گیری ال-سیستئین مورد استفاده قرار گیرند.



شکل ۹. اثر مزاحمت کاتیون‌های مختلف بر شدت نشر نقاط کربنی

شرایط: غلظت کاتیون‌ها: ۰/۱ میلی‌مولار؛ غلظت ال - سیستین: ۱۰۰ میکرومولار؛ $\text{pH} = 8$ ؛ حجم نقاط کربنی: ۵۰۰ میکرولیتر؛ زمان هم زدن: ۲۵ دقیقه؛ غلظت سدیم کلرید: صفر درصد



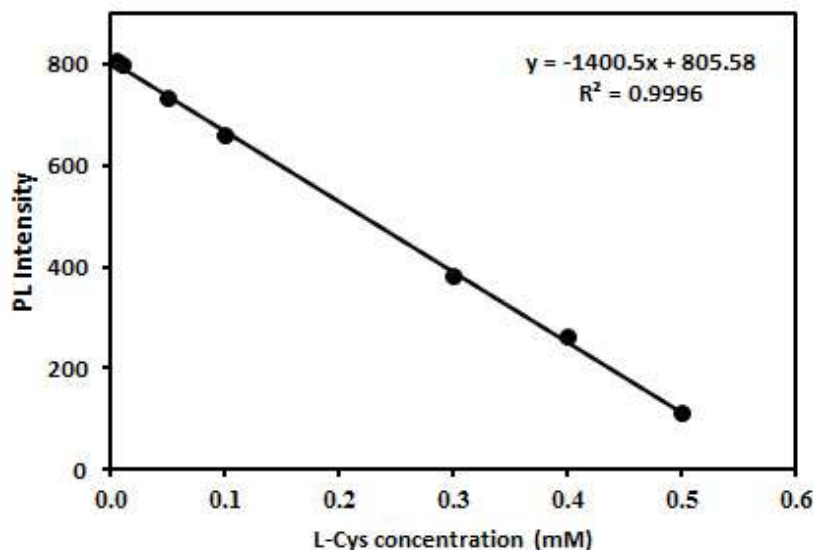
شکل ۱۰. اثر مزاحمت ترکیبات آلی بر شدت نشر نقاط کربنی

شرایط: غلظت ترکیبات آلی: ۱/۵ میلی‌مولار؛ غلظت ال - سیستین: ۰/۱ میلی‌مولار؛ $\text{pH} = 8$ ؛ حجم نقاط کربنی: ۵۰۰ میکرولیتر؛ زمان هم زدن: ۲۵ دقیقه؛ غلظت سدیم کلرید: صفر درصد

۳-۲-۵- عملکرد تجزیه‌ای سیستم

به منظور بررسی عملکرد تجزیه‌ای سیستم در شرایط بهینه، محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف از ال - سیستین به نقاط کربنی اضافه و سپس شدت نشر آن‌ها در طول موج ۴۲۵ nm اندازه‌گیری شد. با توجه به شکل ۱۱ منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی ۵۰۰-۵ میکرومولار با معادله $y = -1400/5 c + 805/58$ (که در آن c غلظت ال - سیستین و y شدت نشر

محلول می‌باشد) و ضریب همبستگی ($R^2 = 0.9996$) خطی می‌باشد. همچنین حد تشخیص و انحراف استاندارد نسبی در غلظت ۱۰ میکرومولار از ال-سیستئین به ترتیب ۱ میکرومولار و ۳ درصد محاسبه شد.



شکل ۱۱. منحنی کالیبراسیون در شرایط بهینه

۳-۲-۶- کاربردهای روش

برای بررسی کاربرد روش پیشنهادی، مقدار ال-سیستئین در نمونه‌های آب شهر اندازه‌گیری شد. صحت روش پیشنهادی از طریق افزودن غلظت‌های مختلف ال-سیستئین و محاسبه درصد بازیابی ارزیابی گردید. با توجه به نتایج بازیابی قابل مشاهده در جدول ۱ (۱۰۲-۹۶ درصد) روش پیشنهادی از صحت قابل قبولی برای اندازه‌گیری ال-سیستئین در نمونه‌های مورد آزمایش برخوردار می‌باشد.

جدول ۱. اندازه‌گیری ال-سیستئین در نمونه آب شهر با استفاده از روش پیشنهادی.

نمونه	ال-سیستئین اضافه شده (mM)	ال-سیستئین اندازه‌گیری شده (mM)	بازیابی (درصد)
آب شهر	بدون افزودن	زیر حد تشخیص	-
	۰/۱۰۰	۰/۱۰۲ ± ۰/۰۴	۱۰۲/۰
	۰/۵۰۰	۰/۴۸۰ ± ۰/۰۱۰	۹۶/۰

± : انحراف استاندارد حاصل از سه اندازه‌گیری تکراری

۳-۲-۷- مقایسه ارقام شایستگی روش پیشنهادی با سایر روش‌ها

ارقام شایستگی روش پیشنهادی با برخی از روش‌های مورد استفاده برای اندازه‌گیری ال-سیستئین مقایسه شد. همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود در روش پیشنهادی گستره خطی و حد تشخیص در مقایسه با روش‌های دیگر به میزان قابل توجهی بهبود یافته است.

جدول ۲: مقایسه روش پیشنهادی با برخی از روش‌های اندازه‌گیری ال - سیستئین.

منابع	انحراف استاندارد نسبی (%)	حد تشخیص (μM)	گستره خطی (μM)	روش
[۳۸]	۱/۸	۸/۸	۱۰-۱۰۰	نورتابی شیمیایی
[۳۹]	۱/۲	۴/۴	۶۰-۸۰۰	اسپکتروفوتومتری
[۴۰]	-	۲/۸	۳/۲-۸/۲	اسپکتروفوتومتری
[۴۱]	-	۲۶	۳۰-۲۲۰۰	ولتامتری چرخه‌ای
[کار حاضر]	۳	۱	۵-۵۰۰	اسپکتروفلوریمتری

۴- نتیجه گیری

ال-سیستئین یک اسیدآمینو نیمه ضروری و پروتئین‌زا و مسئول بسیاری از عملکردهای بیولوژیکی در انسان بوده و کاربردهای بسیاری در صنایع آرایشی-بهداشتی، دارویی و غذایی دارد. بنابراین در این پژوهش برای اولین بار یک روش سبز، حساس، ساده و سریع اسپکتروفلوریمتری بر پایه‌ی نقاط کربنی سنتز شده از تخم کدو برای اندازه‌گیری ال-سیستئین توسعه داده شد. با افزودن محلول حاوی ال-سیستئین به نقاط کربنی سنتز شده، شدت نشر نقاط کربنی در طول موج ۴۲۵ nm کاهش یافت. در ادامه برای افزایش حساسیت پارامترهای موثر بر شدت نشر بررسی و بهینه شد. در شرایط بهینه گستره غلظتی نسبتاً وسیع و حد تشخیص پایین حاصل شد. بنابراین این روش می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های گران قیمت نظیر روش‌های کروماتوگرافی در تعیین ال-سیستئین باشد.

۵- تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی خود را از دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان بخاطر حمایت‌های مادی و معنوی این کار پژوهشی اعلام می‌دارند.

۶- فهرست منابع و ماخذ

- [1] Yin, Z., Chen, S., Xu, Z., Zhang, C., He, J., Zou, J., chen, D., & sun, W. (2020). Flotation separation of molybdenite from chalcopyrite using an environmentally-efficient depressant L-cysteine and its adsorption mechanism. *Minerals Engineering*, 156, 106438.
- [2] Clemente Plaza, N., Reig García-Galbis, M., & Martínez-Espinosa, RM. (2018). Effects of the Usage of L-Cysteine (L-Cys) on Human Health. *Molecules*, 23(3), 575.
- [3] Selçuk K., Kivrak, H., & Aktaş N. (2021). Novel CNT supported molybdenum catalyst for detection of L-cysteine in its natural environment. *Catalysts*, 11(12), 1561.

- [4] Juliano, C., Cossu, M., Rota, MT., Satta, D., Poggi, P., & Giunchedi, P. (2011). Buccal tablets containing cysteine and chlorhexidine for the reduction of acetaldehyde levels in the oral cavity. *Drug development and industrial pharmacy*, 37(10) 1192-1199.
- [5] Dong, W., Wang, R., Gong, X., Liang, W., & Dong, C. (2019). A far-red FRET fluorescent probe for ratiometric detection of l-cysteine based on carbon dots and N-acetyl-l-cysteine-capped gold nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 213, 90-96.
- [6] Fernández, J., Rouzard, K., Voronkov, M., Huber, K., Stock, J., Stock, M., gordon, j.s., & perez, E.(2015). Anti-inflammatory and anti-bacterial properties of tetramethylhexadecenyl succinyl cysteine (TSC): a skin-protecting cosmetic functional ingredient. *International Journal of Cosmetic Science*, 37(1),129-133.
- [7] Liang, Y-C., Zhao, Q., Wu, X-Y., Li, Z., Lu, Y-J., Liu, Q., dong, L., & shan, C-X. (2019). A ratiometric fluorescent nanoprobe based on quenched carbon dots-rhodamine B for selective detection of L-cysteine. *Journal of Alloys and Compounds*, 788, 615-622.
- [8] Hsu, CN., Lin, YJ., Lu, PC., & Tain, YL. (2018). Early supplementation of d-cysteine or L-cysteine prevents hypertension and kidney damage in spontaneously hypertensive rats exposed to high-salt intake. *Molecular Nutrition & Food Research*, 62(2), 1700596.
- [9] Xu, H., Huang, S., Liao, C., Li, Y., Zheng, B., Du, J., Xiao, D. (2015). Highly selective and sensitive fluorescence probe based on thymine-modified carbon dots for Hg²⁺ and L-cysteine detection. *RSC advances*, 5(108), 89121-89127
- [10] Wu, H., Jiang, J., Gu, X., & Tong, C. (2017). Nitrogen and sulfur co-doped carbon quantum dots for highly selective and sensitive fluorescent detection of Fe (III) ions and L-cysteine. *Microchimica Acta*, 184, 2291-2298.
- [11] Zeng, X., Zhang, X., Zhu, B., Jia, H., & Li, Y.(2012). A highly selective wavelength-ratiometric and colorimetric probe for cysteine. *Dyes and Pigments*, 94(1), 10-15.
- [12] Lee, SA., Lee, JJ., Shin, JW., Min, KS., & Kim C. (2015). A colorimetric chemosensor for the sequential detection of copper(II) and cysteine. *Dyes and Pigments*, 116, 131-138.
- [13] Lau, C., Qin, X., Liang, J., & Lu, J. (2004). Determination of cysteine in a pharmaceutical formulation by flow injection analysis with a chemiluminescence detector. *Analytica Chimica Acta*, 514(1), 45-49.
- [14] Wada, M., Kuroki, M., Minami, Y., Ikeda, R., Sekitani, Y., Takamura, N., Kawakami, S., Kuroda, N., & Nakashima, K. (2014). Quantitation of sulfur-containing amino acids, homocysteine, methionine and cysteine in dried blood spot from newborn baby by HPLC-fluorescence detection. *Biomedical Chromatography*, 28(6), 810-814.
- [15] Vellasco, AP., Haddad, R., Eberlin, MN., & Höehr, NF. (2002). Combined cysteine and homocysteine quantitation in plasma by trap and release membrane introduction mass spectrometry. *Analyst*, 127(8), 1050-1053.

- [16] Jin, W., & Wang, Y. (1997). Determination of cysteine by capillary zone electrophoresis with end-column amperometric detection at a gold/mercury amalgam microelectrode without deoxygenation. *Journal of Chromatography A*, 769(2),307-314.
- [17] Chaichi, MJ., Ehsani, M., Khajvand, T., Golchoubian, H., & Rezaee, E. (2014). Determination of cysteine and glutathione based on the inhibition of the dinuclear Cu (II)-catalyzed luminol-H₂O₂ chemiluminescence reaction. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 122, 405-410.
- [18] Devasenathipathy, R., Mani, V., Chen, S-M., Kohilarani, K., & Ramaraj, S. (2015). Determination of L-cysteine at iron tetrasulfonated phthalocyanine decorated multiwalled carbon nanotubes film modified electrode. *International Journal of Electrochemical Science*, 10(1),682-690.
- [19] Yan, L., Kong, Z., Shen, W., Du, W., Zhou, Y., & Qi, Z. (2016) A label-free turn-on fluorescence probe for rapidly distinguishing cysteine over glutathione in water solution. *Analytical Biochemistry*, 500, 1-5.
- [20] Huang, S., Wang, L., Huang, C., Hu, B., Su, W., & Xiao, Q. (2016). Graphene quantum dot coupled with gold nanoparticle based "off-on" fluorescent probe for sensitive and selective detection of L-cysteine. *Microchimica Acta*, 183,1855-1864.
- [21] Afshani, J., Badieli, A., Karimi, M., Lashgari, N., & Ziarani, GM. (2016). A single fluorescent sensor for Hg²⁺ and discriminately detection of Cr^{+r} and Cr(VI). *Journal of Fluorescence*, 26(1), 263-270.
- [22] Soltani, B., Hosseini sadr, M., & karampour, S. (2020). Phenolate-based ligands and their complexes with samarium and praseodymium: Synthesis, characterization and investigation of fluorescence properties. *Applied Chemistry Today*. (in persion)
- [23] Manzoori, J L., Niaei, N., & Abulhassani, J. (2015). Spectrofluorimetric determination of daunorubicin using terbium-deferasirox as a fluorescence probe. *Applied Chemistry Today*, 9 (32), 67-74.
- [24] Abbasi, P., & Shafaatian, B. (2020). Synthesis, characterization, fluorescence and electrochemical studies of new ferrocene Schiff base ligand containing nitrogen donor atoms and its palladium(II), nickel(II) and copper(II) complexes. *Applied Chemistry Today*, 15(55), 111-1124. (in persion)
- [25] Azadbakht, R., Almasi, T., & Khanabadi, J. (2016). A new fluorescent chemosensor for detection of aluminium ions. *Applied Chemistry Today*, 11(38), 75-84. (in persion)
- [26] Cui, L., Ren, X., Sun, M., Liu, H., & Xia, L. (2021). Carbon dots: Synthesis, properties and applications. *Nanomaterials*, 11(12), 3419.
- [27] Tabaraki, R., Sadeghi nezhad, N., & Yousefi poor, S. (2018). Green fluorescent sensor based on carbon quantum dots for Cr(VI) determination. *Applied Chemistry Today*, 13(48), 339-50. (in persion)

- [28] Hu, L., Sun, Y., Li, S., Wang, X., Hu, K., Wang, L., Liang, X-J., & Wu, Y. (2014). Multifunctional carbon dots with high quantum yield for imaging and gene delivery. *Carbon*, 67, 508-513.
- [29] De, B., & Karak, N. (2017). Recent progress in carbon dot-metal based nanohybrids for photochemical and electrochemical applications. *Journal of Materials Chemistry A*, 5(5), 1826-1859.
- [30] Huang, Q., Bao, Q., Wu, C., Hu, M., Chen, Y., Wang, L., & Chen, W. (2022). Carbon dots derived from Poria cocos polysaccharide as an effective “on-off” fluorescence sensor for chromium (VI) detection. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 12(1), 104-112.
- [31] Atchudan, R., Edison, TNJI., Perumal, S., Vinodh, R., & Lee, YR. (2019). Betel-derived nitrogen-doped multicolor carbon dots for environmental and biological applications. *Journal of Molecular Liquids*, 296, 111817.
- [32] Cao, M., Xia, C., Xia, J., Jiang, D., Yu, C., & Li, H. (2019). A yellow carbon dots-based phosphor with high efficiency for white light-emitting devices. *Journal of Luminescence*, 206, 97-104.
- [33] Ahn, J., Song, Y., Kwon, JE., Lee, SH., Park, KS., Kim, S., Woo, j., Kim, H.(2019). Food waste-driven N-doped carbon dots: Applications for Fe³⁺ sensing and cell imaging. *Materials Science and Engineering: C*, 102, 106-112.
- [34] Wang, L., & Zhou, HS. (2014). Green synthesis of luminescent nitrogen-doped carbon dots from milk and its imaging application. *Analytical Chemistry*, 86(18), 8902-8905.
- [35] Aji, MP., Susanto., Wiguna, PA., & Sulhadi. (2017).Facile synthesis of luminescent carbon dots from mangosteen peel by pyrolysis method. *Journal of Theoretical and Applied Physics*, 11(2), 119-126.
- [36] Thongsai, N., Tanawannapong, N., Praneerad, J., Kladsomboon, S., Jaiyong, P., & Paoprasert, P. (2019). Real-time detection of alcohol vapors and volatile organic compounds via optical electronic nose using carbon dots prepared from rice husk and density functional theory calculation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 560, 278-287.
- [37] D, P., Singh, L., Thakur, A., & Kumar, P. (2019). Green synthesis of glowing carbon dots from Carica papaya waste pulp and their application as a label-freechemo probe for chromium detection in water. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 283, 363-372.
- [38] Wang, C., Lan, Y., Yuan, F., Fereja, TH., Lou, B., Han, S., Li, J., & Xu, G. (2020). Chemiluminescent determination of L-cysteine with the lucigenin-carbon dot system. *Microchimica Acta*, 187(50), 1-6.
- [39] Bamdad, F., Khorram, F., Samet, M., Bamdad, K., Sangi, MR., & Allahbakhshi, F. (2016). Spectrophotometric determination of L-cysteine by using polyvinylpyrrolidone-stabilized silver nanoparticles in the presence of barium ions. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 161, 52-57.

-
- [40] Vieira, IdC., & Fatibello-Filho, O. (1999). L-Cysteine determination using a polyphenol oxidase-based inhibition flow injection procedure. *Analytica Chimica Acta*, 399(3), 287-293.
- [41] Raouf, J-B., Ojani, R., & Beitollahi, H. (2007). L-Cysteine voltammetry at a carbon paste electrode bulk-modified with ferrocenedicarboxylic acid. *Electroanalysis*, 2007, 19(17), 1822-1830.