

توسعه حسگر رنگ سنجی بر پایه سلولز اصلاح شده با نین هیدرین جهت اندازه گیری اسید آمینه

بررسی خواص مورفولوژی، SEM، FTIR

سمیرا علی زاده بیورزنی، دانشجو کارشناسی ارشد دانشگاه ارومیه، alizadehsamira689@gmail.com

سجاد پیرسا، دانشیار و عضو هیئت علمی دانشگاه ارومیه، pirsa7@gmail.com

صابر امیری، دانشیار و عضو هیئت علمی دانشگاه ارومیه. amirisaber08@gmail.com

چکیده

در این پژوهش حسگر رنگ سنجی بر پایه سلولز اصلاح شده با نین هیدرین برای اندازه گیری اسید آمینه ها طراحی گردید. از سه نوع فیلم سلولزی شامل (کاغذ A4، صافی معمولی، صافی واتمن) استفاده شد. ویژگی های فیلم های اصلاح شده با استفاده از آزمون های FTIR، SEM و XRD مورد بررسی قرار گرفت. تصاویر SEM نشان داد، با افزودن نین هیدرین بر روی کاغذ تمام شکافت های آن پر شده است. مطابق طیف FTIR بر همکنش های الکترواستاتیکی بین معرف نین هیدرین و سلولز تایید شد. تغییر رنگ حسگرها به دلیل وجود اسید آمینه با L, a, b مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش اسید آمینه شاخص (a,b) هم افزایش پیدا می کند.

کلمات کلیدی: اسید آمینه، حسگر رنگ سنجی، نین هیدرین، خواص مورفولوژی

۱- مقدمه

در لغت به معنی حس کننده است که می تواند کمیت هایی مانند: دما و رطوبت، فشار و... را به کمیت های الکتریکی پیوسته یا غیر پیوسته تبدیل کند. در واقع یک وسیله الکتریکی است که تغییرات فیزیکی یا شیمیایی را اندازه گیری می کند و آن را به سیگنال الکتریکی تبدیل می نماید (Banica, 2012). در دهه اخیر وضعیت اقتصادی اجتماعی و سطح زندگی مردم با تکامل سریع فناوری های پیشرفته و هوشمند صنایع در سراسر جهان با تغییر شاهد بوده است (Das et al., 2021). در چند سال گذشته، بسیاری از گروه های تحقیقاتی توجه خود را بر تولید حسگرها برای شناسایی ترکیبات آلی فرار متمرکز کرده اند. مهم ترین اهداف این دستگاه ها حفاظت از محیط زیست است. حسگرها ابزاری هستند که می توانند به طور پیوسته پارامترهای فیزیکی، غلظت یک ترکیب شیمیایی یا بیوشیمی را اندازه بگیرند. روش های آنالیز رنگ سنجی به دلیل سادگی، هزینه کم و عملی بودن توجه قابل توجهی را در دهه های گذشته به خود جلب کرده اند. در

حسگرها معمولاً تشخیص تغییرات رنگ با چشم غیرمسلح مشخص می‌شود و بنابراین به ابزارهای گران قیمت یا پیچیده نیاز ندارند و می‌توان آن را در جهت تجزیه و تحلیل مجزا به کاربرد. همچنین ثابت شده است که روش‌های رنگ‌سنجی سریع و مقرون به صرفه است و برای تشخیص ترکیبات زیستی و پزشکی استفاده می‌شود. ساخت و کاربرد این روش‌های رنگ‌سنجی در سال‌های اخیر به سرعت پیشرفت کرده است، به ویژه از سال ۲۰۰۱ تا ۲۰۱۹ توسعه یافت است. این روند به وضوح اهمیت جهانی حسگرهای رنگ‌سنجی و علاقه شدید تحقیقات علمی در این زمینه را نشان می‌دهد. حسگرهای رنگی و ساختار مبتنی بر حسگر اخیراً در صنایع مواد غذایی در کاربردهای مختلف مورد استفاده قرار گرفتند (Wang et al., 2019). اخیراً نیز از حسگرهای رنگ‌سنجی برای تجزیه و تحلیل مواد سمی موجود در نمونه‌های میوه استفاده شده است. اغلب صنایع غذایی از دو روش اصلی (کلریمتری و طیف‌سنجی) برای اندازه‌گیری رنگ استفاده می‌کند. رنگ‌سنجی یک روشی مبتنی بر اندازه‌گیری سه رنگ اصلی (RGB) مشاهده شده توسط انسان است. صنایع غذایی از سنسورهای رنگ‌سنج برای عوامل مختلفی از جمله کاهش فشار، فساد و برای ذخیره‌سازی و ماندگاری استفاده می‌کنند (Alaya et al., 2019).

تأثیر کاغذ و محصولات کاغذی در زندگی تازه، بر عموم آشکار است. هیچ یک از کالاهای صنعتی دیگر، چنین نقش نمایانی در زندگی انسان ندارد. موارد کاربرد و استفاده از کاغذ و محصولات کاغذی بی‌پایان است و هر روز کالا جدیدی از محصولات سلولزی به بازار می‌آید (میرشکری، ۱۳۸۲). کاغذ با انواع خصوصیات مختلف بسته به مورد مصرف تولید می‌شود، مثلاً برای ذخیره‌سازی اطلاعات، مصارف ساختمانی، مصارف بهداشتی، مصارف بسته‌بندی و ... هر یک از این انواع کاغذها باید دارای خصوصیات ویژه‌ای باشند. کاغذهای بسته‌بندی و چایی از دسته کاغذهایی هستند که علاوه بر ویژگی مقاومتی مناسب، به خواص ممانعتی خاصی نیاز خواهند داشت (افرا، ۱۳۹۵). سلولز، فراوان‌ترین پلیمر زیستی در سطح کره زمین است که در پنبه، کنف و چوب و دیگر مواد با منشأ گیاهی وجود خواهد داشت. همچنین سلولزها از طریق جلبک‌ها، تونیکت‌ها و بعضی از باکتری‌ها سنتز می‌شوند.

نین‌هیدرین با فرمول شیمیایی $C_9H_6O_4$ یک ترکیب شیمیایی است که شکل ظاهری این ترکیب به صورت جامد و به رنگ سفید می‌باشد و در جداسازی اسیدهای آمینه استفاده می‌شود. نین‌هیدرین یک محصول هیدراته پایدار از ایندان ۳-، ۲-، ۱- تریون است (Ziarani et al., 2015). نین‌هیدرین همچون یک ترکیب فعال الکترون دوست در واکنش‌های چند جزئی شرکت می‌کند که شامل خصوصیات بسیاری از قبیل مقرون به صرفه، سادگی، زمان کوتاه و ... است و موجب ساختن طیف گسترده‌ای از ترکیبات فعال بیولوژیکی از جمله مشتقات پیریمیدین، کینوکسالی‌ن‌ها، پیرول‌ها و فوران می‌شود.

نین‌هیدرین اساساً برای شناسایی و تجزیه و تحلیل اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، پپتیدها و سایر ترکیباتی در نظر گرفته می‌شوند، استفاده می‌شود. تا به امروز، نین‌هیدرین به طور معمول به عنوان یک عنصر اساسی در تشخیص پزشکی قانونی و اثر انگشت مورد استفاده قرار گرفته است. در نتیجه واکنش رخ داده بین اسیدهای آمینه و معرف نین‌هیدرین، رنگ‌های آبی یا بنفش عمیق ایجاد می‌شود که به ارغوانی روهمان معروف است (Omar & Sadeghi, 2020). بیشتر آمینواسیدها به جز پرولین هیدرولیز شده و با نین‌هیدرین واکنش نشان می‌دهند. نین‌هیدرین ماده اولیه بسیار مهمی در طراحی چرخه‌های پلی‌هترولیک جدید است. علاوه بر این، تحولات فشرده در زمینه شیمی سبز (به عنوان مثال واکنش‌های چند عنصر، سنتز بدون حلال) از نین‌هیدرین به عنوان ماده اولیه استفاده می‌کنند (Bouzina et al., 2021). نین‌هیدرین به عنوان یک ترکیب فعال الکترون دوست در واکنش‌های چند جزئی که دارای ویژگی‌های متعددی از قبیل مقرون به صرفه بودن، زمان کوتاه، سادگی می‌باشد، سبب سنتز طیف وسیعی از ترکیبات فعال بیولوژیکی از جمله مشتقات پیرول‌ها، پیریمیدین و فوران می‌شود. نین‌هیدرین به طور گسترده‌ای برای تشخیص ترکیبات با اهمیت دارویی و در مطالعات جنبشی استفاده می‌شود (Ziarani et al., 2015).

سلولز فراوان ترین منبع تجدیدپذیر طبیعی است و به طور گسترده‌ای در تولید فیبر و کاغذ مورد استفاده قرار می‌گیرد. با این حال، استفاده از پلاستیک مضر است چون به دما حساس است؛ علاوه بر این، تخریب پلاستیک مشکل است که می‌تواند منجر به نگرانی‌های زیست‌محیطی شود. اخیراً، برخی از مواد تجدیدپذیر مثل، سلولز به‌عنوان جایگزین در نظر گرفته شده است (Zheng et al., 2019). به دلیل ساختار منحصربه‌فرد و خواص متمایز آن مانند سازگاری زیستی، تجدیدپذیر بودن، غیرسمی بودن در بسیاری از زمینه‌ها از جمله مواد غذایی، کاغذ، مواد زیستی و صنایع دارویی بسیار بکار گرفته می‌شود (Trache et al., 2016). مشتقات سلولز کاربردهای مهمی در صنایع مانند نساجی، پلیمر غشایی، صنایع رنگ، پزشکی، سنسورها، باتری‌ها، نمایشگرهای انعطاف‌پذیر، دیودهای ساطع‌کننده نور را دارد (Thomas et al., 2021). سلولز یک ماکرومولکول است که عموماً ترکیبی از نواحی کریستالی و آمورف دارد که در آن نواحی نسبتاً نامنظم (آمورف) و نواحی منظم (کریستالی) می‌باشد (Khalil et al., 2012). سلولز به‌عنوان عنصر اصلی برای تقویت عمل می‌کند و به طور گسترده در تمام بافت‌های گیاهی یافت می‌شود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

استون از شرکت فخر رازی (ایران)، کاغذ A4، کاغذ صافی، کاغذ واتمن از (بازار ارومیه) خریداری شد. نین‌هیدرین، بوتانول، اسید آمینه‌های آراژنین، لیزین، تریتوفان، پرولین، متیونین، اسید گلوتامیک، گلايسين، سیستین از شرکت مرک (آلمان) تهیه شد و مورد استفاده قرار گرفتند.

۲-۲- روش تهیه معرف نین‌هیدرین

۵ میلی‌لیتر استون و ۵ میلی‌لیتر بوتانول را با هم مخلوط و سپس ۰/۵ گرم پودر نین‌هیدرین به آن اضافه گردید و در ظرف تیره و دربسته ریخته و در دمای اتاق قرارداد شد، برای جلوگیری از تبخیر شدن محلول سر بشر با فویل آلومینیومی پوشانده شد.

۲-۳- آماده‌سازی فیلم‌های سلولزی

در این تحقیق از ۳ نوع فیلم سلولزی استفاده شد:

F1: کاغذ معمولی (A4)

F2: کاغذ صافی معمولی

F3: کاغذ صافی واتمن

۲-۴- تهیه حسگرهای رنگی بر پایه سلولز اصلاح شده با نین‌هیدرین

ابتدا فیلم‌های سلولزی به‌صورت یکسان در ابعاد ۵ در ۵ سانتی‌متر تهیه شد، و سپس هریک از فیلم‌های F1، F2 و F3 در پلیت جداگانه قرارداد شد، در داخل ۰/۵ میلی‌لیتر از معرف به مدت ۳ دقیقه قرار داده شد. فیلم بعد از ۳ دقیقه از معرف خارج شد و در

دمای محیط خشک شد. فیلم‌های سلولزی را از پلیت خارج کرده و هریک در اندازه‌های یکسان ۵ در ۱ سانتی‌متر برش داده شد. ویژگی‌های رنگی فیلم (L, a, b) قبل و بعد از تیمار با معرف نین‌هیدرین به‌وسیله سیستم طراحی شده ثبت گردید (Pirsa, 2020).

۲-۵- کاربرد حسگر رنگی بر پایه سلولز اصلاح شده با نین‌هیدرین برای شناسایی اسیدآمین

هریک از فیلم‌های سلولزی اصلاح شده F1، F2 و F3 در پلیت جداگانه قرار داده خواهد شد و با ۷ نوع اسیدآمین مورد آنالیز قرار گرفته شد و سپس این حسگرها تغییرات رنگی قابل مشاهده‌ی از سفید به قرمز و از قرمز به بنفش نشان داد.

۲-۶- اندازه‌گیری خصوصیات رنگی

میزان رنگ فیلم بر اساس پارامتر هانتز لیب بر اساس (L* (روشنایی - تیرگی)، a* (قرمز - سبز)، b* (زرد - آبی) به‌وسیله دوربین دیجیتال سامسونگ و با استفاده از نرم‌افزار Color-Grab مطابق شکل ۳-۴ (A) اندازه‌گیری شد. در این سیستم از یک اتاقک تاریک استفاده می‌شود که در آن محفظه‌ای تعبیه شده است که لنز دوربین به‌راحتی می‌تواند از فضای داخل اتاقک عکس‌برداری بکند. نرم‌افزار Color-Grab در حالت Lab قرار گرفته و فاکتورهای رنگی ثبت می‌گردد (Pirsa, 2020).

۲-۷- بررسی خواص فیزیکی فیلم

۲-۷-۱- طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR)

طیف‌سنجی FTIR در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه ارومیه انجام گرفت. طیف‌سنجی توسط اسپکتروفتومتر (FTIR) ساخت ژاپن مدل (Shimadzu، ۸۰۰۰S) استفاده شد. فیلم‌های سلولزی (کاغذ A4، صافی معمولی و صافی واتمن) با ابعاد ۵ در ۵ سانتی‌متر برش داده شد و نین‌هیدرین با در صد معین بر روی آنها تثبیت شد و جهت ادامه آنالیز آماده شدند. هدف بررسی بر همکنش‌های فیزیکی و شیمیایی بین اجرای سلولز و نین‌هیدرین انجام گرفت و آنالیز در محدوده $4000-400\text{ cm}^{-1}$ که با قدرت تفکیک 4 cm^{-1} انجام انجام شد (Gasemi et al., 2020).

۲-۷-۲- آنالیز SEM

مطالعه مورفولوژی ذرات ریزپوشانی شده فیلم‌های سلولزی از میکروسکوپ الکترونی (ZEISS, SIGMA VP, (Germany FE- SIM انجام شد. روش کار میکروسکوپ الکترونی روبشی تابش پرتو الکترونی به نمونه است. از این آنالیز برای بررسی ویژگی مورفولوژی فیلم‌های سلولزی استفاده می‌شود. به این صورت که الکترون در محیط خلأ به سطح نمونه‌ای که با طلاپوشش داده شده است تابیده و منعکس می‌شود و تبدیل به فوتون‌های نوری می‌شود تا به‌صورت مرئی دیده شود (Hosseini et al., 2013, Pirsa, 2020).

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی حسگری فیلم تهیه شده

در این مطالعه فیلم سلولزی اصلاح شده با نین هیدرین به عنوان حسگر رنگی برای اندازه‌گیری اسیدآمینه‌ها استفاده شد. نتایج آزمایشات حسگری نشان داد که رنگ هر سه نوع حسگر تهیه شده در حضور اسیدآمینه‌ها از سفیدی به قرمزی تغییر رنگ می‌دهد؛ بنابراین فاکتور a که سبزی و قرمزی فیلم را نشان می‌دهد (مقادیر منفی نشان‌دهنده سبزی و مقادیر مثبت نشان‌دهنده قرمزی رنگ فیلم) و رنگ فاکتور b که آبی به زردی رنگ فیلم را نشان می‌دهد (مقادیر منفی نشان‌دهنده آبی و مقادیر مثبت نشان‌دهنده زردی رنگ فیلم) می‌توان ارتباط بین اسیدآمینه موجود و تغییرات رنگی (فاکتور a و b) ایجاد شده را به دست آورد. شکل ۳-۱ تغییرات رنگی سه فیلم سلولزی اصلاح شده با نین هیدرین در حضور غلظت‌های مختلف اسیدآمینه (A) را نشان می‌دهد.



شکل ۳-۱: تغییرات رنگی حسگرهای سلولزی در حضور اسیدآمینه متیونین در غلظت مختلف

۳-۲-۱

برای بررسی ویژگی‌های حسگری فیلم‌های سلولزی اصلاح شده با نین هیدرین، فیلم‌ها در ابعاد ۱ در ۵ سانتی‌متر بریده شده‌اند. اسیدآمینه‌های خالص با انحلال مقادیر مشخص اسیدآمینه در آب مقطر تهیه گردید. فیلم‌های سلولزی اصلاح شده با نین هیدرین در داخل ۵ میلی‌لیتر از اسیدآمینه‌ها به مدت ۳ دقیقه قرار داده شد. فیلم بعد از ۳ دقیقه از محلول خارج شده و در دمای محیط خشک شد. ویژگی‌های رنگی فیلم (a, b) قبل و بعد از تیمار با اسیدآمینه‌ها به وسیله سیستم طراحی شده ثبت گردید. با ثبت تغییرات a, b نسبت به غلظت‌های مختلف اسیدآمینه‌ها، منحنی‌های کالیبراسیون با نرم‌افزار اکسل -۲۰۱۸ رسم گردید. شیب منحنی کالیبراسیون به عنوان حساسیت حسگر در نظر گرفته شد. کمترین مقدار اسیدآمینه که توانایی تغییر رنگ حسگر را دارد به عنوان حد تشخیص مطلق در نظر گرفته شد (pirsa et al., 2016). ارقام شایستگی حسگر (شامل حد تشخیص، حساسیت، رنج خطی، ضریب رگرسیون) محاسبه

شد؛ بنابراین ارتباط معنی‌داری بین تغییر رنگ نین‌هیدرین (a, b) و غلظت اسیدآمینها وجود دارد. جدول ۱-۳ و ۲-۳ ارقام شایستگی پاسخ حسگر سلولزهای اصلاح شده با نین‌هیدرین به نسبت اسیدهای آمینه‌ها را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشخص است حسگرهای سلولزی اصلاح شده با نین‌هیدرین به شدت به اسیدآمینها حساس است. این نتایج با نتایج (pirsa, 2020) مطابقت دارد. بر اساس جدول ۱-۳ و ۲-۳ برای اسیدآمینها کمترین حد تشخیص ۰/۰۰۵ می‌باشد.

Type	Amino Acid	Time (min)				
			DL	LR	S	R ²
A4 paper	Glycine	۶۰	۰.۰۰۵	۰.۲۹۵	۲۹.۴۵۷	۰.۹۱۲۲
		۹۰	۰.۰۰۵	۰.۲۹۵	۲۱.۲۰۷	۰.۹۹۷۷
	Lysine	۶۰	۰.۰۱	۰.۰۹۰	۳۱.۳۱۱	۰.۹۹۰۱
		۹۰	۰.۰۱	۰.۰۹۰	۳۳.۶۸۹	۰.۹۷۳۷
	Glutamic acid	۶۰	۰.۰۰۵	۰.۰۹۵	۷۲.۷۳۹	۰.۹۸۳۹
		۹۰	۰.۰۰۵	۰.۰۹۵	-۴۶.۹۸۲	۰.۹۹۹۷
	Arginine	۶۰	۰.۰۰۵	۰.۲۹۵	۲۲.۱۸۳	۰.۹۹۲۶
		۹۰	۰.۰۰۵	۰.۲۹۵	۲۵.۵۶۷	۰.۹۹۹۷
	Methionine	۶۰	۰.۰۰۵	۰.۴۹۵	۱۲.۸۰۸	۰.۹۹۳۸
		۹۰	۰.۰۰۵	۰.۴۹۵	۱۰.۰۹	۰.۹۷۷۷
	Tryptophan	۶۰	۰.۰۰۵	۰.۰۹۵	۶۰.۸۸۱	۰.۹۹۴۳
		۹۰	۰.۰۰۵	۰.۰۹۵	۸۵.۸۸۶	۰.۹۹۹۸
	Proline	۶۰	۰.۰۰۵	۰.۰۴۵	-۵۰.۶۸۵	۰.۹۹۹۶
		۹۰	۰.۰۰۵	۰.۰۴۵	-۴۵.۰۶۸	۰.۹۹۳۸

جدول ۳-۱: ارقام شایستگی (a) پاسخ حسگر نسبت به غلظت اسید آمینه‌ها

Whatman paper	Lysine	۹۰	۰.۰۰۵	۰.۲۹۵	۱۳.۵۵۴	۰.۹۰۳۶
		۶۰	۰.۰۱	۰.۰۹۰	۸۸.۵۷۱	۰.۹۷۹
	Glutamic acid	۹۰	۰.۰۱	۰.۰۹۰	۵۲.۴۶	۰.۹۴۷
		۶۰	۰.۰۰۵	۰.۰۹۵	۲۹.۴۹۵	۰.۹۵۷۴
	Arginine	۹۰	۰.۰۰۵	۰.۰۹۵	۶۳.۳۵۱	۰.۹۴۸۲
		۶۰	۰.۰۰۵	۰.۲۹۵	۶.۳۳۸۶	۰.۹۸۴۸
	Methionine	۹۰	۰.۰۰۵	۰.۲۹۵	۶.۶۳۱۵	۰.۹۸۵۳
		۶۰	۰.۰۰۵	۰.۴۹۵	۷.۱۷۳۹	۰.۹۵۷۳
	Tryptophan	۹۰	۰.۰۰۵	۰.۴۹۵	۱۰.۱۷۴	۰.۹۱۱۷
		۶۰	۰.۰۰۵	۰.۰۹۵	۳۵.۲۹۵	۰.۹۵۰۳
	Proline	۹۰	۰.۰۰۵	۰.۰۹۵	۴۷.۸۴۱	۰.۹۴۶۷
		۶۰	۰.۰۰۵	۰.۰۴۵	-۴۲.۱۹۲	۰.۹۴۷۲
	Glycine	۹۰	۰.۰۰۵	۰.۰۴۵	-۶۳.۵۶۲	۰.۹۶۶۳
		۶۰	۰.۰۰۵	۰.۲۹۵	۲۳.۰۴۵	۰.۹۷۵۳
Filter paper	Lysine	۹۰	۰.۰۰۵	۰.۲۹۵	۲۱.۶۸۸	۰.۹۳۸۲
		۶۰	۰.۰۱	۰.۰۹۰	۷۱.۵۱۵	۰.۹۸۷۸
	Glutamic acid	۹۰	۰.۰۱	۰.۰۹۰	۸۱.۵۰۴	۰.۹۸۱۳
		۶۰	۰.۰۰۵	۰.۰۹۵	۵۱.۴۹۳	۰.۹۸۳۵
	Arginine	۹۰	۰.۰۰۵	۰.۰۹۵	۷۴.۷۳۷	۰.۹۲۸۴
		۶۰	۰.۰۰۵	۰.۲۹۵	۶.۴۸۶۱	۰.۹۹۴۲
	Methionine	۹۰	۰.۰۰۵	۰.۲۹۵	۹.۳۷۵۲	۰.۹۸۶۱
		۶۰	۰.۰۰۵	۰.۴۹۵	۷.۱۴۹۷	۰.۹۱۱۵
	Tryptophan	۹۰	۰.۰۰۵	۰.۴۹۵	۸.۷۱۴۷	۰.۹۱۲۲
		۶۰	۰.۰۰۵	۰.۰۹۵	۲۶.۲۷۳	۰.۹۹۲۳
	Proline	۹۰	۰.۰۰۵	۰.۰۹۵	۶۷.۹۰۴	۰.۹۹۹۴
		۶۰	۰.۰۰۵	۰.۰۴۵	-۴۹.۷۳۶	۰.۹۹۶۲
	Glycine	۹۰	۰.۰۰۵	۰.۰۴۵	-۲۰.۴۱۱	۰.۹۶۲۴
		۶۰	۰.۰۰۵	۰.۰۴۵	-۲۰.۴۱۱	۰.۹۶۲۴

جدول ۳-۲: ارقام (b) پاسخ حسگر نسبت به غلظت اسید آمینه‌ها

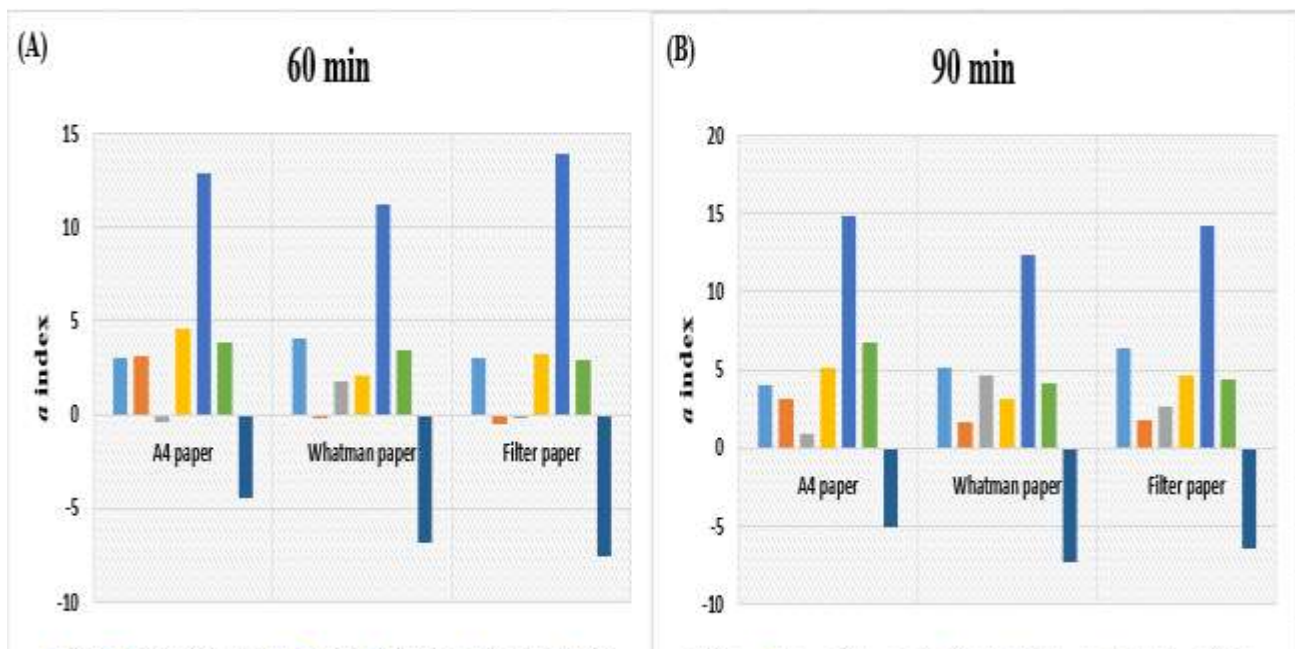
Type	Amino Acid	Time (min)				
			DL	LR	S	R ²
A4 paper	Glycine	۶۰	۰.۰۰۵	۰.۲۹۵	-۲۹.۴۵۷	۰.۹۱۲۲

	Lysine	9.0	0.000	0.290	17.777	0.9997
		7.0	0.01	0.090	22.509	0.9737
	Glutamic acid	9.0	0.01	0.090	27.901	0.9908
		7.0	0.000	0.090	29.839	0.9987
	Arginine	9.0	0.000	0.090	47.982	0.9997
		7.0	0.000	0.290	22.183	0.9927
	Methionine	9.0	0.000	0.290	12.974	0.9989
		7.0	0.000	0.490	17.707	0.9928
	Tryptophan	9.0	0.000	0.490	10.797	0.9912
		7.0	0.000	0.090	44.339	0.9913
Proline	9.0	0.000	0.090	30.311	0.9998	
	7.0	0.000	0.40	200.70	0.9997	
Whatman paper	Glycine	7.0	0.000	0.290	20.040	0.9743
		9.0	0.000	0.290	31.282	0.9390
	Lysine	7.0	0.01	0.090	14.823	0.9713
		9.0	0.01	0.090	72.013	0.9007
	Glutamic acid	7.0	0.000	0.090	21.976	0.9221
		9.0	0.000	0.090	37.293	0.8292
	Arginine	7.0	0.000	0.290	20.343	0.8073
		9.0	0.000	0.290	-37.932	0.8001
	Methionine	7.0	0.000	0.490	-40.702	0.9370
		9.0	0.000	0.490	-32.130	0.8187
Tryptophan	7.0	0.000	0.090	70.407	0.993	
	9.0	0.000	0.090	91.230	0.9989	
Proline	7.0	0.000	0.40	172.00	0.9921	
	9.0	0.000	0.40	187.17	0.9978	
Filter paper	Glycine	7.0	0.000	0.290	18.031	0.9981
		9.0	0.000	0.290	19.703	0.9203
	Lysine	7.0	0.01	0.090	02.803	0.9721
		9.0	0.01	0.090	01.810	0.9741
	Glutamic acid	7.0	0.000	0.090	0.89	0.9883
		9.0	0.000	0.090	20.199	0.9977
	Arginine	7.0	0.000	0.290	-17.378	0.9710
		9.0	0.000	0.290	-20.239	0.9223
	Methionine	7.0	0.000	0.490	-20.091	0.9049
		9.0	0.000	0.490	-24.798	0.9103
Tryptophan	7.0	0.000	0.090	07.938	0.9901	
	9.0	0.000	0.090	77.900	0.9994	
Proline	7.0	0.000	0.40	207.08	0.9990	
	9.0	0.000	0.40	180.48	0.9983	

DL: Detection limit, LR: Liner range, S: Sensitivity, R²: Coefficient of determination

۳-۳- اندازه‌گیری اسیدآمینه با فیلم‌های سلولزی اصلاح شده با نین‌هیدرین

با مطالعه بر روی ویژگی‌های رنگی فیلم‌های سلولزی اصلاح شده با نین‌هیدرین مشخص شد که فیلم سلولزی در غلظت زیادی از اسیدآمینه خالص بهترین کارایی را به‌عنوان حسگر دارد؛ بنابراین از این فیلم‌ها به‌عنوان حسگر برای شناسایی اسیدآمینه‌ها استفاده شد. نین‌هیدرین در حضور اسیدآمینه شروع به تغییر رنگ می‌کند. شدت تغییر رنگ نین‌هیدرین به غلظت اسیدآمینه موجود بستگی دارد؛ بنابراین ارتباط معنی‌داری بین تغییر رنگ نین‌هیدرین (a,b) و غلظت اسیدآمینه خالص وجود دارد. جدول ۳-۱ و ۳-۲ ارقام شایستگی پاسخ حسگرهای سلولزی نسبت به اسیدآمینه خالص را نشان می‌دهد. همان‌طور که ارقام شایستگی نشان می‌دهد حسگر A4 و بعد آن حسگر صافی به‌شدت نسبت به اسیدآمینه متیونین تریپتوفان و پرولین و آراژنین حساس هستند. ۷ نوع اسیدآمینه در محدوده غلظتی ۰/۵ - ۰/۰۵ و حد تشخیص ۰/۰۰۵ به‌وسیله حسگر شناسایی و اندازه‌گیری می‌شود. همان‌طور که مشخص است حساسیت فاکتور a (سبز - قرمز) نسبت به تغییرات رنگی بسیار بیشتر از b می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که حسگر نسبت به اسیدآمینه متیونین، تریپتوفان و پرولین حساسیت بیشتر و نسبت به اسیدآمینه گلیاسین و لیزین کمترین حساسیت را دارد. شکل ۳-۲ نمودار انتخاب‌گری حسگرهای سلولزی نسبت به ۷ نوع در زمان‌های ۶۰ و ۹۰ دقیقه را نشان می‌دهد. در این شکل پاسخ نسبی حسگر بر اساس فاکتورهای رنگی (a,b) نسبت به غلظت ۰/۰۵ برای ۷ نوع اسیدآمینه گزارش شده است. در کل می‌توان گفت که هر دو فاکتور رنگی حسگرهای سلولزی اصلاح شده با نین‌هیدرین در غلظت ۰/۰۵ نسبت به متیونین، تریپتوفان و پرولین و در هر سه نوع کاغذ انتخاب‌گری بسیار مناسبی را دارد. پیرسا (۲۰۲۰) در طی اندازه‌گیری ویتامین ث با فیلم Pec/Clay/MB نتایج مشابهی را گزارش داده است. (Pirsa, 2020).



شکل ۳-۲: A,B: انتخاب‌گری نسبت به حسگر و اسیدآمینه در غلظت ۰/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب در زمان‌های ۶۰ و ۹۰ دقیقه

FTIR و SEM

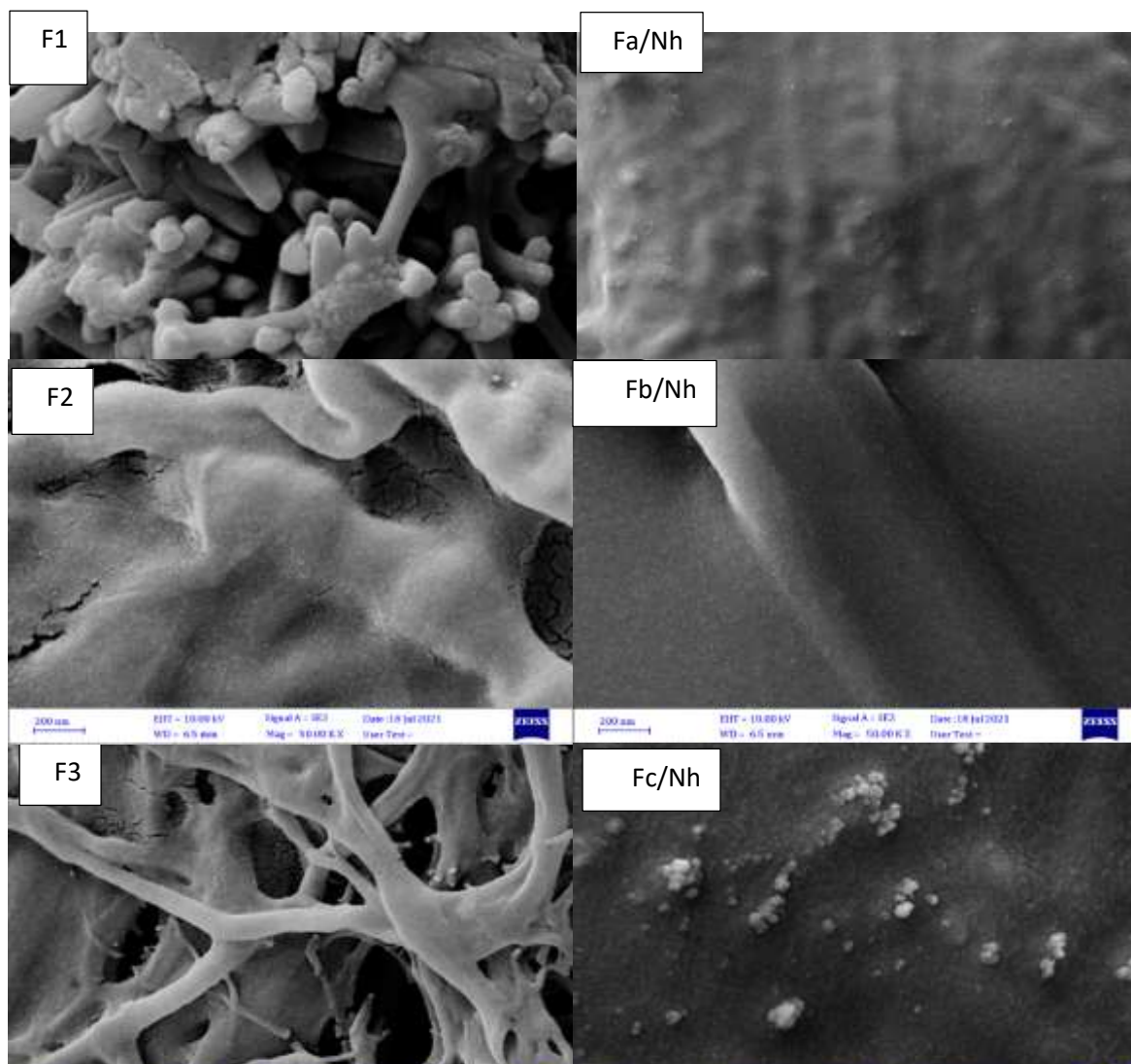
شکل فلان تصاویر SEM از فیلم‌های سلولزی خالص (F1, F2, F3) و فیلم‌های سلولزی اصلاح شده با نین‌هیدرین (Fa, Fb, Fc)، با بزرگ‌نمایی ۲۰۰ nm در تصویر ۱ به‌نمایش درآمده است. تصویر SEM از فیلم سلولزی خالص نشان می‌دهد که این لایه دارای سطح متخلخلی است که باعث نفوذپذیری بخار آب می‌شود. همان‌طور که در فیلم Fb/Nh دیده می‌شود، ذرات معرف نین‌هیدرین تا حدی شکاف‌های سطح کاغذ صافی را پر می‌کند سطح فیلم تقریباً مورد پوشش قرار گرفته است و فقط یک برجستگی بر روی آن مشاهده می‌شود. در فیلم Fa/Nh وجود معرف نین‌هیدرین در داخل و روی سطح فیلم کاغذ A4 مشاهده می‌شود. فیلم Fc/Nh تقریباً شبیه فیلم Fa/Nh است، اما فیلم Fa/Nh فشرده‌تر از Fc/Nh است. فیلم Fc/NH سطح ناصاف بیشتر می‌باشد، این نشان می‌دهد که نین‌هیدرین نتوانست کامل بر روی سطح فیلم قرار گیرد. این یافته‌ها با نتایج (Pirsa, 2020 & Mahanta et al., 2020) مطابقت دارد.

شکل فلان تصاویر FTIR فیلم‌های سلولزی اصلاح شده با نین‌هیدرین را نشان می‌دهد. طیف FTIR، F2 و F3 مانند نمونه F1 خالص هستند با این تفاوت که نمونه F2 یک پیک جدید با عدد موجی 1643 cm^{-1} و یک پیک جدید در F3 با عدد موجی 1320 cm^{-1} مشاهده می‌شود که به ترتیب مربوط به ارتعاشات کششی پیوندهای درون مولکولی H-O-H که مربوط به آب جذب شده توسط بخش‌های بلورین سلولز می‌باشد و ارتعاش CH_2 می‌باشد (Erim Argab et al., 2014). طیف هر سه نوع کاغذ پوشش داده شده با نین‌هیدرین تمام پیک‌های مشخصه نین‌هیدرین را نشان می‌دهد که در سه نوع کاغذ خالص وجود ندارد، بنابراین تشکیل نین‌هیدرین بر روی سه نوع کاغذ خالص را تأیید می‌کند. F1/Nh دارای ۲ پیک جدید در ناحیه 1707 cm^{-1} و 1373 cm^{-1} می‌باشد که به ترتیب مربوط به ارتعاش کششی گروه کربونیلی $\text{C}=\text{O}$ می‌باشد پیک دوم مربوط به ارتعاش خمشی گروه CH_2 می‌باشد این داده‌ها با نتایج (Bouzina et al., 2021, Pavia et al., 2008) مطابقت دارد. نین‌هیدرین می‌تواند از طریق گروه هیدروکسیل و کربوکسیل انتهای خود با سلولز پیوند هیدروژنی ایجاد کند نشان‌دهنده این است که نین‌هیدرین با موفقیت سطح کاغذ را پر کرده و یک پوشش فیزیکی اتفاق افتاده است. لازم به ذکر است که پیک از ناحیه 2894 cm^{-1} به 2902 cm^{-1} تغییر یافته که علت آن احتمالاً به دلیل هم‌پوشانی گروه CH نین‌هیدرین بر روی فیلم می‌باشد. همچنین پیک از ناحیه جذبی 875 cm^{-1} و 1023 cm^{-1} و 1152 cm^{-1} به محدوده 878 cm^{-1} و 1019 cm^{-1} و 1150 cm^{-1} تغییر یافته‌اند.

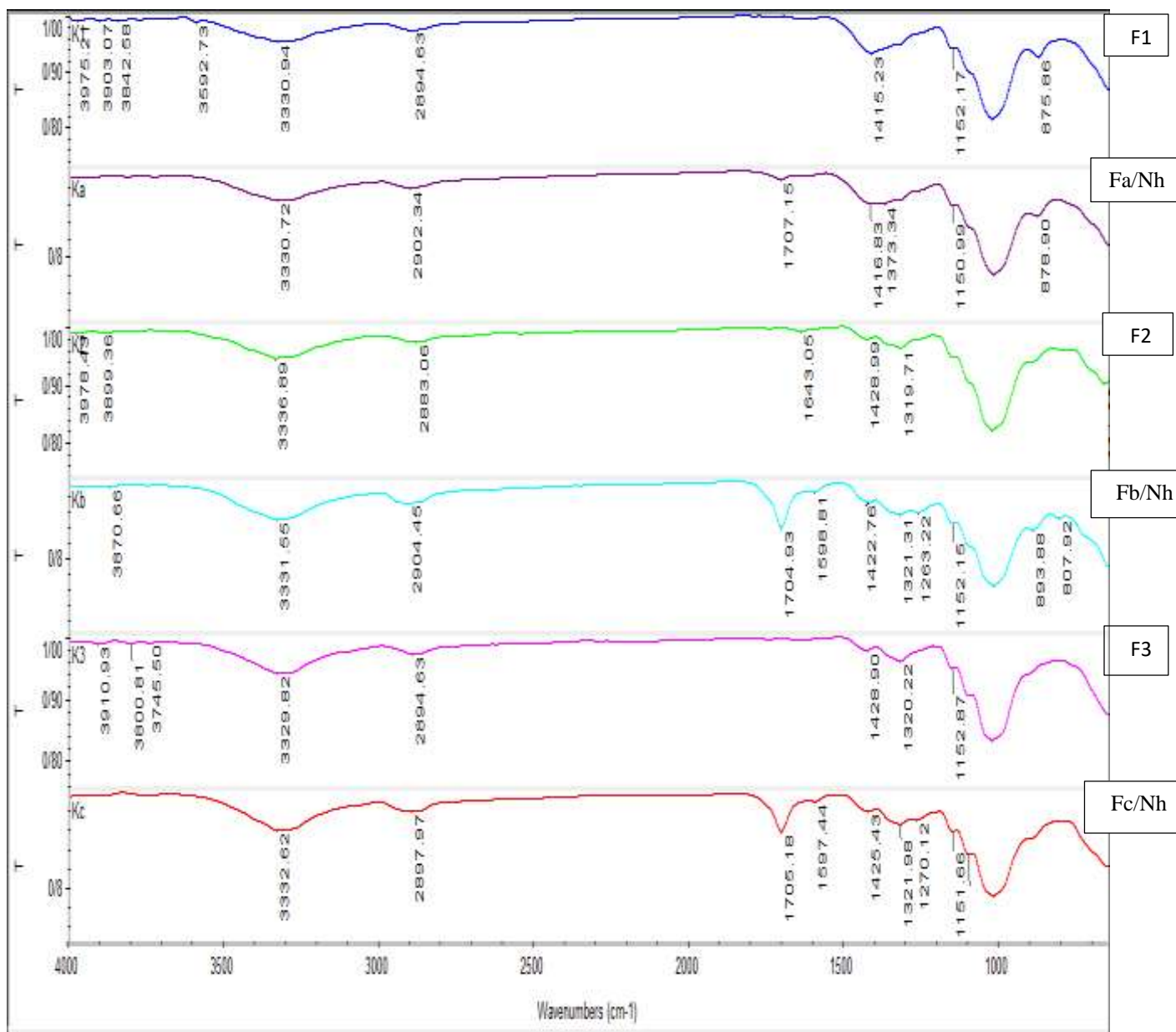
F2/Nh شش پیک جدید ایجاد کرده است که به ترتیب عبارت‌اند از 1704 cm^{-1} ارتعاش کششی گروه کربونیلی $\text{C}=\text{O}$ می‌باشد (Bouzina et al., 2021) و 1598 cm^{-1} که مربوط به ارتعاش کششی پیوند الکل C-O می‌باشد و به ترتیب پیک جذبی ناحیه 1263 cm^{-1} مربوط به کشش C-O و 1152 cm^{-1} و ارتعاش کششی C-H می‌باشد (Bouzina et al., 2021)، و پیک جذبی 893 cm^{-1} و 807 cm^{-1} می‌باشد، و همچنین طیف F2/Nh پیک‌های جذبی 3336 cm^{-1} ، 2883 cm^{-1} ، 1422 cm^{-1} و 1320 cm^{-1} به ترتیب به ناحیه‌های 3331 cm^{-1} ، 2904 cm^{-1} ، 1422 cm^{-1} و 1321 cm^{-1} تغییر کرده‌اند که نشان‌دهنده بر همکنش‌های الکترواستاتیکی بین معرف نین‌هیدرین و سلولز می‌باشد.

در طیف F3/Nh ۴ پیک جدید مشاهده می‌شود که به ترتیب عبارت‌اند از 1705 cm^{-1} گروه کربونیلی $\text{C}=\text{O}$ می‌باشد (Bouzina et al., 2021) ، 1597 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی پیوند دوگانه $\text{C}=\text{C}$ است. و ناحیه 1270 cm^{-1} کشش پیوند C-O است. پیک جذبی 1099 cm^{-1} ارتعاش کششی پیوند C-O الکل است. همچنین طیف F3/Nh 3329 cm^{-1} ، 2894 cm^{-1} ، 1428 cm^{-1} و 1024 cm^{-1}

به ترتیب به ناحیه‌های 3332 ، 2897 ، 1425 و 1020 cm^{-1} تغییر یافته است که نشان‌دهنده تأثیر نین‌هیدرین بر روی سلولز می‌باشد. در نتیجه بیشتر پیک‌ها شبیه به هم می‌باشد که این نشان‌دهنده کارایی یکسان نین‌هیدرین بر روی سلولز می‌باشد. نتایج مجومدار و همکاران نتایج این مطالعه را تأیید می‌کند (Majumdar et al., 2020).



شکل ۴-۱: تصاویر FE-SEM از سطح (F1 کاغذ معمولی، F2 کاغذ صافی، F3 کاغذ واتمن، Fa/Nh کاغذ معمولی اصلاح شده با نین هیدرین Fb/Nh کاغذ صافی اصلاح شده با نین هیدرین، Fc/Nh کاغذ واتمن اصلاح شده با نین هیدرین



شکل ۴-۲: تصویر FTIR (F1 : کاغذ معمولی، F2، کاغذ صافی، F3، کاغذ واتمن، Fa/Nh) کاغذ معمولی اصلاح شده با نین هیدرین (Fb/Nh) کاغذ صافی اصلاح شده با نین هیدرین (Fc/Nh) کاغذ واتمن اصلاح شده با نین هیدرین

در این مطالعه از سه نوع فیلم سلولزی اصلاح شده با نین هیدرین به عنوان حسگر رنگی برای اندازه‌گیری اسیدآمینها استفاده شد. نتایج آزمایشات حسگری نشان می‌دهد که رنگ حسگرهای تهیه شده در حضور اسیدآمینها از سبزی به قرمزی تغییر رنگ می‌دهد؛ بنابراین با رصد کردن فاکتور **a** که سبزی به قرمزی رنگ فیلم را نشان می‌دهد (مقادیر منفی بیانگر سبزی و مقادیر مثبت بیانگر قرمزی رنگ فیلم) و رصد کردن فاکتور **b** که آبی به زردی رنگ فیلم را نشان می‌دهد (مقادیر منفی بیانگر آبی و مقادیر مثبت بیانگر زردی رنگ فیلم) می‌توان رابط بین غلظت اسیدآمین و تغییرات رنگی (فاکتور **a** و **b**) ایجاد کرد. نتایج نشان می‌دهد که حسگر تهیه شده نسبت به اسیدآمین لیزین و گلوتامیک اسید پاسخ کمتری نشان می‌دهد و نسبت به اسیدآمین متیونین و پرولین بسیار گزینش‌پذیر می‌باشد. همچنین می‌توان گفت که نوع حسگر در اندازه‌گیری اسیدآمینها تأثیر زیادی نداشته است. هر سه نوع حسگر پاسخ نسبتاً مشابهی به اسیدآمینها نشان داده‌اند. نتیجه کلی به‌دست‌آمده نشان داد که هر سه تا حسگر کاغذ معمولی و صافی و واتمن توانایی شناسایی اسیدآمینها را دارند. نتایج به‌دست‌آمده از ارقام شایستگی نشان می‌دهد که حسگر کاغذ معمولی و بعد آن حسگر صافی حساسیت بیشتری را داشته است.

مراجع

میرشکرایبی، ا.، ۱۳۸۲. فناوری خمیر و کاغذ) ترجمه (اسموک، گ.، مؤلف (انتشارات آبیژ، ۵۰۱ ص.

یوسفی، شاهی & شیخ لویی. (۲۰۱۶). بررسی رفتار جریان برشی پایای عصاره هلوی ایرانی: اثر غلظت و دما. فناوری‌های جدید در صنعت غذا. ۱۱-۲۲، ۲(۲)،

Alaya, M. A., Tóth, Z., & Géczy, A. (2019). Applied color sensor based solution for sorting in food industry processing. *Periodica Polytechnica Electrical Engineering and Computer Science*, 63(1), 16-22.

Banica, F. G. (2012). *Chemical sensors and biosensors: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons.

Bouzina, A., Berredjem, M., Nocentini, A., Bua, S., Bouaziz, Z., Jose, J., ... & Supuran, C. T. (2021). Ninhydrins inhibit carbonic anhydrases directly binding to the metal ion. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, 112875.

Ghasemi, S., Bari, M. R., Pirsá, S., & Amiri, S. (2020). Use of bacterial cellulose film modified by polypyrrole/TiO₂-Ag nanocomposite for detecting and measuring the growth of pathogenic bacteria. *Carbohydrate polymers*, 232, 115801.

Hosseini, S. F., Zandi, M., Rezaei, M., & Farahmandghavi, F. (2013). Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydrate polymers*, 95(1), 50-56.

Khalil, H. A., Bhat, A. H., & Yusra, A. I. (2012). Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review. *Carbohydrate polymers*, 87(2), 963-979.

Majumdar, S., Sarmah, K., & Mahanta, D. (2020). A simple route to prepare polypyrrole-coated filter papers via vapor phase polymerization and their gas sensing application. *ACS Applied Polymer Materials*, 2(5), 1933-1942.

Omar, K. A., & Sadeghi, R. (2020). Novel ninhydrin-based deep eutectic solvents for amino acid detection. *Journal of Molecular Liquids*, 303, 112644

Pavia, D., Lampman, G., Kriz, G., & Vyvyan, J. *Introduction to Spectroscopy*, ; Cengage Learning: Belmont, ۲۰۰۸. Google Scholar There is no corresponding record for this reference.

Pirsá, S. (2020). Biodegr

Pirsá, S. (2020). Biodegradable film based on pectin/Nano-clay/methylene blue: Structural and physical properties and sensing ability for measurement of vitamin C. *International*

Pirsá, S., Heidari, H., & Lotfi, J. (2016). Design selective gas sensors based on nano-sized polypyrrole/polytetrafluoroethylene and polypropylene membranes. *IEEE Sensors Journal*, 16(9), 2922-2928.

Thomas, S. K., Begum, P. S., Midhun Dominic, C. D., Salim, N. V., Hameed, N., Rangappa, S. M., ... & Parameswaranpillai, J. (2021). Isolation and characterization of cellulose nanowhiskers from *Acacia caesia* plant. *Journal of Applied Polymer Science*, 138(15), 50213.

Trache, D., Hussin, M. H., Chuin, C. T. H., Sabar, S., Fazita, M. N., Taiwo, O. F., ... & Haafiz, M. M. (2016). *Microcrystalline cellulose: Isolation, characterization and bio-composites application—A review. International Journal of Biological Macromolecules*, 93, 789-804.

Zhang, H., Hou, A., Xie, K., & Gao, A. (2019). *Smart color-changing paper packaging sensors with pH sensitive chromophores based on azo-anthraquinone reactive dyes. Sensors and Actuators B: Chemical*, 286, 362-369.

Ziarani, G. M., Lashgari, N., Azimian, F., Kruger, H. G., & Gholamzadeh, P. (2015). *Ninhydrin in synthesis of heterocyclic compounds. ARKIVOC: Online Journal of Organic Chemistry*, 2015.