بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده شیمی

گروه شیمی تجزیه

پایان نامه:

برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد در رشته شیمی تجزیه

عنوان:

اندازه گیری سینتیکی آسکوربیک اسید در حضور سیتریک اسید و اندازه گیری L- سیستئین در حضور آسکوربیک اسید به روش اسپکترو فوتومتری

استاد راهنما:

دکتر کریم اسدپور زینالی

استاد مشاور:

دکتر عبدالحسین ناصری

پژوهشگر:

اکبر خاقانی یامچی

شهریور ۱۳۹۲

نام خانوادگی: خاقانی یامچی **نام**: اکبر

عنوان پایان نامه: اندازه گیری سینتیکی آسکوربیک اسید در حضور سیتریک اسید و اندازه گیری L- سیستئین در حضور آسکوربیک اسید به روش اسپکترو فوتومتری

استاد راهنما: دکتر کریم اسدپور زینالی

استاد مشاور: دکتر عبدالحسین ناصری

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد **رشته** : شیمی **گرایش**: تجزیه **دانشگاه**: تبریز

دانشکده: شیمی **گروه**: شیمی تجزیه **تعداد صفحه**: ۷۵

کلید واژگان: اندازه‌گیری هم‌زمان، ، آنالیز هیبرید خطی، افزایش استاندارد بر مبنای سیگنال خالص آنالیت NASSAM، روش تغییر پروفایل سینتیکی، آسکوربیک اسید، سیتریک اسید، L- سیستئین

چکیده: در بخش اول این کار یک روش اسپکتروفوتومتری سینتیکی برای اندازه گیری آسکوربیک اسید در حضور سیتریک اسید مبتنی بر واکنش این اسیدها با کمپلکس آمونیاکی مس (II) توسعه یافت. کمپلکس Cu^{2+}-NH_3 (با λ_{max} ۶۰۰ نانومتر) توسط یون سیترات تخریب شده و کمپلکس سیترات مس (II) (با λ_{max} ۷۴۰ نانومتر) تولید می کند. از سوی دیگر، در حین واکنش آسکوربیک اسید با کمپلکس آمونیاکی مس (II)، آسکوربیک اسید اکسید شده و کمپلکس آمونیاکی مس (II) به کمپلکس آمونیاکی مس (I) کاهش می یابد و جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر کاهش می یابد.

در قسمت دوم این کار یک روش اسپکتروفوتومتری سینتیکی برای اندازه گیری L- سیستئین در حضور آسکوربیک اسید مبتنی بر آشکارسازی محصول نهایی رنگی توسعه یافت. این ترکیبات بطور مختلف با آهن (III) در محیط خنثی واکنش می دهند. محصول کاهش، آهن (II)، یک ترکیب رنگی با معرف رنگساز ۱و۱۰ فنانترولین تشکیل خواهد داد، که ماکزیمم جذب در طول موج ۵۱۰ نانو متر نشان می دهد.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول بررسی منابع

۱-۱ مقدمه..... ۱

۱-۲ آسکوربیک اسید..... ۱

۱-۳ سیتریک اسید..... ۳

۱-٤ روشهای اندازه گیری آسکوربیک اسید..... ٤

۱-۵ L- سیستئین..... ٦

۱-۵-۱ روشهای اندازه گیری L- سیستئین..... ۹

۱-٦ روشهای اسپکتروفتومتری..... ۱۱

۱-۷ روشهای تجزیه ای سینتیکی ۱۲

۱-۷-۱ طبقه بندی روشهای سینتیک شیمیایی..... ۱۳

۱-۷-۲ اندازه گیری با استفاده از یک واکنش سینتیکی..... ۱٤

۱-۷-۳ ویژگی های اندازه گیری سینتیکی ۱۷

۱-۸ استفاده از سولفات مس و شناساگر ۱،۱۰ فنانترولین در اندازه گیری های سینتیکی..... ۱۸

۱-۹ اندازه گیری با روش سینتیکی..... ۱۹

۱-۱۰ افزایش استاندارد..... ۲۰

۱-۱۱ روشهای کالیبراسیون چند متغیره..... ۲۱

۱-۱۲ مفهوم سیگنال خالص آنالیت..... ۲۱

۱-۱۳ روش افزایش استاندارد بر مبنای سیگنال خالص آنالیت..... ۲۲

۱-۱٤ طبقه بندی روشهای مبتنی بر سیگنال خالص آنالیت..... ۲٤

۱-۱٤-۱ روشهای آنالیز خطی هیبرید(HLA)..... ۲٤

۱-۱٤-۲ روش HLA-XS..... ۲۵

۱-۱٤-۳ روش HLA-GO..... ۲۵

۱-۱۵ روش افزایش استاندارد نقطه H..... ۲۵

۱-۱٦ مقایسه روش HPSAM با NASSAM..... ۲٦

۱-۱۷ مقایسه روشهای کالیبراسیون چند متغیره با NASSAM..... ۲۷

۱-۱۸ هدف از طرح پژوهشی حاضر..... ۲۷

فصل دوم مواد و روشها

۲-۱ دستگاههای مورد استفاده در کار پژوهشی حاضر..... ۳۰

۲-۲ معرفها و مواد شیمیایی..... ۳۰

۲-۳ تهیه محلول ها..... ۳۱

۲-۳-۱ تهیه محلول مادر آسکوربیک اسید..... ۳۱

۲-۳-۲ تهیه محلول مادر سیتریک اسید..... ۳۱

۲-۳-۳ تهیه محلول سولفات مس..... ۳۲

۲-۳-٤ تهیه محلول L- سیستئین..... ۳۲

۲-۳-۵ تهیه محلول آسکوربیک اسید..... ۳۲

۲-۳-٦ تهیه محلول نیترات آهن(III)..... ۳۲

۲-۳-۷ تهیه محلول فنانترولین..... ۳۲

۲-۳-۸ تهیه محلول بافر تریس.....۳۳

۲-۳-۹ تهیه محلول واکنشگر برای اندازه گیری آسکوربیک اسید در حضور سیتریک اسید و نحوه ثبت طیفها.....۳۳

۲-۳-۱۰ تهیه محلول های محدوده خطی برای آسکوربیک اسید و سیتریک اسید.....۳۳

۲-۳-۱۱ تهیه محلول واکنشگر برای اندازه گیری L- سیستئین در حضور آسکوربیک اسید و نحوه ثبت طیف ها.....۳٤

۲-۳-۱۲ تهیه محلول های محدوده خطی برای L- سیستئین و آسکوربیک اسید.....۳٤

۲-۳-۱۳ اندازه گیری آسکوربیک اسید و سیتریک اسید در نمونه حقیقی.....۳٤

۲-۳-۱٤ اندازه گیری L- سیستئین و آسکوربیک اسید در نمونه حقیقی.....۳۵

فصل سوم نتایج و بحث

۳-۱ مقدمه.....۳۷

۳-۲ اندازه گیری اسپکتروفتومتری سینتیکی آسکوربیک اسید در حضور سیتریک اس با روش سیگنال خالص آنالیت.....۳۹

۳-۲-۱ بررسی رفتار سینتیکی آسکوربیک اسید.....۳۹

۳-۲-۲ بررسی رفتار سینتیکی سیتریک اسید.....٤۰

۳-۲-۳ بررسی جمع پذیری پروفیل های سینتیکی آسکوربیک اسید و سیتریک اسید ٤۱

۳-۲-٤ تعیین محدوده خطی غلظتی آسکوربیک اسید.....٤۲

۳-۲-۵ تعیین محدوده خطی غلظتی سیتریک اسید.....٤۳

۳-۳ بررسی تاثیر پارامترهای مختلف در پروفیل های سینتیکی آسکوربیک اسید وسیتریک اسید.....٤٤

۳-۳-۱ انتخاب طول موج.....٤٤

۳-۳-۲ بررسی غلظت واکنشگر و بافر.....٤٤

۳-٤ اندازه گیری آسکوربیک در حضور سیتریک اسید.....٤٥

۳-٥ آنالیز نتیجه آسکوربیک اسید.....٥٠

۳-٦ اندازه گیری نمونه حقیقی در حضور سیتریک اسید با استفاده از روش سیگنال خالص آنالیت ٥٠

۳-۷ محاسبه غلظت نمونه حقیقی با برون یابی نمودار نرم بر حسب غلظت افزایش استاندارد.....٥٢

۳-۸ اندازه گیری آسکوربیک اسید در قرص ویتامین C (نمونه حقیقی).....٥٢

۳-۹ اندازه گیری آسکوربیک اسید در حضور سیتریک اسید با استفاده از روش تغییر پروفایل سینتیکی.....
٥٣

۳-۱۰ اندازه گیری نمونه حقیقی آسکوربیک اسید.....٥٤

۳-۱۱ مقایسه نتایج دو روش سیگنال خالص آنالیت و روش تغییرپروفایل سینتیکی در آنالیز غلظت آسکوربیک اسید.....٥٦

۳-۱۲ اندازه گیری l- سیستئین در حضور آسکوربیک اسید با استفاده از تغییر پروفایل سینتیکی....٥٧

۳-۱۲-۱ بررسی رفتار سینتیکی L- سیستئین.....٥٧

۳-۱۲-۲ بررسی رفتار سینتیکی آسکوربیک اسید ٥٨

۳-۱۲-۳ بررسی جمع پذیری پروفیل های سینتیکی L- سیستئین و آسکوربیک اسید.....٥٩

۳-۱۲-٤ تعیین محدوده خطی غلظتی L- سیستئین.....٦٠

۳-۱۲-٥ تعیین محدوده خطی غلظتی آسکوربیک اسید.....٦١

۳-۱۲-٦ بررسی اثر pH بر روی پروفایل سینتیکی L- سیستئین و آسکوربیک اسید.....٦٣

۳-۱۲-۷ انتخاب غلظت واکنشگر، معرف و بافر..... ٦٥

۳-۱۳ اندازه گیری L- سیستئین در حضور آسکوربیک اسید..... ٦٥

۳-۱٤ اندازه گیری نمونه حقیقی..... ٦٦

۳-۱٥ اندازه گیری مقدار L- سیستئین در نمونه حقیقی..... ٦٧

۳-۱٦ نتیجه گیری..... ٦٩

۳-۱۷ پیشنهاد برای کارهای بعدی..... ۷۰

منابع..... ۷۱

فهرست شکل ها

عنوان صفحه

۱-۱ ساختار آسکوربیک اسید..... ۲

۱-۲ ساختار سیتریک اسید..... ٤

۱-۳ ساختار L- سیستئین..... ۸

۱-٤ طبقه بندی روشهای سینتیک شیمیایی آنالیز..... ۱٤

۱-۵ ساختار کمپلکس یون آهن (II) با مولکول فنانترولین..... ۱۸

۱-٦ منحنی حاصل از افزایش استاندارد..... ۲۰

۱-۷ سیگنال خالص آنالیت بعنوان بخشی از طیف آنالیت بدون دخالت دیگر گونه ها..... ۲۲

۱-۸ پیک های مدلسازی شده دو گونه X و Y و افزایش غلظت گونه X به دو و سه برابر بردار های‌گونه Y..... ۲٤

۳-۱ پروفایل های سینتیکی آسکوربیک اسید ۰/۰۱۱مولار..... ٤۰

۳-۲ پروفایل سینتیکی سیتریک اسید ۰/۰۰٦ مولار..... ٤۰

۳-۳ پروفایل سینتیکی آسکوربیک اسید و پروفایل سینتیکی سیتریک اسید و پروفایل سینتیکی مجموع و مخلوط آسکوربیک اسید و سیتریک اسید..... ٤۱

۳-٤ پروفایل سینتیکی محدوده خطی غلظتی آسکوربیک اسید..... ٤۲

۳-۵ منحنی کالیبراسیون آسکوربیک اسید در ۲٤۰ ثانیه ۰/۷-۱۲ میلی مولار..... ٤۲

٣-٦ پروفایل سینتیکی محدوده خطی غلظتی سیتریک اسید.....٤٣

٣-٧ محنحنی کالیبراسیون سیتریک اسید در ٢٤٠ ثانیه.....٤٣

٣-٨ طیف جذبی کمپلکس آمونیاکی مس.....٤٤

٣-٩ A) سیگنال خالص افزایش استاندارد آسکوربیک اسید وB) سیگنال خالص سیتریک اسید.....٤٧

٣-١٠ افزایش جذب پروفایل سینتیکی با افزایش استاندارد آسکوربیک اسید.....٤٨

٣-١١ افزایش سیگنال خالص آنالیت با افزایش استاندارد آسکوربیک اسید.....٤٨

٣-١٢ منحنی برون یابی کالیبراسیون افزایش نرم های سیگنال خالص آنالیت آسکوربیک اسید.....٤٩

٣-١٣ منحنی کالیبراسیون افزایش نرم های سیگنال خالص آنالیت آسکوربیک اسید.....٤٩

٣-١٤ پروفایل سینتیکی نمونه حقیقی بعد از افزایش استاندارد.....٥١

٣-١٥ منحنی کالیبراسیون نمونه حقیقی بعد از افزایش استاندارد.....٥١

٣-١٦ محاسبه غلظت نمونه حقیقی با استفاده ازمنحنی کالیبراسیون نرم سیگنال خالص آنالیت.....٥٢

٣-١٧ A) منحنی کالیبراسیون افزایش استاندارد مرحله اول B) افزایش استاندارد مرحله دوم C) اافزایش استاندارد مرحله سوم..... .....٥٣

٣-١٨ پروفایل های سینتیکی آسکوربیک اسید در حضور سیتریک اسید.....٥٤

٣-١٩ منحنی برویابی غلظت آسکوربیک اسید.....٥٤

٣-٢٠ منحنی برون یابی نمونه حقیقی در حضور سیتریک اسید.....٥٥

٣-٢١ منحنی برون یابی غلظت آسکوربیک اسید در سه مرحله A، B، C.....٥٦

٣-٢٢ پروفایل سینتیکی L- سیستئین در محدوده زمانی ٢٤٠-٠ ثانیه و ٠/٢٣ میلی مولار ٥٨

۳-۲۳ پروفایل سینتیکی آسکوربیک اسید در محدوده ۲٤۰-۰ ثانیه و غلظت ۰/۰۵ میلی مولار.....۵۹

۳-۲٤ مجموع ریاضی پروفیل های سینتیکی و پروفیل های سینتیکی مخلوط L- سیستئین و آسکوربیک اسید.....٦۰

۳-۲۵ A)پروفیل های سینتیکی L- سیستئین در محدوده غلظتی ۰/۳-۰/۰۲ میلی مولار و B) منحنی کالیبراسیون جذب L- سیستئین در همان زمان.....٦۱

۳-۲٦ A) پروفیل های سینتیکی آسکوربیک اسید در محدوده غلظت ۹۰-۵/٦ میکرو مولار وB) منحنی کالیبراسیون جذب آسکوربیک اسید در همان زمان.....٦۲

۳-۲۷ A)پروفیل های سینتیکی L- سیستئین در محدوده ۷-٤ =B pH) پروفیل های سینتیکی آسکوربیک اسید در محدوده pH=٤-۷.....٦٤

۳-۲۸ A)پروفیل های سینتیکی مخلوط L- سیستئین و آسکوربیک اسید B)منحنی کالیبراسیون افزایش تغییر پروفایل سینتیکی L- سیستئین.....٦٦

۳-۲۹ A)پروفیل سینتیکی افزایش استاندارد N- استیل سیستئین B)نمودار افزایش استاندارد.....٦۷

۳-۳۰ نمودار کالیبراسیون برون یابی غلظت L- سیستئین در سه مرحله A ، B، C ٦۸

فهرست جدول ها

جدول صفحه

۲-۱ مواد شیمیایی و معرف های مورد استفاده..... ۳۰

۳-۱ غلظت های استاندارد آسکوربیک اسید و سیتریک اسید در هر مرحله از افزایش استاندارد..... ٤٦

۳-۲ نتیجه آنالیز آسکوربیک اسید..... ۵۰

۳-۳ نتیجه آنالیز غلظت نمونه استاندارد اسپایک شده..... ۵۳

۳-٤ نتیجه آنالیز غلظت آسکوربیک اسید..... ۵٦

۳-۵ نتیجه آنالیز L- سیستئین اسپایک شده در سه مرحله..... ٦۸

فصل ۱

بررسی منابع

۱-۱ مقدمه

ویتامینها ترکیبات آلی غیر از قندها، لیپیدها و پروتئینها هستند که در طبیعت توسط تک یاخته‌ها، سلولهای گیاهی و پاره‌ای از جانداران تکامل یافته ساخته می‌شوند. چون سلولهای بدن انسان قادر به ساختن ویتامین ها نیستند نیاز بدن به ویتامین باید از محیط زیست مرتباً و به مقادیر لازم توسط مواد غذایی تامین شود.

با اینکه ویتامین ها نقش سازنده و تولید کننده انرژی را ندارند اهمیت آنها در انجام پدیده‌های حیاتی به اندازه‌ای است که فقدان یا کمبود هر یک از آنها موجب پیدایش اختلالات شدید در یک عضو یا تمام بدن می‌گردد. ویتامینها به دو گروه محلول در آب و محلول در چربی تقسیم می‌شوند. ویتامین C[1] در گروه ویتامین های محلول در آب قرار دارد[۱].

۱-۲ آسکوربیک اسید[2]

آسکوربیک اسید یک ترکیب آلی با خاصیت آنتی اکسیدان است. محلول در آب و از نیازهای غذایی انسان است که کمبود آن موجب بیماری آسکوربت[3] می‌شود[۲].

آسکوربیک اسید از مشتقات قندها است و بیوسنتز آن از گلوکز و گالاکتوز و یا مشتقات آنها انجام می‌شود. در انسان بدلیل فقدان آنزیم گلونو اکسیداز آسکوربیک اسید ساخته نمی‌شود. هیدروژن عامل انولی کربن ۳ آسکوربیک اسید دارای خاصیت اسیدی قابل استخلاف توسط فلزات می‌باشد. آسکوربیک اسید از مواد احیائ کننده قوی به شمار می‌رود و با از دست دادن دو اتم هیدروژن به دهیدرو آسکوربیک اسید تبدیل می‌شود.

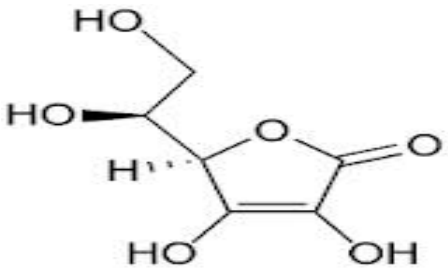
1- Vitamin c
2- Ascorbic acid
3- Ascorbout

دهیدرو آسکوربیک اسید نیز دارای خواص آسکوربیک اسید است و بنابرین به نظر می‌رسد که عوامل شیمیایی فعال آسکوربیک اسید گروه دی انول باشد که می‌تواند به دو صورت اکسید شده و احیائ شده وجود داشته باشد[۱].

این ویتامین نقش زیادی در بدن ایفا می‌کند. آسکوربیک اسید ، در سلامت پوست بدن و لایه محافظتی بدن موثر است. پوست انسان را با طراوت نگاه می‌دارد و موجب جوانی پوست می‌شود. آسکوربیک اسید موجب حفظ پوست در برابر اشعه ماورائ بنفش خورشید می‌شود از اینرو کسانی در معرض مستقیم نور خورشید هستند بهتر است برای محافظت از پوستشان آسکوربیک اسید بیشتری مصرف کنند. با کمبود مصرف آسکوربیک اسید پوست خشک می‌شود، و در زیر آن خون مردگیهایی به صورت دانه دانه مشاهده می‌شود.

ویتامین **C** موجب افزایش ایمنی بدن در برابر بیماریها می‌شود، به فعالیت مناسب هورمونی بدن کمک می-کند. از تاثیرات دیگر این ویتامین، افزایش جذب آهن موجود در غذا است. اختلالات بافت همبند یکی از علائم زودرس کمبود این ویتامین است که این موضوع نقش مهم آسکوربیک اسید را در عمل بیوسنتز کلاژن و موکوپلی ساکاریدها نمایان می‌سازد[۱].

ساختار آسکوربیک اسید در شکل ۱-۱ آورده شده است.



شکل ۱-۱ : ساختار آسکوربیک اسید

۱-۳ سیتریک اسید[1]

اسید سیتریک یا جوهر لیمو یکی از اسیدهای آلی است که در لیمو ترش پرتقال وجود دارد. یکی از ساده ترین روشهای که برای تولید آن بکار می‌رود استفاده از قارچ آسپر ژیلوس نایجر[2] است.

یکی از عمده ترین کشورهای تولید کننده اسید سیتریک کشور چین است. اسید سیتریک در صنایع نوشابه، آبمیوه، آرایشی، بهداشتی و داروئی استفاده می‌گردد. سیتریک اسید علاوه بر طعم دهندگی موجب تنظیم pH نیز می‌شود. اسید سیتریک در دو نوع مونوهیدرات[3] (آبدار) و آن هیدرات[4] (خشک و بدون آب)تولید می‌شود و در کیسه های کاغذی و چند لایه بسته بندی می‌گردد ساختار سیتریک اسید در شکل ۱-۲ آورده شده است[۲].

به علت کم بودن درجه سمی اسید سیتریک در مقایسه با مواد اسیدی دیگر مورد مصرف، بخصوص در صنایع دارویی و غذایی تقاضای جهانی بسیار بالایی برای مصرف آن وجود دارد. کاربردهای دیگر اسید سیتریک می تواند مربوط به مواد شوینده و پاک کننده و محصولات آرایشی و بهداشتی باشد[۳].

در هر روش تولید اسید سیتریک، قرار دادن میکرو ارگانیزمها در کشت میکروبی از طریق هاگهایی (تخمهایی) انجام میگیرد که به محیط کشت تخمیر افزوده می شوند.

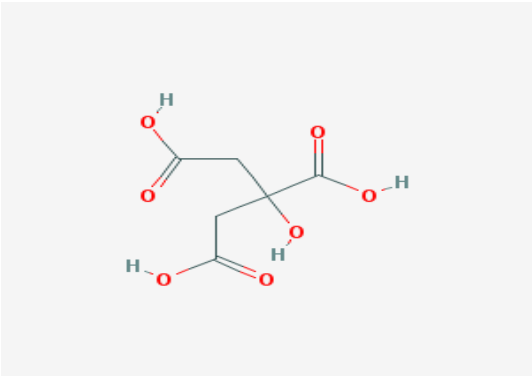
اسید سیتریک پر تولید ترین اسید ساگانیک (آلی) که با توناژ اندازه گیری می شود. دلیلی اصلی برای افزایش تولید مداوم آن، کاربردهای فراوان در صنایع و بطور عمده در صنایع غذایی و دارویی می باشد .

1-Aspergilous nayger

2- Citric acid

3- Monohydrate

4-Un hydrate



شکل ۱-۲ ساختارسیتریک اسید

۱-٤ روشهای اندازه گیری آسکوربیک اسید در حضور سیتریک اسید

در سال ۱۹۹٤ صفوی وهمکارانش[٤] با روش اسپکتروفتومتری سینتیک با استفاده از کاهش تولوئیدین آبی آسکوربیک اسیدی را اندازه گیری کردند. این روش مبتنی بر کاهش تولوئیدین با آسکوربیک اسید است. سرعت واکنش با دنبال کاهش جذب تولوئیدین توسط آسکوربیک اسید در طول موج ٦۰۰ نانو متر دنبال می شود. آسکوربیک اسید در محدوده ۳-۳۵ میلی لیتر/میکرو گرم با استفاده از روشهای زمان ثابت و شیب دار اندازه گیری شد البته با روش زمان متغیر اندازه گیری ۵-۵۰ میلی لیتر/میکرو گرم نیز امکان پذیر می شود. حساسیت بالای روش مذکور اندازه گیری آسکوربیک اسید در مقادیر کم را مجاز می کند.

در سال ۲۰۰۲ ودود و همکارانش[۵] با استفاده از روش اسپکتروفتومتری سینتیکی آسکوربیک اسید را اندازه گیری کردند. این روش روشی ساده و سریع برای تخمین کمی آسکوربیک اسید است و این روش مبتنی بر اکسیداسیون مناسب کرسیتین با N- سوکسی نیمید در داخل ترکیب رنگی که در۵۱۵ نانومتر اندازه گیری می شود. با کاهش آسکوربیک اسید توسط کرسیتین، شدت جذب کرسیتین کاهش می یابد. سرعت واکنش با اندازه گیری کاهش شدت جذب کرسیتین دنبال می شود. آسکوربیک اسید در محدوده ۲۵-۲ میلی لیتر/ میکرو گرم با استفاده از روشهای زمان ثابت و شیب دار اندازه گیری شد. این روش برای اندازه گیری آسکوربیک اسید در فرآورده های داروئی با درصد بازیابی ۹۸/۵۲ بکار برده شد.

در سال ۲۰۰۳ آیورینـد و همکارانش[٦] تحقیقات اولیه در مورد اندازه گیری همزمان آسکوربیک اسید وسیتریک اسید و سدیم بنزوات در نوشیدنیهای غیر الکلی با استفاده از اسپکترومتری جرمی و واجذبی لیزر اندازه گیری کردند.

در سال ۲۰۰٦ زارعی و همکارانش[۷] آسکوربیک اسید و سیتریک اسید را بطور همزمان با روش کمومتریکس شبکه عصبی مصنوعی اندازه گیری کردند که در این روش از اختلاف سرعت واکنش دو آنالیت با کمپلکس مس (II) استفاده کردند

در سال ۲۰۰۷ زارعی و همکارانش[۸] آسکوربیک اسید و سیتریک اسید را بطور همزمان با استفاده از روش کمومتریکس افزایش استاندارد نقطه H اندازه گیری کردند. این روش مبتنی بر اختلاف سرعت واکنش آسکوربیک اسید و سیتریک اسید با کمپلکس آمونیاکی مس (II) است. آنها محدوده خطی دو آنالیت آسکوربیک اسید و سیتریک اسید را به ترتیب ۱۰-۰/۷ میلی مولار و ۱۱۵-۸۰ میلی مولار گزارش کردند روش ارائه شده توسط آنها بطور موفقیت آمیز برای اندازه گیری آسکوربیک اسید و سیتریک اسید در برخی پودرنوشیدنیهای مخلوط و قرص ویتامین ث بکار برده شد.

در سال ۲۰۱۱ لین و همکارانش[۹] آسکوربیک اسید را با استفاده از الکترود اصلاح شده با سیستئین خود انباشته طلا –نانو ذرات پلاتینیم اندازه گیری کردند. آنها نوع تازه ای ازالکترود اکسید قلع ایندیم (ITO) برای اندازه گیری آسکوربیک اسید ارائه کردند. لایه (ITO) اصلاح شده با با نانو ذرات آلیاژ طلا –پلاتین (Au-Pt NPs)، با یک لایه خود انباشته از سیستئین، ساخته شد. مشخصاتAu-Pt NPs الکترو رسوب شده بر روی لایه (ITO) با استفاده از روشهای میکروسکوب روبش الکترون و پراش اشعه X و اسپکتروسکوپی اشعه X پاشنده انرژی مشخص شد. یک مطالعه ولتامتری چرخه ای آشکار کرد که الکترود

فعالیت الکترو کاتالیزی عالی برای اکسایش آسکوربیک اسید دارد . محدوده خطی برای آسکوربیک اسید ۲-٤۰۰ میکرو مولار و حد تشخیص ۱ میکرو مولار است.

در سال ۲۰۱۲ فان و همکارانش[۱۰] آسکوربیک اسید را با استفاده از یک الکترود انعطاف پذیر طلا-پلی دی متیل سیلوکسان (PDMS) اصلاح شده با L- سیستئین اندازه گیری کردند. کاربرد الکترود انعطاف پذیرطلا - (PDMS) گسترده است و گونه ی اصلاح شده آن با L- سیستئین برای اندازه گیری مس و آسکوربیک اسید بکار برده می شود. مس بر روی الکترود اصلاح شده با L- سیستئین تجمع می یابد و با ولتامتری چرخه ای اندازه گیری می شود. الکترود ارائه شده برای اندازه گیریهای زیست محیطی، بهداشتی و غذایی کاربرد دارد.

۱-۵ L- سیستئین[۳]

هر اسید آمینه α از یک کربن نامتقارن به نام کربن آلفا تشکیل یافته است که با چهار گروه مختلف (COOH)، H، گروه آمینه بازی ($-NH_2$) و یک زنجیره غیر جانبی (R-) پیوند برقرار می‌کند.

ریشه R ممکن است یک زنجیره کربنی یا یک حلقه کربنی باشد. عوامل دیگری مانند الکل، آمین، کربوکسیل و نیز گوگرد می‌توانند در ساختمان ریشه R شرکت کنند. زنجیره ی جانبی خود چندین اتم کربن دارد و آنها را به ترتیبی که از کربن آلفا فاصله می‌گیرند با حروف بتا(β)، گاما(γ) و دلتا(δ) نشان می-دهند. اگر در حالیکه عامل COOH را بر روی کربن آلفا قرار داد و عامل NH_2 بر روی کربنهای غیر آلفا قرار گیرد، نوع اسید آمینه به β وγ وδ تغییر خواهد کرد. اسید آمینه های آزاد به مقدار کم در سلولهاوجود دارند.

3-L-cystein

بیشتر اسید آمینه ها در سنتز پروتئین شرکت می‌کنند، در صورتی‌که اسید آمینه های بتا، گاما و دلتا واسطه های شیمیایی هستند، بیشتر اسید آمینه ها در pH هفت به صورت زوج یون در می‌آیند، یعنی گروه NH_2 پروتون می‌گیرد، و گروه COOH هیدروژن خود را از دست می‌دهد و به صورت $-COO^-$ در می‌آید.

اسید آمینه سیستئین (CYS)، نقش مهمی در ساختمان فضایی پروتئینها بر عهده دارد زیرا عامل تیول (-SH) دو مولکول سیستئین در یک زنجیره پلی پپتیدی ویا دو مولکول سیستئین در دو زنجیره پلی پپتیدی با از دست دادن هیدروژن پیوند کووالان می سازند ودر نتیجه دو مولکول سیستئین یونیزه تبدیل به اسید آمینه دیگری به نام سیستئین می‌گردند.

سیستئین یک اسید آمینه طبیعی است که به واسطه دارا بودن گروه سولفیدریل (-SH) قادر است پیوند های دی سولفیدی (S-S) موجود بر روی ساختار گلوتن را احیاء نماید. از این اسید آمینه برای افزایش حلالیت آن، به شکل نمک هیدروکلراید استفاده می‌شود. سیستئین یک آمینو اسید گوگرددار است که علاوه بر نقش مهم آن در سیستمهای بیولوژیکی به دلیل پیوند آن به ترکیبات مختلف و مشارکت آن در تشکیل پروتئینها نقش مهمی دارد، به علاوه این ماده نقش مهمی در ارتباط بین سلولهای سیستم ایمنی نیز نقش مهمی ایفا می‌کند[۱۱]. همچنین این ماده دهنده گوگرد در بیو سنتز خوشه های حاوی آهن-گوگرد و کوفاکتورهای مولیبدوپترین می‌باشد. نقصان سیستئین باعث مشکلات متعددی از جمله تصلب شرائین، سرطان خون، دیابت، بیماریهای پوستی، بیماریهای کبدی می‌شود[۱۲،۱۳]. این ترکیب مدلی از پروتئینها در محیطهای بیولوژیکی نیز است[۱٤].

استفاده از آن از دهه ۱۹٦۰ میلادی آغاز و بصورت یک ترکیب کلیدی در فرآیندهای بهبود کیفیت، خصوصا در فرآیندی به نام توسعه و بهبود کیفیت خمیر، آغاز شد. در این فرآیند از L سیستئین هیدروکلراید به همراه برومات پتاسیم و آسکوربیک اسید استفاده شد تا بطور همزمان از خصوصیات اکسید و احیائ کنندگی جهت عمل آوری سریع خمیر، بدون نیاز به هر نوع مخلوط کن با دور بالا استفاده نمود.