





دانشکده شیمی

گروه شیمی تجزیه

اندازه‌گیری سینتیکی-اسپکتروفتومتری پیروکسیکام با استفاده از اثر بازداری آن بر

واکنش متیل رد با پریدات

سیده خدیجه غلامی مقدم

استاد راهنما

دکتر قدمعلی باقریان دهقی

استاد مشاور

دکتر ناصر گودرزی

پایان نامه ارشد جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

بهمن ۱۳۹۳

ماحصل آموخته بایم را تقدیم می‌کنم

به روح نورانی پدرم

آنکه آفتاب مهرش در آستانه قلمم، همچنان پابرجاست و هرگز غروب نخواهد کرد.

به مادر مهربانم

به پاس تعبیر عظیم و انسانی‌اش از کلمه: ایشار و از خودگذشتگی، به پاس عاطفه سرشار و

گرامی امید بخش وجودش که در این سردترین روزگار ان بهترین پشتیبان است.

به دو برادرم محمد و مهرداد و تمامی دوستان و عزیزانی که تا به این مرحله از زندگی یاری ام

کرده‌اند.

تقدیر و تشکر

سپاس و ستایش مرخصی را اجل و جلالت که آثار قدرت او بر چهره روز روشن، تابان است و انوار حکمت او در دل شب تار، درخشان. آفریدگاری که خویشتن را به ما شناساند و درهای علم را بر ما گشود و عمری و فرصتی عطا فرمود تا بدان، بنده ضعیف خویش را در طریق علم و معرفت یازاید.

اکنون در آستانه راهی نوبه پاس نعمت بی حد پروردگار، بر خود لازم می دانم سپاس گزار تمام عزیزانی باشم که در این مسیر گره کشای راهم بودند.

از استاد فرهیخته و فرزانه جناب آقای دکتر قدوسی باقریان، همتی که با کفایت های بلند، صحیفه های سخن را علم پرور نمود و همواره راهنما و راه کشای من در اتمام و اكمال پیمان نامه بوده است تشکر می نمایم.

از استادی بزرگوارم جناب آقای دکتر ناصر کوردوزی، جناب آقای دکتر منصور عرب چم جملگی برای مساعدت فراوانشان در طول انجام این تحقیق سپاسگزار می نمایم.

از خانم دکتر مصدر الامور که زحمت داری این پروژه را به عهده گرفتند تشکر و قدر دانی می نمایم.

از تمامی دوستان و هم کلاسی های خوبم برای خطرات خوبی که در ذهنم به یادگار گذاشتند و تمامی کارکنان گروه شیمی سپاسگزارم.

در پیمان از مادر مهربانم، برادران عزیزم، دوست وفادار پدرم جناب آقای صفدری که در تمامی مراحل، مشوق من بوده- اند کمال تشکر و قدر دانی را دارم.

تعهد نامه

اینجانب سیده خدیجه غلامی مقدم دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته شیمی تجزیه دانشکده شیمی دانشگاه شاهرود نویسنده پایان نامه اندازه‌گیری سینتیکی-اسپکتروفتومتری پیروکسیکام با استفاده از اثر بازداري آن بر واکنش متیل رد با پریدات تحت راهنمایی دکتر قدمعلی باقریان دهقی متعهد می‌شوم.

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است .
- در استفاده از نتایج پژوهش‌های محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه شاهرود می‌باشد و مقالات مستخرج با نام «دانشگاه شاهرود» و یا «Shahrood University» به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده‌اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می‌گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج ، کتاب ، برنامه‌های رایانه‌ای ، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه شاهرود می‌باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی‌باشد.

* متن این صفحه نیز باید در ابتدای نسخه های تکثیر شده پایان نامه وجود داشته باشد

چکیده

در این پروژه یک روش ساده، حساس و جدید سینتیکی-اسپکتروفوتومتری برای اندازه‌گیری پیروکسیکام در نمونه‌های دارویی ارائه شده است. این روش براساس اثر بازداری پیروکسیکام بر اکسایش کاتالیزوری متیل رد با پریدات در حضور یون برمید است. از بی‌رنگ شدن متیل رد در طول واکنش به صورت اسپکتروفوتومتری در طول موج ۵۱۸ نانومتر استفاده شده است. دامنه‌ی خطی این روش ۰/۲۰-۳/۰ میکرو مولار و حد تشخیص آن ۰/۰۷۷ میکرو مولار است. انحراف استاندارد نسبی برای ۵ اندازه‌گیری تکراری در غلظت‌های ۰/۴۰ و ۰/۸۰ و ۳/۰ میکرو مولار پیروکسیکام به ترتیب ۵/۰، ۵/۰ و ۳/۰ درصد می‌باشد. این روش با دقت و صحت خوبی برای تعیین مقدار پیروکسیکام در نمونه‌های دارویی به کار برده شد.

لغات کلیدی: پیروکسیکام، متیل رد، اسپکتروفوتومتری، سینتیک

مقاله‌ی مستخرج از این پایان‌نامه

**Kinetic-Spectrophotometric determination of piroxicam based on its
inhibitory effect on periodate-methyl red reaction**

در هفدهمین کنگره‌ی شیمی ایران در دانشگاه ولیعصر رفسنجان - شهریور ۹۳

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول:	۱
مقدمه	۱
۱-۱- پیروکسیکام	۲
۱-۱-۱- مکانسیم اثر، عملکرد پیروکسیکام و فارماکونیتیک	۳
۱-۱-۲- موارد منع مصرف و احتیاط	۳
۱-۱-۳- تداخلات دارویی	۴
۱-۱-۴- عوارض مصرف پیروکسیکام	۵
۱-۱-۵- مروری بر کارهای انجام شده برای پیروکسیکام	۶
فصل دوم:	۱۳
روش‌های سینتیکی و کاربرد آنها در شیمی تجزیه	۱۴
۱-۲- سینتیک چیست؟	۱۴
۲-۲- روش‌های اندازه گیری در شیمی تجزیه	۱۴
۳-۲- مقایسه‌ی روش‌های سینتیکی و تعادلی	۱۵
۴-۲- طبقه‌بندی روش‌های سینتیکی	۱۶
۵-۲- سرعت واکنش و معادلات سینتیکی	۱۷
۱-۵-۲- تعیین درجات جزئی و ثابت سرعت واکنش	۲۰

- ۲۰ ۲-۵-۱-۱- روش‌های انتگرالی
- ۲۲ ۲-۵-۱-۲- روش دیفرانسیلی
- ۲۳ ۲-۶- کاتالیزور
- ۲۵ ۲-۷- روش‌های اندازه‌گیری کاتالیزورها
- ۲۷ ۲-۷-۱- روش‌های دیفرانسیلی
- ۲۷ ۲-۷-۱-۱- روش سرعت ابتدائی
- ۲۹ ۲-۷-۱-۲- روش زمان ثابت
- ۳۰ ۲-۷-۱-۳- روش زمان متغیر
- ۳۱ ۲-۷-۲- روش‌های انتگرالی
- ۳۲ ۲-۷-۲-۱- روش تانژانت
- ۳۳ ۲-۷-۲-۲- روش زمان ثابت
- ۳۴ ۲-۷-۲-۳- روش زمان متغیر
- ۳۴ ۲-۷-۳- سینتیک شیمیایی تجربی
- ۳۵ ۲-۷-۳-۱- تکنیک‌های تجربی (اسپکتروفتومتری)
- ۳۵ ۲-۷-۳-۲- کاربرد تکنیک‌ها
- ۳۷ ۲-۷-۴- روش‌های اندازه‌گیری بر پایه تغییر سرعت واکنش‌های کاتالیز شده در محلول
- ۳۸ ۲-۷-۴-۱- بازداری
- ۳۸ ۲-۷-۴-۲- فعال سازی
- ۳۹ ۲-۸- عوامل مؤثر بر سرعت واکنش‌ها

- ۳۹ ۲-۸-۱- اثر دما
- ۴۱ ۲-۸-۲- اثر غلظت واکنشگرها
- ۴۱ ۲-۸-۳- اثر حلال
- ۴۲ ۲-۸-۴- اثر قدرت یونی
- ۴۳ فصل سوم:
- ۳-۱- اندازه گیری سینتیکی - اسپکتروفتومتری پیروکسیکام با استفاده از اثر بازداری آن بر واکنش پریدات با متیل رد ۴۴
- ۳-۱-۱- مواد شیمیایی مورد نیاز ۴۴
- ۳-۱-۲- تهیه ی محلول های مورد استفاده ۴۵
- ۳-۱-۳- دستگاه های مورد استفاده ۴۶
- ۳-۱-۴- سیستم شیمیایی مورد استفاده ۴۶
- ۳-۱-۵- رسم طیف جذبی ۴۶
- ۳-۱-۶- روش کار ۴۹
- ۳-۱-۷- بررسی پارامترها و بهینه سازی متغیرهای مؤثر بر واکنش ۵۰
- ۳-۱-۸- بررسی اثر نوع اسید بر روی سیگنال کل ۵۱
- ۳-۱-۹- بررسی اثر غلظت هیدروکلریک اسید ۵۳
- ۳-۱-۱۰- بررسی اثر غلظت پتاسیم برمید ۵۴
- ۳-۱-۱۱- بررسی اثر غلظت سدیم پریدات ۵۶
- ۳-۱-۱۲- بررسی اثر غلظت متیل رد ۶۰

- ۶۲ ۳-۱-۱۳- بررسی اثر دما
- ۶۴ ۳-۱-۱۴- بررسی اثر زمان
- ۶۶ ۳-۱-۱۵- بررسی اثر قدرت یونی
- ۶۹ ۳-۱-۱۶- شرایط بهینه
- ۷۰ ۳-۱-۱۷- بررسی مزاحمت‌ها
- ۷۱ ۳-۱-۱۸- رسم منحنی کالیبراسیون
- ۷۳ ۳-۱-۱۹- حد تشخیص
- ۷۳ ۳-۱-۲۰- دقت و صحت روش
- ۷۴ ۳-۱-۲۱- کاربرد روش در اندازه‌گیری پیروکسیکام در نمونه‌های حقیقی
- ۷۹ فصل چهارم:
- ۸۰ ۴-۱- اثر بازداری پیروکسیکام بر اکسیداسیون متیل رد توسط پریدات در حضور پتاسیم برمید
- ۸۲ ۴-۱-۱- ارقام شایستگی روش
- ۸۳ ۴-۱-۲- مقایسه روش با سایر روشهای موجود در اندازه‌گیری غلظت پیروکسیکام
- ۸۵ ۴-۱-۳- آینده‌نگری
- ۸۶ منابع و مراجع

فهرست اشکال

صفحه	عنوان
۲	شکل (۱-۱) ساختار گسترده پیروکسیکام.....
۲۵	شکل (۱-۲) تغییر غلظت نسبت به زمان واکنش‌دهنده R و محصول P.....
۲۸	شکل (۲-۲) روش سرعت ابتدایی.....
۳۰	شکل (۳-۲) روش زمان ثابت.....
۳۱	شکل (۴-۲) روش زمان متغیر.....
۳۳	شکل (۵-۲) روش تانژانت.....
۴۰	شکل (۶-۲) اثر دما بر سرعت واکنش در واکنش‌های مختلف.....
۴۸	شکل (۱-۳) طیف جذبی سیستم واکنش.....
۴۹	شکل (۲-۳) بررسی اثر غلظت پیروکسیکام بر زمان بازداری.....
۵۳	شکل (۳-۳) بررسی اثر نوع اسید بر روی اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه.....
۵۶	شکل (۴-۳) نمودار تغییرات جذب با تغییر غلظت HCl.....
۵۸	شکل (۵-۳) نمودار تغییرات جذب با تغییر غلظت KBr.....
۵۹	شکل (۶-۳) نمودار تغییرات جذب با تغییر غلظت سدیم پریدات.....
۶۱	شکل (۷-۳) نمودار تغییرات جذب با تغییر غلظت متیل رد.....
۶۳	شکل (۸-۳) نمودار تغییرات جذب با تغییر دما.....

شکل (۹-۳) نمودار تغییرات جذب با تغییر زمان ۶۶

شکل (۱۰-۳) نمودار تغییرات جذب با تغییر زمان ۶۸

شکل (۱۱-۳) بررسی اثر قدرت یونی بر سیگنال جذب ۶۹

شکل (۱۲-۳) منحنی کالیبراسیون ۷۲

شکل (۱-۴) ساختار اورتو متیل رد (ایزومر اصلی متیل رد) ۸۰

فهرست جداول

صفحه	عنوان
۱۷	جدول (۱-۲) طبقه‌بندی روش‌های سینتیکی براساس شیمی واکنش‌ها
۲۷	جدول (۲-۲) روش‌های اندازه‌گیری
۴۴	جدول (۱-۳) مواد شیمیایی مورد استفاده
۵۲	جدول (۲-۳) بررسی اثر نوع اسید بر روی اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه
۵۵	جدول (۳-۳) بررسی اثر غلظت هیدرو کلریک اسید بر روی سیگنال کل
۵۸	جدول (۴-۳) نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت پتاسیم برمید بر روی سرعت واکنش
۵۹	جدول (۵-۳) نتایج حاصل از اثر غلظت سدیم پریدات بر روی اختلاف جذب شاهد و نمونه
۶۱	جدول (۶-۳) نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت متیل رد
۶۳	جدول (۷-۳) تأثیر دما بر اختلاف تغییر جذب شاهد و نمونه
۶۵	جدول (۸-۳) نتایج حاصل از بررسی زمان (پیروکسیکام $2/0 \times 10^{-6}$)
۶۷	جدول (۹-۳) نتایج حاصل از بررسی زمان (پیروکسیکام $8/0 \times 10^{-7}$)
۶۸	جدول (۱۰-۳) تأثیر قدرت یونی بر سیگنال تجزیه‌ای
۷۰	جدول (۱۱-۳) بررسی اثر گونه‌های مزاحم و نسبت آن‌ها در محیط واکنش
۷۲	جدول (۱۲-۳) سیگنال‌های تجزیه‌ای برای غلظت‌های مختلف پیروکسیکام
۷۴	جدول (۱۳-۳) نتایج حاصل از بررسی دقت و صحت روش
۷۶	جدول (۱۴-۳) اندازه‌گیری پیروکسیکام در نمونه کپسول

جدول (۳-۱۵) اندازه‌گیری پیروکسیکام در نمونه آمپول ۷۷

جدول (۴-۱) مقایسه‌ی روش پیشنهادی با سایر روش‌ها ۸۴

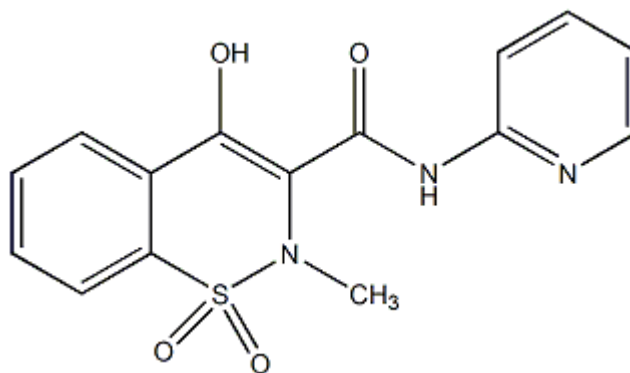


فصل اول:

مقدمه

۱-۱- پیروکسیکام^۱

پیروکسیکام (۴-هیدروکسی-۲-متیل-N-(پیریدین-۲-یل)-۱،۲-۲H-بنزوتیازین-۳-کربوکسامید-۲،۱-دی‌اکسید) (شکل (۱-۱)) یک داروی ضد التهاب و غیر استروئیدی است [۱]. این دارو در درمان دردهای مفصلی، دردهای عضلانی، سردرد، کمردرد و بسیاری از بیماری‌هایی که موجب تورم و التهاب می‌شوند مورد مصرف قرار می‌گیرد [۲،۳]. پیروکسیکام به صورت کپسول‌های ۱۰ میلی‌گرمی، ژل‌های ۰/۵ درصد و آمپول ۲۰ میلی‌گرمی در بازار موجود است.



شکل (۱-۱) ساختار گسترده پیروکسیکام

^۱ - Piroxicam

۱-۱-۱- مکانسیم اثر، عملکرد پیروکسیکام و فارماکونیتیک^۱

مکانسیم اثر داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی نظیر پیروکسیکام از طریق مهار آنزیم خاصی در بدن است. آنزیم‌ها پروتئین‌های خاصی هستند که در بدن موجودات زنده وجود داشته و موجب تسهیل برخی واکنش‌های شیمیایی می‌شوند. داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی موجب مهار آنزیمی به نام سیکلواکسیژناز^۲ می‌شوند. این آنزیم موجب تولید موادی به نام پروستاگلاندین^۳ شده که روند التهاب و درد را در بدن به وجود می‌آورد. در واقع این داروها با مهار این آنزیم موجب می‌شوند تولید پروستاگلاندین‌ها کم شده و التهاب کاهش یابد [۴].

میزان اتصال به پروتئین این دارو حدود ۹۹٪ است و یک داروی قوی و دارای نیمه عمر حذف ۵۰ ساعت می‌باشد که پیشنهاد می‌شود روزانه یک بار مصرف شود [۵].

قسمت اعظم دارو از طریق ادرار و مقادیر ناچیزی از طریق مدفوع دفع می‌گردد. این دارو سیکل آنتروپاتیک^۴ دارد و کمتر از ۵٪ دوز دارو تغییر نیافته و از طریق ادرار دفع می‌شود [۶].

۱-۱-۲- موارد منع مصرف و احتیاط [۷]

این دارو در موارد زیر منع مصرف دارد:

در صورت حساسیت به پیروکسیکام، آسپرین^۵ و سایر داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی و یا هر کدام از اجزای این فرمولاسیون، درسه ماهه‌ی سوم بارداری، دوران شیردهی، بیماران مبتلا به زخم معده و اثنی عشر و یا آسم و به عنوان ضد درد قبل از عمل جراحی.

^۱-Pharmakuinitic

^۲- Cyclooxygenaz

^۳- Prostaglandin

^۴- Antrohepatic

^۵- Aspirin

این دارو در بیماران با مشکلات کبدی، کلیوی، بیماران قلبی، افراد مسن و بیماران مبتلا به افزایش فشار خون باید با احتیاط مصرف شود. اثر بخشی و ایمنی این دارو در کودکان ثابت نشده است.

داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی ممکن است موجب نهفته ماندن علائم و نشانه‌های عفونت حاد (تب، درد عضلانی، اریتم^۱) شوند. وضعیت بیمارانی که در معرض خطر زیاد قرار دارند (مانند بیماران دیابتی) باید به دقت ارزیابی شود.

۱-۳-۱- تداخلات دارویی [۸]

مصرف همزمان پیروکسیکام با داروهای ضد انعقاد و داروهای ترومبولیتیک^۲ (مشتقات کومارین^۳، هپارین^۴، استرپتوکیناز^۵) ممکن است موجب تشدید اثرات ضد انعقاد خون این داروها شود. از آنجائیکه پروستاگلاندین‌ها بر متابولیسم گلوکز اثر می‌گذارند، مصرف همزمان پیروکسیکام با انسولین یا داروهای خوراکی کاهنده قند خون ممکن است موجب تشدید اثر کاهنده قند خون این داروها شود. مصرف همزمان با مشتقات کومارین، فنی‌توئین^۶، وراپامیل^۷ و نیفیدپین^۸، ممکن است سبب مسمومیت شود. پیروکسیکام ممکن است اثر بخشی داروهای کاهنده فشار خون و مدر را کاهش دهد. مصرف همزمان با داروهای مدر ممکن است خطر بروز مسمومیت کلیوی را افزایش دهد.

در صورت استفاده همزمان این دارو با داروهای ضد تجمع پلاکتی (آسپرین، تیکلوپیدین^۹،

^۱- Eritm

^۲- Thromobolitic

^۳- Cumarine

^۴- Heparine

^۵- Streptokinase

^۶- Phenytoin

^۷- Verapamil

^۸- Nifedipine

^۹- Ticlopidine

کلوپیدوگرل^۱) احتمال خونریزی افزایش می‌یابد.

در استفاده همزمان با کورتیکواستروئیدها^۲ خطر زخم‌های گوارشی افزایش می‌یابد. این دارو غلظت خونی لیتیم را افزایش می‌دهد. همچنین کلستیرامین^۳ منجر به کاهش جذب پیروکسیکام می‌شود.

۱-۱-۴- عوارض مصرف پیروکسیکام

پیروکسیکام می‌تواند احتمال سکته قلبی و مغزی را بالا ببرد و می‌تواند نارسایی قلبی را در صورت وجود تشدید کند. از این دارو نباید قبل و بعد از اعمال جراحی قلب استفاده کرد [۷].

پیروکسیکام موجب حساسیت پوست به اشعه ماوراء بنفش خورشید می‌شود. بنابراین افرادی که از این دارو استفاده می‌کنند باید مراقب باشند دچار آفتاب سوختگی نشوند و از کرم‌های ضد آفتاب استفاده کنند. همچنین موجب بثورات پوستی ایجاد کهیر، کبودی، و ایجاد خارش پوست می‌شود [۷].

در سیستم اعصاب مرکزی سبب سردرد، خواب آلودگی، کسالت، سرگیجه، افسردگی، عصبانیت و ناتوانی در نشستن می‌شود [۷].

پیروکسیکام می‌تواند موجب عوارض گوارشی مانند تهوع، درد شکم، سوزش سر دل، اسهال، یبوست، نفخ شکم و خونریزی گوارشی و زخم معده شود. این عوارض در سنین بالا و با مصرف طولانی مدت دارو بیشتر می‌شود. عوارض گوارشی این دارو در مصرف همزمان الکل بیش‌تر می‌شود [۸].

در چشم و گوش باعث اختلالات بینایی، وزوز گوش و اختلالات شنوایی می‌شود [۸].

^۱- Clopidogrel

^۲- Corticosteroids

^۳- Colestyramine

این دارو در سیستم ادراری-تناسلی موجب مسمومیت کلیوی و سوزش ادرار می‌گردد [۸].

۱-۱-۵- مروری بر کارهای انجام شده برای پیروکسیکام

در سال ۲۰۰۰ خلیل^۱ و همکارانش با استفاده از حسگرهای غشایی پلاستیکی اندازه‌گیری پتانسیومتر پیروکسیکام را گزارش نموده‌اند. الکترودها با مواد فعال الکتریکی^۲ پاسخ مناسبی را در ناحیه‌ی 10^{-2} تا 10^{-5} مول بر لیتر با حد تشخیص $10^{-6} \times 2/4$ مول بر لیتر پیروکسیکام نشان دادند. مواد فعال الکتریکی از کمپلکس‌های زوج یون پیروکسیکام با کاتیون تری‌کاپریل‌متیل آمونیوم کلرید (آلیکوات ۳۳۶S)^۳ به دست آمد. از مزایای این روش سادگی، سرعت و عدم نیاز به آماده سازی نمونه گزارش شده است [۹].

در سال ۲۰۰۱ باسان^۴ و همکارانش با استفاده از طیف مشتق اول^۵، پیروکسیکام را در قرص-های پیروکسیکام- β سیکلودکستین با روش اسپکتروفتومتری مشتقی بررسی کردند. در این روش ناحیه‌ی خطی ۲۰-۲/۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است. نتایج به دست آمده با نتایج حاصل از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با یک ستون فاز معکوس C_{18} و فاز متحرک شامل بافر فسفات متانول مقایسه شده بوده‌اند و دامنه‌ی خطی در این روش ۲۰-۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است [۱۰].

در سال ۲۰۰۲ ناگارالی^۶ و همکارانش دو روش ساده، حساس و دقیق اسپکتروفتومتری را برای اندازه‌گیری آموکسی‌سیلین، سیپروفلوکسان و پیروکسیکام در نمونه‌های طبیعی و دارویی گزارش

^۱- Khalil

^۲- Electroactive materials

^۳- Tricaprylmethyl ammonium chloride (aliquot 336S)

^۴- Basan

^۵- First order derivative

^۶- Nagaralli

کردند. این روش‌ها بر مبنای اندازه‌گیری جذب کمپلکس تریس‌اورتوفنانترولین آهن(II)^۱ (روش A) در طول موج ۵۱۰ نانومتر و کمپلکس تریس‌بای‌پیریدیل آهن(II)^۲ (روش B) در طول موج ۵۲۲ نانومتر در حضور و عدم حضور پیروکسیکام، آموکسی‌سیلین، سیپروفلوکسان بودند. دو محدوده‌ی خطی ۰/۲۰ تا ۶/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۰/۵۰ تا ۶/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای اندازه‌گیری پیروکسیکام با این دو روش گزارش شده است. افزودنی‌ها و رقیق‌کننده‌های متداول و ترکیباتی مثل گلوکز^۳، نشاسته^۴، سولفات، لاکتوز^۵ و استات هیچ مزاحمتی در اندازه‌گیری این داروها ایجاد نکردند [۱۱].

در سال ۲۰۰۳ آرانسیبیا^۶ و همکارانش دو روش اسپکتروفلوئوریمتری متفاوت را برای اندازه‌گیری پیروکسیکام در سرم گزارش داده‌اند. روش اول براساس کالیبراسیون چند متغیره با فاکتور آنالیز موازی با محلول‌های استاندارد و روش دوم بر پایه استخراج فاز جامد و سپس اندازه‌گیری فلوئوریمتری است. حد تشخیص برای روش اول ۰/۰۹۰ و برای روش دوم ۰/۰۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است [۱۲].

در سال ۲۰۰۵ سان ترونسوک^۷ و همکارانش یک روش ساده و سریع اسپکتروفتومتری را برای اندازه‌گیری پیروکسیکام گزارش نمودند. این روش براساس اندازه‌گیری جذب پیروکسیکام در شرایط اسیدی و بازی در طول موج ۳۶۰ نانومتر است. نتایج مطالعات بر روی پایداری پیروکسیکام تحت شرایط هیدرولیز اسیدی و بازی نشان می‌دهد که جذب در ناحیه‌ی UV برای پیروکسیکام در شرایط بازی و طول موج ۳۶۰ نانومتر برای مدت ۳ یا ۶ ساعت بدون تغییر باقی می‌ماند، اما در شرایط

^۱ - Tris(o-phenanthroline) iron(II)

^۲ - Tris (bipyridyl) iron(II)

^۳ - Glucose

^۴ - Starch

^۵ - Lactose

^۶ - Arancibia

^۷ - Suntornsuk

هیدرولیز اسیدی به مقدار قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد. حد تشخیص ۶/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر و درصد بازیابی ۱۰۶/۴-۱۰۰/۸٪ گزارش شده است [۱۳].

در سال ۲۰۰۷ باویلی^۱ و همکارانش یک روش جدید، ساده، حساس و سریع اسپکتروفلوئوریمتری را برای اندازه‌گیری پیروکسیکام در فرمولاسیون دارویی ارائه کردند. این روش براساس اکسیداسیون پیروکسیکام با سریم (IV) و تولید سریم (III) است که این ماده در طول موج ۲۵۵ نانومتر تحریک شده و شدت فلئوئورسانس در طول موج ۳۵۲ نانومتر اندازه‌گیری شده است. حد تشخیص این روش 6×10^{-3} و ناحیه‌ی خطی ۰/۲۰-۳/۰ میلی‌گرم بر لیتر است [۱۴].

در سال ۲۰۰۸ شیرخدکار^۲ و همکارانش یک روش ساده و سریع کروماتوگرافی لایه‌ی نازک با کارایی بالا (HPTLC)^۳ را برای اندازه‌گیری پیروکسیکام و پاراستامول ارائه کردند. این روش بر مبنای جداسازی‌های HPTLC دو دارو به وسیله‌ی اندازه‌گیری‌های چگالی سنجی لکه آن‌ها در طول موج ۲۸۸ نانومتر است. جداسازی بر روی ورقه‌های TLC آلومینیومی با فاز ثابت از جنس سلیکاژل 60F-254 انجام شد. فاز متحرک به کار برده شده شامل دی‌کلرواتان: متانول: تری‌اتیل‌آمین با نسبت‌های $(\frac{V}{V}: \frac{2}{5}: 1)$ است. حد تشخیص این روش ۴۵/۵۷ نانوگرم و ناحیه‌ی خطی آن ۰/۱-۰/۹ میکروگرم بر لکه^۵ است. در این روش هیچ مزاحمت کروماتوگرافی در اندازه‌گیری قرص‌ها مشاهده نشد [۱۵].

در سال ۲۰۰۹ موریلو^۶ و همکارانش یک روش ساده و سریع شیمی لومینسانس را برای اندازه‌گیری پیروکسیکام در فرمولاسیون خالص و دارویی گزارش کردند. روش براساس واکنش این دارو با N-بروموسوکسینیمید^۷ در محیط قلیایی متوسط در حضور فلئوئورسین به عنوان حساس کننده است.

^۱- Bavili

^۲- Shirkhedkar

^۳- High-performance thin-layer chromatography (HPTLC)

^۴- TLC aluminium sheets of silica gel 60F-254

^۵- Spot

^۶- Murillo

^۷- N-bromosuccinimide

در اثر واکنش پیروکسیکام با N- برومو سوکسینیمید انرژی آزاد می‌شود که سبب تولید گونه‌های تحریک شده می‌شود و این انرژی گونه‌های تحریک شده به ترکیب فلئورسین انتقال می‌یابد و سبب ساطع شدن پرتو از حساس کننده (فلئورسین) می‌گردد. در این روش مخلوط شدن کامل واکنشگر شیمی لومینسانس و نمونه قبل از رسیدن به دتکتور انجام می‌شود، ناحیه‌ی خطی و حد تشخیص این روش به ترتیب ۱۲-۲ و ۰/۷۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است [۱۶].

در سال ۲۰۱۰ دوخیل^۱ و همکارانش یک روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا فاز معکوس را برای اندازه‌گیری پیروکسیکام در شکل تجاری دارویی به کار بردند. ستون تجزیه‌ای با فاز معکوس C₁₈ (ZorbaxSB) و فاز متحرک شامل متانول، استونیتریل، سدیم دی‌هیدروژن اورتوفسفات در سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه و آشکار ساز UV در طول موج ۲۵۴ نانومتر به کار برده شد. حد تشخیص روش ۱۴۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر و دامنه‌ی خطی ۷-۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر است [۱۷].

در سال ۲۰۱۰ شاهرخیان^۲ و همکارانش رفتار الکتروشیمیایی پیروکسیکام را در سطح الکتروود گرافیت پیرولی اصلاح شده با چیتوسان دوپه شده با نانو ذرات کربنی^۳ بررسی کردند. سطح الکتروود از طریق قطره گذاری سوسپانسیون حاصل اصلاح و رفتار آن به وسیله‌ی میکروسکوپی نیروی اتمی (AFM)^۴ بررسی گردید. افزایش جریان قابل ملاحظه‌ای برای اندازه‌گیری پیروکسیکام به وسیله‌ی ولتامتری چرخه‌ای مشاهده شد و براساس انتقال جرم لایه‌ی نازک داخل لایه‌ی متخلخل توضیح داده شد که منجر به افزایش چشمگیر در سطح الکتروفعال گردید. در این روش ناحیه‌ی خطی ۵۰-۰/۵ میکرومولار و حد تشخیص ۲۵ نانو مولار گزارش شده است [۱۸].

^۱- Devkhile

^۲- Shahrokhian

^۳- Plain pyrolytic graphite electrode modified with chitosan doped carbon nanoparticles

^۴- Atomic force microscopy

در سال ۲۰۱۱ داگ^۱ و همکارانش یک روش جدید، ساده، دقیق و سریع اسپکتروفوتومتری را در هیدروکلریک اسید متانولی ۰/۱ مولار برای اندازه‌گیری پیروکسیکام در فرمولاسیون دارویی گزارش کردند. نتایج نشان داد که اندازه‌گیری پیروکسیکام در قرص‌ها ساده، صحیح، دقیق و تکرار پذیر است. ناحیه‌ی خطی در این روش ۷/۵-۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و درصد بازیابی ۹۹/۷۹٪ گزارش شده است که نشان می‌دهد روش از مزاحمت ناخالصی‌ها و دیگر افزودنی‌ها آزاد است [۴].

در سال ۲۰۱۲ دکتر عرب چم جنگلی^۲ و همکارانش برای اولین بار یک روش اسپکتروفوتومتری سینتیکی ساده و حساس را برای اندازه‌گیری پیروکسیکام ارائه کردند. این روش براساس اثر بازداری پیروکسیکام بر اکسیداسیون کاتالیتیکی متاکرزول پرپل با پریدات است. بی‌رنگ شدن متاکرزول پرپل به وسیله‌ی برم برای دنبال کردن واکنش به صورت اسپکتروفوتومتری در طول موج ۵۲۵ نانومتر صورت گرفته است. حد تشخیص و ناحیه‌ی خطی برای این روش به ترتیب ۰/۵۴ و ۱۲/۵-۱ میکرو مولار گزارش شده است. در این روش مزاحمت قابل ملاحظه‌ای وجود ندارد [۱۹].

در سال ۲۰۱۳ زیب^۳ و همکارانش یک روش بی‌خطر میکرو استخراج فاز مایع پخشی مایع یونی با کنترل دما (TCIL-DLPME)^۴ با اسپکتروفلوئوریمتری تزریق جریان متوقف شده را برای اندازه‌گیری پیروکسیکام در فرمولاسیون دارویی و نمونه‌های بیولوژیکی گزارش کردند. TCIL-DLPME برای جداسازی کمی پیروکسیکام به کار می‌رود. پیروکسیکام ابتدا استخراج و پیش تغلیظ می‌شود و سپس توسط اسپکتروفلوئوریمتری تزریق جریان متوقف شده اندازه‌گیری می‌شود. در این روش ناحیه‌ی خطی و حد تشخیص به ترتیب ۰/۲-۱۵۰ و ۰/۰۴۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر است [۲۰].

^۱- Dog

^۲- Arab chamjangali

^۳- Zeeb

^۴- Temperature-controlled ionic liquid dispersive liquid phase microextraction (TCIL-DLPME)

در نتیجه اکثر روش‌های ذکر شده از جمله روش‌های اسپکتروفتومتری حساسیت کافی ندارند، و در نتیجه دسترسی به حد تشخیص‌های پایین مشکل است. از طرف دیگر این روش‌ها نیاز به مواد و دستگاه‌های گران قیمت دارند. با توجه به اینکه اندازه‌گیری داروها نقش مهمی در کنترل کیفیت دارو دارد و نقش مهمی بر سلامت انسان ایفا می‌کند، استفاده از روش‌های سریع، آسان و صحیح جهت تعیین مقدار داروها از اهمیت زیادی برخوردار است. لذا در این پروژه سعی شده است که یک روش ساده، سریع، ارزان و با حساسیت بالا (که از مشخصات ویژه روش‌های سینتیکی اسپکتروفتومتری است) برای اندازه‌گیری پیروکسیکام ارائه شده و مورد بررسی قرار گیرد.



روش‌های سینتیکی و کاربرد آن‌ها در شیمی تجزیه

۲-۱- سینتیک چیست؟

سینتیک شیمیایی شاخه‌ای از علم شیمی است که سرعت واکنش‌های شیمیایی را بررسی می‌کند. سینتیک شیمیایی در ارتباط با این مطلب است که واکنش دهنده‌ها با چه سرعتی مصرف و محصولات با چه سرعتی تشکیل می‌شوند، سرعت واکنش چگونه به تغییرات در شرایط با حضور کاتالیزور جواب می‌دهند و شناسایی مراحل است که طی آن مراحل واکنش صورت می‌گیرد [۲۱].

علم سینتیک ارتباط قوی و مستحکمی با سایر شاخه‌های علوم مانند دینامیک، مکانیک آماری، و اسپکتروسکوپی داشته و همچنین این علم در تعیین مکانیزم واکنش‌ها نقش بسزایی دارد [۲۲].

۲-۲- روش‌های اندازه‌گیری در شیمی تجزیه

بخش اعظم شیمی تجزیه واکنش‌های شیمیایی در فاز محلول هستند. اندازه‌گیری‌های تجزیه-ای به دو صورت انجام می‌گیرند [۲۳].

۱- روش‌های سینتیکی

۲- روش‌های ترمودینامیکی یا تعادلی

در روش اول اندازه‌گیری‌ها در شرایط دینامیک^۱ در سیستم‌هایی که در حال رسیدن به تعادل هستند و غلظت واکنش دهنده‌ها در حال تغییر است، انجام می‌گیرد. اما در روش دوم اندازه‌گیری‌ها در زمانی صورت می‌گیرد که سیستم به تعادل رسیده است بنابراین غلظت‌ها در حالت تعادل هستند [۲۳].

^۱- Dynamic

برای مطالعه‌ی جامع یک واکنش بررسی ترمودینامیکی و همچنین بررسی سینتیکی آن واکنش ضروری است. این بررسی‌ها مکمل یکدیگر هستند. معمولاً بررسی یک واکنش با مطالعات ترمودینامیکی شروع می‌شود سپس اگر واکنش از نظر ترمودینامیکی مناسب تشخیص داده شد باید از لحاظ سینتیکی (مانند انتخاب شرایط و کاتالیزور مناسب) مورد مطالعه قرار گیرد [۲۲].

۲-۳- مقایسه‌ی روش‌های سینتیکی و تعادلی

امتیازاتی که روش‌های سینتیکی بر روش‌های ترمودینامیکی دارند عبارتند از:

۱- واکنش‌های ترکیبات مشابه نظیر (همولوگ‌ها و ایزومرها) از نظر تعادلی تفاوت چندانی با یکدیگر نداشته و از این رو اندازه‌گیری بسیاری از ترکیبات در کنار یکدیگر امکان‌پذیر نیست (در حقیقت تفاوت چندانی ما بین انرژی آزاد این گونه واکنش‌ها وجود ندارد). واکنش‌های چنین ترکیباتی با یک معرف شیمیایی مشترک از نظر سینتیکی با هم متفاوت هستند زیرا انرژی آزاد فعال سازی برای تشکیل کمپلکس فعال شده به تفاوت‌های کوچکی که در ساختار چنین ترکیباتی وجود دارد به مراتب حساس‌تر از تغییرات انرژی آزاد کل واکنش می‌باشد. با کنترل عواملی مانند اثرات قطبی، اثرات فضایی و رزونانس و... می‌توان سرعت واکنش آن‌ها را کنترل کرد [۲۴].

۲- بسیاری از واکنش‌های در حال تعادل، در اندازه‌گیری شیمیایی به طریقه‌ی ترمودینامیکی، قابل استفاده نیستند زیرا این گونه واکنش‌ها زمان طولانی برای رسیدن به تعادل نیاز دارند یا اینکه با نزدیک شدن به پایان واکنش، سرعت واکنش‌های جانبی افزایش می‌یابد. از طرف دیگر ممکن است این واکنش‌ها به قدر کافی کمی نباشند (یعنی ثابت تعادل کوچکی داشته باشند). تجزیه‌ی سینتیکی را در مورد بسیاری از این واکنش‌ها می‌توان به کار برد. اشکالات واکنش‌هایی با ثابت تعادل نامناسب، واکنش‌های کند و واکنش‌های جانبی و واکنش‌های برگشتی را با اندازه‌گیری سرعت اولیه واکنش می‌توان برطرف نمود. بنابراین هر واکنشی که بتوان سرعت اولیه آن را اندازه‌گیری نمود، در روش

تجزیه‌ی سینتیکی قابل استفاده است [۲۴].

۳- از روش‌های سینتیکی تجزیه‌ای می‌توان برای غلظت‌های نسبتاً زیاد و یا خیلی کم مواد استفاده کرد [۲۵].

۴- روش‌های سینتیکی در مورد واکنش‌های کاتالیزوری (بخصوص آنزیمی) انتخابی‌تر از روش‌های ترمودینامیکی مشابه می‌باشند [۲۵].

برخی از محدودیت‌های روش‌های سینتیکی [۲۵]:

۱- یکی از مشکلات جدی در روش‌های سینتیکی نیاز به تکرار پذیری دقیق شرایط واکنش است تا بتوان نتایج دقیق و تکرار پذیری را به دست آورد.

۲- سرعت واکنش بایستی در گستره‌ی مناسبی باشد. نیمه عمرهایی در محدوده چند میلی ثانیه تا دهها دقیقه مختص روش‌های سینتیکی است.

۳- شرایط واکنش همانند دما، خاصیت اسیدی و غلظت واکنشگرها بایستی به دقت کنترل شود زیرا این عوامل اثرات زیادی روی سرعت واکنش دارند.

۲-۴- طبقه‌بندی روش‌های سینتیکی [۲۶]

روش‌های سینتیکی را می‌توان براساس معیارهای مختلفی از قبیل شیمی واکنش‌های به کار رفته که احتمالاً یکی از بهترین طبقه‌بندی‌هاست تقسیم‌بندی کرد. براساس شیمی واکنش‌های به کار رفته می‌توان روش‌های سینتیکی را به سیستم هموژن^۱ و سیستم غیر هموژن^۲ تقسیم‌بندی کرد.

هرکدام از این سیستم‌ها را نیز می‌توان به سیستم‌های کوچکتری تقسیم‌بندی کرد که این

^۱- Homogeneous System

^۲- Heterogeneous System

تقسیم‌بندی در جدول (۱-۲) آمده است.

جدول (۱-۲) طبقه‌بندی روش‌های سینتیکی براساس شیمی واکنش‌ها [۲۷]

۱- سیستم هموژن
۱-۱- روش‌های کاتالیزوری
۱-۱- الف- روش‌های آنزیمی که از آنزیم‌های محلول استفاده می‌کنند.
۱-۱- ب- روش‌های غیر آنزیمی (کاتالیز کردن واکنش‌های ردوکس توسط یون‌های فلزات واسطه)
۲-۱- روش‌های غیر کاتالیزوری
۲-۱- الف- تعیین یک جزء تنها
۲-۱- ب- تعیین مخلوط چند جزئی (روش‌های سرعت واکنش دیفرانسیلی)
۳-۱- روش‌های لومینسانس شیمیایی
۲- سیستم‌های غیر هموژن
۱-۲- روش‌های سینتیکی بر مبنای واکنش‌های الکترودی
۲-۲- روش‌های آنزیمی که از آنزیم‌های تثبیت شده استفاده می‌کنند.

۲-۵- سرعت واکنش و معادلات سینتیکی

سرعت یک واکنش برحسب تغییر غلظت گونه مشخص شده تعریف می‌شود. ولی به علت اینکه سرعت از بین رفتن واکنش دهنده‌ها و سرعت تشکیل محصولات در خلال انجام واکنش تغییر می‌کند، ضروری است که سرعت لحظه‌ای واکنش مورد بررسی قرار گیرد. سرعت لحظه‌ای یعنی سرعت در یک لحظه بخصوص. برای محاسبه سرعت لحظه‌ای، نمودار غلظت مولی برحسب زمان رسم می‌شود، شیب چنین نموداری در لحظه مورد نظر در حقیقت همان سرعت لحظه‌ای مصرف واکنش

دهنده است. به طور کلی، واکنش دهنده‌های مختلف در یک واکنش معین با سرعت‌های مختلفی مصرف می‌شوند و محصولات مختلف نیز در سرعت‌های مختلف تشکیل می‌شوند [۲۱].

واکنش همگن زیر را در نظر بگیرید:



که در آن a, b, \dots, e, f ضرایب معادله شیمیایی موازنه شده و A, B, \dots, E, F گونه‌های شیمیایی هستند.

$$r = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = -\frac{1}{b} \frac{d[B]}{dt} = \frac{1}{e} \frac{d[E]}{dt} = \frac{1}{f} \frac{d[F]}{dt} \quad (1-2) \text{ در حجم ثابت}$$

r سرعت واکنش و کمیتی شدتی و وابسته به (T, P) می‌باشد و غلظت‌ها در سیستم همگن

است [۲۸].

قوانین سرعت و ثابت‌های سرعت:

سرعت واکنش اغلب متناسب است با غلظت‌های مولی واکنش دهنده به توان ساده، به‌عنوان

مثال سرعت به طور مستقیم متناسب با غلظت واکنش دهنده‌های A و B است بنابراین داریم [۲۹]:

$$\text{سرعت واکنش} = k[A][B] \quad (2-2)$$

ضریب k را ثابت سرعت^۱ می‌نامند و بیانگر سرعت واکنش در غلظت‌های واحد از واکنشگرها

می‌باشد. مجموع توان‌های $[A]$ و $[B]$ در معادله $(2-2)$ درجه واکنش^۲ نامیده می‌شود. مرتبه یا درجه

واکنش یک پارامتر تجربی بوده و از نظر عددی می‌تواند برابر واحد، بزرگتر از واحد، کسری و یا صفر

باشد [۲۹].

^۱- Rate Constant

^۲- Reaction Order

برای اندازه‌گیری سرعت واکنش باید غلظت یک واکنش دهنده یا فرآورده را با زمان دنبال کرد. در روش شیمیایی چند ظرف با ترکیب یا مخلوط آغازی یکسان را در حمام با دمای ثابت جای می‌دهند و در فاصله‌های زمانی معین نمونه‌ها را از حمام در آورده و واکنش درون آنها را کند یا متوقف نموده و مخلوط را با سرعت تجزیه‌ی شیمیایی می‌کنند. روش‌های کند کردن می‌تواند سرد کردن، بیرون آوردن کاتالیزور، رقیق کردن زیاد مخلوط واکنش و یا افزودن گونه‌هایی باشند که با سرعت با یک واکنشگر ترکیب می‌شوند. نمونه‌های گازی را بیشتر با یک طیف سنج جرمی یا یک کروماتوگراف گازی اندازه‌گیری می‌کنند [۳۰].

روش‌های فیزیکی کمتر خسته کننده بوده و دقیق‌ترند، در این روش‌ها یک خاصیت فیزیکی سیستم در حال واکنش را به شکل تابعی از زمان اندازه می‌گیرند. این روش‌ها این امکان را فراهم می‌کنند که واکنش را همان گونه که پیش می‌رود، دنبال کنیم. برای یک واکنش گازی که با پیشرفت واکنش، مول‌ها در آن تغییر می‌کنند می‌توان فشار کل را اندازه‌گیری کرد (به شرط آنکه واکنش جانبی رخ ندهد) [۳۰].

برای یک واکنش در فاز مایع که تغییر حجم را می‌توان اندازه‌گیری نمود، V را می‌توان با انجام واکنش در یک انبساط سنج (ظرفی متصل به یک لوله‌ی مویی مدرج) دنبال کرد مانند واکنش‌های پلیمری شدن افزایشی در فاز مایع که با کاهش حجم زیادی همراهند. اگر یکی از گونه‌ها فعال نوری باشد می‌توان چرخش نوری را بررسی کرد. برای واکنش‌های یونی در محلول‌ها می‌توان اندازه‌گیری رسانایی الکتریکی را به صورت تابعی از زمان به کار برد [۳۰].

۲-۵-۱- تعیین درجات جزئی و ثابت سرعت واکنش

برای تعیین معادله سرعت یک سیستم معین، درجات جزئی واکنش نسبت به متغیرهای مؤثر در فرآیند بایستی مشخص شوند. به این منظور و با توجه به اینکه فرم انتگرالی یا فرم دیفرانسیلی معادله سرعت باید در نظر گرفته شود، می‌توان به ترتیب از روش‌های انتگرالی^۱ و روش‌های دیفرانسیلی^۲ (اندازه‌گیری سرعت اولیه^۳) استفاده کرد. روش‌های دیفرانسیلی بیشتر برای تعیین درجات جزئی به کار می‌روند. در حالی که روش‌های انتگرالی اغلب برای تعیین ثابت سرعت مورد استفاده قرار می‌گیرند [۲۹].

به‌طور تجربی، تعیین درجه جزء نسبت به یک گونه معین را می‌توان با تغییرات مناسب در غلظت آن جزء در حالی که غلظت گونه‌های حاضر دیگر ثابت (و از این رو به مقدار اضافی) می‌باشد، بدست آورد و رسم خاصیت اندازه‌گیری شده در زمان‌های مختلف و غلظت‌های مختلف بصورت یک تابعی از زمان و در نتیجه تعیین سرعت‌های اولیه (تانژانت‌های بخش‌های مستقیم اولیه) در حالت‌های مشتقی، با مقدار خاصیت اندازه‌گیری شده در بین فاصله‌های زمانی مختلف در روش‌های انتگرالی. در این روش فقط تغییر در پارامتر اندازه‌گیری شده، بعمل می‌آید که ناشی از واکنش دهنده‌ای است که غلظت آن تغییر داده می‌شود. لذا درجه سینتیکی مطابق با درجه جزء نسبت به آن واکنش دهنده تعیین می‌شود [۲۴].

۲-۵-۱-۱- روش‌های انتگرالی [۳۱]

تعیین درجه‌ی جزئی به وسیله‌ی روش‌های انتگرالی، شامل رسم فرم انتگرالی معادله سرعت برای یک درجه‌ی واکنش فرض شده قبلی است. به این صورت که ابتدا باید یک درجه حدسی را در

^۱- Integral Method

^۲- Differential Method

^۳- Initial Rate

نظر بگیریم و یک معادله‌ی فرضی انتگرالی برای واکنش نوشته بعد معادله سرعت را رسم کنیم. اگر منحنی به دست آمده با درجه فرضی با منحنی تجربی منطبق شد، واکنش از همان درجه فرض شده است در غیر این صورت درجه فرض شده درست نیست.

معادله سرعت انتگرال گیری شده برای یک واکنش درجه اول فرضی به صورت زیر است:

$$\ln [A]_t = \ln [A]_0 - k_A t \quad (3-2)$$

$[A]_t$ غلظت گونه در زمان t و $[A]_0$ غلظت اولیه گونه و k_A ثابت سرعت واکنش می‌باشد. اگر واکنش با دنبال کردن محصول (P)، به طریقه‌ی فتومتری پیگیری شود می‌توان نوشت:

$$\ln(D_X - D_t) = \ln D_X - k_A t \quad (4-2)$$

که $[A]_0 = [P]_X$ و $[A]_t = [P]_X - [P]_t$ بوده و $[P]$ و (D) جذب با یکدیگر متناسب هستند.

اگر منحنی حاصل از رسم $\ln(D_X - D_t)$ نسبت به زمان برای مقادیر مختلفی از $[A]_0$ به صورت خطوط مستقیم و موازی با یکدیگر باشند، در این صورت واکنش مورد نظر نسبت به A از درجه اول است.

معادله (۴-۲) محاسبه ثابت سرعت، k_A را بدون رسم گرافیکی امکان پذیر می‌سازد لذا با

جایگزین کردن \log به جای \ln داریم:

$$\log(D_X - D_t) = \log D_X - \frac{k_A t}{2.303} \quad (5-2)$$

$$k_A = \frac{2.303}{t} \log \frac{D_X}{D_X - D_t} \quad (6-2)$$

لذا با داشتن D_X و مقادیر D_t در چند فاصله زمانی روی منحنی سینتیکی و جایگزین کردن این مقادیر در عبارت فوق می‌توان متوسط مقدار k_A را محاسبه کرد. اگر ناپدید شدن گونه A نسبت به زمان، به جای تولید محصول P به‌طور فتومتری دنبال شود، در این صورت معادله (۳-۲) به صورت

زیر درمی آید:

$$\text{Log}D_t = \text{Log}D_0 - \frac{k_A t}{2.303} \text{Log} (\varepsilon_A l [A]_0) - \frac{k_A t}{2.303} \quad (7-2)$$

D_t و D_0 به ترتیب جذب‌های معادل با A_t و A_0 هستند، ε ضریب جذب مولی A و l طول مسیر سل فتومتری است. از معادله فوق می‌توان k_A را محاسبه کرد.

$$k_A = \frac{2.303}{t} \log \frac{D_0}{D_t} \quad (8-2)$$

مقایسه دو رابطه به دست آمده برای محاسبه k_A نشان می‌دهد که روش ثبت گونه A سریعتر و راحت‌تر می‌باشد. زیرا نیاز به داشتن D_x که به دست آوردن آن برای واکنش‌های کند وقت گیر است، نمی‌باشد. ساده‌ترین معادله سرعت برای واکنش‌های درجه دوم به صورت زیر است:

$$-\frac{d[A]}{dt} = k_A [A]^2 \quad (9-2)$$

با انتگرال گیری داریم:

$$\frac{1}{[A]_t} = \frac{1}{[A]_0} + k_A t \quad (10-2)$$

اگر گونه A به روش فتومتری اندازه‌گیری شود خواهیم داشت:

$$\frac{1}{D_t} = \frac{1}{D_0} + \frac{k_A t}{\varepsilon} \quad (11-2)$$

استفاده از این معادله و مراحل تجربی شبیه واکنش‌های درجه اول است.

۲-۵-۱-۲- روش دیفرانسیلی [۳۱]

برای یک واکنش با درجه جزئی n ، سرعت اولیه $(\tan \alpha)$ به وسیله معادله سرعت به غلظت ارتباط داده می‌شود:

$$\text{سرعت} = \tan \alpha = \frac{-d[A]}{dt} = k_A [A]^n \quad (12-2)$$

A گونه‌ای است که درجه جزئی واکنش نسبت به آن تعیین می‌شود و k_A ثابت سرعت واکنش شبه درجه n نسبت به A است. با گرفتن لگاریتم از طرفین فوق داریم:

$$\text{Log}(\tan \alpha) = \text{Log} k_A + n \text{Log} [A] \quad (13-2)$$

اگر $\text{Log}(\tan \alpha)$ را بر حسب $\text{Log}[A]$ رسم کنیم خط راستی به دست می‌آید. شیب خط برابر با n است و عرض از مبدا آن ثابت سرعت معادل آن را به دست می‌دهد.

۲-۶- کاتالیزور [۲۱]

افزایش دما یکی از راه‌های تسریع واکنش است. راه دیگر پیدا کردن روشی برای کاهش انرژی فعال سازی است. در این صورت در دمای یکسان کسر بزرگتری از مولکول‌ها قادر به عبور از سد انرژی فعال سازی می‌باشند. با این وجود، ارتفاع سد انرژی فعال سازی برای یک مسیر واکنش بخصوص، خارج از کنترل ما می‌باشد. این ارتفاع توسط ساختمان‌های الکترونی واکنش دهنده‌ها و ترتیب قرار گرفتن اتم‌ها در کمپلکس فعال تعیین می‌شود. به منظور تغییر یک سد فعال سازی، باید مسیر دیگری را برای واکنش فراهم کنیم (یعنی مکانیسم دیگری برای واکنش).

یک کاتالیزور، گونه‌ای است که سرعت واکنش را افزایش می‌دهد اما خودش در واکنش مصرف نمی‌شود. عملکرد کاتالیزور از طریق فراهم کردن یک مسیر واکنش جایگزین با انرژی فعال سازی کمتر است.

کاتالیزوری که با واکنش دهنده‌ها در یک فاز قرار دارد (به‌عنوان مثال در حلال مشابهی حل می‌شود)، یک کاتالیزور همگن نامیده می‌شود. کاتالیزوری که در فاز متفاوتی قرار دارد - معمولاً یک جامد که وارد واکنش فاز گازی می‌شود - یک کاتالیزور ناهمگن نامیده می‌شود. بسیاری از فرآیندهای

صنعتی از کاتالیزورهای ناهمگن استفاده می‌کنند که شامل پلاتین^۱، رودیم^۲، زئولیت^۳ ها و اکسیدهای فلزی مختلف می‌باشند.

یک اسید قوی می‌تواند به عنوان یک کاتالیزور همگن برای تعدادی از واکنش‌ها عمل کند و عملکرد آن اصول کلی کاتالیز را نشان می‌دهد، یعنی یک مسیر واکنش جدید فراهم می‌شود. به عنوان مثال، یک اسید قوی می‌تواند به یک گونه‌ی آلی پروتون بدهد و کاتیون حاصل (اسید مزدوج ترکیب آلی) ممکن است برای واکنش با واکنش دهنده دیگر دارای انرژی فعال سازی کمتری باشد. یک فلز برای واکنش‌های فاز گازی بخصوصی می‌تواند از طریق فراهم کردن سطحی که به آن سطح، یک واکنش دهنده از طریق جذب سطحی شیمیایی^۴ متصل می‌شود نقش کاتالیزور ناهمگن را بازی کند.

جذب سطحی شیمیایی یعنی تشکیل پیوندهای شیمیایی با یک سطح به‌عنوان مثال، مولکول‌های هیدروژن می‌توانند به‌عنوان اتم به سطح نیکل متصل شوند و این اتم‌ها در مقایسه با مولکول‌های هیدروژن با گونه‌های دیگر (مانند یک هیدروکربن سیر نشده) بسیار آسانتر واکنش می‌دهند. بنابراین، مرحله جذب سطحی شیمیایی منجر به مسیر واکنشی با انرژی فعال سازی کمتر در مقایسه با موقعی که کاتالیزور نداریم می‌شود.

طبیعت مدت‌ها قبل از اینکه شیمیدان‌ها با زحمت کاتالیزورها را درست کنند با کاتالیزورها به طور اتفاقی برخورد داشت.

کاتالیزورهای طبیعی مولکول‌های پروتئین هستند که آنزیم نامیده می‌شوند. علیرغم پیچیدگی این مولکول‌های بزرگ، شیوه اساسی عمل مشابه آن چیزی است که شرح داده‌ایم. آنزیم مسیر واکنشی با انرژی فعال سازی کم فراهم می‌کند و واکنشی را که باز کرده است تسریع می‌کند.

^۱ - Platin

^۲ - Rodium

^۳ - Zeolite

^۴ - Chemisorption

۲-۷- روش‌های اندازه‌گیری کاتالیزورها [۳۱]

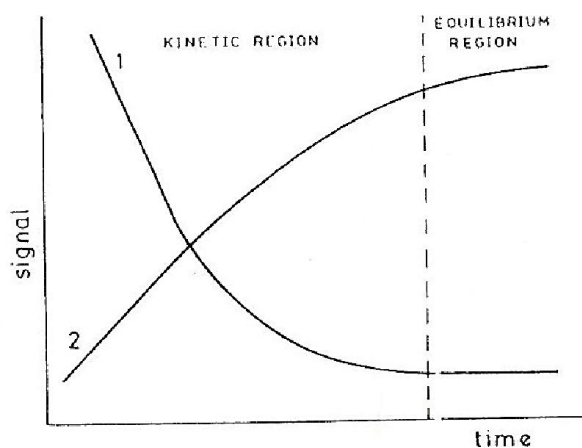
برای اندازه‌گیری یک کاتالیزور به روش سینتیکی باید تغییر خاصیت اندازه‌گیری شده به صورت تابعی از زمان رسم شود. این روش می‌تواند بصورت اتوماتیک یا نیمه اتوماتیک انجام پذیرد. این چنین منحنی در شکل (۱-۲) مشاهده می‌شود. منحنی‌های حاصل بسته به اینکه محصول واکنش یا واکنشگر اندازه‌گیری می‌شود ممکن است بالا رود یا پایین آید. سپس مقدار کاتالیزور با یک منحنی کالیبراسیون تعیین می‌شود.

روش‌های سینتیکی برحسب درجه سینتیکی واکنش شناساگر به صورت زیر طبقه‌بندی می‌-

شوند:

۱- روش‌های دیفرانسیلی یا شبه درجه صفر

۲- روش‌های انتگرالی یا شبه درجه اول و دوم



شکل (۱-۲) تغییر غلظت نسبت به زمان واکنش دهنده **R** و محصول **P** [۳۱]

با هر دو روش تکنیک‌های تانژانت^۱، زمان متغیر^۲ و زمان ثابت^۳ می‌توانند به کار روند. روش تانژانتی در نوع مشتقی به روش سرعت ابتدایی معروف است. در این طبقه بندی روش‌هایی که بر پایه‌ی اندازه‌گیری‌های سینتیکی یا اندازه‌گیری‌های دوره القائی هستند نیز قرار می‌گیرند (جدول ۲-۲).

برای واکنش‌های کاتالیز شده اغلب از روش‌های مشتقی و انتگرالی استفاده می‌شود که در زیر مورد بررسی قرار می‌گیرند:

برای واکنش کاتالیز شده زیر:



معادله سرعت به صورت زیر است:

$$\text{سرعت} = -\frac{d[A]}{dt} = k[A][C]_0 + k_1[A] \quad (۱۵-۲)$$

$$\text{سرعت} = -\frac{d[P]}{dt} = k([A]_0 - [P])[C]_0 + k_1([A]_0 - [P]) \quad (۱۶-۲)$$

$[A]_0$ غلظت ابتدایی A، $[P]$ غلظت محصول تشکیل شده و $[C]_0$ غلظت کاتالیزور می‌باشد. k و k_1 به ترتیب ثابت سرعت واکنش‌های کاتالیز شده و کاتالیز نشده است.

در هر مورد باید واکنش نسبت به واکنش دهنده‌ای که اندازه‌گیری می‌شود شبه درجه اول باشد، به دلیل اینکه غلظت کاتالیزور نباید در طی واکنش تغییر کند.

^۱ - Tangent

^۲ - Variable Time

^۳ - Fixed Time

جدول (۲-۲) روش‌های اندازه‌گیری [۲۷]

روش‌های دیفرانسیلی
-سرعت ابتدایی
- زمان ثابت
- زمان متغیر

روش‌های انتگرالی
-تانژانسی
- زمان ثابت
- زمان متغیر

۲-۷-۱- روش‌های دیفرانسیلی

این روش‌ها شامل واکنش‌های شبه درجه صفر هستند و اندازه‌گیری‌ها در شروع فرآیند، یعنی زمانی که تغییرات غلظت مواد اولیه یا محصولات واقعا قابل نظر کردن هستند، انجام می‌شود [۳۱].

۲-۷-۱-۱- روش سرعت ابتدائی [۳۱]

اگر اندازه‌گیری‌ها در ابتدای واکنش انجام شوند، $[P]$ در مقایسه با $[A]_0$ در رابطه (۲-۱۶) ناچیز خواهد بود. لذا:

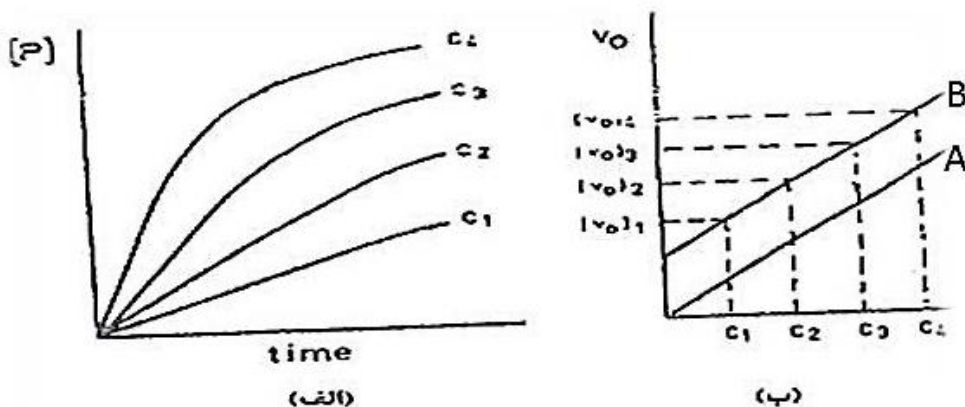
$$\Delta[P] = (k[A]_0[C]_0 + k_1[A]_0)\Delta t = k[C]_0\Delta t + k'_1\Delta t \quad (۲-۱۷)$$

تغییر غلظت P برای خاصیت اندازه‌گیری شده، به صورت تابعی از زمان یک خط راست می‌باشد
(شکل ۲-۲-الف):

$$V_0 = \frac{d[P]}{dt} = \tan\alpha = \frac{\Delta[P]}{\Delta t} = k'_1 + k[C]_0 \quad (2-18)$$

بنابراین نمودار حاصل از رسم V_0 به صورت تابعی از غلظت کاتالیزور $[C]_0$ برای محلول‌هایی با غلظت مشخص از کاتالیزور، خطوط مستقیمی با عرض از مبدأ صفر یا غیر صفر خواهد بود (شکل ۲-۲-ب).

منحنی A برای حالت خاصی است که واکنش در غیاب کاتالیزور انجام نمی‌شود و منحنی B برای حالتی است که واکنش در غیاب کاتالیزور نیز پیش می‌رود.



شکل (۲-۲) روش سرعت ابتدایی [۳۱]

اشکال مهمی که بر این روش می‌توان گرفت اندازه‌گیری شیب ابتدایی است که باعث بروز خطاهای ذاتی در هر روش گرافیکی می‌شود. این مشکل به وسیله‌ی میکرو کامپیوترهای موجود رفع می‌گردد به طوری که شیب منحنی را به طور مستقیم در یک روش خیلی دقیق به ما می‌دهد.

و اما مزیت‌های این روش :

۱- چون مقدار محصول تولید شده در حین اندازه‌گیری کم است واکنش برگشت اتفاق نمی‌افتد، بنابراین نیاز به اصلاح سرعت کلی واکنش نیست.

۲- پیچیدگی‌های ناشی از واکنش‌های جانبی احتمالی کمتر است.

۳- غلظت واکنشگر خیلی کم تغییر می‌کند و واکنش از سینتیک شبه درجه صفر پیروی می‌کند.

۴- برای واکنش‌هایی که سرعتشان در این محدوده قابل استفاده است اندازه‌گیری سرعت اولیه دقیق‌تر از اندازه‌گیری سرعت در زمان‌های طولانی است. زیرا سرعت در شروع واکنش بیشتر است بنابراین نسبت علامت به نوفه^۱ بهتر می‌شود. در نتیجه از این روش برای واکنش‌هایی که دارای ثابت های تشکیل کوچک هستند و برای واکنش‌های تعادلی مناسب نیستند استفاده می‌شود.

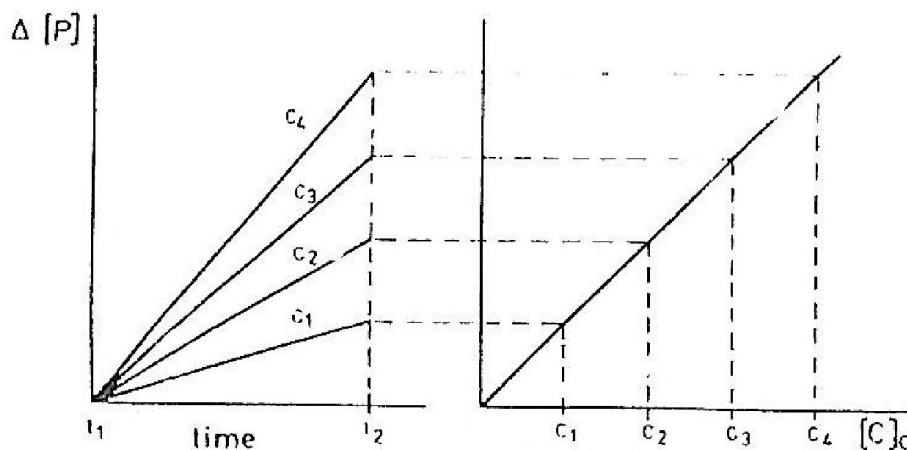
۲-۷-۱-۲- روش زمان ثابت [۳۱]

طبق این روش اندازه‌گیری غلظت یک واکنش دهنده یا یک محصول در یک زمان از قبل تعیین شده بعد از شروع واکنش صورت می‌گیرد. در این صورت معادله (۲-۱۷) به صورت زیر نوشته می‌شود:

$$\Delta[P] = (k_1[C]_0 + k_1')\Delta t = k_1[C]_0\Delta t + k_1'\Delta t \quad (2-19)$$

اگر Δt ثابت بود تغییر غلظت کاتالیزور با تغییر غلظت محصول واکنش شناساگر رابطه مستقیم دارد.

^۱- Signal to Noise



شکل (۳-۲) روش زمان ثابت [۳۱]

طبق نظریه‌ی اینگل و کروچ^۱ در واکنش‌های برگشت پذیر نیز $[P]$ و $[C]_0$ متناسب هستند و روش زمان ثابت از نظر عملی برای واکنش‌های شبه درجه یک ترجیح داده می‌شود [۳۳].

۳-۱-۷-۲- روش زمان متغیر [۳۱]

این روش به روش غلظت ثابت نیز معروف است. این تکنیک مستلزم اندازه‌گیری زمان لازم جهت حصول یک تغییر از پیش تعیین شده در محلول می‌باشد. برای این تکنیک معادله (۲-۱۹) به صورت زیر نوشته می‌شود:

$$\frac{1}{\Delta t} = \frac{k'[C]_0 + k'_1}{\Delta p} \quad (۲-۲۰)$$

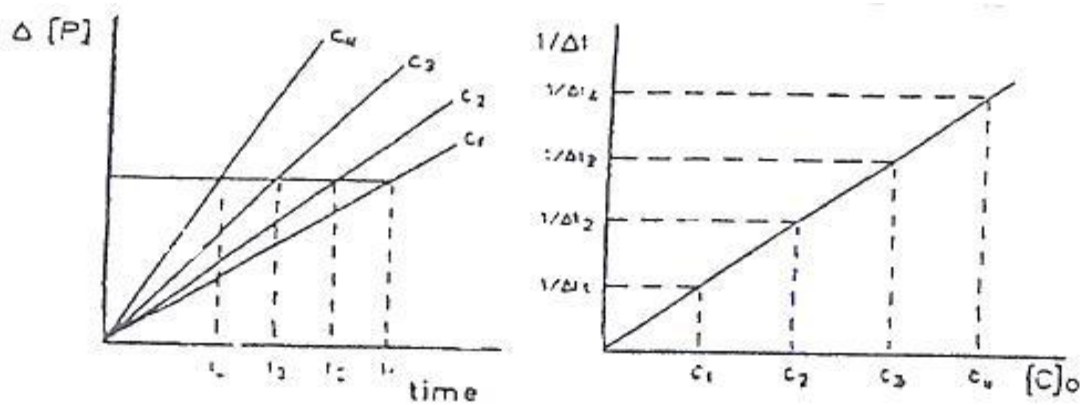
چون $\Delta[P]$ ثابت است، رسم منحنی $\frac{1}{\Delta t}$ در برابر $[C]_0$ یک خط راست مستقیم با شیب $\frac{k'}{\Delta P}$ و عرض از مبدأ $\frac{k'_1}{\Delta P}$ است. کاربرد این روش در شکل (۲-۴) نشان داده شده است. اگر سرعت واکنش غیر کاتالیزوری ناچیز باشد ($k'_1=0$) در این صورت رابطه (۲-۲۰) به صورت زیر نوشته می‌شود:

$$\frac{1}{\Delta t} = k''[C]_0, \quad k'' = \frac{k'}{\Delta[P]} \quad (۲-۲۱)$$

^۱-Ingle and Croush

که در این صورت از مبدأ منحنی حاصل برابر صفر خواهد بود.

در عمل برای رسم منحنی کالیبراسیون حد معینی برای پارامتر مورد اندازه‌گیری (مثلاً جذب) در نظر گرفته می‌شود. سپس زمان‌های لازم برای رسیدن به چنین حدی برای یک سری از نمونه‌ها با غلظت‌های معین از کاتالیزور اندازه‌گیری می‌شود. از رسم $\frac{1}{\Delta t}$ در مقابل غلظت کاتالیزور منحنی کالیبراسیون به دست می‌آید.



شکل (۲-۴) روش زمان متغیر [۳۱]

۲-۷-۲- روش‌های انتگرالی [۳۱]

وقتی که ممکن نیست از $[P]$ در مقابل $[A]_0$ در معادله (۲-۱۶) صرف نظر کرد، با انتگرال‌گیری از این معادله در فاصله‌ی زمانی Δt و در محدوده $[A]_1$ تا $[A]_2$ خواهیم داشت:

$$\ln\left(\frac{[A]_1}{[A]_2}\right) = (k[C]_0 + k_1)(t_2 - t_1) \quad (۲۲-۲)$$

$[A]_1$ و $[A]_2$ به ترتیب غلظت‌های A در زمان‌های t_1 و t_2 هستند با فرض اینکه $t_1 = 0$ باشد

خواهیم داشت:

$$\text{Ln} \frac{[A]_0}{[A]_0 - [P]} = (k[C]_0 + k)t \quad (23-2)$$

وقتی که سرعت واکنش از طریق یکی از واکنشگرها اندازه‌گیری می‌شود، t_1 می‌تواند مخالف صفر باشد، در حالی که اگر گونه‌ی مورد اندازه‌گیری محصول باشد، در این صورت $t_1=0$ بوده و معادله (23-2) را می‌توان مورد استفاده قرار داد. این معادلات اصول روش‌های تانژانت، زمان ثابت و زمان متغیر هستند که شرح داده خواهند شد.

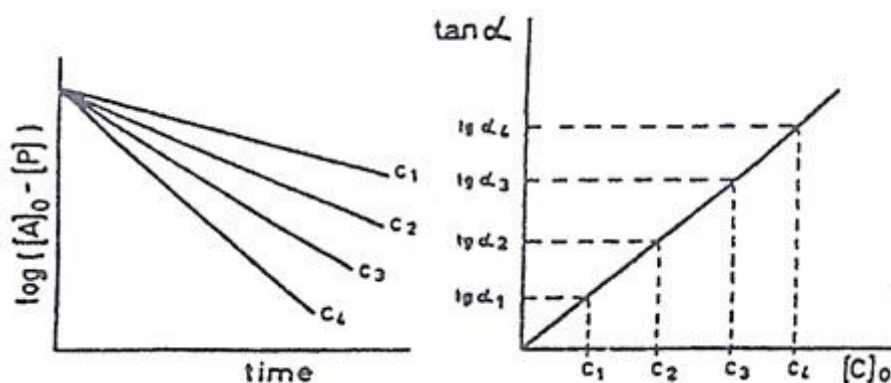
۲-۷-۱-۲- روش تانژانت [۳۱]

از معادله (23-2) می‌توان رابطه زیر را به دست آورد:

$$\text{Log}([A]_0 - [P]) = \text{Log}[A]_0 - \left[\frac{1}{2.303} \right] (k[C]_0 + k_1)t \quad (24-2)$$

شیب منحنی‌های $\text{Log}([A]_0 - [P])$ در مقابل زمان خط مستقیمی خواهد بود، با شیبی که تابعی از غلظت کاتالیزور و عرض از مبدأئی که ثابت خواهد بود، می‌باشد. بنابراین با رسم شیب این خطوط در برابر غلظت کاتالیزور می‌توان منحنی کالیبراسیون را به دست آورد.

در عمل می‌توان $\text{Log}[p]$ (یا لگاریتم جذب) را به صورت تابعی از زمان رسم کرد، که نتیجه‌ی آن یک سری خطوط مستقیم با شیب‌های مثبت است که از آنها می‌توان در رسم منحنی کالیبراسیون استفاده کرد. این روش موقعی صحیح است که در هر آزمایش $[A]_0$ ثابت باقی بماند.



شکل (۵-۲) روش تانژانتی [۳۱]

۲-۲-۷-۲- روش زمان ثابت [۳۱]

از معادله (۲۲-۲) و با فرض اینکه Δt مقدار ثابتی است داریم:

$$\ln \frac{[A]_1}{[A]_2} = \Delta(\ln[A]) = k'[C]_0 + k'_1 \quad (۲۵-۲)$$

که $k' = k\Delta t$ و $k'_1 = k_1\Delta t$ است. با رسم منحنی $\Delta(\ln[A])$ در مقابل $[C]_0$ در مقدار ثابتی از $[A]_0$

منحنی کالیبراسیون به دست می‌آید.

اگر واکنش به جای از بین رفتن A توسط اطلاعات مربوط به محصول واکنش (P) دنبال شود و

اگر $t_1 = 0$ آنگاه $[A]_1 = [A]_0$ و $[A]_2 = [A]_0 - [P]$ بوده و:

$$\ln \frac{[A]_0}{[A]_0 - [P]} = k'[C]_0 + k'_1 \quad (۲۶-۲)$$

با رسم منحنی $\ln \frac{[A]_0}{[A]_0 - [P]}$ در مقابل غلظت کاتالیزور می‌توان منحنی درجه بندی را به دست

آورد.

۲-۷-۳-۲-۳- روش زمان متغیر [۳۱]

با فرض اینکه ΔA ثابت باشد از معادله (۲-۲۲) نتیجه می‌شود:

$$\frac{1}{\Delta t} = k''[C]_0 + k''_1 \quad (۲-۲۷)$$

که در آن $k''_1 = \frac{k_1}{\Delta(\ln[A])}$ و $k'' = \frac{k}{\Delta(\ln[A])}$ است. این معادله زمانی که هم واکنش دهنده اندازه‌گیری می‌شود و هم زمانی که محصول اندازه‌گیری می‌شود، معتبر است. اغلب منحنی کالیبراسیون با رسم $\frac{1}{\Delta t}$ به عنوان تابعی از غلظت‌های استاندارد کاتالیزور به دست می‌آید. نشان داده شده است که خطای اندازه‌گیری کاتالیزور وقتی کمترین مقدار است که نسبت $\frac{[A]_1}{[A]_2}$ در معادله (۲-۲۲) برابر e باشد.

$$\frac{1}{t} = k[C] + k_1 \quad (۲-۲۸)$$

در این رابطه t_e زمان مورد نیاز است تا اینکه $\frac{[A]_1}{[A]_2}$ برابر با e گردد. رابطه فوق در این حالت اساس اندازه‌گیری‌های کاتالیزور است.

۲-۷-۳- سینتیک شیمیایی تجربی

اولین مرحله در بررسی سرعت و مکانیسم یک واکنش، تعیین استوکیومتری کلی واکنش و شناسایی هر گونه واکنش جانبی است. مرحله بعد تعیین چگونگی تغییر غلظت واکنش دهنده‌ها و محصولات با زمان بعد از شروع واکنش است. چون سرعت واکنش‌های شیمیایی نسبت به دما حساس است، لذا دمای مخلوط واکنش در طول انجام واکنش باید ثابت نگاه داشته شود، در غیر این صورت سرعت مشاهده شده یک میانگین بی‌معنی از سرعت‌ها برای دماهای مختلف است [۲۱].

۲-۷-۳-۱- تکنیک‌های تجربی (اسپکتروفتومتری) [۲۱]

اندازه‌گیری شدت جذب در یک ناحیه طیفی ویژه، به طور گسترده برای تعیین غلظت استفاده می‌شود. بخصوص هنگامی روش اسپکتروفتومتری مفید است که یکی از مواد موجود در مخلوط واکنش دارای جذب مشخصه قوی در ناحیه قابل دسترس طیف است. اگر واکنشی تعداد یا نوع یون‌های موجود در محلول را تغییر دهد، در این صورت تغییر غلظت‌ها را می‌توان با اندازه‌گیری هدایت محلول تعقیب کرد. واکنش‌هایی که غلظت یون‌های هیدروژن را تغییر می‌دهند توسط اندازه‌گیری pH محلول با الکتروود شیشه‌ای قابل مطالعه هستند. سایر روش‌های تعیین ترکیب مخلوط واکنش عبارتند از: تشخیص فلئورسانس، فسفرسانس، تیتراسیون، طیف‌سنجی جرمی، کروماتوگرافی گاز و رزونانس مغناطیسی (EPR و NMR). گاهی اوقات، چرخش نوری (مشاهده فعالیت نوری مخلوط واکنش) را نیز می‌توان به کاربرد.

۲-۷-۳-۲- کاربرد تکنیک‌ها [۲۱]

۱- تجزیه زمان حقیقی^۱: در این تکنیک ترکیب سیستم در حالی تجزیه می‌شود که واکنش توسط مشاهده طیف بینی مستقیم مخلوط واکنش در حال پیشرفت است. در روش خاموشی، بعد از اینکه به واکنش اجازه داده شد تا برای زمان معینی پیشرفت کند و ترکیب در فرصت کافی تجزیه شد واکنش متوقف می‌شود. با سرد کردن ناگهانی یا با اضافه کردن مخلوط به حجم بزرگی از حلال یا توسط خنثی شدن سریع واکنشگر اسیدی به خاموشی (کل مخلوط یا نمونه‌ای که از مخلوط برداشته می‌شود) می‌رسیم. این روش فقط برای واکنش‌هایی مناسب است که به اندازه کافی آهسته هستند به طوری که در خلال زمانی که صرف خاموشی مخلوط می‌شود واکنش کمی انجام می‌شود.

۲- روش جاری: در این روش هنگامی که واکنش دهنده‌ها جریان پیدا می‌کنند در محفظه

^۱- Real time analysis

اختلاط^۱ مخلوط می‌شوند، هنگامی که محلول‌هایی که کاملاً مخلوط شده‌اند از طریق یک لوله خروجی مویینه با سرعت 10 ms^{-1} جریان می‌یابند واکنش ادامه پیدا می‌کند و نقاط مختلف در طول لوله با زمان‌های مختلف بعد از شروع واکنش متناسب است. تعیین ترکیب مخلوط در موقعیت‌های مختلف در طول لوله به روش اسپکتروفتومتری با تعیین ترکیب مخلوط واکنش در زمان‌های مختلف بعد از مخلوط شدن معادل است. این روش در اصل در ارتباط با مطالعه سرعت ترکیب اکسیژن با هموگلوبین توسعه یافت.

در این تکنیک، حجم زیاد محلول واکنش دهنده ضروری است که عیب این تکنیک محسوب می‌شود. چون مخلوط باید به طور پیوسته از طریق دستگاه جریان یابد، به همین دلیل حجم زیاد محلول واکنش دهنده لازم است.

تکنیک جریان ایستا^۲: عیب روش قبلی را ندارد. در این تکنیک دو محلول سریعاً با همدیگر (در کمتر از یک میلی‌ثانیه) مخلوط می‌شوند. عمل مخلوط شدن از طریق تزریق آن‌ها به یک محفظه اختلاط انجام می‌شود. محفظه اختلاط طوری طراحی می‌شود که جریان حتماً به صورت آشفته^۳ باشد و مخلوط شدن کامل بسیار سریع اتفاق بیفتد. این تکنیک در مقایسه با روش جاری بسیار اقتصادی‌تر است. مناسب بودن تکنیک جریان ایستا برای مطالعه‌ی نمونه‌های کوچک به این معنی است که برای واکنش‌های بیوشیمیایی مناسب است و به صورت گسترده برای مطالعه‌ی سینتیک عملکرد آنزیم‌ها استفاده می‌شود.

تکنیک‌های جدید، اندازه‌گیری اسپکتروفتومتری را در طول موج 200 nm در فواصل یک میلی ثانیه انجام می‌دهند.

^۱- Mixing chamber

^۲- Stopped-flow

^۳- Turbulent

فوتولیز جرقه‌ای^۱: در این تکنیک نمونه گازی یا مایع در معرض درخشش کوتاه فوتولیتیک با فعال‌کننده نوری یا تابش ماوراء بنفش قرار می‌گیرد و بعد محتویات محفظه واکنش به روش اسپکتروفتومتری تعیین می‌شوند. به طور متداول می‌توان از لیزرها برای تولید درخشش‌های نانو ثانیه، پیکوثانیه، و در بعضی موارد خاص از درخشش‌های فمتوثانیه استفاده کرد. هر دو نوع طیف‌بینی نشری یا جذبی برای تعیین واکنش استفاده می‌شوند و در یک سری از زمان‌ها بعد از درخشش، طیف‌ها به صورت الکترونیکی گزارش می‌شوند.

تکنیک آسایش^۲: در ابتدا مخلوط واکنش در حال تعادل است، اما بعداً بر اثر تغییر سریع شرایط مانند افزایش ناگهانی در دما (جهش دما) یا فشار (جهش فشار) دچار اختلال می‌شود. ترکیب تعادلی قبل از به کار بردن اختلال، حالت اولیه برای بازگشت سیستم به ترکیب تعادلی در دما یا فشار جدید است و بازگشت به تعادل - آسایش سیستم - به روش طیف‌بینی تعیین می‌شود.

۲-۷-۴- روش‌های اندازه‌گیری بر پایه تغییر سرعت واکنش‌های کاتالیز شده در

محلول [۳۳]

مهم‌ترین کاربرد روش‌های تجزیه‌ای بر پایه تغییر سرعت واکنش‌های کاتالیز شده در اندازه-گیری گونه‌های آلی است که امکان دستیابی به حد تشخیص‌های پایین و حساسیت‌های بالا را در روش‌های کاتالیزوری برای گونه‌هایی که معمولاً از نظر شیمیایی غیر کاتالیزوری اند فراهم می‌سازد.

تأثیر گونه‌های مختلف در تغییر اثرات کاتالیزوری و استفاده تجزیه‌ای آن‌ها به ویژه در مورد سیستم‌های کاتالیز شده با یون‌های فلزی مورد توجه قرار گرفته است.

^۱- Flash photolysis

^۲- Relaxation technique

روش‌های تجزیه‌ای مبتنی بر تغییر سرعت واکنش‌ها براساس دو پدیده متضاد زیر هستند:

۱- بازداری

۲- فعال‌سازی

هرکدام از این پدیده‌ها می‌توانند برای اندازه‌گیری گونه تغییر دهنده سرعت یا در بعضی موارد برای افزایش حساسیت برای اندازه‌گیری خود کاتالیزور فلزی به کار روند.

۲-۷-۴-۱- بازداری

بازدارنده‌ها گونه‌های شیمیایی هستند که با کاتالیزور ترکیب می‌شوند تا برخی از انواع کمپلکس‌ها را تشکیل دهند. این کمپلکس‌ها می‌توانند اثر کاتالیزوری کمتری نسبت به یون فلزی آزاد اعمال نمایند (بازداری جزئی) یا با تشکیل کمپلکس، کاتالیزور را کاملاً غیر فعال سازند (بازداری کامل). در هر دو حالت تأثیر بر روی سرعت واکنش متناسب با غلظت بازدارنده است و می‌تواند برای اندازه‌گیری آن به کار رود.

روشی که معمولاً برای نشان دادن کاهش سرعت واکنش در سیستم‌هایی که حاوی مقادیر ثابتی از کاتالیزور هستند به کار می‌رود شامل اضافه کردن مقادیری از بازدارنده‌ها برای به دست آوردن منحنی‌های کالیبراسیون از طریق روش سرعت اولیه یا روش تانژانت می‌باشد. این روش حد تشخیص نسبتاً خوبی دارد اما دامنه خطی غلظت‌های قابل اندازه‌گیری محدود است.

۲-۷-۴-۲- فعال‌سازی

فعال‌سازی یک اصلاح اثر کاتالیزوری است که از دیدگاه تجزیه‌ای باعث حساسیت بهتر و حد تشخیص پایین‌تر در یک اندازه‌گیری کاتالیزوری می‌شود. در کاتالیز هموزن یک فعال‌کننده به صورت یک گونه شیمیایی تعریف می‌شود که واکنش شیمیایی را کاتالیز نمی‌کند ولی حضورش باعث افزایش

قابل توجهی در سرعت واکنش می‌شود. فعال کننده‌ها بسته به نقش کاتالیزور، برهمکنش فعال کننده با کاتالیزور و مرحله‌ای از واکنش که به واسطه حضور فعال کننده متأثر می‌شود به سه گروه طبقه بندی می‌شود:

۱- فعال کننده‌هایی که بر روی برهمکنش کاتالیزور- واکنشگر مؤثرند.

۲- فعال کننده‌هایی که در تولید دوباره کاتالیزور شرکت می‌کنند.

۳- فعال کننده‌هایی که به طور غیر مستقیم در فرآیندهای کاتالیزوری اثر می‌گذارند.

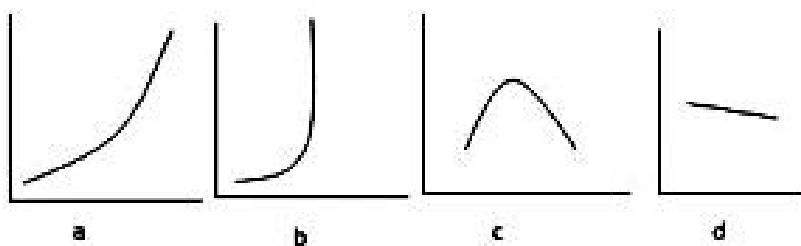
۲-۸- عوامل مؤثر بر سرعت واکنش‌ها [۳۱]

۲-۸-۱- اثر دما

اثر دما بر سرعت واکنش‌ها و یا ثابت‌های سرعت واکنش‌های مختلف، متفاوت می‌باشد (شکل ۲-۶). منحنی a نشان دهنده وابستگی دمایی آرنیوس^۱ سرعت واکنش می‌باشد. این مورد از معمولی‌ترین موارد می‌باشد و مورد بحث قرار می‌گیرد.

منحنی b در واکنش‌های انفجاری، منحنی c در واکنش‌هایی از قبیل هیدروژناسیون کاتالیتیکی و واکنش‌های آنزیمی و منحنی d در واکنش‌های NO با O₂ مشاهده می‌شود. منحنی‌های b تا d وابستگی دمایی غیر آرنیوسی را نشان می‌دهند و بیانگر مکانیزم‌های چند مرحله‌ای یا مکانیزم‌هایی که با افزایش دما تغییر می‌کند می‌باشند (محور افقی دما و محور عمودی سرعت واکنش را نشان می‌دهد).

^۱- Arrhenius



شکل (۶-۲) اثر دما بر سرعت واکنش در واکنش‌های مختلف

در حالت عمومی (منحنی a) سرعت واکنش به ازای هر ۱۰ درجه سانتی‌گراد افزایش دما، ۲ تا ۳ برابر افزایش می‌یابد. نتایج تجربی نشان می‌دهند که سرعت واکنش به طور تابعی از دما توسط رابطه آرنیوس بیان می‌شود:

$$\frac{d \ln k}{dt} = \frac{E_a}{RT^2} \quad (۲۹-۲)$$

$$k = A e^{-E_a/RT} \quad (۳۰-۲)$$

که در آن R ثابت گازها، k ثابت سرعت و E_a انرژی اکتیواسیون (فعال سازی) و A فاکتور نمایی یا فاکتور فرکانس (شامل فاکتورهای فضایی و تعداد کل برخوردها) می‌باشد. با لگاریتم‌گیری از رابطه بالا خواهیم داشت:

$$\text{Log}k = \text{Log}A - \frac{E_a}{2.303RT} \quad (۳۱-۲)$$

با رسم $\text{Log}k$ بر حسب $\frac{1}{T}$ می‌توان مقادیر E_a و A را به دست آورد.

بنابراین واکنش‌های خیلی سریع را می‌توان با سرد کردن کند نمود تا اندازه‌گیری به روش‌های شیمیایی و فیزیکی امکان پذیر گردد. واکنش‌های کند را نیز می‌توان با افزایش درجه حرارت تسریع نمود. از این رفتار می‌توان بطور سینتیکی برای تفکیک مخلوط چند گونه استفاده کرد.

۲-۸-۲- اثر غلظت واکنشگرها

سرعت واکنش در واقع متناسب است با غلظت هر کدام از مواد شرکت کننده در واکنش که فعال سینتیکی^۱ هستند. گونه‌ی فعال سینتیکی ماده‌ای است که در اثر تغییر غلظت آن، سرعت واکنش تغییر می‌کند. واکنش‌های با ثابت سرعت بسیار بزرگ را با بکارگیری غلظت کوچکی از واکنش دهنده‌گان می‌توان به سهولت اندازه‌گیری کرد به شرطی که روش حساسی برای اندازه‌گیری تغییرات کوچک غلظت وجود داشته باشد. از طرف دیگر در مورد واکنش‌های کند با بکارگیری غلظت زیادی از گونه‌های واکنش دهنده می‌توان واکنش را تسریع نمود، اگرچه تغییرات ضریب فعالیت مربوط به غلظت زیاد واکنش دهنده‌گان ممکن است در محاسبه غلظت اولیه مشکلاتی ایجاد نماید.

۲-۸-۳- اثر حلال

سرعت یک واکنش شیمیایی می‌تواند با تغییر حلال مورد استفاده یا تغییر غلظت همان حلال، تغییر کند.

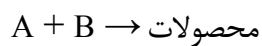
تغییر ثابت دی‌الکتریک حلال به صورت زیر بر سرعت واکنش‌ها مؤثر است:

- ۱- با افزایش ثابت دی‌الکتریک حلال، سرعت واکنش بین دو یون با بار مشابه افزایش می‌یابد.
- ۲- با افزایش ثابت دی‌الکتریک حلال، سرعت واکنش بین دو یون با بار مخالف کاهش می‌یابد.
- ۳- سرعت واکنش بین دو گونه خنثی که تولید کمپلکس‌های فعال شده با قطبیت زیاد می‌کنند با افزایش ثابت دی‌الکتریک حلال، افزایش می‌یابد.
- ۴- سرعت واکنش بین یک یون و یک ترکیب خنثی که تولید کمپلکس فعال شده با قطبیت معینی بکند، با تغییر ثابت دی‌الکتریک حلال تغییر محسوسی نمی‌کند.

^۱ - Kinetically active

۲-۸-۴- اثر قدرت یونی^۱

تغییر ثابت‌های سرعت واکنش در مورد واکنش بین یون‌ها، با تغییر قدرت یونی همانند وابستگی ثابت تعادل به قدرت یونی است. واکنش زیر را در نظر می‌گیریم:



در حلال آب در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد می‌توان نوشت:

$$\text{Log}k = \text{Log}k_0 + 1.02Z_A Z_B I^2 \quad (۳۲-۲)$$

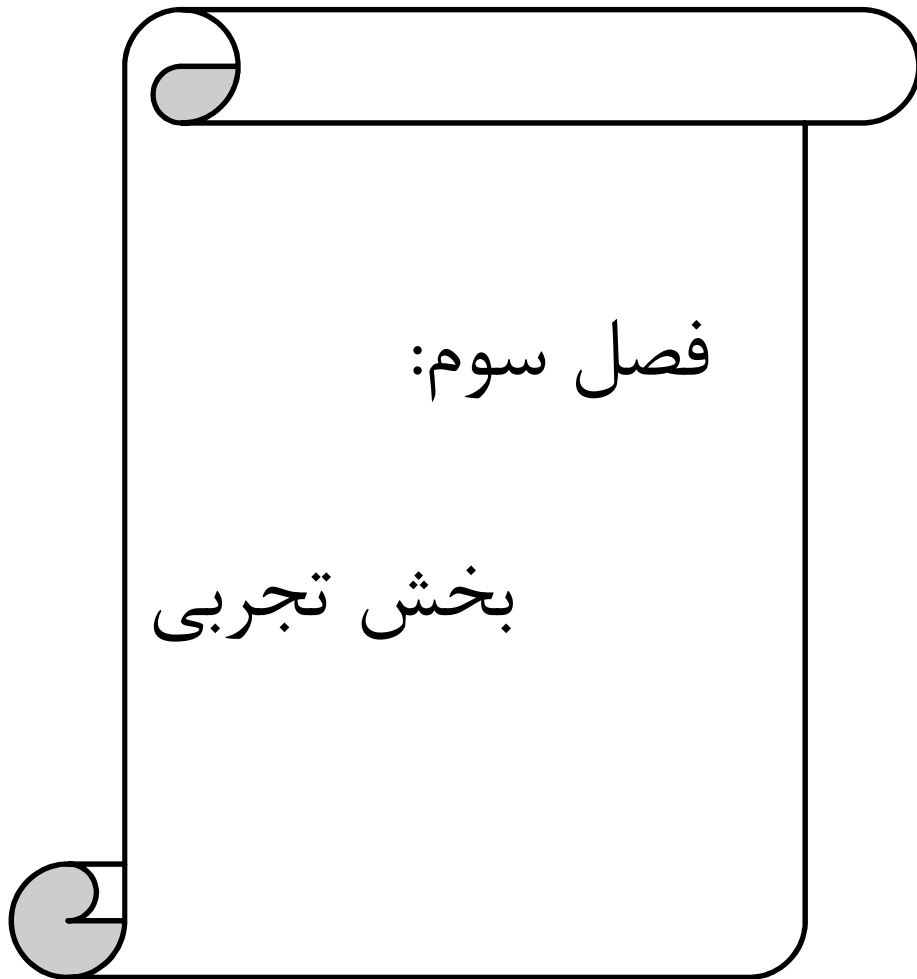
که در آن Z_A و Z_B به ترتیب بار گونه‌های A و B و I قدرت یونی است که به صورت زیر تعریف می‌شود:

$$I = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n C_i Z_i^2 \quad (۳۳-۲)$$

C_i و Z_i به ترتیب غلظت مولار و بار یون i است.

با توجه به معادله (۳۲-۲) با افزایش قدرت یونی، سرعت واکنش بین دو یون با علامت یکسان افزایش می‌یابد و بین دو یون با علامت مخالف کاهش می‌یابد. و در مورد واکنش‌هایی که یکی از ذرات بدون بار باشند، تغییر نخواهد کرد [۲۴].

^۱- Ionic Strength



۱-۳- اندازه‌گیری سینتیکی - اسپکتروفتومتری پیروکسیکام با استفاده از اثر

بازداری آن بر واکنش پریدات با متیل رد

۱-۱-۳- مواد شیمیایی مورد نیاز

مواد مورد استفاده در این پروژه به جز پیروکسیکام همگی محصول شرکت مرک^۱ بوده و دارای خلوص تجزیه‌ای هستند. مواد شیمیایی مورد استفاده همراه با فرمول شیمیایی آن‌ها در جدول (۱-۳) آمده است.

جدول (۱-۳) مواد شیمیایی مورد استفاده

ماده	فرمول	محصول شرکت
پیروکسیکام	$C_{15}H_{13}N_3O_4S$	شرکت دارو سازی البرز
هیدروکلریک اسید	HCl	مرک
متیل رد ^۲	$C_{15}H_{15}N_3O_2$	مرک
پتاسیم برمید	KBr	مرک
سدیم پریدات	$NaIO_4$	مرک

^۱- Merck

^۲- Methyl Red

۳-۱-۲- تهیه‌ی محلول‌های مورد استفاده

محلول مادر ($10^{-3} \times 1/0.0$) مولار پیروکسیکام از انحلال ۰/۰۱۶۶ گرم از پیروکسیکام خالص در ۴/۵ میلی‌لیتر از هیدروکلریک اسید غلیظ و تجاری تهیه شد و در بالن حجمی ۵۰ میلی‌لیتری با آب مقطر رقیق شد. محلول‌های رقیق‌تر روزانه از محلول مادر تهیه شدند.

محلول هیدروکلریک اسید با غلظت ۱/۸۰ مولار از رقیق کردن ۱۴/۹ میلی‌لیتر از هیدروکلریک اسید غلیظ و تجاری در بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری تهیه و با سدیم کربنات استاندارد شد.

محلول متیل رد $10^{-4} \times 1/78$ مولار از انحلال ۰/۰۱۲۲ گرم از این ماده در مقداری اتانول (مرک) و سپس قرار دادن آن به مدت پنج دقیقه در حمام التراسونیک و نهایتاً رقیق کردن با اتانول (مرک) در بالن حجمی ۲۵۰ میلی‌لیتری تهیه شد.

محلول ۰/۰۰۵۰ مولار پتاسیم برمید، از حل کردن ۰/۰۵۹۴ گرم از نمک پتاسیم برمید در آب مقطر در بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری تهیه شد.

محلول سدیم پریدات ۰/۰۱۰ مولار از حل کردن ۰/۲۱۴۲ گرم از سدیم پریدات در آب مقطر در بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری تهیه شد.

۳-۱-۳- دستگاه‌های مورد استفاده

برای ثبت طیف‌های مرئی- ماوراء بنفش از یک دستگاه اسپکتروفتومتر شیمادزو^۱ مدل UV-160 مجهز به یک جفت سل شیشه‌ای استفاده شد. برای اندازه‌گیری جذب در یک طول موج ثابت از یک دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (SPECTRONIC 20D⁺) با یک سل شیشه‌ای استفاده گردید و جهت ثابت ماندن دما از یک حمام آب ترموستات‌دار -n - بیوتک^۲ مدل (NB-۳۰۱) استفاده شد. برای ثبت زمان واکنش نیز یک کرومومتر به کار برده شد.

۳-۱-۴- سیستم شیمیایی مورد استفاده

برای تعیین مقدار پیروکسیکام، از اثر بازداري آن بر واکنش متیل رد با پیریدات در حضور یون برمید در محیط اسیدی استفاده شد. در محیط واکنش، یون برمید با پیریدات اکسید می‌شود و تولید برم می‌کند (واکنش (۴-۱))، برم تولید شده با متیل رد واکنش کرده و آن را بی‌رنگ می‌کند (واکنش (۴-۲))، بررسی‌ها نشان داد که در حضور پیروکسیکام سرعت بی‌رنگ شدن متیل رد کاهش می‌یابد [۲۹]. بررسی‌های بیشتر نشان داد که با افزایش غلظت پیروکسیکام، سرعت بی‌رنگ شدن متیل رد کمتر می‌شود. بنابراین میزان کاهش سرعت بی‌رنگ شدن متیل رد متناسب با غلظت پیروکسیکام می‌باشد که به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در نظر گرفته شد.

۳-۱-۵- رسم طیف جذبی

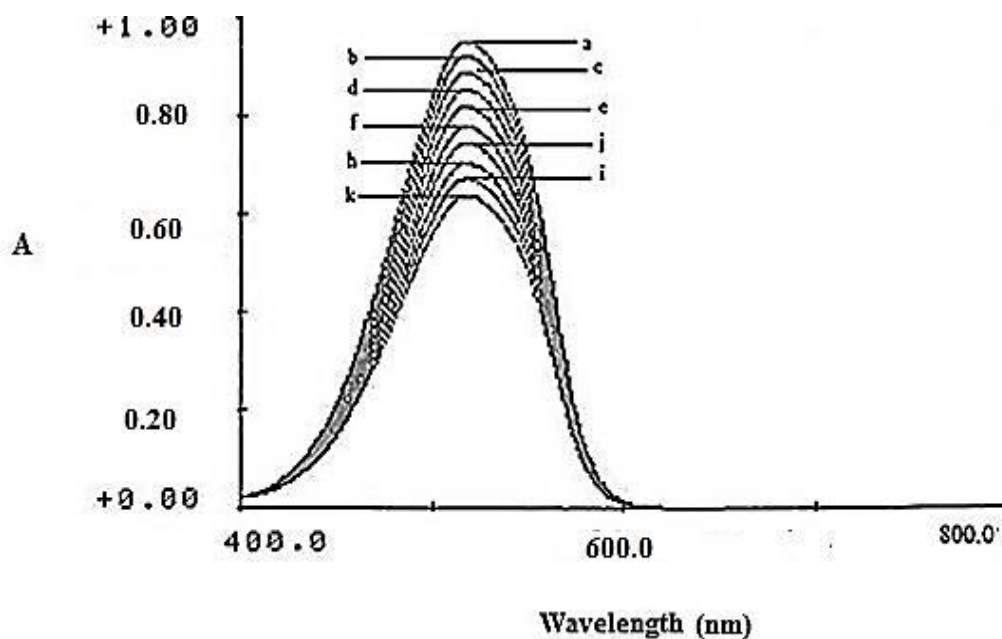
به منظور بررسی اثر پیروکسیکام بر سیستم واکنش، طیف جذبی محلول نمونه و شاهد در فواصل زمانی ۳۰ ثانیه ثبت گردید. برای ثبت طیف جذبی محلول نمونه و شاهد به ترتیب زیر عمل شد:

^۱-Shimadzu

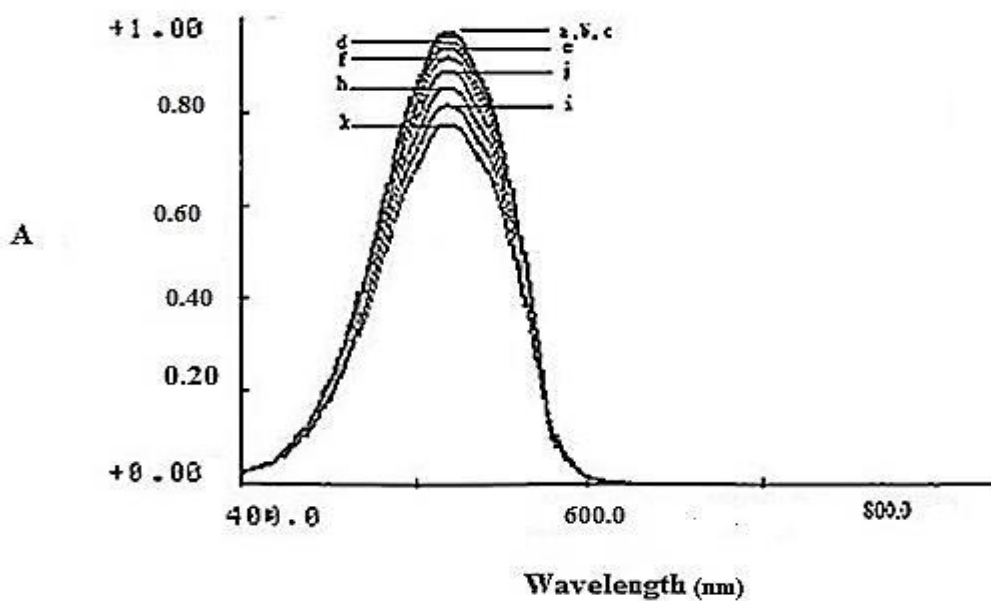
^۲-n-BIOTEK

به یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی لیتر محلول پیروکسیکام $2/0 \times 10^{-5}$ مولار، ۱/۰ میلی لیتر محلول هیدروکلریک اسید ۱/۸۰ مولار، ۱/۰ میلی لیتر محلول متیل رد $1/78 \times 10^{-4}$ مولار و سپس ۱/۰ میلی لیتر محلول پتاسیم برمید ۰/۰۰۵۰ مولار اضافه گردید. محلول حاصل با اضافه کردن آب مقطر تا حجم تقریبی ۹/۰ میلی لیتر رقیق شد. سپس ۱/۰ میلی لیتر از محلول سدیم پریدات ۰/۰۱۰ مولار اضافه شد و پس از افتادن آخرین قطره کرومومتر روشن شد. پس از یکنواخت کردن محلول، مقداری از این محلول به سل اسپکتروفتومتر منتقل شد و تا قبل از ۳۰ ثانیه، سل در داخل اسپکتروفتومتر قرار داده شد.

پس از گذشت ۳۰ ثانیه از شروع واکنش در محدوده طول موجی ۸۰۰-۴۰۰ نانومتر، ۱۰ طیف جذبی متوالی با فواصل زمانی ۳۰ ثانیه ثبت گردید. برای ثبت طیف جذبی محلول شاهد نیز به همین ترتیب عمل شد با این تفاوت که پیروکسیکام اضافه نگردید. طیف‌های جذبی نمونه و شاهد در شکل (۱-۳) آورده شد است. با توجه به شکل (۱-۳) مشاهده می‌گردد که بیشترین مقدار تغییرات جذب (هم برای محلول نمونه و هم برای محلول شاهد) در طول موج ماکزیمم جذب ۵۱۸ نانومتر اتفاق می‌افتد. علاوه بر این طیف‌های جذبی شاهد نشان می‌دهد که با گذشت زمان، جذب محلول شاهد با سرعت ثابتی در حال کاهش است، در حالی که مشاهده طیف‌های جذبی نمونه نشان می‌دهد که حضور پیروکسیکام در نمونه باعث می‌شود واکنش متیل رد با پریدات برای مدت زمان معینی متوقف شده و سپس کاهش جذب شروع می‌شود. به عبارت دیگر حضور پیروکسیکام در نمونه باعث می‌شود یک زمان القایی ایجاد شده و واکنش متیل رد با پریدات متوقف شده و جذب در مدت زمان ۳۰ تا ۹۰ ثانیه پس از شروع واکنش تقریباً ثابت باقی بماند.



(الف)

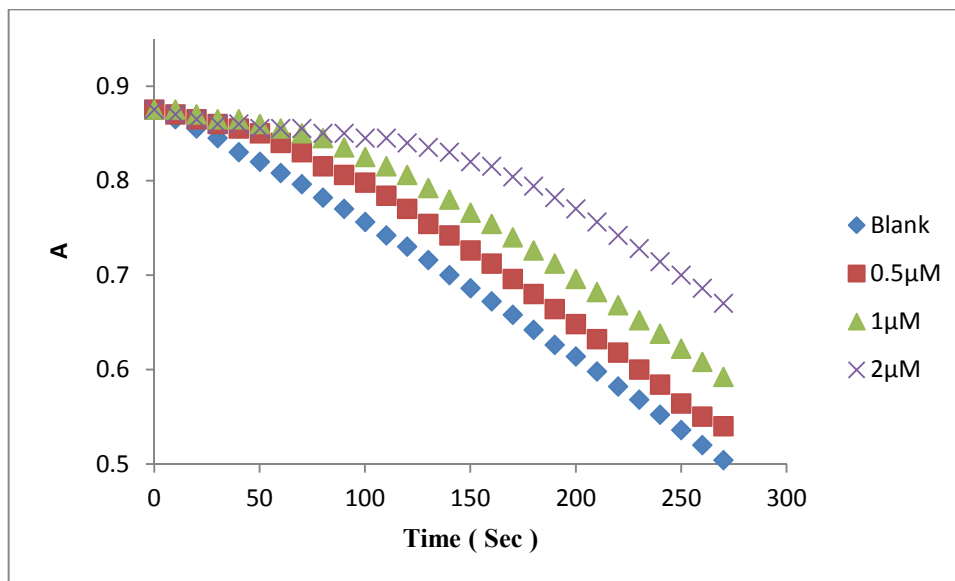


(ب)

شکل (۱-۳) طیف جذبی سیستم واکنش

شرایط: محلول هیدروکلریک اسید $0/180$ مولار، محلول متیل رد $1/78 \times 10^{-5}$ مولار، محلول پتاسیم برمید $5/0 \times 10^{-4}$ مولار، محلول سدیم پریدات $0/0010$ مولار، دمای $25/0$ درجه سانتی-گراد، در زمان‌های (a) 30 ، (b) 60 ، (c) 90 ... (k) 300 ثانیه پس از شروع واکنش (الف) درغیاب پیروکسیکام (ب) در حضور پیروکسیکام $2/0 \times 10^{-6}$ مولار

برای بررسی اثر غلظت پیروکسیکام بر زمان بازداری، این زمان در حضور سه غلظت متفاوت از پیروکسیکام ثبت و داده‌های مربوط به جذب برحسب غلظت پیروکسیکام رسم شد. همانطور که در شکل (۲-۳) نشان داده شده، زمان القایی با افزایش غلظت پیروکسیکام افزایش می‌یابد.



شکل (۲-۳) بررسی اثر غلظت پیروکسیکام بر زمان بازداری

شرایط: محلول هیدروکلریک اسید ۰/۱۸۰ مولار، محلول متیل رد $۱/۷۸ \times 10^{-۵}$ مولار، محلول پتاسیم برمید $۵/۰ \times 10^{-۴}$ مولار، محلول سدیم پیریدات ۰/۰۰۱۰ مولار، دمای ۲۵/۰ درجه سانتی‌گراد

۳-۱-۶- روش کار

در تمام اندازه‌گیری‌های انجام شده در این پروژه از محلول‌های نمونه و شاهد استفاده گردید. کلیه محلول‌ها قبل از انجام هر آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۲۵°C قرار گرفتند. جهت تهیه‌ی محلول‌های نمونه و شاهد به ترتیب زیر عمل شد:

برای تهیه‌ی محلول نمونه به یک بالن حجمی ۱۰ میلی‌لیتری حجم‌های معینی از محلول

پیروکسیکام، محلول هیدروکلریک اسید، محلول متیل رد و محلول پتاسیم برمید اضافه شد و محلول حاصل توسط آب مقطر تا حجم حدود ۹/۰ میلی لیتر رقیق شد. سپس حجم معینی از محلول سدیم پریدات اضافه شد و با افتادن آخرین قطره آن، کرومومتر روشن شد. در مدت کمتر از ۳۰ ثانیه محلول به حجم رسانده و یکنواخت شد و پس از انتقال حجم معینی از آن به سل، سل در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده شد. سپس تغییرات جذب نسبت به زمان در طول موج ۵۱۸ نانومتر در محدوده‌ی زمانی ۳۰ تا ۲۱۰ ثانیه پس از شروع واکنش ثبت گردید ($\Delta A_s = A_{30} - A_{210}$). برای تهیه-ی محلول شاهد و اندازه‌گیری تغییرات جذب آن به همین نحو عمل شد، با این تفاوت که به آن پیروکسیکام افزوده نگردید ($\Delta A_b = A_{30} - A_{210}$). اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه ($\Delta A = \Delta A_b - \Delta A_s$) به عنوان سیگنال تجزیه‌ای در نظر گرفته شد.

۳-۱-۷- بررسی پارامترها و بهینه سازی متغیرهای مؤثر بر واکنش

پارامترهایی که در این پروژه مورد بررسی قرار گرفتند به ترتیب عبارتند از:

۱- اثر نوع اسید

۲- غلظت اسید

۳- غلظت برمید

۴- غلظت پریدات

۵- غلظت متیل رد

۶- دما

۷- زمان انجام واکنش

۸- قدرت یونی

روش یک متغیر در یک زمان^۱ برای بهینه سازی پارامترها به کار گرفته شد. در این روش همه‌ی متغیرها ثابت در نظر گرفته شده و فقط پارامتری که باید بهینه شود تغییر داده می‌شود. برای بهینه کردن پارامترهای غلظتی نیز حجم‌های مختلفی از محلول گونه مورد نظر با غلظت مشخص و ثابت به مخلوط واکنش اضافه گردید و جهت ثابت ماندن حجم کلی محلول میزان آب مقطر به تناسب تغییر داده شد. برای حصول دقت لازم، هر اندازه‌گیری حداقل دو بار تکرار شد.

کمیت اندازه‌گیری شده در بهینه کردن متغیرهای فوق اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه $(\Delta A = \Delta A_b - \Delta A_s)$ در فاصله زمانی ۲۱۰-۳۰ ثانیه از آغاز واکنش بود.

۳-۱-۸- بررسی اثر نوع اسید بر روی سیگنال کل

به منظور بررسی اثر نوع اسید بر روی سیگنال کل به ترتیب زیر عمل شد:

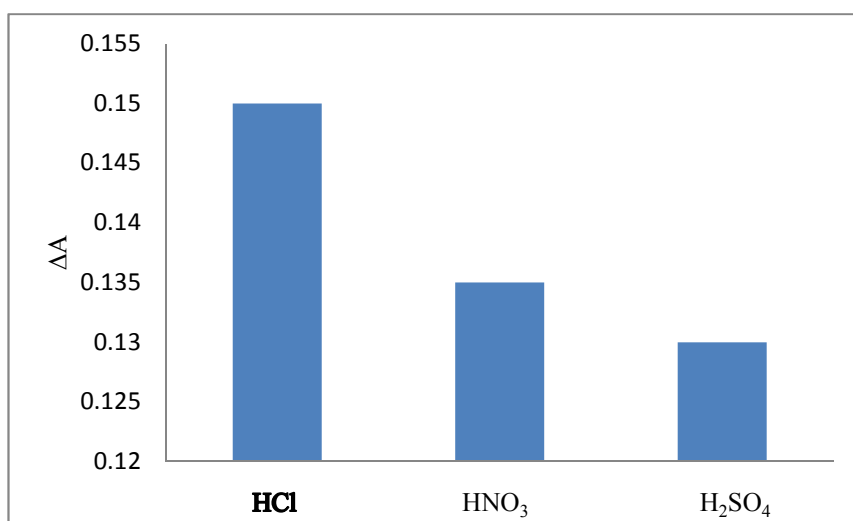
برای تهیه‌ی محلول‌های نمونه به سه بالن ۱۰ میلی‌لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول پیروکسیکام با غلظت $2/0 \times 10^{-5}$ مولار، در بالن اول ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول هیدروکلریک اسید ۱/۸۰ مولار، در بالن دوم ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول نیتریک اسید ۱/۲۰ مولار و در بالن سوم ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول سولفوریک اسید ۰/۶۰۰ مولار افزوده شد. سپس به ترتیب به هر کدام ۱/۰ میلی‌لیتر محلول متیل رد $1/78 \times 10^{-4}$ مولار و یک میلی‌لیتر از محلول پتاسیم برمید ۰/۰۰۵۰ مولار افزوده و محلول در هر بالن تا حجم تقریبی ۹/۰ میلی‌لیتر رقیق شد. سپس ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول سدیم پیریدات ۰/۰۱۰ مولار افزوده شد و با افتادن آخرین قطره کرومومتر روشن گردید. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن در مدت کمتر از ۳۰ ثانیه، مقداری از محلول به سل دستگاه منتقل شده و تغییرات جذب

^۱-One-at-a-time

محلول در گستره‌ی زمانی ۲۱۰-۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش، در طول موج ماکزیمم ۵۱۸ نانومتر ثبت شد. برای محلول شاهد نیز همانند نمونه عمل گردید، با این تفاوت که پیروکسیکام اضافه نگردید. نتایج حاصل از این بررسی و شکل حاصل به ترتیب در جدول (۲-۳) و شکل (۳-۳) آمده است. با توجه به نتایج حاصله از مقادیر ΔA_b و ΔA_s ، مشاهده شد که سرعت واکنش مربوط به هیدروکلریک اسید بیشتر بوده و بیشترین سیگنال نیز مربوط به این اسید است که برای توجیه این پدیده می‌توان گفت که احتمالاً یون کلرید توسط پریدات اکسید شده و تولید Cl_2 می‌کند و سپس Cl_2 همانند Br_2 با متیل رد واکنش کرده و آن را بی‌رنگ می‌کند. بنابراین در حضور هیدروکلریک اسید سرعت واکنش نسبت به دو اسید دیگر بیشتر می‌باشد و از طرفی نیتریک اسید دارای خاصیت اکسیدکنندگی است و می‌تواند یون برمید را به برم اکسید کند که این نکته را می‌توان دلیلی بر افزایش سرعت واکنش در شرایطی که نیتریک اسید استفاده می‌شود نسبت به شرایطی که سولفوریک اسید استفاده می‌شود دانست.

جدول (۲-۳) بررسی اثر نوع اسید بر روی اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه

نوع اسید	ΔA_b	ΔA_s	$\Delta A_b - \Delta A_s$
HCl	۰/۲۷۰	۰/۱۲۰	۰/۱۵۰
HNO ₃	۰/۲۰۵	۰/۰۷۰	۰/۱۳۵
H ₂ SO ₄	۰/۱۷۰	۰/۰۴۰	۰/۱۳۰



شکل (۳-۳) بررسی اثر نوع اسید بر روی اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه

شرایط: محلول پیروکسیکام $2/0 \times 10^{-6}$ مولار، محلول متیل رد $1/78 \times 10^{-5}$ مولار، محلول پتاسیم برمید $5/0 \times 10^{-4}$ مولار، محلول سدیم پیریدات $0/0010$ مولار، دما $25/0^{\circ}\text{C}$ فاصله زمانی ۳۰-۲۱۰ ثانیه از شروع واکنش

۳-۱-۹- بررسی اثر غلظت هیدروکلریک اسید

به منظور بررسی اثر غلظت هیدروکلریک اسید بر روی سیگنال تجزیه‌ای به این صورت عمل

شد:

برای تهیه‌ی محلول نمونه به یک بالن حجمی ۱۰ میلی‌لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول پیروکسیکام با غلظت $2/0 \times 10^{-5}$ مولار، حجم‌های مختلفی از محلول هیدروکلریک اسید ۱/۸۰ مولار، ۱/۰ میلی‌لیتر محلول متیل رد $1/78 \times 10^{-4}$ مولار و ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول پتاسیم برمید $0/0050$ مولار افزوده و محلول تا حجم تقریبی ۹/۰ میلی‌لیتر رقیق شد. سپس ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول سدیم پیریدات $0/010$ مولار افزوده شد و با افتادن آخرین قطره کرومومتر روشن گردید. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن در مدت کمتر از ۳۰ ثانیه، مقداری از محلول به سل دستگاه

منتقل شده و تغییرات جذب محلول در گستره‌ی زمانی ۲۱۰-۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش، در طول موج ماکزیمم ۵۱۸ نانومتر ثبت شد. برای محلول شاهد به همین ترتیب عمل گردید، با این تفاوت که پیروکسیکام اضافه نگردید. نتایج جدول (۳-۳) و شکل (۳-۴)، نشان می‌دهد که با افزایش غلظت هیدروکلریک اسید سرعت واکنش هم نمونه و هم شاهد افزایش می‌یابد. علت آن را می‌توان این گونه توجیه کرد که افزایش غلظت اسید باعث افزایش خاصیت اکسید کنندگی می‌شود. باتوجه به شکل و جدول مربوطه همان‌طور که مشاهده می‌شود در غلظت‌های کمتر از ۰/۱۶۰ مولار هیدروکلریک اسید، به علت اینکه سرعت واکنش شاهد به اندازه کافی سریع نیست (ΔA_t کوچک است)، پیروکسیکام نتوانسته اثر بازداری خود را نشان دهد به همین خاطر سیگنال تجزیه‌ای (ΔA) کوچک است. در غلظت‌های بیشتر از ۰/۲۰۰ مولار هیدروکلریک اسید، به علت اینکه سرعت واکنش شاهد خیلی زیاد شده است، باز هم پیروکسیکام نتوانسته اثر بازداری خود را نشان دهد. در دامنه غلظتی ۰/۱۶۰ تا ۰/۲۰۰ مولار هیدروکلریک اسید، به خاطر اینکه سرعت واکنش شاهد مناسب بوده است پیروکسیکام توانسته بیشترین اثر بازداری ممکن را برای واکنش نمونه ایجاد کند و سیگنال تجزیه‌ای به حداکثر مقدار خود رسیده است. بنابراین برای بهینه سازی سایر پارامترها غلظت ۰/۱۸۰ مولار هیدروکلریک اسید به عنوان غلظت بهینه انتخاب شد.

۳-۱-۱۰- بررسی اثر غلظت پتاسیم برمید

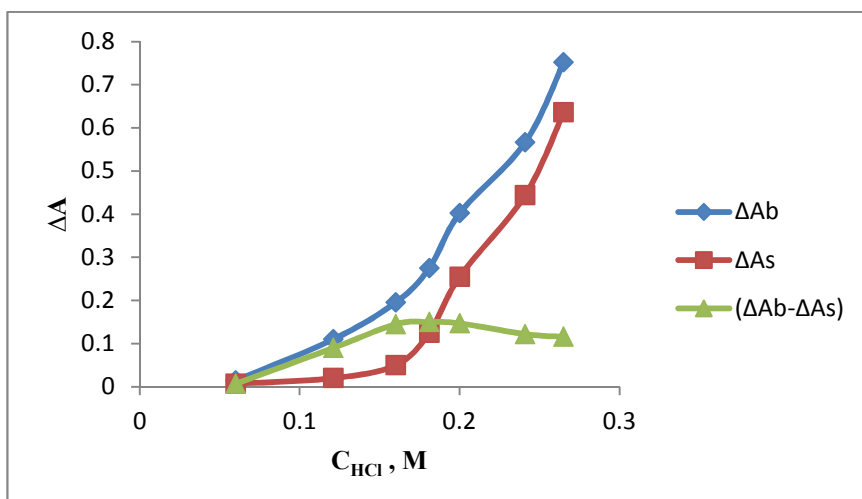
برای بررسی اثر پتاسیم برمید بر روی تغییرات جذب به ترتیب زیر عمل شد:

برای تهیه‌ی محلول نمونه به یک بالن حجمی ۱۰ میلی‌لیتری، ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول پیروکسیکام 2.0×10^{-5} مولار، ۱/۰ میلی‌لیتر محلول هیدروکلریک اسید ۱/۸۰ مولار، ۱/۰ میلی‌لیتر محلول متیل رد 1.78×10^{-4} مولار و حجم‌های مختلفی از محلول KBr با غلظت ۰/۰۰۵۰ مولار اضافه شد. سپس تا حجم تقریبی ۹/۰ میلی‌لیتر رقیق شد و پس از افزودن ۱/۰ میلی‌لیتر از سدیم پریدات ۰/۰۱۰ مولار کرومومتر روشن شد و پس از رقیق کردن، به حجم رسانده و یکنواخت گردید و مقداری

جدول (۳-۳) بررسی اثر غلظت هیدرو کلریک اسید بر روی اختلاف تغییرات جذب نمونه و شاهد

$C_{HCl}(M)$	ΔA_b	ΔA_s	$\Delta A_b - \Delta A_s$
۰/۰۶۰۰	۰/۰۱۴	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷
۰/۱۲۰	۰/۱۱۰	۰/۰۲۰	۰/۰۹۰
۰/۱۶۰	۰/۱۹۵	۰/۰۵۰	۰/۱۴۵
۰/۱۸۰	۰/۲۷۵	۰/۱۲۵	۰/۱۵۰
۰/۲۰۰	۰/۴۰۲	۰/۲۵۵	۰/۱۴۷
۰/۲۴۰	۰/۵۶۶	۰/۴۴۴	۰/۱۲۲
۰/۲۶۵	۰/۷۵۲	۰/۶۳۶	۰/۱۱۳

از آن به سل دستگاه منتقل شد و تغییرات جذب برحسب زمان در فاصله‌ی زمانی ۲۱۰-۳۰ ثانیه از شروع واکنش و در طول موج ۵۱۸ نانومتر ثبت گردید. برای محلول شاهد نیز به همین ترتیب عمل شد، با این تفاوت که پیروکسیکام به آن افزوده نشد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۴) آورده شده است. نمودار تغییرات سیگنال اندازه‌گیری شده برحسب غلظت برومید در شکل (۳-۵) نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که با افزایش غلظت پتاسیم برمید سرعت واکنش هم نمونه و هم شاهد به دلیل افزایش مقدار یون برمید که در واقع کاتالیزگر واکنش می‌باشد و توسط پریدات اکسید شده و Br_2 تولید می‌کند، افزایش می‌یابد. همانطور که مشاهده می‌شود در غلظت‌های کمتر از $4/0 \times 10^{-4}$ مولار پتاسیم برمید، به علت اینکه سرعت واکنش شاهد به اندازه کافی سریع نیست (ΔA_b کوچک است)، پیروکسیکام نتوانسته اثر بازدارنده خود را نشان دهد به همین خاطر سیگنال تجزیه‌ای (ΔA) کوچک است. در غلظت‌های بیشتر از $6/0 \times 10^{-4}$ مولار پتاسیم برمید، به علت اینکه سرعت واکنش شاهد خیلی زیاد شده است، باز هم پیروکسیکام نتوانسته اثر بازدارنده خود را نشان دهد. در دامنه غلظتی $4/0 \times 10^{-4}$ تا $6/0 \times 10^{-4}$ مولار پتاسیم برمید، به خاطر اینکه سرعت واکنش شاهد مناسب



شکل (۳-۴) نمودار تغییرات جذب با تغییر غلظت HCl

شرایط: محلول پیروکسیکام $2/0 \times 10^{-6}$ مولار، محلول متیل رد $1/78 \times 10^{-5}$ مولار، محلول پتاسیم برمید $5/0 \times 10^{-4}$ مولار، محلول سدیم پریدات $0/010$ مولار، دما $25/0^{\circ}C$ ، فاصله زمانی $210-30$ ثانیه پس از شروع واکنش

بوده است پیروکسیکام توانسته بیشترین اثر بازداري ممکن را برای واکنش نمونه ایجاد کند و سیگنال تجزیه‌ای به حداکثر مقدار خود رسیده است. بنابراین برای بهینه سازی سایر پارامترها غلظت $5/0 \times 10^{-4}$ مولار پتاسیم برمید به عنوان غلظت بهینه انتخاب شد.

۳-۱-۱۱- بررسی اثر غلظت سدیم پریدات

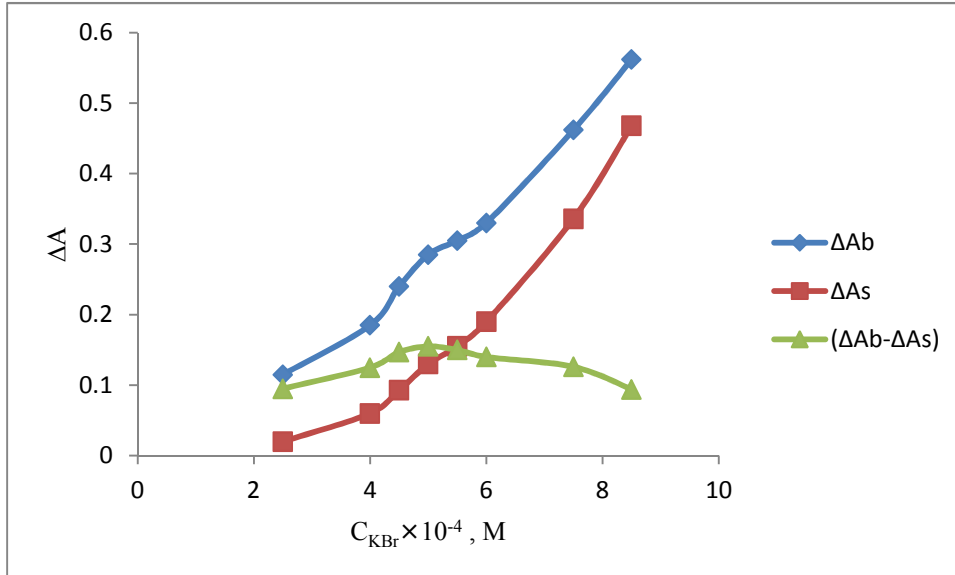
به منظور بررسی اثر غلظت پریدات بر روی سیگنال تجزیه‌ای به این صورت عمل شد:

برای تهیه‌ی محلول نمونه به یک بالن حجمی 10 میلی‌لیتری به ترتیب $1/0$ میلی‌لیتر از محلول پیروکسیکام با غلظت $2/0 \times 10^{-5}$ مولار، $1/0$ میلی‌لیتر از محلول هیدروکلریک اسید $1/80$ مولار، $1/0$ میلی‌لیتر محلول متیل رد $1/78 \times 10^{-4}$ مولار، $1/0$ میلی‌لیتر از محلول پتاسیم برمید $5/0 \times 10^{-4}$ مولار، افزوده و محلول تا حجم تقریبی $8/0$ میلی‌لیتر رقیق شد. سپس حجم‌های مختلفی از سدیم پریدات $0/010$ مولار افزوده شد و با افتادن آخرین قطره کرومومتر روشن گردید. پس از به

حجم رساندن و یکنواخت کردن در مدت کمتر از ۳۰ ثانیه، مقداری از محلول به سل دستگاه منتقل شده و تغییرات جذب محلول در گستره‌ی زمانی ۳۰ تا ۲۱۰ ثانیه پس از شروع واکنش، در طول موج ماکزیمم ۵۱۸ نانومتر ثبت شد. برای محلول شاهد به این ترتیب عمل گردید، با این تفاوت که پیروکسیکام اضافه نشد. نتایج حاصل از این بررسی و شکل حاصل به ترتیب در جدول (۳-۵) و شکل (۳-۶) آمده است. نتایج نشان می‌دهد که با افزایش غلظت سدیم پریدات سرعت واکنش هم نمونه و هم شاهد افزایش می‌یابد به دلیل اینکه پریدات اکسنده واکنش می‌باشد و در صورت نبود پریدات هیچ واکنشی انجام نشده و برم تولید نمی‌شود و رنگ‌بری اتفاق نمی‌افتد. در غلظت‌های ۰/۰۰۰۸۰ مولار سدیم پریدات و کمتر از آن، به علت اینکه سرعت واکنش شاهد به اندازه کافی سریع نیست (ΔA_b کوچک است)، پیروکسیکام نتوانسته اثر بازداری خود را نشان دهد به همین خاطر سیگنال تجزیه‌ای (ΔA) کوچک است. در دامنه غلظت‌های ۰/۰۰۰۹۰-۰/۰۰۱۲ مولار سدیم پریدات، به خاطر اینکه سرعت واکنش شاهد مناسب بوده است، پیروکسیکام توانسته بیشترین اثر بازداری ممکن را برای واکنش نمونه ایجاد کند و سیگنال تجزیه‌ای به حداکثر مقدار خود رسیده است. در غلظت‌های بالاتر از ۰/۰۰۱۳ مولار با وجود اینکه سیگنال تجزیه‌ای به مقدار کمی کاهش یافته است ولی چون سرعت واکنش هم شاهد و هم نمونه زیاد بوده و دنبال کردن تغییرات جذب دشوار است باعث گردید که تکرار پذیری کاهش یابد. بنابراین غلظت ۰/۰۰۱۰ مولار به عنوان غلظت بهینه پریدات انتخاب شد.

جدول (۳-۴) نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت پتاسیم برمید بر روی سرعت واکنش

$C_{Br^-}(M)$	ΔA_b	ΔA_s	$\Delta A_b - \Delta A_s$
$2/5 \times 10^{-4}$	۰/۱۱۵	۰/۰۲۰	۰/۰۹۵
$4/0 \times 10^{-4}$	۰/۱۸۵	۰/۰۶۰	۰/۱۲۵
$4/5 \times 10^{-4}$	۰/۲۴۰	۰/۰۹۳	۰/۱۴۷
$5/0 \times 10^{-4}$	۰/۲۸۵	۰/۱۳۰	۰/۱۵۵
$5/5 \times 10^{-4}$	۰/۳۰۵	۰/۱۵۵	۰/۱۵۰
$6/0 \times 10^{-4}$	۰/۳۳۰	۰/۱۹۰	۰/۱۴۰
$7/5 \times 10^{-4}$	۰/۴۶۲	۰/۳۳۶	۰/۱۲۶
$8/5 \times 10^{-4}$	۰/۵۶۲	۰/۴۶۸	۰/۰۹۴

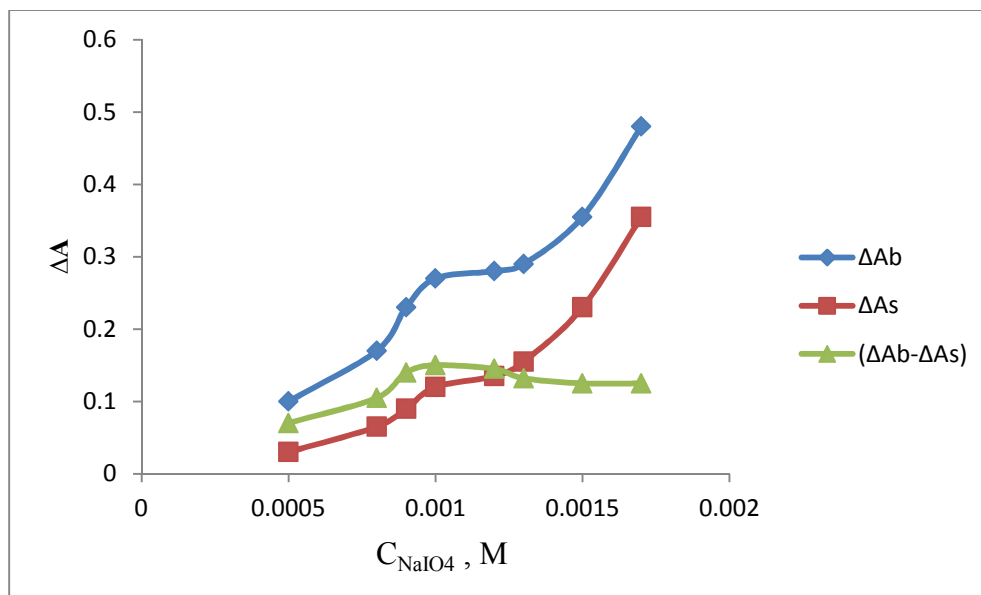


شکل (۳-۵) نمودار تغییرات جذب با تغییر غلظت KBr

شرایط: محلول پیروکسیکام $2/0 \times 10^{-6}$ مولار، محلول هیدروکلریک اسید $0/180$ مولار، محلول متیل رد $1/78 \times 10^{-5}$ مولار، محلول سدیم پیریدات $0/010$ مولار، دما $25/0^\circ C$ ، فاصله زمانی $210-30$ ثانیه از شروع واکنش

جدول (۳-۵) نتایج حاصل از تغییرات غلظت سدیم پریدات بر روی اختلاف جذب شاهد و نمونه

$C_{IO_4^-} (M)$	ΔA_b	ΔA_s	$\Delta A_b - \Delta A_s$
۰/۰۰۰۵۰	۰/۱۰۰	۰/۰۳۰	۰/۰۷۰
۰/۰۰۰۸۰	۰/۱۷۰	۰/۰۶۵	۰/۱۰۵
۰/۰۰۰۹۰	۰/۲۳۰	۰/۰۹۰	۰/۱۴۰
۰/۰۰۱۰	۰/۲۷۰	۰/۱۲۰	۰/۱۵۰
۰/۰۰۱۲	۰/۲۸۰	۰/۱۳۵	۰/۱۴۵
۰/۰۰۱۳	۰/۲۹۰	۰/۱۵۵	۰/۱۳۵
۰/۰۰۱۵	۰/۳۵۵	۰/۲۳۰	۰/۱۲۵
۰/۰۰۱۷	۰/۴۸۰	۰/۳۵۵	۰/۱۲۵



شکل (۳-۶) نمودار تغییرات جذب با تغییر غلظت سدیم پریدات

شرایط: محلول پیروکسیکام 2.0×10^{-6} مولار، محلول هیدروکلریک اسید ۰/۱۸۰ مولار، محلول متیل رد 1.78×10^{-5} مولار، محلول پتاسیم برمید 5.0×10^{-4} مولار، دما $25/0^\circ C$ ، فاصله زمانی ۲۱۰-۳۰ ثانیه از شروع واکنش

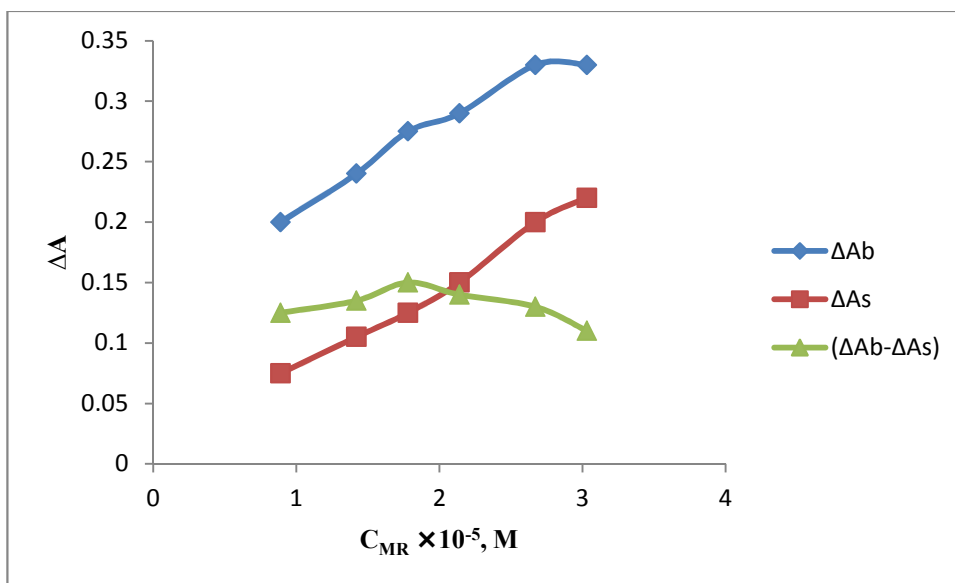
۳-۱-۱۲- بررسی اثر غلظت متیل رد

آخرین واکنشگری که اثر غلظت آن مورد بررسی قرار گرفت متیل رد بود. با توجه به بررسی-های اولیه انجام شده مشخص گردید که غلظت این واکنشگر کمترین اثر را بر سیگنال تجزیه‌ای دارد. برای بهینه سازی غلظت این واکنشگر به ترتیب زیر عمل شد:

برای تهیه‌ی محلول نمونه به یک بالن حجمی ۱۰ میلی‌لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول پیروکسیکام با غلظت $2/0 \times 10^{-5}$ مولار، ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول هیدروکلریک اسید ۱/۸۰ مولار، حجم‌های متفاوتی از محلول متیل رد $1/78 \times 10^{-4}$ مولار، ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول پتاسیم برمید $0/050$ مولار افزوده و محلول تا حجم تقریبی ۹/۰ میلی‌لیتر رقیق شد. سپس ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول سدیم پریدات $0/010$ مولار افزوده شد و با افتادن آخرین قطره کرومومتر روشن گردید. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن در مدت کمتر از ۳۰ ثانیه، مقداری از محلول به سل دستگاه منتقل شده و تغییرات جذب محلول در گستره‌ی زمانی ۲۱۰-۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش، در طول موج ماکزیمم ۵۱۸ نانومتر ثبت شد. برای محلول شاهد به همین ترتیب عمل گردید، با این تفاوت که پیروکسیکام اضافه نشد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۶) و شکل (۳-۷) آمده است. با توجه به نتایج حاصله مشاهده می‌شود با افزایش غلظت متیل رد تا $1/42 \times 10^{-5}$ مولار اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه افزایش یافته و در گستره‌ی غلظتی $1/42 \times 10^{-5}$ تا $2/14 \times 10^{-5}$ مولار آن سیگنال تجزیه‌ای تقریباً ثابت است و در غلظت‌های بیشتر از $2/14 \times 10^{-5}$ مولار سیگنال تجزیه‌ای کاهش می‌یابد. در غلظت‌های کم به دلیل اینکه غلظت متیل رد کم است محلول شاهد در کمتر از ۲۱۰ ثانیه بی‌رنگ می‌شود و در غلظت‌های بالاتر از $2/14 \times 10^{-5}$ مولار متیل رد احتمالاً به دلیل عدم رعایت قانون بیر تغییرات جذب محلول شاهد ثابت شده است و به همین دلیل سیگنال تجزیه‌ای کاهش یافته است. بنابراین غلظت $1/78 \times 10^{-5}$ مولار به عنوان غلظت بهینه انتخاب شد.

جدول (۳-۶) نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت متیل رد

C_{MR}, M	ΔA_b	ΔA_s	$\Delta A_b - \Delta A_s$
0.89×10^{-5}	0.200	0.075	0.125
1.42×10^{-5}	0.240	0.105	0.135
1.78×10^{-5}	0.275	0.125	0.150
2.14×10^{-5}	0.290	0.150	0.140
2.67×10^{-5}	0.330	0.200	0.130
3.03×10^{-5}	0.330	0.220	0.110



شکل (۳-۷) نمودار تغییرات جذب با تغییر غلظت متیل رد

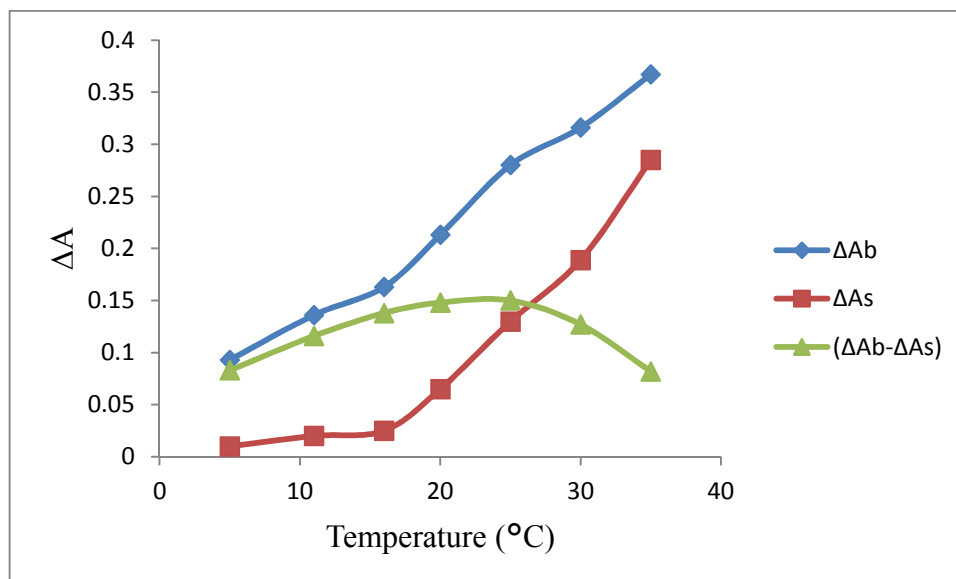
شرایط: محلول پیروکسیکام 2.0×10^{-6} مولار، محلول هیدروکلریک اسید 0.180 مولار، محلول پتاسیم برمید 5.0×10^{-4} مولار، محلول سدیم پیریدات 0.010 مولار، دمای $25/0$ درجه سانتی‌گراد، فاصله زمانی $210-30$ ثانیه از شروع واکنش

۳-۱-۱۳- بررسی اثر دما

تأثیر دما روی تغییرات جذب شاهد و نمونه و سیگنال تجزیه‌ای در فاصله زمانی ۲۱۰-۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش برای محدوده دمایی ۵/۰-۳۵/۰ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام آزمایش در هر دما، ابتدا محلول‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب با دمای مورد نظر قرار گرفتند تا به تعادل دمایی برسند. برای تهیه‌ی محلول نمونه به یک بالن حجمی ۱۰ میلی‌لیتری به ترتیب ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول پیروکسیکام با غلظت $10^{-5} \times 2/0$ مولار، ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول هیدروکلریک اسید ۱/۸۰ مولار، ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول متیل رد $10^{-4} \times 1/78$ مولار، ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول پتاسیم برمید ۰/۰۰۵۰ مولار افزوده و محلول تا حجم تقریبی ۹/۰ میلی‌لیتر رقیق شد. سپس ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول سدیم پریدات ۰/۰۱۰ مولار افزوده شد و با افتادن آخرین قطره کرومومتر روشن گردید. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن در مدت کمتر از ۳۰ ثانیه، مقداری از محلول به سل دستگاه منتقل شده و تغییرات جذب محلول در گستره‌ی زمانی ۲۱۰-۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش، در طول موج ماکزیمم ۵۱۸ نانومتر ثبت شد. برای محلول شاهد به این ترتیب عمل گردید، با این تفاوت که پیروکسیکام اضافه نشد. نتایج حاصل از این بررسی و شکل حاصل به ترتیب در جدول (۳-۷) و شکل (۳-۸) آمده است. نتایج نشان می‌دهد که با افزایش دما سرعت واکنش هم نمونه و هم شاهد افزایش می‌یابد. در دماهای پایین به دلیل کم بودن سرعت واکنش شاهد سیگنال تجزیه‌ای کوچک می‌باشد. و در دماهای بالاتر از ۲۵ درجه سانتی‌گراد به دلیل تجزیه شدن پیروکسیکام سیگنال تجزیه‌ای کاهش می‌یابد. حال با توجه به اینکه تنظیم دمای ۲۵ درجه به دلیل نزدیک بودن آن به دمای محیط آسان‌تر است و همچنین بیشترین اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه مربوط به دمای ۲۰/۰ و ۲۵/۰ درجه سانتی‌گراد است، دمای 25°C به عنوان دمای بهینه انتخاب شد.

جدول (۷-۳) تأثیر دما بر اختلاف تغییر جذب شاهد و نمونه

T, °C	ΔA_b	ΔA_s	$\Delta A_b - \Delta A_s$
۵/۰	۰/۰۹۳	۰/۰۱۰	۰/۰۸۳
۱۱/۰	۰/۱۳۶	۰/۰۲۰	۰/۱۱۶
۱۶/۰	۰/۱۶۳	۰/۰۲۵	۰/۱۳۸
۲۰/۰	۰/۲۱۳	۰/۰۶۵	۰/۱۴۸
۲۵/۰	۰/۲۸۰	۰/۱۳۰	۰/۱۵۰
۳۰/۰	۰/۳۱۶	۰/۱۸۹	۰/۱۲۷
۳۵/۰	۰/۳۶۷	۰/۲۸۵	۰/۰۸۲



شکل (۸-۳) نمودار تغییرات جذب با تغییر دما

شرایط: محلول پیروکسیکام 2.0×10^{-6} مولار، محلول هیدروکلریک اسید 0.180 مولار، محلول متیل رد 1.78×10^{-5} مولار، محلول پتاسیم برمید 5.0×10^{-4} مولار، محلول سدیم پیریدات 0.010 مولار، فاصله زمانی ۳۰ تا ۲۱۰ ثانیه از شروع واکنش

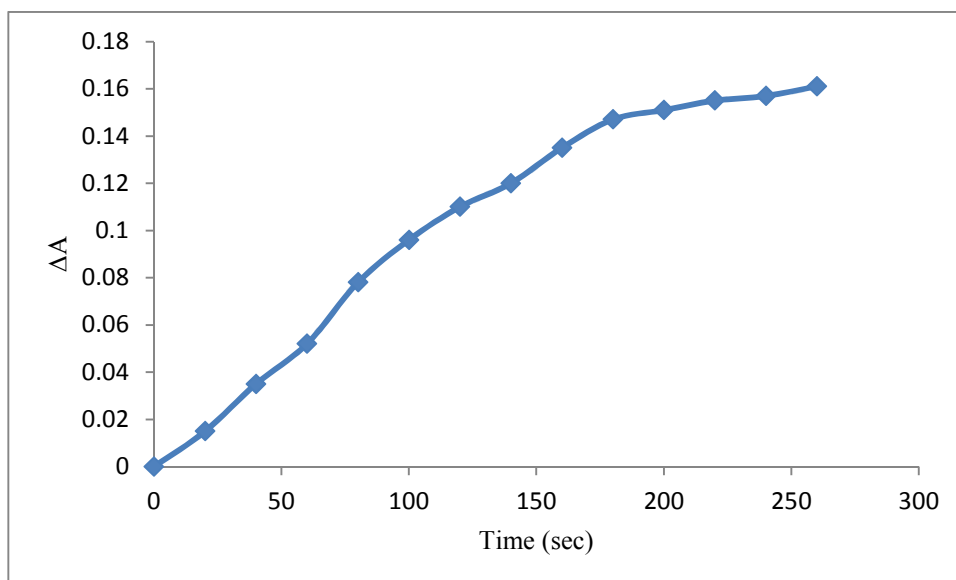
۳-۱-۱۴- بررسی اثر زمان

برای بررسی اثر زمان روی تغییرات جذب شاهد و نمونه و سیگنال تجزیه‌ای در فاصله زمانی ۳۰ تا ۲۱۰ ثانیه پس از شروع واکنش و دمای بهینه، به ترتیب زیر عمل شد:

برای تهیه‌ی محلول نمونه به یک بالن حجمی ۱۰ میلی‌لیتری ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول پیروکسیکام با غلظت $2/0 \times 10^{-5}$ مولار و در یک بالن حجمی ۱۰ میلی‌لیتری دیگر ۱/۰ میلی‌لیتر محلول پیروکسیکام با غلظت $8/0 \times 10^{-6}$ مولار، افزوده و سپس به هر بالن به ترتیب ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول هیدروکلریک اسید ۱/۸۰ مولار، ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول متیل رد $1/78 \times 10^{-4}$ مولار، ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول پتاسیم برمید ۰/۰۵۰ مولار افزوده و محلول تا حجم تقریبی ۹/۰ میلی‌لیتر رقیق شد. سپس ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول سدیم پریدات ۰/۰۱۰ مولار افزوده شد و با افتادن آخرین قطره کرومومتر روشن گردید. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن در مدت کمتر از ۳۰ ثانیه، مقداری از محلول به سل دستگاه منتقل شده و تغییرات جذب محلول در هر بالن در گستره‌ی زمانی ۲۹۰-۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش، در طول موج ماکزیمم ۵۱۸ نانومتر ثبت شد. لازم به ذکر است که در جداول (۳-۸) و (۳-۹)، زمان ۳۰ ثانیه پس از شروع واکنش به‌عنوان زمان صفر ثانیه در نظر گرفته شده است. به عبارت دیگر از تمام زمان‌های پس از شروع واکنش ۳۰ ثانیه کسر شده است. برای محلول با غلظت $2/0 \times 10^{-6}$ مولار پیروکسیکام، سیگنال تجزیه‌ای در زمان‌های پس از ۱۸۰ ثانیه (۲۱۰ ثانیه پس از شروع واکنش) تغییر محسوسی ندارد و برای محلول با غلظت $8/0 \times 10^{-7}$ مولار پیروکسیکام، سیگنال تجزیه‌ای در زمان‌های پس از ۱۴۰ ثانیه (۱۷۰ ثانیه پس از شروع واکنش) تغییر محسوسی ندارد. برای اینکه در غلظت‌های بالای پیروکسیکام به بیشترین مقدار سیگنال تجزیه‌ای برسیم، زمان ۱۸۰ ثانیه (یعنی ۲۱۰ ثانیه پس از شروع واکنش) در کلیه‌ی بررسی‌ها به کار برده شد.

جدول (۳-۸) نتایج حاصل از بررسی زمان برای غلظت $2/0 \times 10^{-6}$ پیروکسیکام

زمان	ΔA_b	ΔA_s	$\Delta A_b - \Delta A_s$
۰	۰	۰	۰
۲۰	۰/۰۲۰	۰/۰۰۵	۰/۰۱۵
۴۰	۰/۰۴۵	۰/۰۱۰	۰/۰۳۵
۶۰	۰/۰۶۷	۰/۰۱۵	۰/۰۵۲
۸۰	۰/۱۰۳	۰/۰۲۵	۰/۰۷۸
۱۰۰	۰/۱۳۶	۰/۰۴۰	۰/۰۹۶
۱۲۰	۰/۱۶۵	۰/۰۵۵	۰/۱۱۰
۱۴۰	۰/۲۰۳	۰/۰۷۵	۰/۱۲۸
۱۶۰	۰/۲۳۰	۰/۰۹۵	۰/۱۳۵
۱۸۰	۰/۲۶۵	۰/۱۱۸	۰/۱۴۷
۲۰۰	۰/۲۹۳	۰/۱۴۲	۰/۱۵۱
۲۲۰	۰/۳۲۳	۰/۱۶۸	۰/۱۵۵
۲۴۰	۰/۳۵۵	۰/۱۹۸	۰/۱۵۷
۲۶۰	۰/۳۸۳	۰/۲۲۲	۰/۱۶۱



شکل (۳-۹) نمودار تغییرات جذب با تغییر زمان

شرایط: محلول پیروکسیکام $2/0 \times 10^{-6}$ مولار، محلول هیدروکلریک اسید $0/180$ مولار، محلول متیل رد $1/78 \times 10^{-5}$ مولار، محلول پتاسیم برمید $5/0 \times 10^{-4}$ مولار، محلول سدیم پریدات $0/0010$ مولار، دمای $25/0$ درجه سانتی‌گراد، فاصله زمانی $0-260$ ثانیه از شروع واکنش

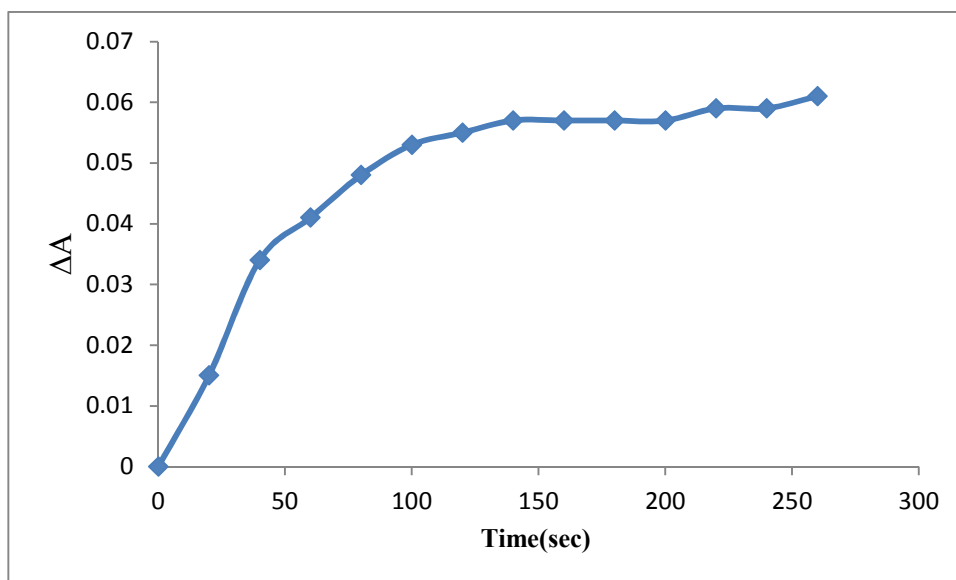
۳-۱-۱۵- بررسی اثر قدرت یونی

پارامتر دیگری که روی سرعت واکنش‌های شیمیایی مؤثر است و در اینجا مورد مطالعه قرار گرفت قدرت یونی بود. برای بررسی اثر این پارامتر از پتاسیم نیترات استفاده شد و به این صورت عمل شد که $1/0$ میلی‌لیتر از محلول پیروکسیکام با غلظت $2/0 \times 10^{-5}$ مولار و حجم‌های متفاوتی از محلول پتاسیم نیترات $2/0$ مولار، $1/0$ میلی‌لیتر از محلول هیدروکلریک اسید $1/80$ مولار، $1/0$ میلی‌لیتر از محلول متیل رد $1/78 \times 10^{-4}$ مولار، $1/0$ میلی‌لیتر از محلول پتاسیم برمید $0/0050$ مولار افزوده و محلول تا حجم تقریبی $9/0$ میلی‌لیتر رقیق شد. سپس $1/0$ میلی‌لیتر از محلول سدیم پریدات $0/010$ مولار افزوده شد و با افتادن آخرین قطره کرومومتر روشن گردید. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن در مدت 30 ثانیه، مقداری از محلول به سل دستگاه منتقل شده و تغییرات جذب محلول در گستره‌ی زمانی $210-30$ ثانیه پس از شروع واکنش، در طول موج ماکزیمم 518 نانومتر ثبت شد.

جدول (۳-۹) نتایج حاصل از بررسی زمان برای غلظت $8/0 \times 10^{-7}$ پیروکسیکام

زمان	ΔA_b	ΔA_s	$\Delta A_b - \Delta A_s$
۰	۰	۰	۰
۲۰	۰/۰۲۵	۰/۰۱۰	۰/۰۱۵
۴۰	۰/۰۵۴	۰/۰۲۰	۰/۰۳۴
۶۰	۰/۰۷۶	۰/۰۳۵	۰/۰۴۱
۸۰	۰/۱۰۸	۰/۰۶۰	۰/۰۴۸
۱۰۰	۰/۱۳۶	۰/۰۸۳	۰/۰۵۳
۱۲۰	۰/۱۶۸	۰/۱۱۳	۰/۰۵۵
۱۴۰	۰/۱۹۸	۰/۱۴۱	۰/۰۵۷
۱۶۰	۰/۲۳۲	۰/۱۷۵	۰/۰۵۷
۱۸۰	۰/۲۶۴	۰/۲۰۷	۰/۰۵۷
۲۰۰	۰/۲۹۸	۰/۲۴۱	۰/۰۵۷
۲۲۰	۰/۳۲۸	۰/۲۶۹	۰/۰۵۹
۲۴۰	۰/۳۶۰	۰/۳۰۱	۰/۰۵۹
۲۶۰	۰/۳۸۷	۰/۳۲۶	۰/۰۶۱

برای محلول شاهد به همین ترتیب عمل گردید، با این تفاوت که به آن پیروکسیکام و پتاسیم نیترات اضافه نشد. اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه به عنوان سیگنال تجزیه‌ای محاسبه گردید. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۰) و شکل (۳-۱۱) آمده است. نتایج نشان می‌دهد که سیگنال تجزیه‌ای مستقل از قدرت یونی است.

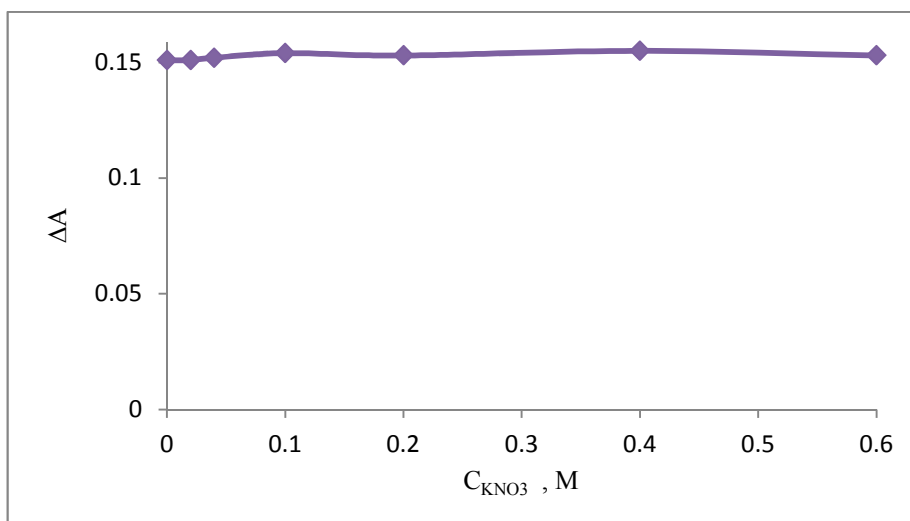


شکل (۳-۱۰) نمودار تغییرات جذب با تغییر زمان

شرایط: محلول پیروکسیکام $8/0 \times 10^{-7}$ مولار، محلول هیدروکلریک اسید $0/180$ مولار، محلول متیل رد $1/78 \times 10^{-5}$ مولار، محلول پتاسیم برمید $5/0 \times 10^{-4}$ مولار، محلول سدیم پیریدات $0/0010$ مولار، دمای $25/0$ درجه سانتی‌گراد، فاصله زمانی $0-260$ ثانیه از شروع واکنش

جدول (۳-۱۰) تأثیر قدرت یونی بر سیگنال تجزیه‌ای

غلظت پتاسیم نیترات (M)	$\Delta A_b - \Delta A_s$
0	0/151
0/020	0/151
0/040	0/152
0/10	0/154
0/20	0/153
0/40	0/155
0/60	0/153



شکل (۳-۱۱) بررسی اثر قدرت یونی بر سیگنال جذب

شرایط: محلول پیروکسیکام $2/0 \times 10^{-6}$ مولار، محلول هیدروکلریک اسید $0/180$ مولار، محلول متیل رد $1/78 \times 10^{-5}$ مولار، محلول پتاسیم برمید $5/0 \times 10^{-4}$ مولار، محلول سدیم پریدات $0/0010$ مولار، دمای $25/0$ درجه سانتی‌گراد، فاصله زمانی $30-210$ ثانیه از شروع واکنش

۳-۱-۱۶- شرایط بهینه

با توجه به نتایج حاصل از بررسی‌ها مناسب‌ترین شرایط برای اندازه‌گیری پیروکسیکام به ترتیب

زیر می‌باشد:

نوع اسید	هیدروکلریک اسید
غلظت هیدروکلریک اسید (M)	$0/180$
غلظت پتاسیم برمید (M)	$5/0 \times 10^{-4}$
غلظت سدیم پریدات (M)	$0/0010$
غلظت متیل رد (M)	$1/78 \times 10^{-5}$
دما ($^{\circ}\text{C}$)	$25/0$
فاصله زمانی پس از شروع واکنش (S)	$30-210$
طول موج (nm)	518

۳-۱-۱۷- بررسی مزاحمت‌ها

یکی از مهم‌ترین مراحل در توسعه یک روش تجزیه‌ای بررسی مزاحمت احتمالی گونه‌های مختلف در اندازه‌گیری گونه به منظور استفاده از آن در تجزیه نمونه‌های حقیقی است.

به منظور تعیین میزان گزینش‌پذیری روش، اثر گونه‌های مختلف که در نمونه‌های دارویی به همراه پیروکسیکام یافت می‌شوند، در اندازه‌گیری غلظت ۵ میلی‌گرم بر لیتر پیروکسیکام مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی مزاحمت‌ها اختلاف جذب شاهد و نمونه در غیاب گونه‌ی مزاحم ۵ بار به صورت تکراری اندازه‌گیری شد و انحراف استاندارد سیگنال تجزیه‌ای (S) محاسبه گردید. سپس هر یون مزاحم به میزان ۱۰۰۰ بار بیشتر از پیروکسیکام (از نظر وزنی) وارد محیط گردید. چنانچه سیگنال اندازه‌گیری شده در این حالت در محدوده $(\bar{Y} \pm 3S)$ قرار داشت گونه به عنوان مزاحم در نظر گرفته نشد. در غیر این صورت نسبت گونه‌ی مزاحم به پیروکسیکام به تدریج کم شد تا مزاحمت مشاهده نگردد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۱) آمده است. با توجه به نتایج مشخص شد که بسیاری از گونه‌ها حتی زمانی که به اندازه‌ی ۱۰۰۰ برابر وزنی در نمونه وجود داشته باشند مزاحم نیستند. این نتایج نشان می‌دهد که روش پیشنهادی گزینش‌پذیری خوبی دارد.

جدول (۳-۱۱) بررسی اثر گونه‌های مزاحم و نسبت آن‌ها در محیط واکنش

گونه‌ی مورد بررسی	حد مجاز گونه مورد بررسی نسبت به پیروکسیکام
اسید تارتاریک، اسید سیتریک، ویتامین B _۱ ، اوره، گلوکز، سدیم فرمات، ویتامین B _۶ ، دی سدیم اگزالات، کلسیم نترات دو آبه، EDTA سدیم سولفات، سدیم استات، NaH _۲ PO _۴	۱۰۰۰

۳-۱-۱۸- رسم منحنی کالیبراسیون

پس از دستیابی به شرایط بهینه برای اندازه‌گیری پیروکسیکام منحنی کالیبراسیون رسم گردید. در این پروژه سیگنال مورد اندازه‌گیری اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه است. برای رسم منحنی کالیبراسیون به ترتیب زیر عمل شد:

برای تهیه‌ی محلول نمونه به یک بالن حجمی ۱۰ میلی‌لیتری به ترتیب مقادیر مختلفی از محلول پیروکسیکام با غلظت $2/0 \times 10^{-5}$ مولار، $1/0$ میلی‌لیتر از محلول هیدروکلریک اسید $1/80$ مولار، $1/0$ میلی‌لیتر از محلول متیل رد $1/78 \times 10^{-4}$ مولار، $1/0$ میلی‌لیتر از محلول پتاسیم برمید $5/0 \times 10^{-4}$ مولار افزوده و محلول تا حجم تقریبی $9/0$ میلی‌لیتر رقیق شد. سپس $1/0$ میلی‌لیتر از محلول سدیم پریدات $0/010$ مولار افزوده شد و با افتادن آخرین قطره کرونومتر روشن گردید. پس از به حجم رساندن و یکنواخت کردن محلول در مدت کمتر از ۳۰ ثانیه، مقداری از آن به سل دستگاه منتقل شده و تغییرات جذب محلول در گستره‌ی زمانی ۳۰ تا ۲۱۰ ثانیه پس از شروع واکنش، در طول موج ماکزیمم ۵۱۸ نانومتر ثبت شد.

با توجه به نتایج به دست آمده در جدول (۳-۱۲) مشخص شد که در شرایط ذکر شده در محدوده‌ی غلظتی $0/20 - 3/0$ میکرو مولار پیروکسیکام، رابطه‌ی خطی بین سیگنال اندازه‌گیری شده و غلظت پیروکسیکام وجود دارد.

معادله منحنی کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی $0/20 - 3/0$ میکرو مولار پیروکسیکام به

صورت زیر است:

$$\Delta A = 0/0674 C_{PX} + 0/0007$$

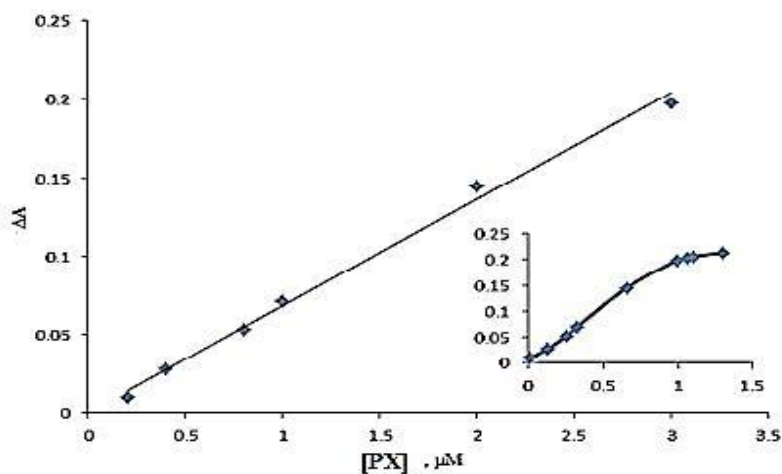
$$r = 0/9948$$

در معادله بالا ΔA اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه و C_{PX} غلظت پیروکسیکام برحسب

میکرو مولار است.

جدول (۳-۱۲) سیگنال‌های تجزیه‌ای برای غلظت‌های مختلف پیروکسیکام

$C_{PX}, \mu M$	$\Delta A_b - \Delta A_s$
۰/۲۰	۰/۰۱۰
۰/۴۰	۰/۰۲۸
۰/۸۰	۰/۰۵۴
۱/۰	۰/۰۷۱
۲/۰	۰/۱۴۵
۳/۰	۰/۱۹۸
۳/۲	۰/۲۰۳
۳/۵	۰/۲۰۶
۴/۰	۰/۲۱۳



شکل (۳-۱۲) منحنی کالیبراسیون

شرایط: محلول هیدروکلریک اسید ۰/۱۸۰ مولار، محلول متیل رد $1/78 \times 10^{-5}$ مولار، محلول پتاسیم برمید $5/0 \times 10^{-4}$ مولار، محلول سدیم پیریدات ۰/۰۰۱۰ مولار، دمای ۲۵/۰ درجه سانتی‌گراد، فاصله زمانی ۲۱۰-۳۰ ثانیه از شروع واکنش

۳-۱-۱۹- حد تشخیص

حد تشخیص تئوری به عنوان کمترین غلظتی تعریف می‌شود که نسبت سیگنال به نویز برابر ۳ باشد و از معادله‌ی زیر به دست می‌آید.

$$\text{LOD} = \frac{3S_b}{m}$$

در این معادله S_b انحراف استاندارد سیگنال شاهد که از ۱۰ اندازه‌گیری تکراری سیگنال شاهد به دست آمد و m شیب منحنی کالیبراسیون است. حد تشخیص روش نیز ۰/۰۷۷ میکرومولار پیروکسیکام بدست آمد.

۳-۱-۲۰- دقت و صحت روش

برای مطالعه دقت و صحت روش در محدوده دامنه‌ی خطی منحنی کالیبراسیون محلول‌هایی با غلظت متفاوت از پیروکسیکام در شرایط بهینه ساخته شد و بر روی هر نمونه ۵ اندازه‌گیری تکراری انجام شد. سپس با استفاده از اختلاف تغییرات جذب شاهد و نمونه و معادله منحنی کالیبراسیون حاصل، غلظت پیروکسیکام برای هر نمونه و انحراف استاندارد نسبی نتایج محاسبه گردید. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۳) آورده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که دقت و صحت روش پیشنهادی خوب است. (مقدار t بحرانی برای ۴ درجه آزادی در سطح اطمینان ۰/۹۵ برابر ۲/۱۳۲ است).

جدول (۳-۱۳) نتایج حاصل از بررسی دقت و صحت روش

نمونه	میزان پیروکسیکام موجود (میکرو مولار)	میزان پیروکسیکام اندازه گیری شده (میکرو مولار)	مقدار t	درصد بازیابی	RSD% n=۵
۱	۰/۴۰۰	۰/۳۸۷	۱/۵۲	۹۶/۸	۴/۹۶
۲	۰/۸۰۰	۰/۷۸۷	۰/۷۴۰	۹۸/۴	۵/۰۳
۳	۳/۰۰	۲/۹۵	۱/۴۹	۹۸/۳	۲/۵۴

۳-۱-۲۱- کاربرد روش در اندازه گیری پیروکسیکام در نمونه های حقیقی

برای بررسی کارایی روش پیشنهادی به منظور استفاده در نمونه های حقیقی با بافت های مختلف، این روش برای اندازه گیری پیروکسیکام در نمونه ی آمپول و کپسول با اعمال شرایط روش پیشنهادی به کار گرفته شد.

نحوه ی آماده سازی نمونه کپسول به ترتیب زیر است:

ابتدا محتوی سه کپسول ۱۰/۰ میلی گرمی پیروکسیکام با یکدیگر مخلوط و توزین شد. سپس یک سوم این مقدار در ۶/۰ میلی لیتر هیدروکلریک اسید غلیظ حل شد و به یک بالن ۱۰۰۰ میلی لیتری منتقل و به حجم رسانده شد. سپس ۲۵ میلی لیتر از این محلول به بالن ۱۰۰ میلی لیتری منتقل شد و به حجم رسید و ۰/۵۰ میلی لیتر از محلول حاصل به روش افزایش استاندارد مورد آنالیز قرار گرفت. به این صورت که ابتدا به محلول نمونه (حاوی ۰/۵۰ میلی لیتر نمونه کپسول) هیچ ماده ی استاندارد اضافه نشد و سیگنال به دست آمد و در مراحل بعدی به ترتیب ۰/۵۰، ۱/۰، ۱/۵، ۲/۰،

۲/۵ میلی لیتر از محلول استاندارد $10^{-5} \times 1/0$ مولار پیروکسیکام به محلول نمونه اضافه شد و سیگنال تجزیه‌ای اندازه‌گیری شد. هر اندازه‌گیری پنج بار تکرار شد که نتایج آن در جدول (۳-۱۴) آمده است.

نحوه‌ی آماده‌سازی نمونه آمپول:

ابتدا محتوی آمپول که حاوی ۲۰/۰ میلی گرم پیروکسیکام بود در ۲/۰ میلی لیتر هیدروکلریک اسید غلیظ حل شد و به بالن ۱۰۰۰ میلی لیتری منتقل شد. سپس ۱۰ میلی لیتر از این محلول در بالن ۵۰ میلی لیتری به حجم رسانده شد و ۰/۵۰ میلی لیتر از محلول حاصل به روش افزایش استاندارد مطابق روش بالا مورد آنالیز قرار گرفت. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳-۱۵) آورده شده است.

مقادیر t و درصد‌های انحراف استاندارد نسبی نشانگر صحت و دقت خوب روش برای اندازه‌گیری پیروکسیکام در نمونه‌ی آمپول و کپسول است. (مقدار t بحرانی برای ۴ درجه آزادی در سطح اطمینان ۹۵٪ برابر ۲/۱۳۲ است).

جدول (۳-۱۴) اندازه‌گیری پیروکسیکام در نمونه کپسول

میلی‌گرم پیروکسیکام موجود در هر کپسول	RSD% n=۵	درصد بازیابی	مقادیر t	پیروکسیکام اندازه‌گیر- ی شده (μg/ml)	پیروکسیکام اضافه شده (μg/ml)	نمونه
۹/۷۶	۶/۰۶			۰/۱۲۲		۱
	۶/۵۰	۱۰۱/۳	۰/۲۵۰	۰/۲۹۲	۰/۱۶۵	۲
	۲/۵۹	۱۰۲/۷	۱/۶۸	۰/۴۶۴	۰/۳۳۰	۳
	۴/۳۸	۱۰۳/۸	۱/۵۲	۰/۶۳۹	۰/۴۹۵	۴
	۲/۱۴	۱۰۱/۵	۱/۳۲	۰/۷۹۵	۰/۶۶۰	۵
	۴/۲۵	۹۹/۰۰	۰/۴۴۸	۰/۹۴۲	۰/۸۲۵	۶

جدول (۳-۱۵) اندازه‌گیری پیروکسیکام در نمونه آمپول

میلی‌گرم پیروکسیکام موجود در هر آمپول	RSD% n=۵	درصد بازیابی	مقادیر t	پیروکسیکام اندازه گیری شده (µg/ml)	پیروکسیکام اضافه شده (µg/ml)	نمونه
۲۰/۵	۳/۲۱			۰/۲۰۵		۱
	۴/۲۹	۱۰۴/۸	۱/۱۲	۰/۳۷۳	۰/۱۶۵	۲
	۲/۷۷	۱۰۳/۳	۱/۶۴	۰/۵۴۱	۰/۳۳۰	۳
	۱/۹۸	۱۰۲/۴	۱/۱۲	۰/۷۰۷	۰/۴۹۵	۴
	۱/۹۶	۱۰۱/۴	۱/۱۸	۰/۸۶۹	۰/۶۶۰	۵
	۲/۹۷	۹۸/۲۰	۱/۱۲	۱/۱۲	۰/۸۲۵	۶



فصل چهارم:

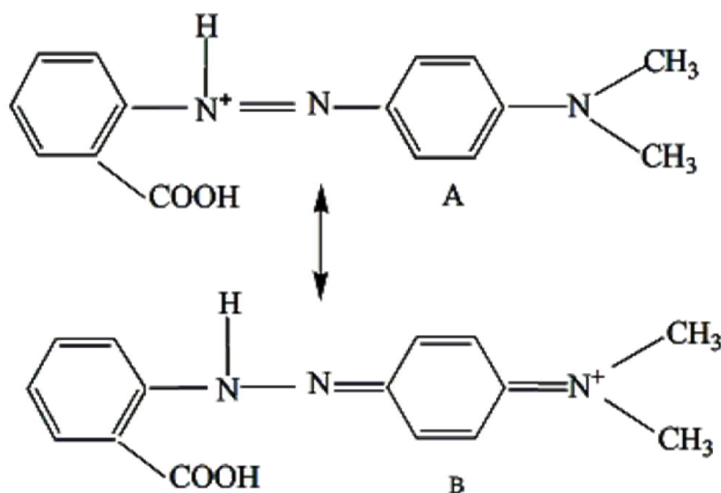
بحث و نتیجه گیری

۴-۱- اثر بازداری پیروکسیکام بر اکسیداسیون متیل رد توسط پیریدات در حضور

پتاسیم برمید

متیل رد یک ترکیب رنگی متعلق به دسته‌ی رنگ‌های آزو و یک مونو آزو است که اسید رد ۲ نیز نامیده می‌شود. این ترکیب به طور گسترده در صنعت کاغذ سازی و نساجی به کار می‌رود. از متیل رد به عنوان شناساگر pH نیز استفاده می‌شود که در محیط اسیدی (pH زیر ۴/۲) به رنگ قرمز و در محیط بازی (pH بالای ۶/۲) زرد و بین این دو محدوده به رنگ نارنجی است [۳۴].

در رنج pH (۳/۱-۵/۰) متیل رد به صورت ساختار دو پروتونه وجود دارد و دارای دو فرم رزونانسی به شکل زیر است [۳۵]. لازم به ذکر است که در این پروژ، محیط واکنش دارای pH= ۰/۷۴ می‌باشد. در این شکل فرم A به دلیل دارا بودن رزونانس کامل دارای ساختار پایدارتر بوده و رنگی مشاهده می‌شود در حالی که فرم B پایدار نبوده و تمایل دارد به فرم A تبدیل شود.

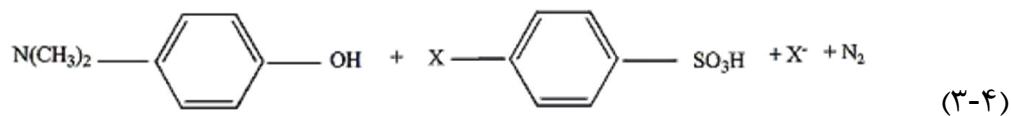
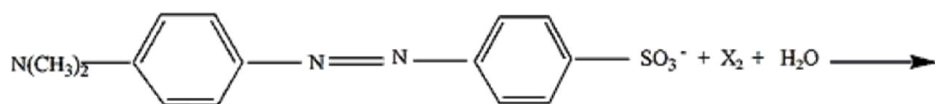


شکل (۴-۱) ساختار اورتو متیل رد (ایزومر اصلی متیل رد) [۳۵]

در محیط واکنش، یون برمید با پریدات واکنش می‌دهد و Br_2 تولید می‌کند (واکنش (۱-۴)).
 Br_2 تولید شده با متیل رد واکنش داده و آن را به یک ماده بی‌رنگ تبدیل می‌کند (واکنش (۲-۴)).
 [۲۹]. در واقع یون برمید احتمالاً به عنوان کاتالیزور عمل می‌کند و باعث می‌شود که جذب متیل رد با زمان در طول موج ۵۱۸ نانومتر کاهش یابد.



بی‌رنگ شدن متیل اورانژ (که از دسته‌ی رنگ‌های آزو می‌باشد) در حضور هالوژن‌ها (Br_2) یا $\text{X}_2 = \text{Cl}_2$) به صورت واکنش (۳-۴) گزارش شده است [۳۶]. فرض بر این است که بی‌رنگ شدن متیل رد نیز مطابق مکانیسم واکنش زیر است. در صورتی که واکنش بی‌رنگ شدن متیل رد براساس واکنش (۳-۴) باشد در این حالت یون برمید نقش کاتالیزور نخواهد داشت.



بررسی‌ها نشان داد که در حضور پیروکسیکام مقداری از برم (Br_2) تولید شده طی واکنش (۱-۴) یا پریدات صرف واکنش با پیروکسیکام می‌شود. بنابراین مقدار برم در دسترس برای واکنش با متیل رد کمتر شده، سرعت بی‌رنگ شدن متیل رد کمتر می‌گردد و سبب ثابت شدن جذب برای مدت زمان کوتاهی (اثر بازداری)، می‌شود [۲۹] و میزان تغییر جذب متیل رد در طول موج ۵۱۸ نانومتر در یک فاصله‌ی زمانی معین (ΔA_s) با افزایش غلظت پیروکسیکام کمتر می‌شود. با توجه به اینکه در یک شرایط معین تغییر جذب متیل رد در طول موج ۵۱۸ نانومتر در غیاب پیروکسیکام و در یک فاصله‌ی زمانی معین (ΔA_b) مقداری ثابت است در نتیجه با افزایش غلظت پیروکسیکام، سیگنال تجزیه‌ای ($\Delta A = \Delta A_b - \Delta A_s$) افزایش می‌یابد.

۴-۱-۱- ارقام شایستگی روش

نتایج حاصل از بررسی منحنی کالیبراسیون در جدول (۳-۱۲) نشان می‌دهد که در محدوده‌ی غلظتی (۰/۲۰-۳/۰) میکرو مولار پیروکسیکام، بین غلظت پیروکسیکام و سیگنال تجزیه‌ای رابطه‌ی خطی وجود دارد. معادلات مربوطه و مقادیر ضریب همبستگی در بخش (۳-۱-۱۸) آمده است.

مقدار انحراف استاندارد نسبی برای ۵ اندازه‌گیری تکراری غلظت‌های ۰/۴۰ و ۰/۸۰ و ۳/۰ میکرو مولار به ترتیب برابر ۵/۰ و ۵/۰ و ۳/۰ درصد می‌باشد که نشان دهنده دقت خوب روش است.

مقادیر t نشان داده شده در جدول (۳-۱۳) بیانگر صحت روش است.

نتایج جدول (۳-۱۱) نشان می‌دهد که بیشتر گونه‌های خارجی در اندازه‌گیری پیروکسیکام مزاحم نیستند و روش از انتخابگری بالایی برخوردار است.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری پیروکسیکام در نمونه‌های حقیقی در جدول (۳-۱۴) و (۳-۱۵) آمده است که نتایج نشان می‌دهد که روش پیشنهادی دقت و صحت خوبی در اندازه‌گیری پیروکسیکام در نمونه‌های حقیقی دارد.

۴-۱-۲- مقایسه روش با سایر روش‌های موجود در اندازه‌گیری غلظت پیروکسیکام

در این بخش، روش پیشنهادی با سایر روش‌های انجام شده برای اندازه‌گیری پیروکسیکام مقایسه شده است که داده‌های مربوط به آن در جدول (۴-۱) آورده شده است.

این روش نسبت به سایر روش‌های گزارش شده از لحاظ هزینه‌ی روش، پیچیدگی، جنبه‌های زیست محیطی و سرعت دارای برتری می‌باشد. در مقایسه با روش‌های غیر سینتیکی روش‌های سینتیکی - اسپکتروفتومتری دارای حساسیت بالاتری بوده و به راحتی در شرایط آزمایشگاهی قابل انجام و کنترل می‌باشند و نمونه‌های زیادی را می‌توان در زمان کوتاهی اندازه‌گیری کرد. با توجه به داده‌های جدول (۴-۱) مشاهده می‌شود که نسبت به اغلب روش‌های آورده شده در جدول از جمله روش‌های ذکر شده در مراجع ۴، ۹، ۱۰، ۱۳، ۱۶، ۱۷، ۱۹، ۲۰ حد تشخیص روش بهبود یافته است و هم چنین دامنه‌ی خطی روش نسبت به روش‌های ذکر شده در مراجع ۴، ۱۰، ۱۶، ۱۷ و ۱۹ افزایش یافته و در این روش هیچ گونه مزاحمتی در اندازه‌گیری نمونه‌های دارویی مشاهده نشد.

جدول (۴-۱) مقایسه روش پیشنهادی با سایر روش‌های موجود برای اندازه‌گیری پیروکسیکام

سال	مراجع	ناحیه‌ی خطی ($\mu\text{g/ml}$)	حد تشخیص ($\mu\text{g/ml}$)	روش اندازه‌گیری
۲۰۰۰	۹	۳/۳۱-۳۳۱۳/۴۸	۰/۷۹۰	پتانسیومتری
۲۰۰۱	۱۰	۲/۴-۲۰	-	اسپکتروفتومتری-مشتقی
۲۰۰۲	۱۱	۰/۰۵۰-۶/۵		اسپکتروفتومتری
۲۰۰۳	۱۲	-	۰/۰۲	اسپکتروفلوئوریمتری
۲۰۰۵	۱۳	-	۶/۳۰	اسپکتروفتومتری
۲۰۰۷	۱۴	۰/۰۲۰-۳/۰	۰/۰۰۶۰	اسپکتروفلوئوریمتری
۲۰۰۸	۱۵	۰/۱۰۰-۰/۹۰۰ میکروگرم بر لکه	۴۵/۶ (نانوگرم)	کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا
۲۰۰۹	۱۶	۲/۰-۱۲	۰/۷۲	شیمی لومینسانس
۲۰۱۰	۱۷	۱/۰-۷/۰	۰/۱۴	کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا
۲۰۱۰	۱۸	۰/۰۱۶۰-۱۶/۶	۰/۰۰۸۳۰	الکتروشیمی
۲۰۱۱	۴	۲/۵-۷/۵	-	اسپکتروفتومتری
۲۰۱۲	۱۹	۰/۳۳۱-۴/۱۴	۰/۱۷۹	اسپکتروفتومتری-سینتیکی
۲۰۱۳	۲۰	۰/۲۰۰-۱۵۰	۰/۰۴۶۰	اسپکتروفلوئوریمتری
۲۰۱۵	کار حاضر	۰/۰۶۶-۰/۹۹	۰/۰۲۵	اسپکتروفتومتری-سینتیکی

۴-۱-۳- آینده‌نگری

۱- اندازه‌گیری مقادیر کم پیروکسیکام در نمونه‌های دارویی و بیولوژیکی با روش پیشنهادی و بسط واکنش‌های جدیدتر و استفاده از اکسندهای بهتر

۲- اندازه‌گیری نمونه‌هایی با خصوصیات مشابه پیروکسیکام که سبب بازداري واکنش متیل رد با سدیم پریدات می‌شود.

منابع و مراجع

- [1]. Banerjee R. and Chakraborty H. (2003) "Photophysical studies of oxicam group of NSAIDs piroxicam, meloxicam and tenoxicam" **Spectrochim. Acta, Part A.**, **59**, pp 1213–1222.
- [2]. Kormosh Z. A. and Hunka I. P. and Bazel Y. R. (2011) "Spectrophotometric determination of piroxicam" **J. Anal. Chem.**, **66**, 4, pp 378–386.
- [3]. Gholivand M. B. and Karimian N. (2011) "Development of piroxicam sensor based on molecular imprinted polymer modified carbon paste electrode" **Mater Sci. Eng.**, **31**, 8, pp 1844–1851.
- [4]. Dhage M. A. and Chhabra and Saurabh G. S. and Banerjee K. (2011) "Development and validation of UV-spectrophotometric method for piroxicam in bulk and pharmaceutical formulation" **J. Chem. Pharm. Res.**, **3**, 2, pp 765-769.
- [5]. Williamson C. M. (1983) "Clinical evaluation of piroxicam in acute musculoskeletal injuries seen in general practice" **Curr. Med. Res. Opin.**, **9**, 8, pp 622-625.
- [6]. خسروجردی ف، مرتضوی ن، (۱۳۸۵) "ایران فارما- دستنامه جامع داروهای رسمی ایران" جلد اول، چاپ دوم، مؤسسه فرهنگی انتشاراتی تیمورزاده، صفحه ۵۷.
- [7]. جاویدان ص، حاجی بابایی م، (۱۳۸۶) "راهنمای مصرف داروهای ژنریک ایران" چاپ سوم، نشر علوم دانشگاهی، صفحه ۳۸.
- [8]. نظری آ، جعفری ح، و اصلانی م، (۱۳۸۵) "رفرانس دارویی پزشکان" چاپ دوم، مؤسسه انتشاراتی بابازاده، تهران، صفحه ۶۱۵.
- [9]. Khalil S. and Borham N. and El-Ries M. A. (2000) "Piroxicam and tenoxicam selective membrane sensor" **Anal. Chim. Acta.**, **414**, 1-2, pp 215-219.
- [10]. Basan H. and Goger N. G. and Ertas N. and Orbey M. T. (2001) "Quantitative

determination of piroxicam in a new formulation (piroxicam- β -cyclodextrin) by derivative UVspectrophotometric method and HPLC” **J. Pharm. Biomed. Anal.**, **26**, **2**, pp **171– 178**.

[11]. Nagaralli B. S. and Seetharamappa J. and Melwanki M. B. (2002) “Sensitive spectrophotometric methods for the determination of amoxicillin, ciprofloxacin and piroxicam in pure and pharmaceutical formulations” **J. Pharm. Biomed Anal.**, **29**, **5**, pp **859– 864**.

[12]. Arancibia J. A. and Escander G. M. (2003) “Two different strategies for the fluorimetric determination of piroxicam in serum” **Talanta.**, **60**, **6**, pp 1113-1121.

[13]. Suntornsuk L. and Bunavitayakij P. and Pitayastienanan P. (2005) “Spectrophotometric method for the simultaneous determination of piroxicam and 2-aminopyridine” **Indian J. Chem.**, **44**, **4**, pp 737-740.

[14]. Bavili A. T. (2007) “A simple spectrofluorimetric method for determination of piroxicam and propranolol in pharmaceutical preparations” **J. Food Drug Anal.**, **15**, **3**, pp **242-248**.

[15]. Shirkhedkar A. A. and Shaikh A. M. and Surana S. J. (2008) “Simultaneous determination of paracetamol and piroxicam in tablets by thin layer chromatography combined with densitometry” **Eurasian J. Anal. Chem.**, **3**, **2**, pp **259-267**.

[16]. Murillo Pulgarin J. A. and Alanon Molina A. and Boras N. (2009) “Determination of piroxicam in pharmaceutical preparations by continuous flow chemiluminescence” **Anal. Methods.**, **2**, pp **76–81**.

[17]. Devkhile A. B. and Shaikh K. A. (2010) “Development and validation of LC method for simultaneous determination of piroxicam and paracetamol in new pharmaceutical formulation” **Pharm. Lett.**, **2**, **5**, pp **237-244**.

[18]. Shahrokhian S. and Jokar E. and Ghalkhani M. (2010) “Electrochemical determination of piroxicam on the surface of pyrolytic graphite electrode modified with a film of carbon nanoparticle-chitosan” **Microchim. Acta.**, **170**, **1-2**, pp **141–146**.

[19]. Arab M. C. and Bagherian G. and Mehrjoo S. (2012) “Determination of piroxicam in different pharmaceutical products by a simple kinetic procedure based on an

induction period effect” *Anal. Chem. Lett.*, **2**, **1**, pp 44 – 55.

[20]. Zeeb M. and Jamil P. T. and Berenjian A. Ganjali M. R. and Talei Babil Olyai M. R. (2013) “Quantitative analysis of piroxicam using temperature-controlled ionic liquid dispersive liquid phase microextraction followed by stopped-flow injection spectrofluorimetry” *Daru, J. Pharm. Sci.*, **21**, **63**, pp 1-8.

[21]. مجلسی ک، (1388) "شیمی فیزیک مهندسی شیمی" جلد اول، چاپ اول، انتشارات طرح و نشر هامون، تهران، ص 191.

[22]. پارسافر غ. ع، نجفی ب، (1387) "سینتیک شیمیایی (مبانی و کاربردها)" مرکز نشر دانشگاه صنعتی اصفهان، چاپ اول، ص 1-23.

[23]. سالک گیلانی ن، (1385) پایان نامه ارشد: "اندازه گیری سینتیکی - اسپکتروفتومتری تیوسیانات و آهن با استفاده از واکنش پریدات"، دانشکده شیمی، دانشگاه شاهرود.

[24]. باقریان دهقی ق، (1373) پایان نامه ارشد: "اندازه گیری مقادیر کم سلنیوم و تیو-سولفات به روش سینتیکی-اسپکتروفتومتری تیوسیانات و آهن با استفاده از واکنش پریدات"، دانشکده شیمی، دانشگاه صنعتی اصفهان.

[25]. عرب چم جنگلی م، (1376) پایان نامه ارشد: "اندازه گیری سینتیکی-اسپکتروفتومتری رودیم براساس اثر کاتالیزوری آن بر اکسایش نیل بلو به وسیله سدیم پریدات و روش تزریق جریان پیوسته"، دانشکده شیمی، دانشگاه اصفهان.

[26]. Christian G. D. Orelli J. E. (1986) “Instrumental analysis” 2th ed, Prentice-Hall.

[27]. اکبریان ع، (1386) پایان نامه کارشناسی ارشد: "اندازه گیری سینتیکی-اسپکتروفتومتری آسکوربیک اسید براساس اثر بازداری آن بر واکنش متیل رد با برومات"، دانشکده شیمی، دانشگاه شاهرود.

[28]. بهنژاد ح، (1388) "شیمی فیزیک" جلد اول، چاپ ششم، انتشارات پارسه، تهران، ص

152.

[29]. مهرجو ش، (1388) پایان نامه ارشد: "ارائه روش‌های جدید و حساس اسپکتروفوتومتری

برای تجزیه ترکیبات دارویی"، دانشکده شیمی، دانشگاه شاهرود.

[30]. عابدین ع، (1388) "شیمی فیزیک" جلد اول، چاپ دوم، انتشارات پوران پژوهش،

تهران، ص 247.

[31]. Perez B. D. and Silva M. (1988) "Kinetic methods in analytical chemistry", Ellis Horwood, Chichester, pp13-48.

[32]. Ingle J. D. and Grouch J. R. (1971) "Signal to noise ratio comparison of photomultipliers and phototubes", Anal. Chem. 43, pp 697.

[33]. Mottola H. A. (1998) "Kinetic aspects of analytical chemistry", Johan Wiley and sons, pp 81-83.

[34]. Manjuntha A. S. and Sukhdev A. (2013) "Oxidative decolorization of methyl red dye with chloramine -T- kinetic and mechanistic chemistry" **Indian J. Chem. Technol.**, 20, pp 416-422.

[35]. Khalid M. and Tawarah and Hakam M. (1991) "A spectrophotometric study of the acid-base equilibria of methyl red in aqueous solutions" **Dyes Pigm.**, 17, 3, pp 203-215.

[36]. Laitinen H. A. and Kenneth W. and Boyer (1972) "Simultaneous determination of bromine and chlorine with methyl orange" **Anal. Chem.**, 44, 6, pp 920-926.

ABSTRACT

A rapid, simple, sensitive, kinetic-spectrophotometric method has been developed for the determination of Piroxicam (PX) in pharmaceutical formulations. The method is based on the inhibition effect of PX on the reaction of sodium periodate-potassium bromide-methyl red (MR) in acidic media. The decolorization of methyl red by the reaction products was used to monitor the reaction spectrophotometrically at 518 nm. The proposed method provides a linear dynamic range of 0.20-3.0 μM , a limit of detection (LOD) of 0.077 μM and a relative standard deviation (RSD) for five replicate determinations of 0.40, 0.80, and 3.0 μM piroxicam are 5.0%, 5.0%, and 3.0%, respectively.



Shahrood University

Faculty of chemistry

**Kinetic-Spectrophotometric determination of piroxicam based on
its inhibitory effect on periodate-methyl red reaction**

Seyede Khadijeh Gholami Moghaddam

Supervisor

Dr.G. Bagherian Dehaghi

February 2015

