بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه بیرجند

دانشکده علوم

پایان نامه کارشناسی ارشد شیمی تجزیه

عنوان:

حسگر الکتروشیمیایی برای اندازه‌گیری آنتی بیوتیک‌ها بر پایه الکترودهای خمیری کربن اصلاح شده با پلیمرهای قالب‌گیری شده‌ی مولکولی

استاد راهنما:

دکتر سوسن صادقی بجد

نگارش:

علی مطهریان

تابستان ۹۰

چکیده

در قسمت اول این تحقیق، یک حسگر ولتامتری جدید، برای آنتی‌بیوتیک سولفاسالازین(SSZ) تهیه گردید که در این حسگر، از پلیمرهای قالب‌گیری شده‌ی مولکولی، به عنوان عنصر شناسایی استفاده شده است. هم پلیمر قالب‌گیری شده(MIP) و هم پلیمر قالب‌گیری نشده(NIP) سنتز شدند و سپس برای اصلاح الکترود خمیر کربن(CP) مورد استفاده قرار گرفتند. الکترودهای خمیر کربنی اصلاح شده با MIP و NIP (MIP-CP و NIP-CP) در یک فرآیند سه مرحله‌ای شامل، استخراج SSZ از محلول نمونه، شستشوی الکترود و سپس اندازه‌گیری الکتروشیمیایی مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج نشان داد که الکترود MIP-CP توانایی بسیار بیشتری را برای شناسایی سولفاسالازین، نسبت به NIP-CP نشان می‌دهد. اثر برخی از پارامترهای مؤثر بر پاسخ حسگر، از قبیل ترکیب الکترود، شرایط استخراج سولفاسالازین و شرایط اندازه‌گیری الکتروشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت و سپس منحنی کالیبراسیون رسم گردید. جریان پیک در محدوده‌ی $1/00 \times 10^{-8} - 1/00 \times 10^{-6}$ mol. L^{-1} با غلظت سولفاسالازین رابطه‌ی خطی نشان داد و حد تشخیص نیز برابر $4/62 \times 10^{-9}$ M بدست آمد. انحراف استاندارد نسبی برای پنج بار اندازه‌گیری محلول $1/00 \times 10^{-7}$M سولفاسالازین ۱/۴۳ ٪ بدست آمد. حسگر تهیه شده به طور موفقیت‌آمیزی برای اندازه‌گیری سولفاسالازین در نمونه‌ی قرص و سرم خون انسان مورد استفاده قرار گرفت.

در قسمت دوم تحقیق، با استفاده از پلیمرهای قالب مولکولی به عنوان عناصر شناسایی، یک حسگر ولتامتری گزینش‌پذیر برای آنتی‌بیوتیک سولفادیازین(SDZ) تهیه شد. MIP و NIP پس از سنتز، در تهیه‌ی الکترود خمیر کربن مورد استفاده قرار گرفتند. الکترود MIP-CP توانایی شناسایی بیشتری در مقایسه با NIP-CP نشان داد. برخی از پارامترهای مؤثر بر پاسخ حسگر بهینه گردیده و سپس منحنی کالیبراسیون رسم گردید. محدوده‌ی خطی، در فاصله‌ی $2/00 \times 10^{-5}$ M $- 2/00 \times 10^{-7}$ قرار داشت. حد تشخیص حسگر $1/35 \times 10^{-7}$ M محاسبه شد و انحراف استاندارد نسبی روش برای پنج بار اندازه‌گیری محلول $2/00 \times 10^{-6}$ M SDZ برابر ۲/۵۶ ٪ بود. در پایان حسگر تهیه شده برای اندازه-

گیری سولفادیازین در نمونه‌های سرم خون انسان و شیر مورد استفاده قرار گرفت که نتایج حاصل، بازیابی خوبی را نشان دادند.

کلید واژگان: پلیمر قالب‌گیری شده‌ی مولکولی، حسگر ولتامتری، آنتی‌بیوتیک، سولفاسالازین، سولفادیازین، الکترود خمیر کربن اصلاح شده.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

۱- ۱ اهمیت اندازه‌گیری داروها..... ۲

۱- ۲ روش‌های اندازه‌گیری داروها..... ۳

۱- ۳ روش‌های ولتامتری..... ۵

۱- ۳-۱ ولتامتری روبش خطی..... ۶

۱-۳-۲ ولتامتری چرخه ای..... ۷

۱-۳-۳ پالس ولتامتری تفاضلی..... ۸

۱-۳-۴ ولتامتری موج مربعی..... ۸

۱-۳-۵ روش های ولتامتری برهنه‌سازی..... ۱۰

۱-۳-۵-۱ ولتامتری با برهنه سازی آندی..... ۱۰

۱-۳-۵-۲ ولتامتری با برهنه سازی کاتدی..... ۱۱

۱-۳-۵-۳ برهنه سازی جذب سطحی..... ۱۱

۱-۴ آنتی‌بیوتیک‌ها..... ۱۲

۱-۴-۱ سولفونامیدها..... ۱۳

عنوان صفحه

۱-۴-۱-۱ شیمی سولفونامیدها ۱۳
۱-۴-۱-۲ مکانیسم اثر ۱۴
۱-۴-۱-۳ کاربردها ۱۵
۱-۴-۱-۴ اثرات جانبی ۱۵
۱-۴-۱-۵ روش‌های شناسایی و تعیین ۱۵

فصل دوم: پلیمرهای قالب مولکولی (اصول، روش‌های سنتز و کاربردها)

۲-۱ مقدمه ۱۸
۲-۲ فرآیند قالب‌گیری مولکولی ۱۹
۲-۳ روش‌های قالب‌گیری مولکولی ۲۱
۲-۴ اجزای پلیمر ۲۳
۲-۴-۱ مولکول الگو ۲۳
۲-۴-۱-۲ مونومر ۲۳
۲-۴-۳ اتصال دهنده ی عرضی ۲۴
۲-۴-۴ آغازگر ۲۶
۲-۴-۵ حلال ۲۷
۲-۵ روش های پلیمریزاسیون ۲۷

عنوان صفحه

۲-۵-۱ پلیمریزاسیون توده ای ۲۷

۲-۵-۲ پلیمریزاسیون تعلیقی ۲۸

۲-۵-۳ پلیمریزاسیون تورم چند مرحله ای ۲۸

۲-۵-۴ پلیمریزاسیون رسوبی ۲۹

۲-۵-۵ پلیمریزاسیون قالب‌گیری یکپارچه ۳۰

۲-۵-۶ الکترو پلیمریزاسیون ۳۰

۲-۶ کاربردهای پلیمرهای قالب مولکولی در شیمی تجزیه ۳۱

۲-۶-۱ روش های جداسازی ۳۱

۲-۶-۲ حسگرها ۳۱

۲-۷ حسگرهای متکی بر پلیمرهای قالب مولکولی ۳۴

۲-۷-۱ حسگرهای حساس به جرم ۳۵

۲-۷-۲ حسگرهای نوری ۳۵

۲-۷-۳ حسگرهای الکتروشیمیایی ۳۶

۲-۷-۳-۱ حسگرهای آمپرومتری ۳۷

۲-۷-۳-۲ حسگرهای هدایت سنجی ۳۸

۲-۷-۳-۳ حسگرهای پتانسیومتری ۳۸

عنوان صفحه

۲-۷-۳-۴ حسگرهای خازنی ۳۹

۲-۷-۳-۵ حسگرهای ولتامتری ۳۹

۲-۸ اندازه‌گیری به روش الکتروشیمیایی ۴۰

۲-۹ انواع الکترودهای کار در روش‌های الکتروشیمیایی ۴۲

۲-۹-۱ الکترودهای خمیر کربن(CPE) ۴۲

۲-۹-۲ الکترودهای اصلاح شده‌ی شیمیایی (CMEs) ۴۴

۲-۹-۲-۱ الکترودهای خمیر کربن اصلاح شده ۴۵

فصل سوم: تهیه‌ی حسگر ولتامتری جدید برای اندازه‌گیری آنتی‌بیوتیک سولفاسالازین در سرم خون و فرمولاسیون دارویی، با استفاده از الکترود خمیر کربن اصلاح شده با پلیمرهای قالب‌گیری شده مولکولی

۳-۱ مقدمه ۴۷

۳-۲ دستگاه‌ها و مواد مورد استفاده ۵۱

۳-۳ سنتز پلیمر قالب گیری شده ۵۲

۳-۴ تهیه‌ی الکترود خمیر کربن اصلاح نشده(CP) ۵۳

۳-۵ تهیه‌ی حسگر الکترود خمیر کربن اصلاح شده ۵۳

عنوان صفحه

عنوان صفحه

۳-۶ تهیه‌ی محلول غلیظ(استوک) ۵۴

۳-۷ تهیه‌ی بافر بریتون – رابینسون (BR) ۵۴

۳-۸ بررسی پاسخ حسگر تهیه شده نسبت به سولفاسالازین ۵۴

۳-۹ بهینه سازی پارامترهای مؤثر بر استخراج و آنالیز سولفاسالازین ۵۸

۳-۹-۱ بهینه‌سازی ترکیب الکترود خمیر کربن اصلاح شده با MIP ۵۸

۳-۹-۲ بهینه‌سازی pH استخراج ۶۰

۳-۹-۳ بهینه‌سازی سرعت هم‌زدن ۶۱

۳-۹-۴ بهینه‌سازی زمان استخراج ۶۲

۳-۹-۵ بهینه‌سازی pH آنالیز ۶۳

۳-۹-۶ بهینه‌سازی پارامترهای دستگاهی ۶۶

۳-۱۰ مشخصات تجزیه‌ای ۶۹

۳-۱۰-۱ رسم منحنی کالیبراسیون ۶۹

۳-۱۰-۲ ارقام شایستگی ۷۲

۳-۱۱ بررسی مزاحمت‌ها ۷۲

۳-۱۲ کاربرد حسگر تهیه شده در نمونه‌های حقیقی ۷۴

۳-۱۲-۱ قرص سولفاسالازین ۷۴

عنوان صفحه

۳-۱۲-۲ سرم خون ۷۶

۳-۱۳ بحث و نتیجه‌گیری ۷۷

فصل چهارم: تهیه‌ی حسگر ولتامتری جدید برای اندازه‌گیری آنتی‌بیوتیک سولفادیازین در سرم خون به وسیله‌ی الکترود خمیر کربن اصلاح شده با پلیمرهای قالب‌گیری شده‌ی مولکولی

۴-۱ مقدمه ۸۰

۴-۲ دستگاه‌ها و مواد مورد استفاده ۸۵

۴-۳ سنتز پلیمر قالب‌گیری شده ۸۶

۴-۴ تهیه‌ی الکترود خمیر کربن اصلاح نشده(CP) ۸۷

۴-۵ تهیه‌ی حسگر الکترود خمیر کربن اصلاح شده ۸۷

۴-۶ بررسی رفتار الکتروشیمیایی سولفادیازین و پاسخدهی حسگر تهیه شده ۸۸

۴-۷ بهینه سازی پارامترهای مؤثر بر استخراج و آنالیز سولفادیازین ۹۲

۴-۷-۱ بهینه سازی ترکیب الکترود خمیر کربن اصلاح شده با MIP ۹۳

۴-۷-۲ بهینه سازی pH استخراج و pH آنالیز ۹۴

۴-۷-۳ بهینه سازی سرعت هم‌زدن ۹۷

۴-۷-۴ بهینه سازی زمان استخراج ۹۸

عنوان صفحه

۴-۷-۵ بهینه سازی پارامترهای دستگاهی ۱۰۰
۴-۸ مشخصات تجزیه‌ای ۱۰۱
۴-۸-۱ رسم منحنی کالیبراسیون ۱۰۱
۴-۸-۲ ارقام شایستگی ۱۰۳
۴-۹ بررسی مزاحمت‌ها ۱۰۳
۴-۱۰ کاربرد حسگر تهیه شده در نمونه‌ی حقیقی ۱۰۴
۴-۱۰-۱ سرم خون ۱۰۴
۴-۱۰-۲ شیر ۱۰۵
۴-۱۱ بحث و نتیجه‌گیری ۱۰۶

فهرست اشکال

عنوان صفحه

شکل۱-۱. چگونگی اعمال پتانسیل بر حسب زمان و همچنین ولتاموگرام مربوط به تکنیک LSV.....۶

شکل۱-۲. چگونگی اعمال پتانسیل بر حسب زمان و همچنین ولتاموگرام مربوط به تکنیک CV.....۷

شکل۱-۳. چگونگی اعمال پتانسیل بر حسب زمان و همچنین ولتاموگرام مربوط به تکنیک DPV.....۸

شکل۱-۴. چگونگی اعمال پتانسیل بر حسب زمان و همچنین ولتاموگرام مربوط به تکنیک SW.....۹

شکل۱-۵. ساختار تعدادی از سولفونامیدها.....۱۴

شکل۲-۱. فرآیند قالب‌گیری مولکولی.....۲۰

شکل ۲-۲. فرآیند قالب‌گیری کووالانسی.....۲۱

شکل ۲-۳. فرآیند قالب‌گیری غیر کووالانسی.....۲۲

شکل۲-۴. مونومرهای عاملی عمومی مورد استفاده در فرآیند قالب‌گیری مولکولی غیر کووالانسی.....۲۴

شکل۲-۵. اتصال دهنده‌های عرضی متداول، در فرآیند قالب‌گیری غیر کووالانسی.....۲۵

شکل۲-۶. ساختار آغازگرهای مورد استفاده‌ی رایج، در فرآیند قالب‌گیری غیر کووالانسی.....۲۶

شکل۲-۷. حسگر شیمیایی بر پایه‌ی آنتی‌بادی(A) و حسگر مبتنی بر MIP (B).....۳۲

شکل۲-۸. شمای عمومی یک زیست حسگر.....۳۳

شکل۲-۹. a) پیشرفت حسگرهای مبتنی بر b MIP) توزیع حسگرها بر اساس نوع فرآیند شناسایی.۳۴

شکل۲-۱۰. شیوه‌های بکارگیری حسگرهای الکتروشیمیایی مبتنی برMIP.....۳۶

شکل۲-۱۱. نمودار یک پیل آزمایشی برای اندازه گیری‌های ولتامتری.....۴۰

شکل۳-۱. ساختار مولکول SSZ و مقادیر pKa گروه‌های عاملی آن.....۴۷

شکل۳-۲. ولتاموگرام چرخه‌ای محلول M ۴-۱۰×۵/۰۰ سولفاسالازین.....۵۵

شکل۳-۳. ولتاموگرام چرخه‌ای برای الکترودهای MIP-CP (a)، NIP-CP (b) و CP (c).....۵۶

شکل۳-۴. مقایسه‌ی پاسخ الکترودهای MIP-CP(a)، NIP-CP (b) و CP (c) با روش DPV.....۵۷

عنوان صفحه

شکل۳-۵. اثر نسبت گرافیت / MIP درپاسخ الکترود خمیری کربن اصلاح شده.....۵۹
شکل۳-۶. بهینه‌سازی pH محلول نمونه.....۶۰
شکل۳-۷. بررسی اثر سرعت همزدن.....۶۲
شکل۳-۸. بررسی اثر زمان استخراج.....۶۳
شکل۳-۹. بهینه‌سازی pH آنالیز ۶۴
شکل۳-۱۰. فرآیند کاهش گروه آزو در مولکول سولفاسالازین ۶۴
شکل۳-۱۱. اثر pH محلول آنالیز روی پتانسیل پیک کاهش سولفاسالازین.....۶۵
شکل۳- ۱۲. مقایسه بین پاسخ الکترودهای MIP-CP و NIP-CP با روش DPV. ۶۷
شکل۳-۱۳. A) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای سولفاسالازین در سرعت‌های اسکن مختلف.. B) نمودار جریان بر حسب جذر سرعت اسکن.....۶۸
شکل۳- ۱۴. ولتاموگرام‌های بدست آمده به روش DPV برای غلظت‌های مختلف SSZ ۷۰
شکل۳-۱۵. a) منحنی جریان بر حسب غلظت سولفاسالازین b) منحنی کالیبراسیون.....۷۱
شکل۳-۱۶. منحنی جریان بر حسب، غلظت استاندارد افزوده شده، برای نمونه‌ی قرص.....۷۵
شکل۴-۱. ساختار شیمیایی سولفادیازین و برخی از خواص فیزیکی آن.....۸۰
شکل۴-۲. ولتاموگرام چرخه‌ای سولفادیازین با استفاده از الکترود خمیر کربن،.....۸۸
شکل۴-۳. ساختار عمومی سولفونامیدها.....۸۹
شکل۴-۴. ولتاموگرام چرخه‌ای برای الکترودهای MIP-CP (a)، NIP-CP (b) و CP (c).....۹۰
شکل۴-۵. مقایسه‌ی پاسخ الکترودهای MIP-CP(a)، NIP-CP (b) و CP (c) با روش DPV.....۹۱
شکل۴-۶. مقایسه‌ی رفتار الکتروشیمیایی سولفادیازین در بافرهای فسفات(a)وBR (b).....۹۲
شکل۴-۷. اثر نسبت گرافیت / MIP درپاسخ الکترود خمیری کربن اصلاح شده.....۹۳
شکل۴-۸. بررسی اثر pH محلول نمونه، بر میزان استخراج SDZ.....۹۴

عنوان صفحه

شکل۴-۹. تعادل و درصد یونیزاسیون SDZ در pHهای مختلف.....۹۵

شکل۴-۱۰. بررسی نوع بافر استخراج.....۹۶

شکل۴-۱۱. بهینه‌سازی pH آنالیز. ۹۷

شکل۴-۱۲. بررسی اثر سرعت همزدن بر استخراج سولفادیازین. ۹۸

شکل۴-۱۳ بررسی اثر زمان، بر میزان استخراج از محلول SDZ ۹۹

شکل۴-۱۴. مقایسه بین جریان‌های بدست با روش DPV برای الکترودهای MIP-CP و NIP-CP در غلظت‌های مختلف SDZ در شرایط بهینه.....۱۰۱

شکل۴-۱۵. منحنی کالیبراسیون. ۱۰۲

فهرست جداول

عنوان صفحه

جدول۱-۱. طبقه‌بندی روش‌های طیف‌سنجی ۴

جدول۳-۱. دستگاه‌های مورد استفاده در انجام آزمایشات این پایان‌نامه ۵۱

جدول۳-۲. ترکیبات و مواد شیمیایی مورد استفاده ۵۱

جدول۳-۳. بررسی اثر پارامترهای دستگاهی بر اندازه‌گیری سولفاسالازین ۶۶

جدول۳-۴. بررسی اثر گونه‌های مزاحم در اندازه‌گیری سولفاسالازین ۷۳

جدول۳-۵. اندازه‌گیری SSZ در نمونه‌ی قرص سولفاسالازین ۷۵

جدول۳-۶. اندازه‌گیری SSZ در سرم خون ۷۶

جدول۳-۷. ویژگی‌های حسگر تهیه شده برای اندازه‌گیری سولفاسالازین ۷۷

جدول۳-۸. عملکرد حسگرهای مختلف بکار رفته برای اندازه‌گیری الکتروشیمیایی سولفاسالازین ۷۸

جدول۴-۱. دستگاه‌های مورد استفاده در انجام آزمایشات این پایان‌نامه ۸۵

جدول۴-۲. ترکیبات و مواد شیمیایی مورد استفاده ۸۵

جدول۴-۳. بررسی اثر پارامترهای دستگاهی بر اندازه‌گیری سولفادیازین ۱۰۰

جدول۴-۴. بررسی اثر گونه‌های مزاحم در اندازه‌گیری سولفادیازین ۱۰۴

جدول۴-۵. اندازه‌گیری SDZ در سرم خون ۱۰۵

جدول۴-۶. اندازه‌گیری SDZ در شیر ۱۰۵

جدول۴-۷. ویژگی‌های حسگر تهیه شده برای اندازه‌گیری سولفادیازین ۱۰۶

جدول۴-۸. مقایسه عملکرد حسگرهای مختلف برای اندازه‌گیری الکتروشیمیایی سولفادیازین ۱۰

فصل اول

مقدمه

۱-۱ اهمیت اندازه‌گیری داروها

داروها گروه بزرگ و متنوعی از ترکیبات آلی هستند که در غلظت‌های کم بسیار فعالند و در تشخیص، درمان ویا پیشگیری از بیماری‌ها یا سایر شرایط غیر طبیعی دیگر استفاده می‌شوند. با توجه به این که استفاده غیر مجاز و کنترل نشده داروها روز به روز در حال افزایش است، پیامدهای ناشی از آن، سبب ایجاد نگرانی جدی برای بهداشت عمومی شده است. برای مثال استفاده‌ی بیش از حد و سوء استفاده از آنتی‌بیوتیک ها سبب ایجاد مقاومت میکروبی شده است که نتیجه‌ی آن مشکل‌تر شدن روند درمان، طولانی شدن زمان بستری در مراکز درمانی و افزایش هزینه‌های درمانی در مقابل عفونت‌های معمولی می‌باشد. بعلاوه دفع خواسته و یا ناخواسته‌ی فاضلاب‌های صنعتی، بیمارستانی و خانگی سبب وارد شدن بقایای داروها به محیط زیست گشته است. همچنین استفاده افراطی از داروها در صنعت دام نیز ممکن است موجب وجود بقایای دارو در محصولات دامی، بیش از حد مجاز گردد[۱]. با توجه به این سازمان جهانی غذا و دارو، محدوده‌ی مشخصی را برای باقی مانده‌ی داروها از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها در مایعات زیستی(مثل سرم خون و ادرار)، محصولات خوراکی دامی و فاضلاب‌ها تعیین نموده‌اند. لذا اندازه‌گیری داروها در نمونه‌های آبی، غذایی و خون، به منظور پیشگیری و یا به حداقل رساندن عوارض فوق، حائز اهمیت می‌باشد.

۱-۲ روش‌های اندازه‌گیری داروها

روش‌های دستگاهی که برای آنالیز کمی در آزمایشگاه‌های دارویی به کار می‌روند، عمدتاً به چهار دسته‌ی اصلی شامل روش‌های کروماتوگرافی، اسپکتروفوتومتری، الکتروشیمیایی و آنالیزهای رادیوسنجی تقسیم‌بندی می‌شوند[۲].

تا کنون تکنیک‌های معمول به کار رفته در تعیین داروها در فرم‌های توده ای، فرمولاسیون دارویی و مایعات زیستی ، کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا(HPLC[۱]) [۳]،LC/Mass[۲][۴]، اسپکتروسکوپی[۵] و سنجش‌های میکروبیولوژی[۶] بوده است.

روش‌های کروماتوگرافی به آزمایش کننده اجازه مدهد که اجزای یک مخلوط پیچیده را از یکدیگر جداسازی و شناسایی کند. در تمام این روش‌ها یک فاز ساکن ویک فاز متحرک به کار می‌رود. اجزای سازنده‌ی مخلوط، به کمک جریان فاز متحرک بر اساس تفاوت در سرعت مهاجرت اجزای مختلف در فاز ساکن قادر به جداسازی هستند.

تکنیک‌های کروماتوگرافی را می‌توان به دو طریق دسته‌بندی کرد. اولین نوع دسته‌بندی بر اساس نحوه‌ی تماس فازهای متحرک و ساکن می‌باشد که به دو شکل ستونی و مسطح انجام می‌شود. در کروماتوگرافی ستونی، فاز ساکن در یک ستون قرار دارد که از داخل آن فاز متحرک تحت تأثیر نیروی فشار یا ثقل عبور داده می‌شود. در کروماتوگرافی مسطح، فاز ساکن بر روی یک صفحه‌ی مسطح قرار دارد و فاز متحرک از لابه‌لای فاز ساکن تحت اثر موئینگی و یا نیروی ثقل حرکت می‌کند. دسته‌بندی اساسی‌تر تکنیک‌های کروماتوگرافی بر پایه‌ی انواع فازهای متحرک و ساکن و انواع تعادل-های درگیر در انتقال مواد بین فازها می‌باشد. دو گروه عمومی‌تر از این دسته، کروماتوگرافی مایع و کروماتوگرافی گازی هستند. در میان روش‌های کروماتوگرافی مایع، روشHPLC گسترده‌ترین روش مورد استفاده در آنالیز نمونه‌های مختلف از جمله ترکیبات دارویی است.

1. High-performance liquid chromatography
2 . Liquid chromatography–-mass spectrometry

روش متداول در آنالیز دارو بر اساس تشخیص اولیه‌ی وجود بقایای دارو در نمونه‌ی مورد نظر، با استفاده از روش های کیفی یا نیمه کمی بوده و سپس برای اندازه‌گیری کمی، از تکنیک‌های کروماتوگرافی (گاز کروماتوگرافی[1] GC یا کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا کوپل شده با طیف سنجی جرمی(HPLC-Mass)) استفاده می‌شود. از آنجا که اکثر داروها به دلیل عدم فراریتشان، قبل از استفاده در آنالیز با GC باید مشتق سازی شوند، استفاده از HPLC-Mass متداول‌تر است[۸ و ۷].

طیف‌سنجی علمی است که به بررسی اثرات متقابل بین ماده و تابش الکترومغناطیس می‌پردازد و با شیوه‌های گوناگون مطالعه می‌شود. علائم طیفی که در روش‌های طیف‌سنجی اندازه-گیری می‌شوند، از پدیده‌های فیزیکی و شیمیایی مختلفی ناشی می‌گردند. چهار طبقه‌ی مهم از روش-های طیف‌سنجی بر مبنای کمیت مورد اندازه‌گیری در جدول ۱-۱ خلاصه شده‌اند[۹].

جدول ۱-۱. طبقه‌بندی روش‌های طیف‌سنجی

روش	کمیت مورد اندازه‌گیری	مثال
نشری	شدت تابش منتشر شده(P_E)	نشر شعله‌ای، نشر قوسی، نشر جرقه‌ای، نشر پلاسمایی
جذبی	جذب(A) یا منفی لگاریتم نسبت شدت تابش منتقل شده از نمونه به شدت تابش برخوردی به نمونه	جذب مولکولی فرابنفش – مرئی، جذب زیر قرمز، جذب اتمی
نورتابی	شدت تابش ساطع شده از نمونه (P_L)	فلورسانس مولکولی، فسفرسانس مولکولی، فلورسانس اتمی، نورتابی شیمیایی
پراکندگی غیر مسقیم	شدت تابش پراکنده شده به وسیله‌ی نمونه شدت امواج صوتی	پراکندگی رامان، پراکندگی رایلی فوتواکوستیک

بسیاری از ترکیات دارویی، بسته به نوع برهمکنشی که با تابش الکترومغناطیس دارند، با یکی از روش‌های اشاره شده در جدول ۱-۱ قابل شنایایی و اندازه‌گیری می‌باشند. همچنین از طیف‌سنجی به طور بسیار گسترده‌ای به عنوان آشکارساز در انواع مختلفی از روش‌های تجزیه‌ای از جمله روش‌های کروماتوگرافی (به ویژه در آنالیز داروها) استفاده شده است.

در روش‌های رادیوشیمیایی، اشعه حاصل از هسته اتم ماده رادیواکتیو ، می‌تواند برای دستیابی به اطلاعات تجزیه‌ای نمونه‌ی مورد مطالعه استفاده شود. این روش‌ها بر اساس مبدأ پرتوزایی

1 . Gas chromatography

به سه دسته‌ی، روش‌های فعالسازی، روش‌های رقیق‌سازی ایزوتوپی و روش‌هایی که در آنها مستقیماً از ترکیبات پرتوزا استفاده شده، طبقه‌بندی می‌شوند. [۱۰].

مشکلی که در روش‌های فوق با آن مواجه می‌شویم، نیاز آنها به تجهیزات گران قیمت، پرسنل آموزش دیده و مراحل پیچیده‌ی آماده سازی نمونه است. بنابر این نیاز به یک روش ساده، سریع، ارزان و در عین حال حساس است. استفاده از روش های مختلف الکتروشیمیایی با بکارگیری الکترودهای مناسب جایگزین خوبی برای این منظور است[۱۱و۱۲]. در سال‌های اخیر استفاده از الکترودهای مختلف از قبیل الکترودهای جیوه، الکترودهای جامد و الکترودهای اصلاح شده برای تجزیه‌ی الکتریکی داروهای الکتروفعال افزایش یافته است[۱۳].

Ozkan و همکارانش تکنیک‌های جدید الکتروشیمی تجزیه‌ای(پتانسیومتری و ولتامتری) را که در آنالیز داروها و مایعات زیستی در محدوده‌ی سال‌های ۱۹۹۵ تا ۲۰۰۰ انجام شده، مرور کرده اند[۱۴]. همچنین Gupta و گروهش نیز کارهای انجام شده با روش‌های ولتامتری در اندازه‌گیری دارو ها را در محدوده‌ی سال‌های ۲۰۰۱ تا ۲۰۱۰ بررسی نموده‌اند[۱۳].

در میان روش‌های الکتروشیمیایی، روش‌های ولتامتری به صورت گسترده‌ای در آنالیز داروها به کار رفته‌اند. در این تحقیق نیز از روش‌های ولتامتری برای آنالیز داروهای مورد مطالعه استفاده شده است. بنابراین در ادامه اصول روش ولتامتری و انواع تکنیک‌های آن بیان شده‌اند.

۱-۳ روش‌های ولتامتری

ولتامتری روشی است که در آن پتانسیل اعمال شده به الکترود کار را، با برنامه‌ی خاصی تغییر داده و تغییرات شدت جریان دنبال می‌شود. در این رو ش‌ها، می توان با اعمال پتانسیل‌هایی خاص، گونه‌های موجود در محلول که قابلیت اکسایش و یا کاهش داشته باشند را اندازه‌گیری نمود. در صورتیکه که سرعت فرآیند انتقال الکترون گونه‌ی مورد بررسی مناسب باشد، می‌توان به بررسی الکتروشیمیایی مستقیم گونه پرداخت و اگر گونه‌ی مورد نظر الکترواکتیو نباشد باید از روش‌های غیر مستقیم برای این منظور استفاده نمود.