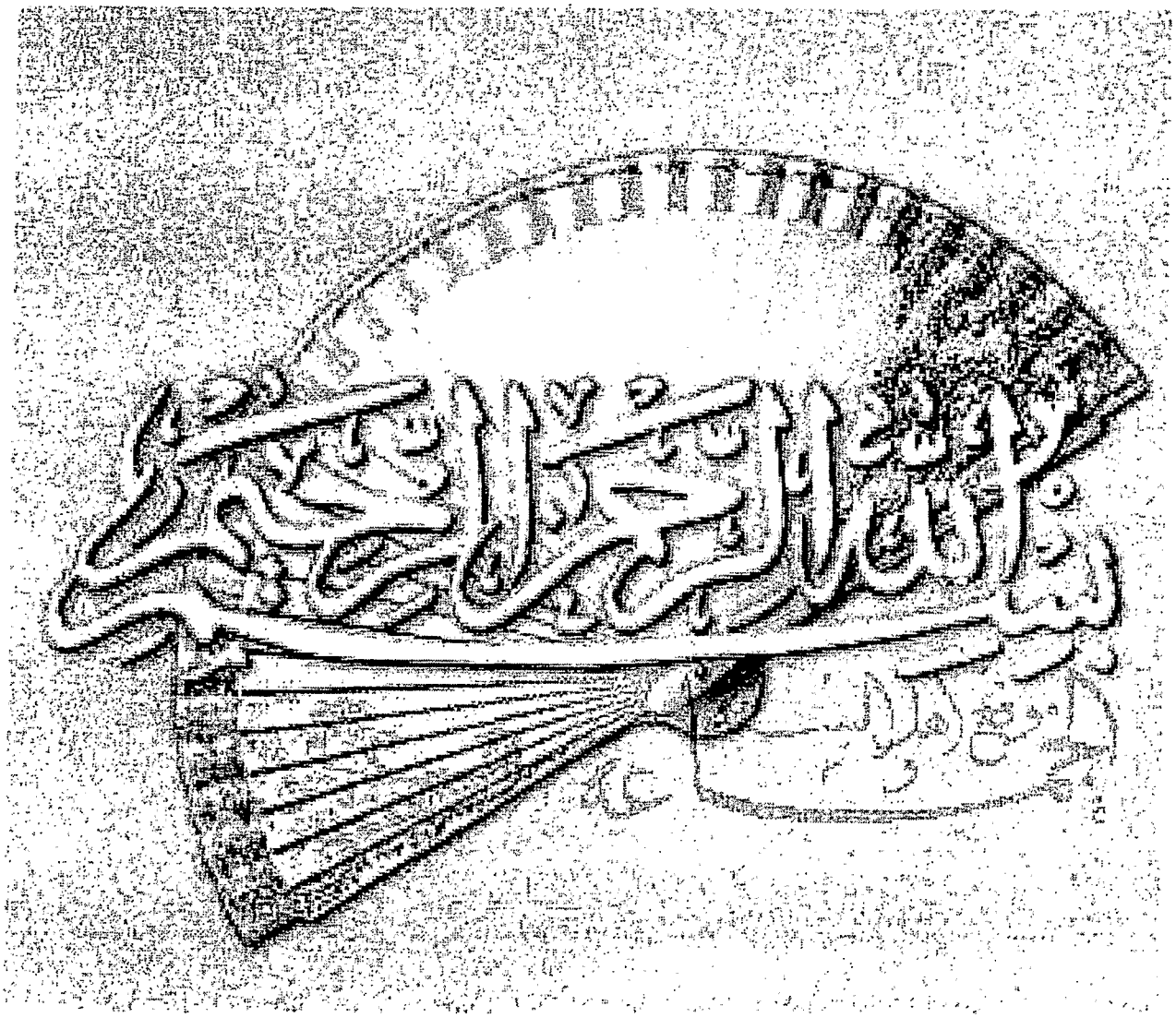


١٩٥١٤

دانشگاه شهید بهشتی

دانشکده علوم

گروه شیمی

پایان نامه:

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد شیمی (شیمی فیزیک)

موضوع:

بررسی تأثیر حلال بر ثابت اتوپروتولیز و ثابت های پروتونه شدن تریپتوفان در مخلوط حلال های آب / اتانول

استاد راهنما:

دکتر فرخ قریب

۱۳۸۸/۱۰/۲۷

مرکز اطلاعات مدارک علمی ایران
قسمت مدارک

دانشجو:

فاطمه بهمنی

بهمن ۸۷

۱۲۹۵۱۴

تاریخ .....
شماره .....
پیوست.....

دانشگاه شهید بهشتی

بسمه تعالی

«صورتجلسه دفاع پایان نامه دانشجویان دوره کارشناسی ارشد»

ران ۱۹۸۳۹۶۳۱۱۳ اوین
ن: ۲۹۹۰۱

بازگشت به مجوز دفاع شماره ۲۰۰/۶۵۵۰/د مورخ ۲۹ / ۱۰ /۸۷ جلسه هیأت داوران ارزیابی پایان نامه خانم فاطمه بهمنی به شماره شناسنامه ۴۱۵۰ صادره از تهران متولد ۱۳۶۰ دانشجوی دوره کارشناسی ارشد ناپیوسته رشته شیمی – شیمی فیزیک

با عنوان :

تاثیر حلال بر ثابت اتوپرولیز آب و ثابت های پروتونه شدن تریپتوفان در مخلوط حلال های آب / اتانول

به راهنمائی:

آقای دکتر فرخ قریب

طبق دعوت قبلی در تاریخ ۸۷/۱۱/ ۹ تشکیل گردید و براساس رأی هیأت داوری و با عنایت به ماده ۲۰ آئین نامه کارشناسی ارشد مورخ ۷۵/۱۰/۲۵ پایان نامه مزبور با نمره ۱۹/۰ درجه عالی مورد تصویب قرار گرفت.

۱ -استاد راهنما:آقای دکتر فرخ قریب

۲- استاد مشاور: ----------

۳- استاد داور: آقای دکتر سید ابوالفضل سید سجادی

۴- استاد داورونماینده تحصیلات تکمیلی : آقای دکتر کریم زارع

۵- معاون آموزشی و تحصیلات تکمیلی دانشکده : خانم دکتر زهره حبیبی کرهرودی

تقدیم به پدر عزیزم

که اسوهٔ تلاش و نیک اندیشی است

و

مادر مهربانم

که مصداق صداقت و فداکاری است

آن دو شاهد نگران اما امیدوار

خسته اما

همراه در راهی که با سرانگشت مهر

از آن خار زدوده

و با آب دیده هموارش کرده بودند

محبتی که جبرانش را میسر نمی دانم

و

تقدیم به برادران عزیزم

که

یاریشان موجب دلگرمی ام بوده است

سپاس خدای را که برتر است به قدرت و نزدیک است از جهت عطا و نعمت.

او را سپاس گویم که اصل ذاتش فیض و جود و بخشش است و نعماتش فراگیر است و بی خواهش.

بدو ایمان دارم چرا که از هر چیز بیش است و هستی او به خویش است.

از او راه می جویم که نزدیک است و راهبر و از او یاری می خواهم که تواناست و چیره گر.

بر او تکیه می کنم که بسنده است یاور

تقدیر و تشکر

اگر در خود میل و رغبت به نوشن یافتی ، باید در تو علم و هنر سادگی و جادوی دوست داشتن آن هایی که نوشته هایت را می خوانند وجود داشته باشد (جبران خلیل جبران)

ابتدا سپاس می گویم پروردگار مهربانم را که مرا در آغاز و انجام این مسیر صعب یاری رساند و لحظه ای مرا از الطاف بیکرانش بی نصیب نگذاشت.

تقدیر و سپاس ویژه ٔ خود را تقدیم استاد بزرگوارم جناب آقای دکتر قریب می نمایم که در طی دوره ٔ تحصیل در این مقطع و تکمیل مراحل این پروژه با صبر و مهربانی از کوتاهی هایم چشم پوشیدند و همراهم بودند و همواره قدردان زحمات بی شایبه ٔ ایشان خواهم بود.

سپاسگزار استاد گرانقدر جناب آقای دکتر سید سجادی هستم که با وجود مشغله ٔ فراوان و فرصت اندکی که برای مطالعه ٔ پایان نامه داشتند قبول زحمت فرموده ،داوری پایان نامه ٔ اینجانب را به عهده گرفتند و به جلسه ٔ دفاع از پایان نامه تشریف فرما شدند.

از جناب آقای دکتر زارع که داوری پایان نامه ام را عهده دار شدند نهایت تشکر را دارم.

از تمامی دوستان و هم آزمایشگاهی های عزیزم که در طول این دوره همراه و پشتیبانم بودند سپاسگزارم.

از آقای علی فرج تبار که همواره در موارد لزوم و مواقع مقتضی از راهنمایی های دلسوزانه و ارزندهٔ ایشان بهره مند شده ام بسیار سپاسگزارم.

قدردانی خاص خود را نسبت به دوست عزیزم خانم سمانه ٔ ترکمن که خالصانه و صمیمانه به قصد یاری دست دوستی پیش آوردند ،ابراز می دارم.

سپاس و تقدیر ویژه ای را تقدیم به پدر و مادر عزیزم می نمایم که همواره یار و یاورم بودند و بدون وجود عزیزشان طی این مرحله برایم میسر نبود.

در نهایت سپاسگزار تمامی عزیزانی هستم که مجال این تجلی را از من دریغ نکردند.

چکیده:

در تحقیق حاضر، ثابت های اتوپروتولیز آب و همچنین ثابت های ماکروسکوپیک پروتونه شدن تریپتوفان در مخلوط حلال های آب- اتانول (0-80%)،در دمای ثابت ($25\pm0/1^{\circ}C$) اندازه گیری شده است. ثابت های تعادل به روش پتانسیومتری در قدرت یونی ثابت(۰/۱M) محلول پرکلرات سدیم ($NaClO_4$)با استفاده از روش(fitting) محاسبه گردید. مشاهدات حاکی از این است که ثابت های تعادل به طور مستقیم با ترکیب حلال رابطه دارند.

نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که با افزایش درصد اتانول (حلال آلی) مقدار pK_w مربوط به اتوپروتولیز آب، به‌طور منظم روند افزایشی دارد. در مورد ثابت های پروتونه شدن تریپتوفان مقادیر $logK_2$ ابتدا (تا ۴۰٪ اتانول) روند کاهشی و سپس روند افزایشی نشان می‌دهند. همچنین به سبب حلال پوشی بیشتر گونه H_2A^+ نسبت به $HA^{\pm}$ در حلال اتانول، با افزایش جزء مولی اتانول در مخلوط حلال، مقادیر $logK_1$ به‌طور منظم روند افزایشی خواهند داشت.

با بررسی اثر حلال بر ثابت های پروتونه شدن α-آمینو اسیدها می‌توانیم به‌طور همزمان نوع گونه غالب (یون دوقطبی/ خنثی) و نیز تغییرات گونه های یون-دوقطبی ($HA^{\pm}$) به فرم خنثی (HA) را در مخلوط حلال های آلی-آبی با افزایش جزء آلی تخمین بزنیم. با توجه به داده های به‌دست آمده مشخص شده است که فرم یون دوقطبی آمینو اسیدها($HA^{\pm}$) در pH ایزو الکتریک ،فرم کاتیونی (H_2A^+) در pH های پایین و فرم آنیونی در Ph های بالا در مخلوط حلال غالب است.در نهایت ارتباط بین ثابت های اتوپروتولیز (pK_w) و ثابتهای پروتونه شدن(K_1 و K_2) تریپتوفان با پارامتر های حلال پوشی کملت_تافت (قدرت پروتون دهندگی(α)، قدرت پروتون گیرندگی(β) و قطبیت حلال (π^*)) و تأثیر هر کدام مطالعه شده است.

فهرست

عنوان صفحه

فصل اول : تریپتوفان، خواص بیولوژیکی و کاربرد ها

۱-۱- آمینو اسید ها ۲
۱-۱-۱- معرفی و بررسی ساختار آمینو اسید ها ۲
۱-۱-۲- خواص آمینو اسید ها ۵
۱-۱-۳-طبقه بندی آمینو اسید ها ۶
۱-۱-۴-استرئو شیمی آمینو اسید ها ۸
۱-۲- تریپتوفان ۹
۱-۲-۱- تاریخچه ۹
۱-۲-۲- ویژگی ها ۱۱
۱-۲-۳- ساختار ۱۲
۱-۲-۴- عملکرد ۱۲
۱-۲-۵- تولید صنعتی و سنتز بیولوژیکی ۱۴
۱-۳- تریپتوفان و علم پزشکی ۱۵
۱-۳-۱- تریپتوفان در بدن ۱۵
۱-۳-۱-۱- تریپتوفان و EMS (سمیت تریپتوفان) ۱۵
۱-۳-۱-۲- تریپتوفان و فعالیت سروتونین (نقش ضد افسردگی تریپتوفان) ۱۷
۱-۳-۱-۳- تریپتوفان و خواب ۱۸
۱-۳-۱-۴- نقش تریپتوفان در جنون ۱۹
۱-۳-۱-۵- استفاده های عمومی تریپتوفان ۱۹
۱-۳-۲- منابع غذائی تریپتوفان ۲۱

عنوان صفحه

۱-۳-۳- موارد استفادهٔ داروئی تریپتوفان ۲۱

فصل دوم: عوامل موّثر بر ثابت تعادل، بررسی روش پتانسیومتری در تعیین ثابت های تعادل

۲-۱- ثابت های تعادل ۲۴

۲-۱-۱- خاصیت عمومی سیستم های ۲۴

۲-۲- روش های اندازه گیری ثابت های تفکیک ۲۵

۲-۳- اثر دما بر ثابت تفکیک ۲۶

۲-۴- اثر قدرت یونی بر ثابت تفکیک ۲۷

۲-۵- مطالعات پتانسیومتری در اندازه گیری ثابت های تعادل ۳۲

۲-۵-۱- سابقهٔ تاریخی ۳۲

۲-۵-۲- اصول اندازه گیری های پتانسیومتری ۳۴

۲-۵-۳- معرفی انواع الکترود های مورد استفاده در سنجش ۳۹

۲-۵-۴- تیتراسیون های پتانسیومتری ۴۰

۲-۵-۵- تعیین نقطهٔ پایانی در تیتراسیون های پتانسیومتری ۴۰

۲-۵-۶- کالیبراسیون الکترود شیشه ۴۱

فصل سوم : تأثیر حلال بر ثابت های پروتونه شدن در مخلوط های دوتائی حلال

۳-۱- حلال پوشی ۴۴

۳-۲- قطبیت حلال ۴۵

۳-۳- کاربرد های پارامترهای قطبیت حلال ۴۹

۳-۴- حلال پوشی انتخابی ۵۰

دانشگاه شهید بهشتی

عنوان صفحه

۳-۵- طبقه بندی حلال ها ۵۱

۳-۶- pH و pK_a در حلال های غیر آبی ۵۵

۳-۷- مطالعه و بررسی ثابت های اتوپروتولیز در مخلوط های دوتائی آب / الکل به روش پتانسیومتری ۵۶

۳-۷-۱- ثابت های اتوپروتولیز در مخلوط های آب / الکل ۵۷

۳-۸- مطالعه تعادل ها و ثابت های پروتونه شدن آمینو اسید ها در مخلوط حلال ها ۵۹

۳-۸-۱- ثابت های ماکروسکوپیک آمینو اسید ها در مخلوط آب / اتانو ۶۰

۳-۸-۲- تعادل پروتونه شدن میکروسکوپیک و توتومری آمینو اسید ها ۶۱

فصل چهارم : مروری بر مطالعات گذشته ۶۶

فصل پنجم : بخش تجربی

۵-۱- مواد شیمیائی ۸۵

۵-۲- وسایل مورد استفاده ۸۵

۵-۳- دستگاه های مورد استفاده ۸۵

۵-۴- نحوه ٔ محلول سازی ۸۶

۵-۵- تعیین مولاریته ٔ اسید ($HClO_4$) ۸۶

۵-۶- تعیین ثابت های اتوپروتولیز در ترکیب درصد های مختلف آب / اتانول ۸۷

۵-۷- تعیین ثابت های پروتونه شدن تریپتوفان در ترکیب درصد های مختلف آب / اتانول ... ۱۱۹

فصل ششم : بحث و نتیجه گیری

۶-۱- محاسبهٔ $\overline{n}$ تجربی و محاسباتی برای تعادل پروتونه شدن تریپتوفان ۱۳۴

۶-۲- نتجه گیری نهائی ۲۰۸

منابع ۲۱۰

فصل اول

تریپتوفان ،خواص

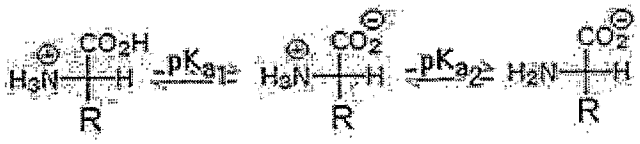
بیولوژیکی وکاربردها

۱-۱-آمینو اسیدها

۱-۱-۱-معرفی و بررسی ساختار آمینو اسیدها

آمینو اسیدها واحدهای سازندهٔ پروتئین‌ها هستند؛ به بیانی دیگر تمام پروتئین ها پلیمرهایی از آمینو اسیدها هستند[۱] . بیش از بیست نوع آمینو اسید وجود دارد[۲]. تغییر pH یونیزاسیون آمینو اسیدها را تحت تأثیر قرار می دهد؛ به‌عبارت دیگر بار آمینو اسیدها با تغییر pH تغییر می‌کند[۲] .

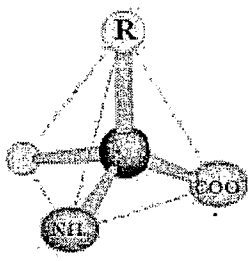
(بار منفی) یون دوقطبی(بدون بار) (بار مثبت)

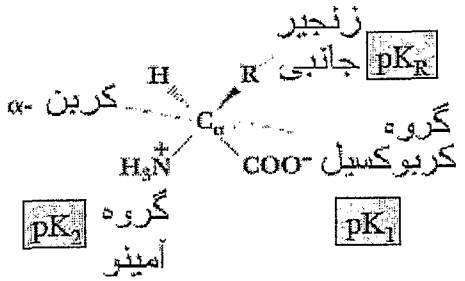


افزایش pH

(شمای ۱-۱)

اغلب آمینو اسیدها ساختار چهار وجهی (تتراهدرال) دارند (شمای ۱-۲)[۲و۱].





(شمای ۱-۲)

(۱) بیست گروه R (استخلاف آلی) وجود دارند که می توانند گسترهٔ وسیعی از آمینو اسیدها را تشکیل دهند.

(۲) آمینو اسیدها حداقل می توانند دو پروتون از دست بدهند لذا حداقل دارای دو ثابت تفکیک می باشند.به طور تقریبی ثابت تفکیک گروه کربوکسیل در حدود ۲/۲ و ثابت تفکیک گروه آمین در حدود ۲/ ۹می باشد[۱] .

(۳) آمینو اسیدها دارای هر دو گروه آمینو و کربوکسیلیک هستند و هر دو گروه آمینو یا کربوکسیلِ آمینو اسیدها، قابل یونیزه شدن هستند. در pH ایزو الکتریک، تعداد بار مثبت گروه آمونیم پروتونه شده و بار منفی گروه کربوکسیل پروتون زدائی شده برابر است در نتیجه آمینو اسید هیچ باری حمل نمی‌کند و یون دوقطبی[1] خوانده می‌شود (این لغتِ از واژه ٔ آلمانی Zwitter به معنای هیبرید گرفته شده است). یون دوقطبی ها در فاز جامد و در محلول های قطبی مانند آب (بسته به میزان pH) وجود دارند ولی در فاز گازی یافت نمی شوند.با تغییر در pH گروه آمینوِ (NH2) آمینو اسید ممکن است پروتون بپذیرد و تبدیل به NH_3^+ شود و گروه کربوکسیل (-COOH) ممکن است پروتون بدهد و تبدیل به COO^-- شود [۲و۱].

(۴) هر آمینو اسید می‌تواند به‌صورت اسید یا باز عمل کند که این اختلاف در عملکرد به pH محلول بستگی دارد و گونه‌های دارای این خاصیت "آمفولیت"[2] خوانده می‌شوند[۱] .

(الف) در pH پایین (اسیدی): آمینو اسید به صورت کاتیون NH_3^+,COOH است (آمینو اسید حاوی بار مثبت است)

(ب) در pH بالا (بازی): آمینو اسید به صورت آنیون NH_2,COO^- است(آمینو اسید حاوی بار منفی است)[۲] .

1.Zwitter ion

2.Ampholyte

(۵) pH ایکه آمینو اسید حاوی هیچ باری نیست (یا به صورت یون دوقطبی است)، pI (نقطه ایزوالکتریک) خوانده می‌شود که مقادیر pI وابسته به قدرت اسیدی است (رابطهٔ ۱-۱) [۲و۱]:

$$pI = (pKa_1 + pKa_2)/2 \qquad (۱-۱)$$

pKa_1 و pK_{a2} در حقیقت ثابتهای اسیدی برای آمینو اسیدهایی هستند که زنجیر جانبی قابل یونیزه شدن ندارند (K_{a1} و K_{a2} ثابتهای تفکیک آمینو اسید هستند). pK_{a1} و pK_{a2} برای آمینو اسیدهایی که زنجیر جانبی قابل یونیزه شدن دارند، می‌تواند pK_R باشد که بستگی به نوع آمینو اسید دارد مانند لیزین[1]. [۲].

$$^{+}H_3N-CH_2-COOH \underset{\text{پروتوندارشدن}}{\overset{\text{تفکیک}}{\rightleftharpoons}} {}^{+}H_3N-CH_2-COO^{-}+H^{+}$$

گلایسین

اسید

$pK_{a1}=2.3$

$^{+}H_3N-CH_2-COO^{-}$: باز مزدوج

(شمای ۱-۳)

واکنش تعادلی تفکیکی گروه آمینو با ثابت K_{a1} در pH بالا اتفاق می‌افتد (شمای ۱-۴).

$$^{+}H_3N-CH_2-COO^{-} \underset{\text{پروتوندارشدن}}{\overset{\text{تفکیک}}{\rightleftharpoons}} H_2N-CH_2-COO^{-}+H^{+}$$

گلایسین

$pK_{a2}=9.6$

$H_2N-CH_2-COO^{-}$: باز مزدوج

(شمای ۱-۴)

[1] Lysin

معادلهٔ هندرسون-هاسل باخ[1] (رابطه ۱-۲):

$$pH = pK_a + \log \frac{[\text{فرم قلیایی}]}{[\text{فرم اسیدی}]}$$

(رابطه ۱-۲)

به عنوان مثال برای گلایسین :

در pH بالا:

$$pH=pK_{a_2}+\log\frac{[H_2N\text{-}CH_2\text{-}COO^-]}{[^+H_3N\text{-}CH_2\text{-}COO^-]}$$

درpH پایین:

$$pH=pK_{a_1}+\log\frac{[^+H_3N\text{-}CH_2\text{-}COOH]}{[^+H_3N\text{-}CH_2\text{-}COO^-]}$$

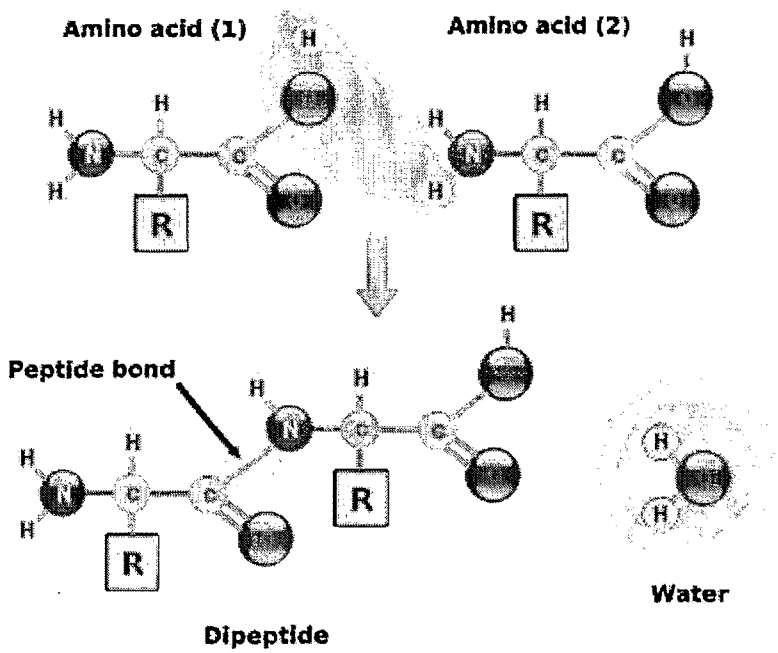
۱-۱-۲-خواص آمینو اسیدها

(۱) آمینو اسیدها به عنوان اسیدهای ضعیف در محلولهای آبی عمل می‌کنند.

(۲) آمینو اسیدها ویژگی‌های ترکیبات یونی با نقطهٔ ذوب بالا را دارند. آمینو اسیدها در آب و حلالهای قطبی به خوبی حل می‌شوند ولی در حلال‌های آلی به سختی حل می‌شوند.

(۳) تشکیل باند پپتیدی (شمای ۱-۵):

[1].Henderson_Hasselbach



(شمای ۱-۵)

پیوند کربن- نیتروژن حاصل بین دو آمینو اسید الحاقی که با خروج یک مولکول آب همراه است، پیوند پپتیدی(امگا[۱] ω) است.[۲]

۱-۱-۳- طبقه بندی آمینو اسیدها

بیش از بیست نوع آمینو اسید ، گستره وسیعی از پروتو ئین ها را تشکیل می دهند.

بیست آمینو اسید موجود در پروتئین ها عبارتند از: گلایسین (Gly) ،L-آلانین (Ala)، L-والین (Val) ، L-لوسین (Leu) ، L-ایزو-لوسین (Ile) ،L- فنیل آلانین (Phen)، L- تیروزین (Thy) ، L- تریپتوفان (Trp)، L- متیونین (Met)، L- سیستئین (Cys) ، L- سرین (Ser) ، L- ترئونین (Thr) ،L-آرژنین (Arg) ، L- لیزین (Lys)، L- هیستدین (His)، L- پرولین (Pro)، L- گلوتامیک اسید(Gl)، L-- آسپارتیك اسید (Asp)، L- گلوتامین (Gln)، L-آسپاراژین (Asn).

[۱] .Omega peptide bond

زنجیرهای جانبی آمینو اسیدها از لحاظ اندازه متفاوت هستند به طوری که گستره ٔ آن ها از هیدروژن در گلایسین وگروه متیل در آلانین تا یک گروه هتروسیکل در تریپتوفان متغیر است. می توان آمینو اسید ها را بر اساس زنجیر جانبی شان طبقه بندی نمود:

(۱) غیر قطبی

(۲) قطبی - بدون بار (در pH فیزیولوژیک)

(۳) قطبی باردار

قطبیت یک خاصیت فیزیکی است و نشان می دهد چگونه الکترونهای پیوندی بین اتمها توزیع می‌شوند. پدیده ٔ قطبیت سایر خواص فیزیکی مانند پیوند هیدروژنی، نقطهٔ ذوب و نقطهٔ جوش را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

(۱) **آمینو اسیدهای غیر قطبی:** شامل گلایسین، آلانین، والین، لوسین، ایزولوسین، متیونین، فنیل آلانین، پرولین و تریپتوفان می‌باشند.از این میان آلانین، والین، لوسین و ایزولوسین حاوی گروه‌های R هیدروکربن اشباع هستند.

پرولین ساختار حلقه‌ای (با حلقهٔ ۵ عضوی) دارد و فنیل آلانین و تریپتوفان آروماتیک هستند.

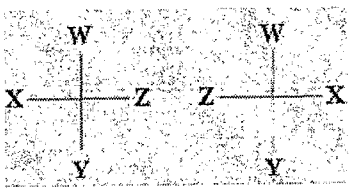
(۲) **آمینو اسیدهای قطبی بدون بار:** شامل سرین، ترئونین، سیستئین، تیروزین، آسپاراژن و گلوتامین هستند. تیروزین ترکیبی آروماتیک با ساختار شبه بنزن است. سرین و ترئونین زنجیرهای جانبی قطبی- بدون بار دارند. گروههای الکلی سرین و ترئونین به آن‌ها خاصیت آب-دوستی می‌دهد.

(۳) **آمینو اسیدهای قطبی باردار:** شامل دو آمینو اسید آسپاراژین و گلوتامیک اسید ، کربوکسیلیک اسیدهایی هستند که در pH فیزیولوژی، $[H^+]$ آزاد می‌کنند و قابل یونیزه شدن هستند. برخی از

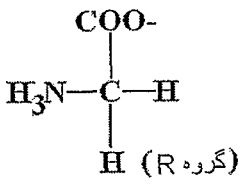
هستند. برخی از آمینو اسیدها و مشتقات آمینو اسید در پروتئین یافت نمی‌شوند ولی از لحاظ بیولوژیکی بسیار مهم هستند، مانند اپی نفرین، سروتونین و هیستامین [۲و۱] .

۱-۱-۴- استرئوشیمی آمینواسیدها

آمینو اسیدها کایرال هستند و کربن آن‌ها در مرکز کایرال است زیرا ۴ گروه متفاوت به کربن α پیوند داده شده است. تنها استثناء در این میان گلایسین است که به جای گروه R (زنجیر جانبی) شامل اتم هیدروژن است. گلایسین ساده ترین آمینو اسید است (شمای ۱-۶).



طرح فیشر



گلایسین

(شمای ۱-۶)

(الف) استرئوایزومری/ کایرالیته: استرئوایزومریزاسیون جهت گیری گروه‌های عاملی را نسبت به مولکول نشان می‌دهد. قرار گرفتن چهار گروه مختلف پیرامون اتم کربن آلفا، خاصیت فعالیت نوری (ایزومری نوری) به مولکول می‌بخشد. همانطور که می‌دانیم کایرالیته یا ایزومری نوری توسط توانایی مولکول برای چرخاندن صفحهٔ نور پلاریزه به سمت راست (راست بر[1]، D) یا به سمت چپ (چپ بر[2]، L) تعریف می‌شود. به صورت بیولوژیکی تمام آمینواسیدها به عنوان ایزومرهای L- یا چپ بر شناخته

[1] Dextro rotatory

[2] Levo rotatory