



دانشگاه پیام نور
دانشکده علوم پایه

پایان نامه
برای دریافت مدرک کارشناسی ارشد
رشته شیمی گرایش تجزیه
گروه شیمی

عنوان پایان نامه
استخراج مرفین به روش نقطه ابری و اندازه گیری آن در
نمونه بیولوژیک (پلاسمای خون) با استفاده از روش
اسپکتروفوتومتری

معصومه حسن پور

استاد راهنما
دکتر محمد رضا باعزت

استاد مشاور
دکتر علی اصغر امیری

بهمن ۱۳۹۱

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه پیام نور

دانشکده علوم پایه

مرکز شیراز

پایان نامه

برای دریافت مدرک کارشناسی ارشد

رشته شیمی گرایش تجزیه

گروه شیمی

عنوان پایان نامه:

استخراج مرفین به روش نقطه ابری و اندازه گیری آن در

نمونه بیولوژیک (پلاسمای خون) با استفاده از روش

اسپکتروفتومتری

معصومه حسن پور

استاد راهنما

دکتر محمد رضا باعزت

استاد مشاور:

دکتر علی اصغر امیری

بهمن ۱۳۹۱

تاریخ : ۹۱/۱۱/۳۰
شماره : ۰۵/۱۶۲۷۷
پیوست :



دانشگاه پیام نور استان فارس
باسم تعالی

جمهوری اسلامی ایران
وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

صور تجلسه دفاع از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد

جلسه دفاع از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد خانم معصومه حسن پور دانشجوی رشته شیمی تجزیه به شماره دانشجویی ۸۸۰۰۰۳۶۳۰ با عنوان:

" استخراج مورفین به روش نقطه ابری و اندازه گیری آن در نمونه بیولوژیک (پلاسمای خون) با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری "

با حضور هیات داوران در روز دوشنبه مورخ ۱۳۹۱/۱۱/۳۰ ساعت ۱۲ صبح در محل ساختمان اندیشه دانشگاه پیام نور شیراز برگزار شد و هیات داوران پس از بررسی، پایان نامه مذکور را شایسته نمره به عدد ۸۸ به حروف کتبی ۸۸ با درجه عالی تشخیص داد.

| ردیف | نام و نام خانوادگی | هیات داوران | مرتبه دانشگاهی | دانشگاه | امضاء |
|------|---------------------|------------------------|----------------|-------------------|-------|
| ۱ | دکتر محمدرضا باعزت | راهنما | استاد یار | پیام نور شیراز | |
| ۲ | دکتر علی اصغر امیری | مشاور | استاد یار | آزاد اسلامی شیراز | |
| ۳ | دکتر حسین توللی | داور | دانشیار | پیام نور شیراز | |
| ۴ | آقای امیر اکبری | نماینده تحصیلات تکمیلی | مری | پیام نور شیراز | |



شیراز- شهرک گلستان، بلوار د هخدا
قبل از نمایندگی بین المللی
تلفن : ۰۷۱۱-۶۲۲۲۴۰-۳
دورنگار : ۰۷۱۱-۶۲۲۲۴۹
صندوق پستی : ۱۳۶۸- ۷۱۹۵۵
www.spnu.ac.ir
Email : admin@spnu.ac.ir

گواهی اصالت نشر و حقوق مادی و معنوی اثر

اینجانب معصومه حسن پور دانشجوی سال ۱۳۸۸ مقطع کارشناسی ارشد رشته شیمی تجزیه گواهی می‌نمایم چنانچه در پایان نامه خود از فکر، ایده و نوشته دیگری بهره گرفته‌ام با نقل قول مستقیم یا غیر مستقیم منبع و ماخذ آن را نیز در جای مناسب ذکر کرده‌ام. بدیهی است مسئولیت تمامی مطالبی که نقل قول دیگران نباشد برعهده خویش می‌دانم و جوابگوی آن خواهم بود.

دانشجو تأیید می‌نماید که مطالب مندرج در این پایان نامه نتیجه تحقیقات خودش می‌باشد و در صورت استفاده از نتایج دیگران مرجع آن را ذکر نموده است.

معصومه حسن پور
تاریخ و امضاء
۹۱، ۱۱، ۲۳

اینجانب معصومه حسن پور دانشجوی ورودی سال ۱۳۸۸ مقطع کارشناسی ارشد رشته شیمی تجزیه گواهی می‌نمایم چنانچه براساس مطالب پایان نامه خود اقدام به انتشار مقاله، کتاب و... نمایم ضمن مطلع نمودن استاد راهنما، با نظر ایشان نسبت به نشر مقاله، کتاب، و... و به صورت مشترک و با ذکر نام استاد راهنما مبادرت نمایم.

معصومه حسن پور
تاریخ و امضاء
۹۱، ۱۱، ۲۳

کلیه حقوق مادی مرتبط از نتایج مطالعات، آزمایشات و نوآوری ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه متعلق به دانشگاه پیام نور می‌باشد.

بهمن ۱۳۹۱

تقدیم بہ:

پدر و مادر عزیزم کہ سایہ سار و جودشان، ہمیشہ سبز و برقرار باد.

تقدیم بہ برادر و خواہراںم کہ محبت و الفتشان مستدام و پابرجا باد.

سپاس خداوند بی‌همتار که یاریم فرمود یکی دیگر از مراحل تحصیل علم و دانش را با موفقیت به پایان برسانم. خداوند مهربان را به خاطر وجود انسان‌های شریفی که مراد انجام این امریاری نمودند، شاکرم و مراتب سپاس خود را به حضور این عزیزان عرضه می‌دارم:

آموزگاران راستین زندگی ام، پدر و مادرم.

استاد ارجمندم جناب آقای دکتر باغرت، جناب آقای دکتر امیری که هدایت و راهنمایی این پایان‌نامه را تقبل فرمودند و اینجانب مطالب علمی بسیاری را در محضراتشان فراگرفتم.

و

استاد بزرگوار جناب آقای دکتر توللی که زحمات داورمی این پایان‌نامه را تقبل فرمودند.

چکیده

در این تحقیق برای استخراج و اندازه گیری داروی مرفین به روش نقطه ابری از سورفکتانت تریتون X-114 استفاده می شود.

در این روش ۸ میلی لیتر از محلول آبی سورفکتانت ۱٪ (V/V) تریتون X-114 به محلول مرفین (۵۰-۷۰۰ $\mu\text{g/ml}$) اضافه شده و تا ۱۰۰ میلی لیتر آن را به حجم می رسانیم. سپس به وسیله ی اسید - باز ، PH محلول فوق راروی ۵/۵۰ تنظیم کرده و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۵۰ درجه قرار داده که در این مدت محلول موردنظر کدر و به نقطه ابری می رسد.

پس از این مراحل ، محلول کدر شده را به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ با سرعت (دقیقه / دور) ۶۰۰۰ قرار داده تا فاز غنی از سورفکتانت تشکیل شود. این فاز راحتی در بهترین حلال شوینده متانول حل شده و سپس با دستگاه اسپکتروفوتومتر ، میزان جذب مرفین در طول موج ۲۹۱nm اندازه گیری می شود.

در این آزمایش بهترین زمان حرارت دادن ۲۰ دقیقه و بهترین درجه حرارت ۵۰ درجه سانتی گراد و بیشترین زمان برای سانتریفوژ ۲۰ دقیقه در بهترین سرعت سانتریفوژ یعنی ۶۰۰۰ دور در دقیقه می باشد . این روش دارای حد تشخیص $6/00 \mu\text{g ml}^{-1}$ و انحراف استاندارد نسبی (n=۷) ۱/۶۲٪ می باشد.

واژگان کلیدی: مرفین، استخراج نقطه ابری، برموتیمول بلو، تریتون X-114.

فهرست مطالب

- فصل اول : کلیات تحقیق ۱
- ۱- مقدمه ۲
- ۱-۱- معرفی انواع روش های استخراج و مزایا و معایب آن ها ۲
- ۲-۱- استخراج نقطه ابری ۵
- ۳-۱- اساس کار استخراج نقطه ابری ۶
- ۴-۱- تاریخچه و عملکرد مواد فعال کننده سطحی ۹
- ۵-۱- سورفکتانت ها (مواد فعال کننده سطحی) ۱۰
- ۶-۱- طبقه بندی مواد فعال کننده سطحی ۱۲
- ۶-۱-۱- مواد فعال کننده سطحی آنیونی ۱۲
- ۶-۱-۲- مواد فعال کننده ی سطحی کاتیونی ۱۳
- ۶-۱-۳- مواد فعال سطحی غیر یونی ۱۳
- ۶-۱-۴- مواد فعال کننده سطحی دو یون ۱۴
- ۶-۱-۴-۱- مواد فعال کننده های سطحی دو یون حساس به pH ۱۴
- ۶-۱-۴-۲- مواد فعال کننده های سطحی دو یونی غیر حساس به pH ۱۴
- ۷-۱- روش های پیش تغلیظ مبتنی بر سورفکتانت ها ۱۵
- ۸-۱- میزان چربی دوستی و آب دوستی سورفکتانت ها (HLB) ۱۶
- ۹-۱- مایسل ها ۱۷

- ۱۰-۱- عوامل و نیروهای مؤثر در شکل گیری مایسل ها ۱۸
- ۱۱-۱- انواع مایسل ها بر اساس قطبی یا غیر قطبی بودن ۲۱
- ۱-۱۱-۱- مایسل معمولی ۲۱
- ۲-۱۱-۱- مایسل معکوس ۲۱
- ۱۲-۱- مواد فعال کننده سطحی براساس توانایی تشکیل مایسل ۲۲
- ۱-۱۲-۱- آمفی فایل متورم ۲۲
- ۲-۱۲-۱- آمفی فایل غیرمتورم ۲۳
- ۱۳-۱- نحوه ی عملکرد مایسل در استخراج ۲۴
- ۱-۱۴- تریتون X-114 و مزایای آن نسبت به تریتون X-100 ۲۴
- فصل دوم: مبانی نظری و پیشینه تحقیق ۲۷
- ۲- پیشینه تحقیق ۲۸
- ۱-۲- مقدمه ۲۸
- ۲-۲- برخی روش های اندازه گیری مرفین ۲۹
- ۳-۲- هدف و کاربرد ۳۱
- فصل سوم: روش تحقیق ۳۳
- ۱-۳- مواد شیمیایی مورد نیاز ۳۴
- ۲-۳- دستگاهها و وسایل مورد نیاز ۳۵
- ۳-۳- تهیه محلول های مورد نیاز ۳۵

| | |
|----|---|
| ۳۶ | ۴-۳- شرح آزمایش |
| ۳۷ | ۵-۳- طیف جذبی ماده مورد نظر |
| ۳۹ | فصل چهارم : آزمایش ، نتایج ، بحث و نتیجه گیری |
| ۴۰ | ۱-۴- پارامترهای بهینه سازی |
| ۴۰ | ۱-۱-۴- اثر pH |
| ۴۳ | ۲-۱-۴- اثر غلظت و مقدار تریتون X-114 (V/V) |
| ۴۸ | ۳-۱-۴- اثر دما و زمان تعادل |
| ۵۱ | ۴-۱-۴- اثر سرعت و زمان سانتریفوژ |
| ۵۶ | ۵-۱-۴- اثرعامل شوینده بر روی بازیابی و استخراج مرفین |
| ۵۷ | ۶-۱-۴- نمودار منحنی کالیبراسیون و تعیین محدوده ی خطی در استخراج مرفین |
| ۵۹ | ۲-۴- مقدار حدتشخیص و انحراف استاندارد نسبی در استخراج مرفین |
| ۶۰ | ۱-۲-۴- محاسبات |
| ۶۱ | ۳-۴- اندازه گیری مرفین در نمونه حقیقی (پلاσμα) |
| ۶۲ | ۱-۳-۴- آماده سازی نمونه پلاسمای خون به عنوان نمونه حقیقی |
| ۶۴ | ۴-۴- نتیجه گیری |
| ۶۵ | فهرست منابع |

فهرست جداول

- جدول ۴-۱: نتایج مربوط به اندازه گیری مقدار جذب مرفین بر حسب pH ۴۱
- جدول ۴-۲: نتایج مربوط به اندازه گیری مقدار جذب مرفین بر حسب درصد تریتون ۴۴
- جدول ۴-۳: نتایج مربوط به اندازه گیری جذب مرفین بر حسب مقدار تریتون ۱٪ (v/v) ۴۶
- جدول ۴-۴ : نتایج مربوط به اندازه گیری جذب مرفین بر حسب دما ۴۹
- جدول ۴-۵: نتایج مربوط به اندازه گیری جذب مرفین بر حسب زمان ۵۰
- جدول ۴-۶: نتایج مربوط به اندازه گیری جذب مرفین بر حسب زمان سانتریفوژ ۵۲
- جدول ۴-۷ : نتایج مربوط به اندازه گیری جذب مرفین بر حسب سرعت سانتریفوژ ۵۴
- جدول ۴-۸ : اثر نوع عامل شوینده بر روی بازیابی و استخراج مرفین ۵۶
- جدول ۴-۹: کل پارامترهای بهینه شده به روش استخراج نقطه ابری ۵۷
- جدول ۴-۱۰: غلظت های مختلف مرفین برای بدست آوردن منحنی کالیبراسیون ۵۸
- جدول ۴-۱۱: تهیه ۷ محلول در شرایط بهینه یکسان و اندازه گیری جذب آن ها ۶۱
- جدول ۴-۱۲: نتایج مربوط به تزریق مرفین به پلاسمای خون به عنوان نمونه حقیقی ۶۳

فهرست شکل ها

- شکل ۱-۱: شمایی ساده از استخراج مایع - مایع..... ۳
- شکل ۲-۱: تشکیل پیوندهای هیدروژنی با مولکول های سورفکتانت غیر یونی..... ۷
- شکل ۳-۱: نمودار فاز برای سورفکتانت مونواترگلیکول پلی اکسی اتیلن..... ۹
- شکل ۴-۱: قسمت های هیدروفوبیک و هیدروفیلیک یک سورفکتانت..... ۱۱
- شکل ۵-۱: شکل فرضی یک مایسل در آب..... ۱۷
- شکل ۶-۱: نمودار در خصوص دمای کرافت و دمای مایسل شدن بحرانی..... ۲۱
- شکل ۷-۱: انواع مایسل ها و نحوه جهت گیری آن ها..... ۲۳
- شکل ۸-۱: ساختمان تریتون X-114..... ۲۵
- شکل ۱-۲: ساختار مولکولی مرفین..... ۲۸
- شکل ۱-۳: نمودار طیفی جذب مرفین قبل از استخراج..... ۳۷
- شکل ۲-۳: نمودار طیفی جذب مرفین بعد از استخراج..... ۳۸
- شکل ۱-۴: نمودار اثر PH بر روی بازیابی و استخراج مرفین..... ۴۲
- شکل ۲-۴: نمودار اثر غلظت تریتون بر روی بازیابی و استخراج مرفین..... ۴۵
- شکل ۳-۴: نمودار اثر مقدار تریتون ۱٪ بر روی بازیابی و استخراج مرفین..... ۴۷
- شکل ۴-۴: نمودار اثر دما بر روی بازیابی و استخراج مرفین..... ۴۹
- شکل ۵-۴: نمودار اثر زمان حمام بر روی بازیابی و استخراج مرفین..... ۵۱
- شکل ۶-۴: نمودار اثر زمان قرار گرفتن در سانتیفریژ بر روی بازیابی و استخراج مرفین..... ۵۳

شکل ۴-۷: نمودار اثر سرعت سانتریفوژ بر روی بازیابی و استخراج مرفین..... ۵۵

شکل ۴-۸: نمودار کالیبراسیون بعد از بهینه شدن پارامترها برای استخراج مرفین..... ۵۹

فصل اول

کلیات تحقیق

۱- مقدمه

۱-۱- معرفی انواع روش های استخراج و مزایا و معایب آن ها

تعیین مقادیر کم یون های فلزی در محیط های پیچیده ، برای شیمی تجزیه مهم و جالب است. جهت تعیین آن ها می توان از روش های مختلفی مثل طیف بینی جذب اتمی ، طیف بینی نشر اتمی ، پلاسما ی القایی و ... استفاده کرد. با وجود این ، تعیین مستقیم مقادیر کم فلزات در نمونه ها ، با توجه به غلظت کم آن ها و اثرات بافت ، امری دشوار است. از سوی دیگر استفاده از روش ها و دستگاه های پیشرفته ، نظیر پلاسما ی جفت شده القایی ، پلاسما به همراه اسپکتروسکوپی جرمی و ... به منظور فراهم آوردن حد تشخیص پایین ، مستلزم هزینه های گزاف بوده و در اکثر مراکز تحقیقاتی چنین تجهیزاتی در دسترس نمی باشد. بنابراین برای حل بسیاری از این مشکلات ، استفاده از روش های جداسازی و پیش تغلیظ ، مفید و لازم به نظر می رسد.

هم رسوبی^۱ و تقطیر^۲ ، نخستین روش هایی بودند که به این منظور به کار برده شدند. از جمله روش های رایج برای برای پیش تغلیظ آنالیت مورد نظر می توان به استخراج مایع - مایع^۳ و استخراج با جاذب های جامد^۴ اشاره کرد.

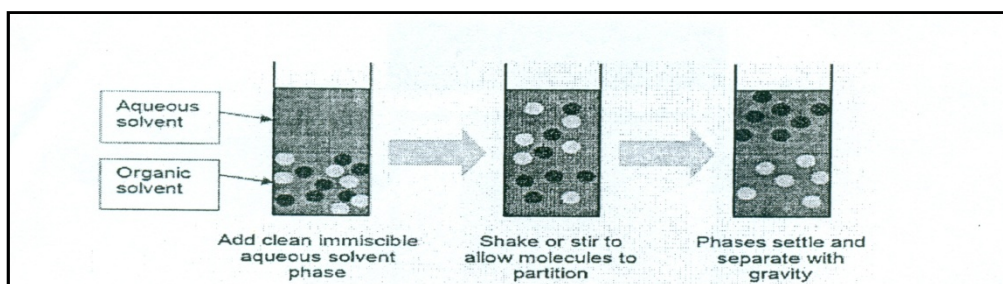
همان طور که در شکل ۱-۱ نشان داده شده است ، در استخراج مایع - مایع ، استخراج گونه هدف از بافت اولیه اش به درون حلال های مختلف (اغلب آلی) صورت می گیرد. در این روش تمایل گونه هدف به توزیع بین دو فاز مایع مخلوط نشدنی ، سبب جداسازی آن می شود.

1 - Coprecipitation

2 - Distillation

3 - Liquid - Liquid Extraction (LLE)

4 - Solid Phase Extraction (SPE)



شکل ۱-۱ - شمای ساده از استخراج مایع - مایع

بر طبق قانون توزیع^۱، در صورتی که جسم حل شونده، بین دو فاز مایع غیر امتزاج توزیع شود، نسبت غلظت های حل شونده در این دو فاز، در یک دمای معین، همواره مقداری ثابت است که مستقل از غلظت کل آن می باشد. در این روش چگالی دو فاز باید به حدی متفاوت باشد که در پایان کار، جداسازی آن ها به راحتی انجام گیرد.

از جمله نکاتی که باید مورد توجه قرار داد، مشکلاتی است که روش استخراج مایع - مایع به همراه خود دارد. از آن جمله، می توان به موارد زیر اشاره کرد:

- مصرف و انهدام مقدار نسبتاً زیادی حلال آلی؛ که به نوبه خود گران قیمت و نوعاً مضر بوده و سبب آلودگی محیط زیست می شود.
- امکان تشکیل امولسیون بین دو فاز؛ که خود سبب می شود، جداسازی فازها به طور کامل صورت نگیرد.

استخراج با جاذب های جامد شامل استخراج فاز جامد و میکرواستخراج با فاز جامد^۲، همانند سایر تکنیک ها از جمله ترسیب الکتریکی^۳، پیش تغلیظ روی غشاهای پلیمری^۴ و استخراج با سیال فوق بحرانی^۵، جهت غلبه بر مشکلاتی همچون مصرف زیاد حلال آلی، تاکنون گسترش پیدا کرده اند.

۱ - Distribution Law

2 - Solid Phase Micro Extraction (SPME)

3 - Electro depositon

4 - Pre - Concentration Polymeric membrane

5 - Supercritical Fluid Extraction(SFE)

بنابراین ، امروزه تکنیک های استخراج و پیش تغلیظ زیادی وجود دارد که امکان انتخاب مناسب ترین روش را برای هر نوع گونه ای در محیط های مختلف فراهم می کنند.

در همین راستا و با توجه به نیاز روزافزون به روش های استخراج و پیش تغلیظ با صحت بالا ، ایمن ، سریع و راحت ، در دو دهه اخیر توجه بسیاری از شیمیست های تجزیه در سراسر جهان ، به کاربرد و توسعه روش های استخراج بر پایه سورفکتانت^۱ ها جلب شده است.

طی سال های اخیر ، استخراج نقطه ابری^۲ ، با توجه به تنوع و پتانسیل بالای آن در افزایش حساسیت در زمینه آنالیز فلزات ، یکی از ارجح ترین روش های پیش تغلیظ و جداسازی محسوب می شود . این روش بر پایه خصوصیات سورفکتانت ها استوار است. اکثر سورفکتانت های غیر یونی در محلول های آبی تشکیل مایسل^۳ می دهند و وقتی تا دمای معینی گرم شوند ، محلول مایسلی به دو فاز ، یکی فاز غنی از سورفکتانت با حجم کم و دیگری فاز آبی رقیق تبدیل می شود.

هر آنالیت که توانایی برهم کنش با قسمت آبگریز مایسل را داشته باشد ، از سایر اجزاء موجود در محلول جدا شده و در حجم کم فاز غنی از سورفکتانت تغلیظ می شود. به این ترتیب ورود نمونه از یک محیط ماکرو ، به سیستم مایسلی در اندازه میکرو ، حد تشخیص ، تکرارپذیری و گزینش پذیری مناسبی را فراهم می کند.

1 -Surfactant

2 - Cloud point Extraction(CPE)

3 -Micelle

۱-۲- استخراج نقطه ابری

نقطه ابری دمایی است که برای بالاتر از آن دما محلول های آبی فعال سطح شروع به کدرومات شدن می کنند. روش دیگری برای استخراج مایع - مایع^۱ جهت جداسازی کاتیون های فلزی از محلول های آبی می باشد. مواد فعال در سطح قادرند که در محلول های آبی جمع شوند تا گروه های کلوئیدی که به عنوان مایسل به آن ها اشاره می شود، را تشکیل دهند.

در طول تشکیل آن ها مایسل های مواد فعال، می توانند چندین مواد هیدروفوبیک^۲ را که از محلول پرحجم جدا می کنند، به دام اندازند. انحلال پذیری مواد فعال با یون دوقطبی با مواد فعال غیر یونی، پائین تر از درجه حرارت تعریف شده یعنی درجه حرارت نقطه ابری قرار می گیرد. اگر درجه حرارت محلول بالاتر از نقطه ابری باشد، در این صورت محلول به فاز غلیظی تفکیک می شود. این فاز شامل مواد فعال رقیق آبی می باشد [۱].

استخراج نقطه ابری از تجزیه جسم حل شده بین دو فاز ایجاد می شود و این کار بستگی به میزان میل ترکیبی آب با مواد فعال دارد. پدیده نقطه ابری برگشت پذیر بوده و در مورد مواد حل شونده متفاوت به طور آزمایشی مورد استفاده قرار می گیرد. یعنی اگر درجه حرارت مجدداً پایین تر از نقطه ابری شدن بیاید، مایسل تشکیل شده مجدد از بین رفته و محلول شفاف می شود. بیشتر کاربردهای استخراج نقطه ابری، جهت تعیین غلظت مولکول ها از جنبه های مختلف، همچنین برای تجزیه کردن یا جداکردن آلاینده ها از بخش های صنعتی آلی و جدا کردن آلاینده ها از آب فاضلاب بوده و در مجموع کاربرد وسیعی برای تعیین مقادیر ناچیز فلزات دارد.

1 - Liquid – Liquid Extraction

2 - Hydrophobic