





دانشگاه الزهراء

دانشگاه الزهراء

دانشکده علوم پایه

گروه شیمی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

رشته شیمی تجزیه

عنوان:

رقار الکترو شیمیایی سولفاکوانیدین در سطح الکتروود کربن شیشه ای اصلاح شده با ذرات نانولوله چند دیواره کربن

استاد راهنما:

دکتر لیدان قوچی

استاد مشاور:

دکتر محمد مهدی حروی

نگارش:

مریم فتح اله زاده

شهریور ۸۹

المهم الخرجنی من الظلمات الوهم و اکرمنی بنورالفهم المهم الفتح علینا
ابواب رحمتک و النشر علینا من الخزائن علومک

به نام آنکه می سازد و به اشارتی می سوزاند، نفس می دهد و خود می ستاند، آنکه در همه حال می بیند و هیچ نکوید، سوز می دهد و ساز
نمی سازد، آب است و آتش می سازد، از خاک می رویند و بر خاک می میراند. با این همه انسان آفرید و قدرت به او نهاد تا
خویش سرنوشت خود سازد.

تقدیر و تشکر:

رسانیدن این رساله به منزلگاه حاضر ممکن نبود مگر با مساعدت بزرگوارانی که مرا در علم و تجربه خود شریک نمودند و همواره سپاس‌گزار خود ساختند. شایسته است پیش از همه از استاد فرهیخته‌ام سرکار خانم دکتر **لیدا فتوحی** و صبوری و زحمات بی‌دریغ ایشان قدردانی کنم که با دقت نظر و صبر بی‌پایانشان مرا گام‌به‌گام رهنمون شدند.

باسپاس و تشکر صمیمانه از همیاری و همدلی جناب آقای دکتر **مجید ممهده‌روی** که در طول انجام این رساله از افتخار شاگردی ایشان بهره بردم.

تقدیم به:

دو وجود مقدس که ناتوان شدند تا من به توانایی برسم، خمیده شدند تا من به بالندگی برسم. روحشان خسته گشت تا من به آسایش و آرامش دست یابم و بر وجود پرمهرشان چیزی جز رنج نبخشیدم. بر دست‌های رنجورشان که لطافت زندگی را برایم مهیا ساخت بوسه می‌زنم و جز این تحفه‌ای لایق برایشان ندارم.

با تشکر بی پایان از

سرچشمه زندگی‌ام

مادر مهربانم

ملودی زندگی‌ام

پدر عزیزم

و همفکران زندگی‌ام

برادران دوست داشتنی‌ام

و با تشکر از تمام دوستان و عزیزان دلسوزم در دانشگاه الزهرا و دانشکده شیمی که صبورانه

بار زحمت این حقیر را به دوش کشیدند.

چکیده

در این کار خصوصیات الکتروشیمیایی سولفاگوانیدین در سطح الکتروود شیشه‌ای کربن بهینه شده با نانوکربن لوله‌ای چنددیواره (GC-MWCNTE) با استفاده از ولتامتری چرخه‌ای و کروم‌آمپرومتری بررسی شده است. در الکتروود GC-MWCNTE به سبب خصوصیت الکتروکاتالیتیکی ذرات نانو، جریان افزایش و پتانسیل به سمت مقادیر کمتر مثبت جابه‌جا می‌شود.

سولفاگوانیدین در سطح الکتروود بهینه نشده یک پیک غیر برگشت پذیر در پتانسیل ۰/۹۳۰ ولت را نشان می‌دهد، که در حضور ذرات نانوکربن لوله‌ای چنددیواره به مقدار ۰/۸۴۰ ولت کاهش می‌یابد. پتانسیل فرمال E^0 سولفاگوانیدین، وابسته به pH شیبی برابر ۵۰/۲ میلی‌ولت را نشان می‌دهد، که تقریباً نزدیک به شیب به دست آمده ۵۹ میلی‌ولت در رابطه نرنست است. بر این اساس می‌توان گفت که نسبت تعداد الکترون و پروتون مبادله شده فرآیند برابر واحد است. پارامترهای سینتیکی از قبیل ضریب نفوذ (D)، غلظت سطحی گونه‌های الکترواکتیو (Γ)، ثابت سرعت استاندارد واکنش (k_s) و ضریب انتقال الکترون (α) در سطح GC-MWCNTE محاسبه گردید. همچنین منحنی کالیبراسیون به دست آمده از این دارو، دارای دو ناحیه خطی از ۱۰ تا ۱۰۰ میکرومولار و دیگری از ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میکرومولار می‌باشد.

همچنین این روش برای اندازه‌گیری سولفاگوانیدین در محیط‌های بیولوژیکی، مانند ادرار و سرم جنین گاو با موفقیت انجام شد. در این بررسی مقدار انحراف استاندارد نسبی برای سرم و ادرار به ترتیب ۰/۵۶ و ۲/۶۳ به دست آمده است.

فهرست مطالب

فصل ۱: مقدمه	۱
فصل ۲: بررسی منابع	۷
فصل ۳: بررسی روش‌های الکتروشیمیایی	۲۲
۱-۳ فرآیندهای فارادای	۲۷
۲-۳ روش‌های روبش پتانسیل	۲۸
۳-۳ ولتامتری چرخه‌ای	۲۹
۲-۳-۲ تفسیر داده‌های ولتاموگرام‌های چرخه‌ای	۳۲
۱-۲-۳-۳ سیستم‌های برگشت‌پذیر	۳۲
۲-۲-۳-۳ سیستم‌های برگشت‌ناپذیر و شبه برگشت‌پذیر	۳۳
۳-۳-۳ مطالعه مکانیسم واکنش‌ها	۳۶
۴-۳-۳ مطالعه فرآیندهای جذب سطحی	۳۸
۵-۳-۳ کاربردهای کمی	۳۸
۴-۳ کروماتوآمپرومتری	۳۹
۵-۳ ملاحظات عملی	۴۱
۱-۵-۳ دستگاهوری	۴۱
۲-۵-۳ الکترودهای کار	۴۱
۱-۲-۵-۳ الکترودهای کربن	۴۲
۲-۲-۵-۳ الکترودهای کربن شیشه‌ای	۴۳
۳-۲-۵-۳ الکترودهای بهینه شده شیمیایی	۴۵

۴۶ ۳-۵-۲-۴ الکترودهای بهینه شده با نانولوله‌های کربنی

فصل ۴ : مطالعات تجربی ۴۸

۴-۱ مقدمه ۴۹

۴-۲ شرایط تجربی ۵۰

۴-۲-۱ مواد شیمیایی ۵۰

۴-۲-۲ دستگاهوری ۵۱

۴-۳ مراحل انجام کار ۵۳

۴-۳-۱ آماده‌سازی الکترودهای کربن بهینه شده با نانوکربن لوله‌ای چند دیواره

MWCNT ۵۳

۴-۳-۲ طرز تهیه بافر برایتون-رابینسون ۵۳

بخش اول: بررسی‌های الکتروشیمیایی

۴-۴ محاسبه مساحت موثر سطح الکترودهای کربن شیشه‌ای بهینه شده با MWCNT

..... ۵۴

۴-۵ بررسی رفتار الکتروشیمیایی سولفاگونیدین در حضور و غیاب MWCNT ۵۸

۴-۶ مطالعات اثر pH ۶۰

۴-۷ مطالعه اثر سرعت روبش پتانسیل در محلول بافر برایتون-رابینسون در سطح

الکترودهای کربن شیشه‌ای بهینه‌شده با MWCNT ۶۳

۴-۷-۱ محاسبه ضریب انتقال الکترون و ثابت سرعت استاندارد واکنش ۶۴

۴-۷-۲ محاسبه غلظت سطحی گونه‌های الکترواکتیو (Γ) ۷۰

۹-۴ مطالعات کروماتوگرافی ۷۲

بخش دوم : بهینه‌سازی و اندازه‌گیری

۱۰-۴ اندازه‌گیری سولفاگونیدین در سطح الکتروود بهینه شده و بهینه‌سازی شرایط

اندازه‌گیری ۷۶

۱-۱۰-۴ بررسی پایداری سطح الکتروود ۷۶

۲-۱۰-۴ تاثیر مقدار MWCNT ۷۹

۳-۱۰-۴ تاثیر حجم MWCNT ۸۲

۱۱-۴ رسم منحنی کالیبراسیون و محدوده خطی بودن ۸۵

۱۲-۴ حداقل مقدار قابل تشخیص (LOD) ۹۱

۱۳-۴ تکرارپذیری ۹۴

۱۴-۴ بررسی اثر مزاحمت‌ها ۹۶

۱۵-۴ تعیین مقدار سولفاگونیدین در نمونه‌های حقیقی ۹۸

فصل ۵ : نتیجه‌گیری ۹۹

مراجع و مآخذ ۱۰۴

چکیده انگلیسی

فصل اول

مقدمه

سولفونامیدها^۱ ترکیبات آلی شامل گروه‌های عاملی متصل به یک گروه آمین می‌باشند، که فرمول عمومی RSO_2NH_2 را دارند. در واقع سولفونامید، یک سولفونیک اسید است که بجای گروه هیدروکسیل اسیدی آن یک گروه آمین قرار می‌گیرد. در پزشکی آن‌ها را تحت عنوان داروهای سولفونی می‌شناسند و همچنین در روش‌های آزمایشگاهی از واکنش سولفونیل کلریدها با آمین به راحتی قابل تهیه می‌باشند.

^۱.Sulfonamide

سولفونامیدها گروهی از عوامل ضد باکتریایی هستند که همراه غذاها یا به طور مستقیم جهت پیشگیری و درمان تعدادی از بیماری‌های دامی از جمله بیماری‌های عفونی روده‌ای و تنفسی به دام‌ها داده می‌شود. استفاده فراوان و مکرر از این داروها منجر به باقی ماندن مقادیر ناخواسته از این داروها در محصولات غذایی می‌شود، که به جا ماندن آن‌ها در بافت‌های بیولوژیک و محصولات دامی مانند شیر و گوشت، روی سلامت عمومی تاثیرگذار است، حدود ۵۰٪ این داروها بدون سوخت و ساز از بدن دفع می‌شود. سولفاگانیدین^۱ نیز عضو این دسته از داروها است و تنها به مقدار ناچیزی در روده جذب می‌شود.

کمیته ارزیابی سلامت اتحادیه اروپا^۲ به منظور تأمین سلامت انسان‌ها، مقادیر مجاز آن را ۱۰۰ میکروگرم در ۱ کیلوگرم از بافت بیولوژیک اعلام کرده است [۱]. تعیین این مقدار از داروهای سولفونی نیازمند استفاده از روش‌هایی با دقت و حساسیت بالا می‌باشد.

سولفونامیدها آمفولیت‌های با قدرت اسیدی و بازی هستند که دارای pK_{a1} در گستره ۱/۵ تا ۲/۵ و pK_{a2} در گستره ۵ تا ۱۱ می‌باشند. خاصیت بازی آن‌ها نیز مربوط توانایی گرفتن H^+ توسط نیتروژن آنیلینی می‌باشد.

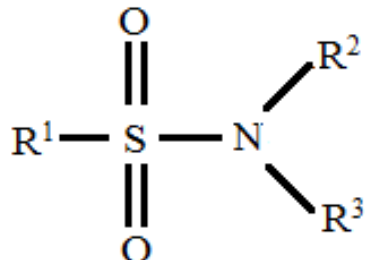
تعیین پتانسیل اکسیداسیون- احیاء سولفونامیدها مورد توجه بسیاری قرار گرفته است. اگرچه سیستم‌های اکسید و احیاء ممکن است، تحت تاثیر پیچیدگی‌های ناشی از برهم‌کنش- های آنزیمی باشد، ولی اطلاعات بیشتر آزمایشگاهی با توجه به شدت واکنش‌های اکسید و احیاء قابل دستیابی است.

یون هیدروژن نقش مهمی در اکثر واکنش‌های اکسید و احیاء این دسته از ترکیبات ایفا می‌کند و به عنوان عامل تعیین‌کننده در تعادل‌های اسید و باز مورد اهمیت است [۲].

۱. Sulfaguanidine

۲. European Community

گروه‌های آمین آروماتیک ، گروه‌های مستعد برای اکسیداسیون در سطح الکترودهای جامد مثل پلاتین و الکتروود کربن شیشه‌ای، هستند. گروه‌های سولفونامید و مشتقات آن‌ها در تهیه داروهای سولفونی استفاده می‌شوند ساختار عمومی زیر را دارند:



R^1 : یک گروه بنزیل آمین

R^2 و R^3 : در انواع سولفونامیدها متفاوت است.

مقایسه نمودارهای جریان - پتانسیل آنیلین و بنزن سولفانیلید نشان می‌دهد که گروه‌های آمین الکترواکتیو بوده و گروه آمید غیر الکترواکتیو است. مطالعات ولتامتری در pHهای مختلف محلول‌های داروهای سولفونی اطلاعات مفیدی در مورد خواص الکتروشیمیایی این داروها در اختیار قرار می‌دهد. مطالعات الکتروشیمیایی داروهای سولفونی به دلیل خواص شیمی‌درمانی آن‌ها مورد توجه می‌باشد.

روش‌های مختلفی برای آنالیز این داروها در محصولات حیوانی به کار گرفته شده است، که روش‌های الکتروشیمیایی نیز در میان آن‌ها دیده می‌شود.

روش‌های مختلف کروماتوگرافی با کارایی بالا، UV، فلورسانس، جذب اتمی، کروماتوگرافی گازی ، الکتروفورز موئینه و روش‌های الکتروشیمیایی برای این منظور به کار گرفته شده‌اند [۶-۳].

روش‌های الکتروشیمیایی برای تعیین این دسته از داروها روش‌های مناسبی به‌شمار می‌آیند. همچنین این روش‌ها نسبت به روش‌های فلوریمتری دارای مزیت عدم نیاز به مرحله مشتق‌سازی می‌باشند [۷-۱۰].

پس از کشف نانوکربن لوله‌ای در سال ۱۹۹۱ [۱۱]، این ترکیبات به علت خصوصیات بی-نظیرشان از قبیل قدرت مکانیکی ویژه، هدایت الکتریکی بالا، مساحت سطح ویژه زیاد، پایداری الکتروشیمیایی خوب در محدوده پتانسیل وسیع [۱۲] هدف بررسی‌های متعددی قرار گرفته‌اند. نانولوله‌های کربنی به شکل واحدهای کربن هیبریداسیون sp^2 بوده و دارای ساختار یکپارچه با شبکه‌های لانه‌زنبوری هگزاگونالی، دارای قطری در حد چند نانومتر و طولی در حد چند میکرون می‌باشند. کربن نانوتیوپ‌ها به دو صورت، کربن نانولوله‌های چنددیواره^۱ (MWCNTs) و کربن نانولوله‌های تک‌دیواره^۲ (SWCNTs) می‌باشند، که MWCNTs به صورت لوله‌های گرافیتی نزدیک و هم‌مرکز با لایه‌های چندگانه از صفحات گرافیت با فاصله حدود ۰/۳۴nm می‌باشند در حالیکه SWNTs شامل یک صفحه گرافیتی لوله شده یکپارچه شبیه یک استوانه با قطر ۱-۲ nm هستند [۱۳].

رفتار هدایتی نانولوله‌های کربنی همانند فلزات یا نیمه‌هادی وابسته به ساختار و قطر آن‌ها است [۱۴]. این نانو ذرات اخیراً در تحقیقات الکتروشیمیایی پیشرو شده‌اند. خصوصیات الکترونیکی بی‌نظیر این نانو ذرات سبب شده که در الکتروشیمی به طور مؤثری جهت پیشرفت واکنش انتقال الکترون در کتکول آمین‌ها [۱۵]، NADH [۱۶]، اسید اوریک^۳ [۱۷] و سیتوکروم C [۱۸] در محیط‌های بیولوژیک به کار گرفته شوند.

۱. Multi-Walled Carbon Nano tube

۲. Single-Walled Carbon Nano Tube

۳. Uric acid

از طرف دیگر کربن شیشه‌ای به دلیل داشتن خواص مکانیکی و الکترونیکی خوب، گستره پتانسیل وسیع و بی‌اثری شیمیایی (مقاومت در برابر حلال) و کارایی نسبتاً تکرارپذیر بسیار معروف است [۱۹].

به دلیل خصوصیات ذکر شده در مورد الکتروود کربن شیشه‌ای و ذرات نانولوله کربنی، در این تحقیق رفتار اکسایش الکتروشیمیایی سولفاگانیدین در سطح الکتروود کربن شیشه‌ای بهینه شده با نانولوله‌های کربنی چند دیواره بررسی شده است.

فصل دوم

بررسی منابع

در سال ۱۹۷۶ سییری^۱ روشی برای جداسازی و اندازه‌گیری سولفونامیدها ارائه داد [۲۰]، در این روش نمونه‌های خوراک دام‌ها به وسیله اتانول یا استون استخراج و محصول استخراج تا نزدیک به خشک شدن گرما داده می‌شود، با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک سولفونامیدها جداسازی گردیدند. در این روش فاز متحرک مخلوطی از کلروفرم و متانول بود.

۱. Cieri

بعد از اینکه وجود سولفاگونیدین در تخم‌مرغ‌های تجاری گزارش شد، تلاش‌های بسیار برای تعیین و اندازه‌گیری سولفونامیدها در نمونه‌های مواد غذایی و بافت‌های بیولوژیک صورت گرفت. در سال ۱۹۸۶ جداسازی و اندازه‌گیری سولفونامیدها با یک روش بسیار حساس تمام اتوماتیک شامل آماده‌سازی نمونه‌ها و به دنبال آن کروماتوگرافی مایع توسط آرتز^۱ و همکارانش معرفی شد [۲۱] که خالص‌سازی و تغلیظ و مشتق‌سازی پس ستونی در آن انجام شد. حدتشخیص ۱۰ گرم بر کیلوگرم گزارش شد.

در سال ۱۹۸۷ روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا جهت تعیین سولفونامیدها در بافت‌های جانوری مانند عضله و کبد، تخم مرغ و شیر در سطوح ۰/۰۱ تا ۰/۱ میلی گرم در ۱ کیلوگرم توسط پتز^۲ مورد استفاده قرار گرفت [۲۲]. داروها به وسیله ۹۰ میلی‌لیتر استونیتریل در pH= ۸/۵ استخراج شده‌اند و بعد از سانتریفوژ کردن و انجام سایر مراحل آماده‌سازی باقی‌مانده را خشک کردند و گونه‌های آلی توسط متانول استخراج نمودند. در مرحله بعد گونه استخراج شده را با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، با آشکارساز فلورسانسی تعیین مقدار کردند. بازیابی این روش ۶۰ تا ۸۰ درصد برای سولفونامیدهای مختلف بود.

در سال ۱۹۹۲ سانچز^۳ و همکاران از اسپکتروفلورومتری و فلورسانس القاشده فتوشیمیایی در دمای محیط برای تعیین سولفونامیدها در شیر استفاده کردند [۲۳]. این روش تعیین مقادیری در حدود ۰/۰۲ تا ۰/۱ میکروگرم در یک میلی‌لیتر از سولفاگونیدین و ۰/۴ تا ۱ میکروگرم در یک میلی‌لیتر سولفامتازین را ممکن ساخت.

۱. Aerts

۲. petz

۳. Sanchez

در سال ۱۹۹۳ یک روش برای اندازه‌گیری ۱۳ نوع سولفونامید در بافت‌های خوراکی توسط موزر و کوچ^۱ ارائه گردید [۲۴]. این تحقیق شامل یک مرحله استخراج به روش کروماتوگرافی مایع و به دنبال آن یک مرحله مشتق‌سازی بود. بعد از این مراحل سولفونامیدها با کروماتوگرافی گازی به همراه اسپکترومتری جرمی آشکارسازی شدند.

الکترودهای مختلفی برای تعیین فعالیت الکتروشیمیایی گونه‌های مختلف دارویی مورد استفاده قرار گرفته‌اند، این ترکیبات رفتار برگشت‌پذیر، شبه برگشت‌پذیر و غیربرگشت‌پذیر در سطح این الکترودها از خود نشان داده‌اند. در سال ۱۹۹۶ روشی بر مبنای تیتراسیون آمپرومتری توسط سورمن^۲ و همکارانش جهت تعیین سولفاگونایدین و داروهای دیگر ارائه شد [۲۵]، در این روش با قرار دادن الکتروود در نقاط مختلف محلول، امکان تعیین هم‌زمان و چندگانه داروها میسر شد.

تاربین و کلارک^۳ در سال ۱۹۹۹ راه‌های سریع استخراج و پاکسازی را برای آنتی‌بیوتیک‌های سولفونی در تخم‌مرغ با دو روش کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری جرمی و کروماتوگرافی مایع- اسپکترومتری جرمی ارائه دادند [۲۶]. در روش ارائه شده داروها به‌وسیله استونیتریل استخراج و با استیک‌اسید، اسیدی شدند و با روش‌های تبادل کاتیون و آنیون، پاکسازی انجام گرفت. برای اندازه‌گیری گونه‌های استخراج شده به‌وسیله کروماتوگرافی گازی گونه‌ها با دی‌آزومتان استخراج شده و به‌وسیله پنتافلوئوروانیدریداسید، اسیدی شدند و جهت تزریق به سیستم کروماتوگرافی مایع- اسپکترومتری جرمی، استخراج با آب صورت گرفت. در

۱. Mooser & Koch

۲. Surmann

۳. Tarbin & Clarke

این روش مقادیری در حدود ۲۵ تا ۱۰۰ میکروگرم در یک کیلوگرم قابل اندازه‌گیری بودند. بازبایی روش اول برای سولفاکلروپیریدازین حدود ۱۳۵٪ و در روش دوم برای سولفاگونیدین ۳۳٪ و برای سولفامتازین ۹۲٪ بود.

کروماتوگرافی مایع موئینه با فاز متحرک مایسلی از جنس سدیم دودسیل سولفات با امکان تزریق مستقیم مایعات زیستی به ستون‌های فاز معکوس روشی بود که در سال ۲۰۰۱ توسط کابالرو^۱ و همکارانش جهت تعیین سولفونامیدها در شیر و عسل ارائه شد [۲۷]. ۱۵ سولفونامید در این روش در pH=۳ ورود فاز متحرک استونیتریل/آب به صورت مطلوب از هم جدا شده و تعیین مقدار شدند. نمونه‌ها با سدیم دودسیل سولفات رقیق شدند تا حلالیت آن‌ها افزایش و پیوند شدن آن‌ها با پروتئین‌ها کاهش یابد. بازبایی‌های به‌دست آمده برای نمونه‌های که در حدود ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، از هر سولفونامید به آن‌ها افزوده شده بود، به ترتیب ۸۷ تا ۱۰۸٪ و ۷۲ تا ۱۱۹٪ به دست آمد. حدتشخیص در حدود ۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش شده است.

یک روش سریع، ساده و با حساسیت بالا جهت تعیین داروهای سولفونی در سال ۲۰۰۲ توسط ناگاراچا^۲ و همکارانش ابداع شد [۲۸]. این روش بر پایه تشکیل یک کمپلکس قرمز رنگ حاصل از فرآیند دی‌آزوتاسون سولفونامیدها بود که با دوپامین در حضور مولیبدات کمپلکس شد. جذب گونه حاصل در ۴۹۰ تا ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و محدوده خطی اندازه‌گیری ۰/۰۴ تا ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر، در طول موج جذب بیشینه بود. روش گفته‌شده برای تعیین

۱. Caballero

۲. Nagaraja