

## یک حسگر نوری حساس و گزینش پذیر برای اندازه‌گیری بنزآلدهید در داروهای تزریقی بر اساس استفاده از واکنشگر ۲، ۴-دی‌نیتروفنیل‌هیدرازین

طاهره شکوهی، ابوذر طاهری\*

گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لامرد، لامرد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۳/۱۱ تاریخ تصحیح: ۹۵/۰۶/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۶/۲۹

### چکیده

در این کار پژوهشی یک حسگر نوری جدید و ارزان برای اندازه‌گیری بنزآلدهید، که فرآورده اکسایشی خطرناک بنزیل الکل موجود در داروهای تزریقی است، معرفی شده است. این حسگر بر اساس تثبیت واکنشگر ۲، ۴-دی‌نیتروفنیل‌هیدرازین در غشاء پلیمر PVC، و واکنش افزایش هسته دوستی ۲، ۴-دی‌نیتروفنیل‌هیدرازین با بنزآلدهید استوار است که موجب افزایش جذب حسگر در طول موج ۳۶۶ nm می‌شود. متغیرهای مختلفی که بر علامت نوری حسگر اثر گذار هستند مانند pH محلول، ترکیب اجزای سازنده غشاء و نوع نرم کننده بهینه شدند. محلول بافر عمومی با  $pH=2$  و دی‌بوتیل فتالات به ترتیب به عنوان محیط بهینه اندازه‌گیری و نرم کننده مورد استفاده قرار گرفتند. در شرایط بهینه، حسگر دارای زمان پاسخ ۶ دقیقه، دامنه غلظتی خطی  $0.100 - 4.0$  ppm و حد تشخیص  $0.06$  ppm است. اثر مزاحمت ترکیبات گوناگونی که ممکن است در نمونه‌های دارویی یافت شوند، بر روی اندازه‌گیری بنزآلدهید مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که حسگر نوری تهیه شده از گزینش پذیری خوبی نسبت به بنزآلدهید برخوردار است. حسگر پیشنهادی پاسخ برگشت پذیری دارد و از تکرار پذیری خوبی برخوردار است. این حسگر با موفقیت برای اندازه‌گیری بنزآلدهید موجود در آمپول‌های سدیم دیکلوفناک و پیروکسیکام بکار گرفته شده است.

واژگان کلیدی: حسگر نوری؛ بنزآلدهید؛ ۲، ۴-دی‌نیتروفنیل‌هیدرازین؛ سدیم دیکلوفناک؛ پیروکسیکام

### ۱- مقدمه

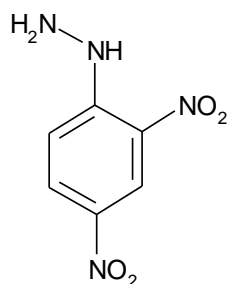
بنزیل الکل یک عامل ضد میکروبی است که به عنوان نگهدارنده تا غلظت ۲٪ در فرمولاسیون داروهایمانند سدیم دیکلوفناک و پیروکسیکام بطور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد. در اثر نگهداری طولانی مدت یا استریل کردن گرمایی داروهای تزریقی، بنزیل الکل به راحتی دچار تخریب اکسایشی شده و به بنزآلدهید (BA) تبدیل می‌شود [۱ و ۲]. بر اساس هشدار که توسط وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی ایران به پزشکان و بیمارستان‌ها اعلام شده، آمده است که فقط در یک سال (۲۰۰۰) حدود ۲۰۰ مورد فلج پای زودگذر یا دائمی بخاطر تزریق عضلانی سدیم دیکلوفناک و در تعدادی موارد پیروکسیکام گزارش شده است که هر دوی این‌ها دارای بنزیل الکل به عنوان نگهدارنده بودند [۱ و ۳].

کتاب دارونامه انگلیس حد مجاز بنزآلدهید موجود در بنزیل الکل مورد استفاده برای ساخت داروهای تزریقی را ۰/۰۵٪ اعلام می‌کند [۱]. وجود این ناخالصی بالقوه به دلیل واکنش‌پذیری و سمیت آن نیاز به شناسایی و اندازه‌گیری دارد. تاکنون چندین روش‌های برای اندازه‌گیری بنزآلدهید در نمونه‌های دارویی گزارش شده است. برخی از این روش‌ها عبارتند از: پلاروگرافی [۳]، کروماتوگرافی گازی (GC) [۱ و ۴]، کروماتوگرافی مایع با کارائی بالا (HPLC) [۲].

اگرچه روش‌های موجود برای اندازه‌گیری بنزآلدهید نتایج رضایت بخشی ارائه می‌کنند اما اغلب نیاز به تجهیزات گران‌قیمت مانند دستگاه‌های HPLC یا GC و نیز مراحل وقت‌گیر آماده‌سازی نمونه دارند. بنابراین لازم است تا روش‌های ساده، حساس، ولی ارزان برای اندازه‌گیری بنزآلدهید گسترش یابد.

در دهه‌های اخیر، حسگرهای نوری (اپتود<sup>۱</sup>) توجه زیادی را به خود معطوف کرده‌اند. این حسگرها مزایای زیادی دارند از جمله سادگی تهیه، هزینه کم، گزینش‌پذیری و حساسیت خوب، دامنه غلظتی خطی وسیع و نیز حد تشخیص پایین [۵]. به دلیل دارا بودن همین مزایا، حسگرهای نوری در زمینه‌های گوناگونی همچون مدیریت مواد زائد، محیط زیست، سم شناسی بالینی، درمان زیستی نوکلئیدهای پرتوزا و غیره کاربرد پیدا کرده‌اند [۶].

۲، ۴- دی نیتروفنیل‌هیدرازین (DNPH)<sup>۲</sup> (شماي ۱) به عنوان واکنشگر برادی<sup>۳</sup> اولین بار توسط پورگاتی<sup>۴</sup> در سال ۱۸۹۴ شناسایی شد و امروزه به عنوان یک واکنشگر تجزیه‌ای عمومی برای شناسایی ترکیبات دارای گروه کربونیل مانند آلدهیدها و کتون‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد [۷]. DNPH یک جامد بلوری به رنگ نارنجی مایل به قرمز، با جرم مولی ۱۹۸/۱۴ و با نقطه ذوب ۱۹۹ °C است که در آب نامحلول ولی در اتانل محلول است.



شماي ۱- ساختار شیمیایی DNPH

در این پژوهش یک حسگر نوری جدید برای اندازه‌گیری بنزآلدهید پیشنهاد شده است. اپتود تهیه شده بر اساس تثبیت واکنشگر DNPH در غشاء پلی وینیل کلریدی (PVC) بر روی یک سطح شیشه‌ای استوار است. بر اساس جستجوهای انجام شده تاکنون

1- Optode  
2- 2, 4-dinitrophenylhydrazine  
3 - Brady's reagent  
4- Purgotti

هیچ حسگر نوری بر پایه DNPH برای اندازه‌گیری بنزالدهید گزارش نشده است. حسگر نوری پیشنهادی تکرار پذیری، گزینش پذیری و پایداری خوبی دارد و با موفقیت برای اندازه‌گیری بنزالدهید در نمونه‌های دارویی تزریقی همانند آمپول سدیم دیکلوفناک و پیروکسیکام بکار گرفته شده است.

## ۲- بخش تجربی

### ۲-۱- دستگاه‌ها

از یک دستگاه اسپکتروفتومتر ماورای بنفش- مرئی دو پرتویی PG Instrument مدل T80+ که بوسیله یک کامپیوتر و با کمک نرم افزار UV- Win کنترل می‌شد و مجهز به سل کوارتزی یک سانتی متری بود، برای اندازه‌گیری جذب محلول‌ها و حسگر استفاده شد.

اندازه‌گیری pH محلول‌ها بوسیله یک pH متر مترام<sup>۱</sup> مدل 827 pH-Lab ساخت سوئیس با یک الکتروود ترکیبی انجام شد.

### ۲-۲- مواد شیمیایی و محلول‌ها

مواد شیمیایی که در مراحل گوناگون آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند از درجه خلوص تجزیه‌ای برخوردار بودند، بنابراین هیچ آماده‌سازی در مورد آن‌ها انجام نگرفت. DNPH، متانول، تتراهیدرو فوران (THF)، و بنزالدهید از شرکت مرک<sup>۲</sup>، پودر PVC با وزن مولکولی بالا و دی اکتیل سبکیت (DOS) از شرکت فلوکا<sup>۳</sup>، و دی بوتیل فتالات (DBP) از شرکت سیگما- آلدريج<sup>۴</sup> تهیه شدند. آمپول‌های سدیم دیکلوفناک و پیروکسیکام تولید داخل کشور از یک داروخانه تهیه شدند.

محلول بافر عمومی (UBS) با pHهای ۱/۰ تا ۸/۰، از مخلوط کردن محلول‌های استیک اسید، بوریک اسید و فسفریک اسید mol<sup>-۱</sup> ۰/۰۴ و سپس افزودن محلول‌های سود mol<sup>-۱</sup> ۰/۱ یا کلریدریک اسید mol<sup>-۱</sup> ۰/۱ به آن جهت دستیابی به pH مورد نظر تهیه شد.

---

1- Metrohm  
2- Merck  
3- Fluka  
4-Sigma-Aldrich

برای تهیه محلول مادر بنزآلدهید با غلظت ۱۰۰۰ ppm، مقدار ۹۶/۲  $\mu\text{L}$  از بنزآلدهید با درجه خلوص ۹۹٪ و چگالی  $\text{g cm}^{-3}$  ۱/۰۵ را در یک بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری با ۵ mL متانول حل کرده و سپس با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد. سایر محلول‌های استاندارد BA از رقیق کردن محلول مادر بوسیله محلول بافر عمومی با  $\text{pH}=2$  تهیه شدند.

## ۲-۳- تهیه حسگر نوری

اسلایدهای شیشه‌ای با ابعاد  $9 \times 40 \times 0.15 \text{ mm}^3$  برش زده شدند تا به آسانی در سل استاندارد اسپکتروفوتومتری قرار گیرند. این اسلایدها به عنوان تکیه‌گاهی برای نشان دادن غشاء پلیمری مورد استفاده قرار گرفتند. اسلایدهای شیشه‌ای ابتدا با اتانل و سپس با آب مقطر دوبار شستشو داده شدند و در پایان در آون با دمای  $100^\circ\text{C}$  برای مدت ۲ ساعت خشک شدند. حسگر نوری مورد استفاده در این کار با استفاده از غشاء پلیمری PVC تهیه شد. به همین منظور مقادیر ۳۰ mg پودر PVC، ۶۱ mg DBP، و ۹ mg DNPB در ۲/۰ mL THF به عنوان حلال، با هم مخلوط شدند و برای مدت ۱۵ دقیقه بر روی همزن مغناطیسی بهم زده شد تا یک محلول شفاف به دست آید.

برای پوشش دادن غشاء بر روی اسلاید شیشه‌ای، از روش پوشش چرخشی<sup>۱</sup> (با دور ۸۰۰ rpm) استفاده شد. برای این کار  $\mu\text{L}$  ۲۵ از محلول شفاف به دست آمده بر روی اسلاید شیشه‌ای ریخته شد و به مدت ۱۰ ثانیه چرخانده شد. فیلم پلیمری نشانده شده بر روی سطح شیشه در آون با دمای  $45^\circ\text{C}$  برای مدت ۲۴ ساعت خشک شد و تا زمان استفاده در یک محل تاریک نگهداری شد. اسلاید به دست آمده از این پس حسگر نامیده می‌شود.

برای تهیه اسلاید شیشه‌ای که به عنوان شاهد در اندازه‌گیری‌های اسپکتروفوتومتری قابل استفاده باشد، فیلم پلیمری مشابه بالا اما بدون واکنش‌گر DNPB تهیه شد و به روشی مشابه نیز بر روی سطح اسلاید شیشه‌ای پوشش داده شد.

## ۲-۴- روش اندازه‌گیری

ابتدا حسگر بصورت عمودی در یک سل حاوی ۳ mL بافر عمومی با  $\text{pH}=2$  گذاشته و پس از گذشت ۵ دقیقه جذب حسگر نسبت به سل مرجعی که دارای حسگر شاهد قرار گرفته در محلول بافر مشابه است، در طول موج ۳۶۰ nm اندازه‌گیری می‌شود. سپس سل با محلول استاندارد BA پر شده و پس از گذشت ۶ دقیقه جذب در طول موج اندازه‌گیری ۳۶۶ nm می‌شود. پاسخ حسگر به صورت نسبت غلظت واکنش‌گر واکنش نداده به کل مقدار واکنش‌گر موجود در غشاء یعنی  $\alpha = \frac{[DNPB]}{[DNPB]_t}$  تعریف می‌شود [۸].

سپس مقدار  $\alpha$  در طول افزایش BA به سل با اندازه‌گیری شدت جذب حسگر نوری،  $A$ ، بصورت زیر محاسبه می‌شود:

$$\alpha = A_1 - A/A_1 - A_0 \quad (1)$$

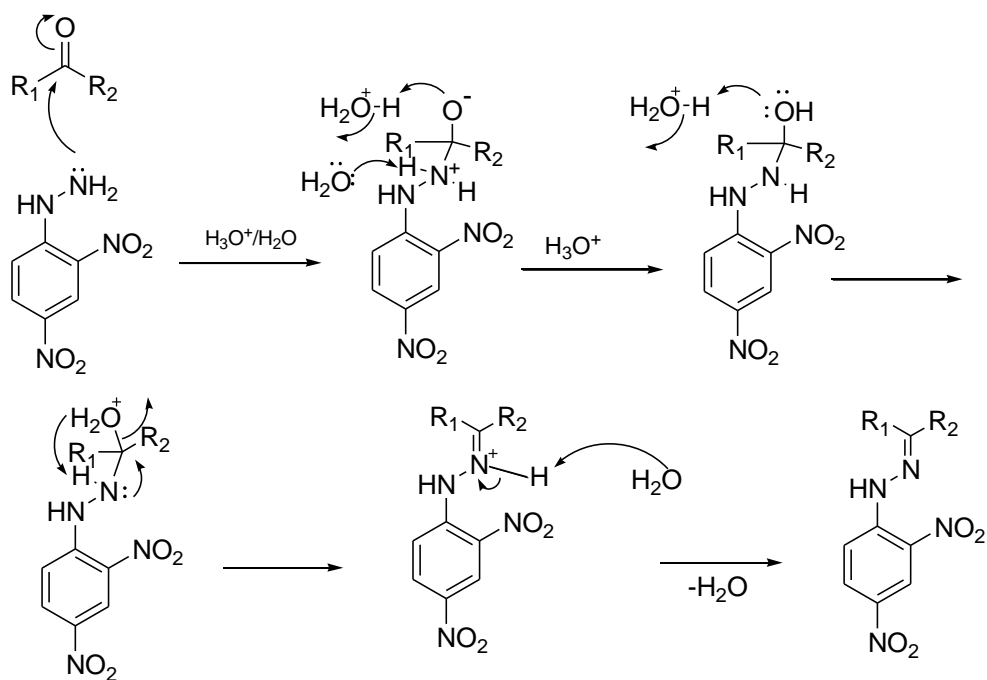
که در اینجا  $A_0$  و  $A_1$  به ترتیب جذب حسگر نوری برای حالتی که واکنشگر بصورت کامل واکنش داده (یعنی  $\alpha=0$ ) و حالت آزاد واکنشگر (یعنی  $\alpha=1$ ) است.  $A$  نیز جذب اندازه‌گیری شده به ازای هر یک از غلظت‌های مختلف BA است. سپس منحنی کالیبراسیون با رسم  $(1-\alpha)$  در مقابل  $\log(C_{BA})$  بدست آمد. ایتود بوسیله محلول  $0.05 \text{ mol L}^{-1}$  NaOH برای مدت ۴ دقیقه قابل احیاء است و هر ایتود برای سه بار قابل استفاده است.

### ۳- نتایج و بحث

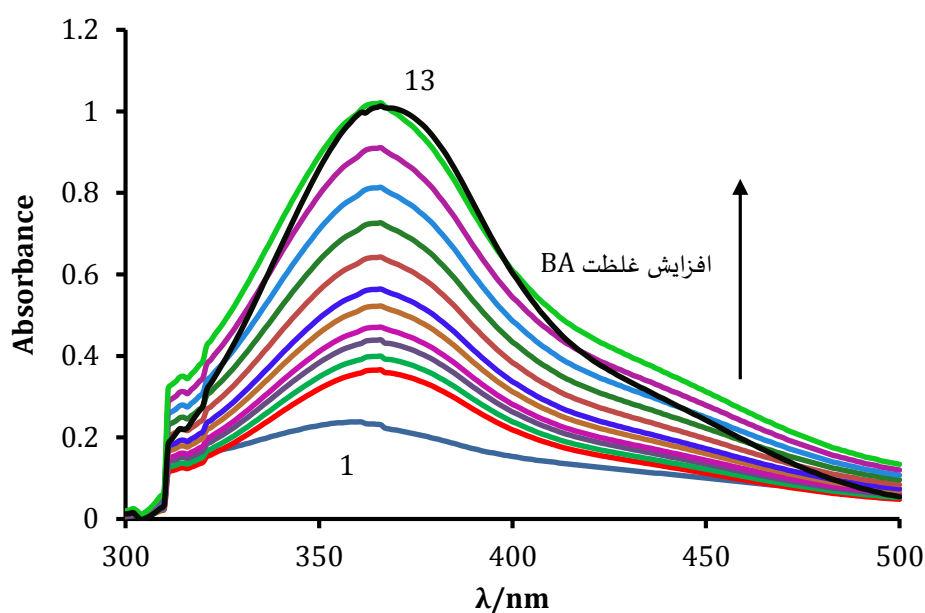
#### ۳-۱- اساس عملکرد حسگر

چندین سال است که آلدئیدها و کتون‌ها بر اساس این حقیقت که توانایی تولید فرآورده‌های بلوری تراکمی با برخی از آمین‌ها را دارند، مورد شناسایی قرار می‌گیرند. یکی از مهمترین این ترکیبات DNPH است. نقطه‌ی ذوب مشخصه‌ی هر یک از مشتقات بلوری بدست آمده روشی برای شناسایی کامل‌تر آنها را فراهم می‌آورد. مکانیسم واکنش DNPH با گروه کربونیل در شمای ۲ نشان داده شده است. محصول این واکنش افزایش هسته دوستی که در شرایط اسیدی انجام می‌شود یک ایمین است.

یک نمونه از طیف‌های به دست آمده از حسگر در شکل ۱ (طیف شماره ۱) نشان داده شده است. این طیف یک قله پهن در حدود  $360 \text{ nm}$  را نشان می‌دهد. طیف‌های شماره ۲ تا ۱۳ مربوط به تماس حسگر با محلول‌هایی از BA با غلظت‌های متفاوت و پس از گذشت زمان انتظار ۶ دقیقه، می‌باشد. چنانچه ملاحظه می‌شود با افزایش محلول BA به سل دارای حسگر، قله مشخصه حسگر با اندکی جابجایی به سمت طول موج‌های بلندتر، در  $366 \text{ nm}$  آشکار شده است و همچنین میزان جذب نیز همزمان با افزایش غلظت BA، افزایش یافته است. در غلظت  $120/0 \text{ ppm}$  (طیف شماره ۱۳) علیرغم افزایش غلظت، اندکی جذب کاهش یافته است که نشان دهنده اشباع شدن حسگر و عدم توانایی آن برای غلظت‌های بالاتر است.



شماى ۲- مکانیسم واکنش DNPH با ترکیب دارای گروه کربونیل



شکل ۱- طیف حسگر تهیه شده با DNPH در سل دارای ۳ mL بافر عمومی با pH=۲ (طیف شماره ۱) و اثر افزایش غلظت‌های مختلف BA از ۴/۰ تا ۱۲۰/۰ ppm (طیف‌های شماره ۱۳-۲) بر روی حسگر

با توجه به اینکه جذب حسگر متناسب با غلظت BA افزایش می‌یابد، بنابراین می‌توان یک روش مطمئن برای اندازه‌گیری بنزآلدهید طراحی کرد.

حسگر نوری پیشنهادی یک اپتود توده‌ای<sup>۱</sup> محسوب می‌شود زیرا فاز غشاء با محلول آبی که در تماس با آن است در تعادل است [۸]. در این حسگر BA به درون غشاء حسگر نفوذ کرده و در آنجا با DNPH واکنش می‌دهد. برای یک فیلم پلیمری حاوی واکنشگر آب‌گریز L (در اینجا DNPH) که ویژگی‌های نوری آن در اثر ترکیب شدن با آنالیت خنثی N (در اینجا BA) تغییر می‌کند و ثابت واکنش واکنشگر با آنالیت  $K_{NL}$  است، تابع پاسخ حسگر می‌تواند بصورت زیر بیان شود:

$$[N]_{aq} = \frac{[N]_{org}}{P_N} = \frac{[NL]_{org}}{P_N K_{NL} [L]_{org}} = \frac{1-\alpha}{P_N K_{NL} \alpha} \quad (2)$$

که در این رابطه  $P_N$  ضریب تقسیم برای N بین نمونه و فیلم حس کننده است و  $\alpha$  نیز نسبت غلظت واکنشگر واکنش نداده به کل مقدار واکنشگر موجود در غشاء می‌باشد [۸]. بر اساس رابطه (۲) بین غلظت آنالیت و پارامتر  $(1-\alpha)$  ارتباط خطی وجود دارد.

### ۳-۲- بهینه کردن اجزای سازنده حسگر

ترکیب اجزای سازنده غشاء می‌تواند بطور قابل ملاحظه‌ای ویژگی‌های پاسخی حسگر نوری از قبیل گزینش پذیری، حساسیت، حد تشخیص، زمان پاسخ و دامنه غلظتی عملکردی را تحت تأثیر قرار دهد [۹ و ۱۰]. بنابراین اثر نوع نرم کننده<sup>۲</sup> و مقدار واکنشگر DNPH بر روی رفتار پاسخ غشاء حسگر بررسی شد. چندین غشاء با ترکیب‌های مختلف تهیه شد. برای تمام غشاءهای مورد مطالعه، مقدار PVC و حلال THF ثابت بود ولی مقدار سایر اجزا بصورت یک متغیر در هر لحظه تغییر می‌کرد (جدول ۱). برای داشتن یک فاز غشایی همگن، حلال غشاء (نرم کننده) باید از نظر فیزیکی با پلیمر سازگاری داشته باشد. همچنین بخوبی معلوم شده که نوع نرم کننده بر دامنه غلظتی خطی و گزینش پذیری غشاء حسگر اثرگذار است و انتقال آنالیت هدف را تسهیل می‌کند. در اغلب حسگرهای ساخته شده قبلی معمولاً بهترین ویژگی‌های غشاء با نسبت نرم کننده / PVC ۲/۲-۱/۶ بدست آمده است [۱۱]. در این پژوهش، دو نوع نرم کننده یعنی DBP و DOS آزمایش شدند. نتایج مندرج در جدول ۱ نشان می‌دهد که نرم کننده DBP از DOS مؤثرتر عمل می‌کند و گسترده‌ترین دامنه غلظتی خطی را در اختیار قرار می‌دهد. اثر مقدار واکنشگر DNPH در محدوده ۸-۱۲٪ بررسی شد و معلوم شد که با انتخاب مقدار ۹٪ DNPH بهترین پاسخ تجزیه‌ای بدست می‌آید.

بنابراین، ترکیب بهینه غشاء شامل ۳۰٪ PVC، ۶۱٪ DBP و ۹٪ DNPH می‌باشد.

1- Bulk Optotode  
2- Plasticizer

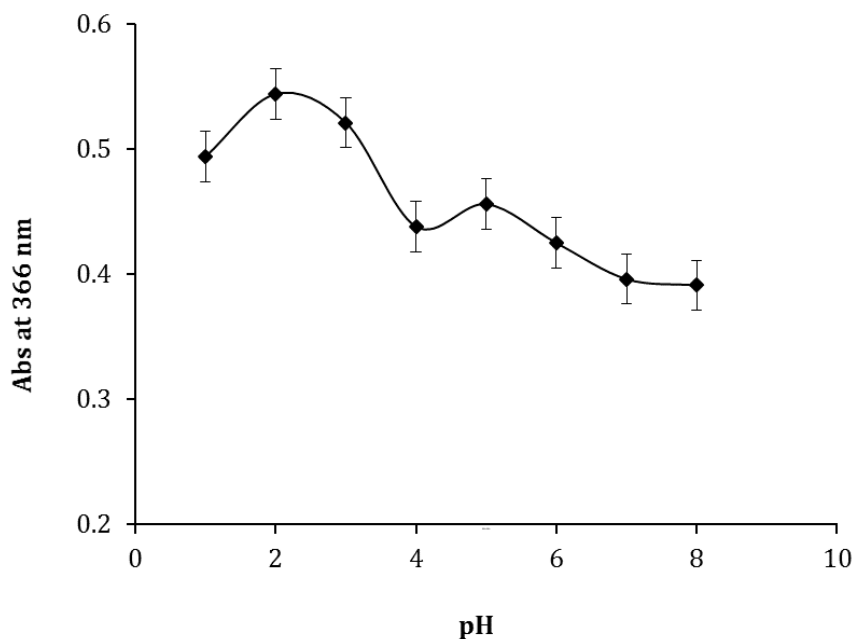
جدول ۱- اثر ترکیب اجزای سازنده غشاء بر روی پاسخ حسگر نوری. مقادیر برحسب mg هستند.

شماره غشاء	PVC	DOS	DBP	DNPH	دامنه غلظتی خطی (ppm)
۱	۳۰	۶۰	—	۱۰	۸/۰-۸۰/۰
۲	۳۰	—	۶۰	۱۰	۴/۰-۹۰/۰
۳	۳۰	—	۵۸	۱۲	۸/۰-۱۰۰/۰
۴	۳۰	—	۶۲	۸	۴/۰-۹۰/۰
۵	۳۰	—	۶۱	۹	۴/۰-۱۰۰/۰

### ۳-۳- بررسی اثر pH محلول آزمایشی بر روی پاسخ حسگر

بر اساس شمای ۲ مشخص است که پاسخ این اپتود به میزان غلظت  $H^+$  موجود در محیط بستگی دارد. بنابراین pH محلول آبی باید بوسیله یک بافر مناسب ثابت نگهداشته شود. برای یافتن بهترین pH، محلول‌هایی از BA با غلظت ۴۰/۰ ppm در هر یک از pHهای ۱/۰ تا ۸/۰ بافر عمومی تهیه شدند و جذب اپتود در تماس با این محلول‌ها در طول موج ۳۶۶ nm ثبت شد. نتایج آورده شده در شکل ۲ نشان می‌دهند که در  $pH=2$ ، حسگر دارای بیشترین مقدار جذب بوده و این pH به عنوان pH بهینه برای ادامه کار انتخاب می‌شود. با توجه به مکانیسم نشان داده شده در شمای ۲ برای واکنش بین ترکیبات کربونیل‌دار و DNPH، هرچه محیط اسیدی‌تر باشد احتمال انجام واکنش بیشتر خواهد بود و به همین دلیل در  $pH=2$  بیشترین جذب ناشی از تولید فرآورده این واکنش مشاهده شده است. در محیط اسیدی‌تر  $pH=1$  احتمالاً غلظت بالای  $H^+$  باعث پروتونه شدن گروه آمین DNPH شده که خود باعث کاهش قدرت هسته دوستی گروه آمین انتهایی این واکنشگر می‌شود و احتمال انجام واکنش با BA نیز کاهش می‌یابد.





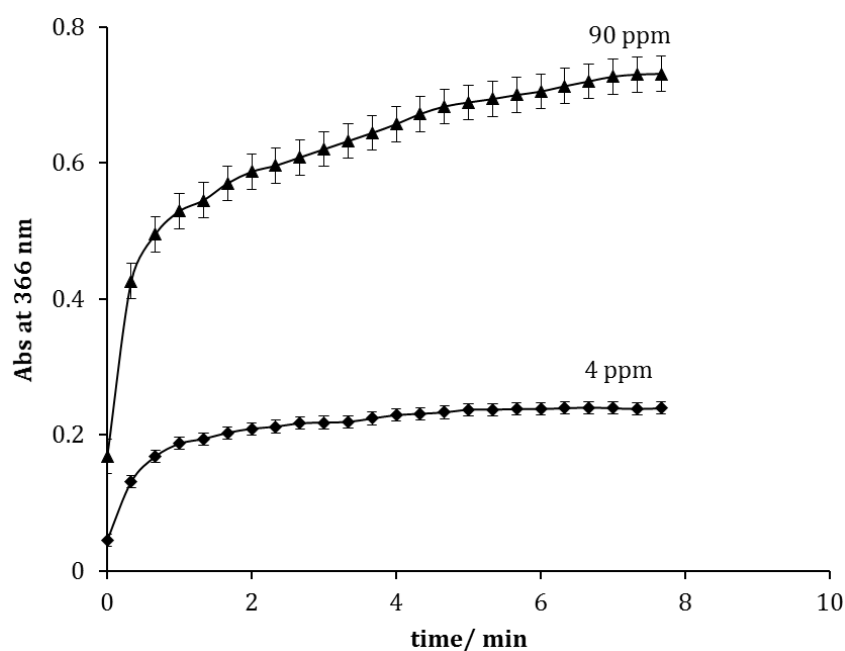
شکل ۲- نمودار تأثیر pH محلول آزمایش بر روی پاسخ حسگر؛ جذب حسگر در طول موج ۳۶۶ nm و در مجاورت BA با غلظت ۴۰/۰ ppm خوانده شده است. میله‌های خطی<sup>۱</sup> بیانگر یک برابر انحراف استاندارد برای سه مرتبه آنالیز هستند.

### ۳-۴- زمان پاسخ‌گویی

زمان پاسخ‌گویی حسگر نوری به ضخامت غشای آلی، ترکیب غشای آلی، غلظت گونه مورد اندازه‌گیری و pH اندازه‌گیری بستگی دارد [۵]. زمان پاسخ‌گویی یک ایتود در غلظت‌های بالاتر آنالیت بوسیله زمان لازم برای نفوذ آنالیت از توده محلول به سطح غشاء و واکنش آن با واکنشگر کنترل می‌شود [۱۰]. زمان پاسخ‌گویی ایتود، به عنوان مدت زمان لازم برای رسیدن به ۹۵٪ سیگنال نهایی تعریف می‌شود [۱۲].

به منظور بدست آوردن زمان پاسخ مناسب، ایتود در محلول‌های ۴/۰ و ۹۰/۰ ppm BA با pH=۲ قرار داده و هر ۲۰ ثانیه یک‌بار تغییرات جذب در طول موج ۳۶۶ nm ثبت شد. نتایج این بررسی در شکل ۳ نمایش داده شده است و از شکل معلوم است که زمان پاسخ‌گویی حسگر کمتر از ۶ دقیقه است.

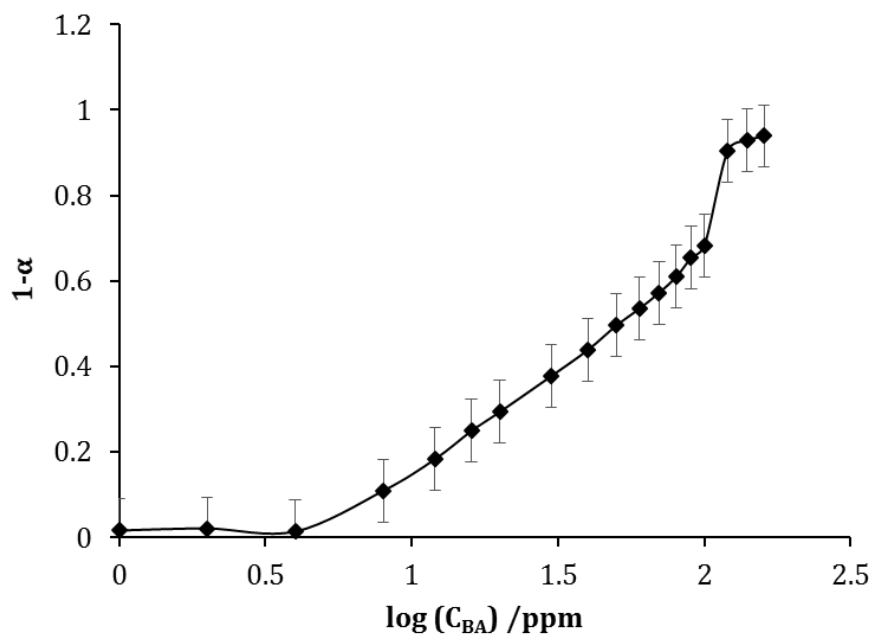
1- Error bar



شکل ۳- تغییرات زمان پاسخ‌گویی حسگر برای دو غلظت ۴/۰ و ۹۰/۰ ppm از BA، میله‌های خطا بیانگر یک برابر انحراف استاندارد برای سه مرتبه آنالیز هستند.

### ۳-۵- ویژگی‌های تجزیه‌ای حسگر

شکل ۱ طیف‌های جذبی اپتود را در محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف از BA نشان می‌دهد که در آن جذب در طول موج ۳۶۶ nm افزایش یافته است. شکل ۴ تغییرات تابع پاسخ  $(1 - \alpha)$  در مقابل  $\log(C_{BA})$  (به عنوان منحنی کالیبراسیون) در شرایط بهینه را نمایش می‌دهد. این منحنی در محدوده ۱۰۰ - ۴ ppm با معادله خط  $(1 - \alpha) = 0.4887 \log(C_{BA}) - 0.3261$  و ضریب همبستگی  $R^2 = 0.9905$  خطی است. حد تشخیص (LOD) به عنوان غلظتی از بنزآلدهید تعریف می‌شود که پاسخی برای حسگر برابر با سه برابر انحراف استاندارد محلول شاهد ایجاد کند ( $3\sigma$ ) و برابر ۰/۶ ppm بدست آمد. این حد تشخیص به اندازه کافی پایین است تا الزامات مورد نیاز برای تعیین BA موجود در نمونه‌های دارویی را برآورده کند.



شکل ۴- منحنی تغییرات پاسخ اپتود برای غلظت‌های مختلف BA در شرایط بهینه، میله‌های خطا بیانگر یک برابر انحراف استاندارد برای سه مرتبه آنالیز هستند.

### ۳-۶- تکرارپذیری<sup>۱</sup> و تکثیرپذیری<sup>۲</sup>

به منظور ارزیابی تکرارپذیری حسگر پیشنهادی، محلول‌هایی از BA با غلظت ۸/۰، ۲۰/۰، و ۴۰/۰ ppm در بافر عمومی (pH=۲) تهیه شد. سپس جذب حسگر در مجاورت این محلول‌ها در طول موج ۳۶۶ nm، ۵ بار اندازه‌گیری شده و به کمک مقادیر جذب و منحنی کالیبراسیون، غلظت BA در هر یک از محلول‌ها تعیین گردید. نتایج به دست آمده در جدول ۲ آورده شده است. در این جدول مقدار درصد انحراف استاندارد نسبی (%RSD)<sup>۳</sup> محلول‌ها توسط رابطه زیر محاسبه شده است:

$$\%RSD = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 \quad (3)$$

در این رابطه S انحراف استاندارد برای ۵ بار اندازه‌گیری غلظت BA و  $\bar{X}$  مقدار میانگین غلظت BA به دست آمده برای هر یک از محلول‌ها بوسیله حسگر پیشنهادی می‌باشد. نتایج جدول نشان می‌دهند که روش پیشنهادی از دقت خوبی برخوردار است.

1- Repeatability  
2- Reproducibility  
3- Relative Standard Deviation (RSD)

جدول ۲- نتایج به دست آمده از ارزیابی تکرارپذیری حسگر پیشنهادی برای اندازه‌گیری BA

مقدار BA موجود (ppm)	میانگین مقدار BA به دست آمده از حسگر پیشنهادی (ppm)	RSD% (n = 5)
۸/۰	۷/۱۴	۳/۶۴
۲۰/۰	۲۰/۸۷	۳/۲۲
۴۰/۰	۳۷/۲۵	۱/۴۶

برای ارزیابی تکثیرپذیری روش، ۵ غشاء اپتود تهیه شد و ۵ بار جذب هر یک از آنها در طول موج ۳۶۶ nm برای دو محلول ۸/۰ و ۴۰/۰ ppm در pH=۲ ثبت شد. نتایج نشان دادند که RSD% برای این دو محلول به ترتیب برابر ۴/۷۱٪ و ۳/۸۵٪ است که خود بیانگر تکثیرپذیری قابل قبول روش می‌باشد.

### ۳-۷- طول عمر و پایداری حسگر

برای یافتن طول عمر حسگر از معیار میزان نشت واکنشگر از غشاء حسگر استفاده شد. به همین منظور جذب حسگر تازه تهیه شده در طول موج مشخصه DNPH در غشاء یعنی ۳۶۰ nm یادداشت می‌شود ( $A_0 = 0/۲۳۸$ ) و سپس حسگر در یک بشر دارای بافر عمومی با pH=۲ گذاشته و پس از ۳۰ دقیقه دوباره جذب آن خوانده می‌شود (A). با استفاده از رابطه

$$\text{درصد نشت واکنشگر} = \frac{A - A_0}{A_0} \times 100 \quad (۴)$$

می‌توان مقدار درصد نشت کردن واکنشگر از حسگر را حساب کرد. در این رابطه، A جذب حسگر بعد از گذشت زمان ۳۰ دقیقه و  $A_0$  جذب اولیه حسگر تازه تهیه شده می‌باشد. این کار پس از گذشت یک ساعت، ۱۰ ساعت و ۱۰ روز انجام شد. نتایج نشان داد که مقدار نشت کردن واکنشگر برای ۱۰ ساعت، ناچیز است. میزان نشت کردن بعد از گذشت ۱۰ روز، ۱۱/۷۶٪- به دست آمد ( $A = 0/۲۱۰$  بعد از گذشت ۱۰ روز). این نتایج نشان می‌دهند که حسگر پیشنهادی در دوره ۱۰ روزه از پایداری خوبی برخوردار است.

### ۳-۸- احیاء حسگر

احیاء کارآمد یک اپتود در یک مدت زمان منطقی یکی از لازمه‌های مفید بودن اپتود در طی استفاده‌های متوالی است. به همین خاطر پس از تماس حسگر با محلول BA، غشاء حسگر باید با استفاده از یک واکنشگر رها کننده مناسب احیاء شود و برای اندازه‌گیری‌های بعدی آماده شود. آزمایش‌های اولیه برای انتخاب محلول احیاء کننده با بررسی ترکیبات گوناگونی همچون KOH، NaOH،  $\text{NH}_3$ ،  $\text{NaBH}_4$ ،  $\text{H}_2\text{SO}_4$  و  $\text{HNO}_3$  با غلظت‌های ۰/۰۵ و  $0/1 \text{ mol L}^{-1}$  از هر کدام انجام شد. برای انجام این آزمایش‌ها، ابتدا جذب حسگر نوری در طول موج ۳۶۰ nm ثبت شد و سپس حسگر نوری برای مدت ۶ دقیقه در محلول BA (۴۰/۰ ppm)

قرار داده شد تا به تعادل برسد و ۵ مرتبه جذب حسگر در طول موج ۳۶۶ nm خوانده شد. سپس این حسگر برای مدت زمان‌های مختلف از ۱ تا ۱۵ دقیقه در محلول احیاء کننده قرار داده شد و مجدداً جذب حسگر خوانده شد. نتایج نشان دادند که اپتود می‌تواند بوسیله محلول  $\text{NaOH } 0.05 \text{ mol L}^{-1}$  و پس از گذشت ۴ دقیقه احیاء شود و جذب آن به حدود جذب اولیه (قبل از تماس با محلول BA) باز گردد.

برای دانستن اینکه هر حسگر چند مرتبه می‌تواند احیاء شود، از یک اپتود برای اندازه‌گیری محلولی از BA با غلظت ۴۰/۰ ppm استفاده شد. پس از هر اندازه‌گیری، اپتود احیاء شده و دوباره برای اندازه‌گیری BA در محلول مورد استفاده قرار گرفت. نتایج این مطالعه نیز نشان دادند که هر اپتود حداکثر تا ۳ بار، قبل از اینکه RSD آن به ۵٪ برسد، قابل استفاده است.

### ۳-۹- مطالعه مزاحمت سایر گونه‌ها

به منظور ارزیابی امکان کاربرد تجزیه‌ای روش پیشنهادی، اثر ترکیبات گوناگون بر روی اندازه‌گیری BA بررسی شد. برای این کار، در شرایط بهینه پاسخ حسگر نوری در یک محلول دارای BA ۲۰/۰ ppm اندازه‌گیری شد. سپس پاسخ حسگر در محلولی که دارای همان غلظت از BA و غلظت‌های مختلف از گونه‌های مزاحم احتمالی بود اندازه‌گیری شد؛ سپس خطای نسبی نسبت به حالت قبل محاسبه شد. گونه‌های مزاحم انتخاب شده شامل برخی اجزای موجود در فرمولاسیون داروهای تزریقی مانند سدیم دیکلوفناک، پروپیلن گلیکول، سدیم متابی‌سولفیت، و بنزیل الکل و موادی که در مراحل مختلف سنتز این داروها استفاده می‌شوند مانند ۲- کلرو بنزوئیک اسید، ساخارین،  $\text{Cu}^{2+}$ ، و چند ماده دیگر از جمله متانول، اتانول، استون و  $\text{Na}^+$  می‌باشند. نتایج در جدول ۳ آمده است. نسبت تحمل<sup>۱</sup> به عنوان نسبتی از غلظت گونه مزاحم به غلظت BA تعریف می‌شود که موجب خطای ۵٪ در پاسخ حسگر برای اندازه‌گیری BA می‌شود [۱۳]. نتایج نشان دادند که تقریباً مزاحمت جدی از ناحیه مواد رایج بر روی پاسخ حسگر وجود ندارد و فقط استون که معمولاً در این داروها وجود ندارد، مزاحمت زیادی ایجاد می‌کند.

جدول ۳- اثر گونه‌های خارجی بر روی پاسخ حسگر

نسبت تحمل	گونه مزاحم
۴۰۰	$\text{Na}^+$ ، سدیم دیکلوفناک
۳۰۰	$\text{Cu}^{2+}$
۲۰۰	متانول
۱۵۰	اتانول
۱۰۰	بنزیل الکل، پروپیلن گلیکول، ساخارین
۵۰	سدیم متابی‌سولفیت
۱۰	۲- کلرو بنزوئیک اسید
۱	استون

1- Tolerance ratio

## ۳-۱۰- آنالیز نمونه‌های حقیقی و آزمون بازیابی

از آمپول‌های سدیم دیکلوفناک و پیروکسیکام به عنوان نمونه‌های حقیقی در این آزمایش استفاده شد. هر دو نمونه حقیقی بدون هیچ‌گونه آماده سازی مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور اجتناب از مزاحمت‌های احتمالی بافت نمونه از روش افزایش استاندارد برای آنالیز آنها استفاده گردید. برای این کار، ۱/۰ mL از هر نمونه با ۲/۰ mL بافر عمومی (pH=۲) مخلوط شده و جذب حسگر قرار گرفته در این محلول ثبت شد. سپس حجم‌های مختلفی از محلول استاندارد BA به این محلول افزوده تا غلظت‌هایی از ۴/۰ تا ۶۰/۰ ppm فراهم شود و مجدداً بوسیله حسگر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (n=۵). غلظت BA اولیه موجود در نمونه‌ها از رسم نمودار جذب در مقابل غلظت محلول استاندارد بدست آمد. برای انجام آزمون بازیابی نیز ۱/۰ mL از هر نمونه آمپول با دو حجم مختلف از محلول استاندارد BA مخلوط شده و بوسیله حسگر نوری مورد آنالیز قرار گرفتند. نتایج مربوط به آزمون بازیابی در جدول ۴ گزارش شده است. بر اساس این جدول اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین مقادیر اضافه شده و مقادیر به دست آمده وجود ندارد.

جدول ۴- نتایج آزمون بازیابی BA در نمونه‌های دارویی

نمونه	BA اضافه شده (ppm)	BA بدست آمده (ppm) (n=۵)	درصد بازیابی
آمپول سدیم دیکلوفناک	۰/۰	۱۵/۴ ± ۱/۱	-----
	۱۰/۰	۲۴/۷ ± ۰/۸	۹۳/۰
	۲۵/۰	۴۱/۵ ± ۱/۴	۱۰۴/۴
آمپول پیروکسیکام	۰/۰	۷/۹ ± ۰/۶	-----
	۱۰/۰	۱۸/۵ ± ۱/۰	۱۰۶/۰
	۲۵/۰	۳۱/۳ ± ۰/۹	۹۳/۶

## ۴- نتیجه‌گیری

در این کار یک حسگر نوری ارزان قیمت همراه با حساسیت و گزینش پذیری خوب برای تعیین مقدار بنزآلدهید گزارش شده است. این حسگر نوری بر اساس تثبیت واکنشگر ۲، ۴- دی نیتروفنیل هیدرازین، که تقریباً در اغلب آزمایشگاه‌ها در دسترس است، در بافت غشاء پلیمری از جنس PVC تهیه شده است. حسگر پیشنهادی بر اساس واکنش افزایش هسته دوستی DNPH به بنزآلدهید و تولید فرآورده ایمین استوار است. منحنی درجه بندی در محدوده غلظتی ۴/۰-۱۰۰/۰ ppm خطی بوده، حد تشخیص این حسگر ۰/۶ ppm و زمان پاسخ آن نیز ۶ دقیقه می‌باشد. اپتود پیشنهادی با محلول  $0.05 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$  قابل احیاء است. این حسگر از پایداری بالا، تکرارپذیری و تکثیرپذیری خوبی برخوردار می‌باشد. حسگر معرفی شده برای اندازه‌گیری مقدار بنزآلدهید در نمونه‌های دارویی آمپول سدیم دیکلوفناک و پیروکسیکام با دقت و صحت خوبی قابل بکارگیری است.

## ۵- تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی خود را از دانشگاه آزاد اسلامی واحد لامرد به خاطر حمایت از این کار پژوهشی اعلام می‌نمایند.

## ۶- منابع

- [1] A.G. Kazemifard, D.E. Moore, A. Mohammadi, A. Kebriyaezadeh, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **31** (2003) 685.
- [2] A.M. Di Pietra, V. Cavrini, M.A. Raggi, *Int. J. Pharm.*, **35** (1987) 13.
- [3] A.G. Kazemifard, D.E. Moore, A. Mohammadi, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **30** (2002) 257.
- [4] I.I. Hewala, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **12** (1994) 73.
- [5] A.R. Firooz, A.A. Ensafi, K. Sadat Hoseini, N. Kazemifard, *Mater. Sci. Eng., C*, **38** (2014) 73.
- [6] Y. Wang, B. Li, L. Zhang, L. Liu, Q. Zuo, P. Li, *New J. Chem.*, **34** (2010) 1946.
- [7] S.S. Kadam, S.T. Tambe, N.D. Grampurohit, D.D. Gaikwad, *Int. J. Res. Pharm. Chem.*, **2(4)** (2012) 1086.
- [8] E. Bakker, P. Bühlmann, E. Pretsch, *Chem. Rev.*, **97** (1997) 3083.
- [9] K. Seiler, W. Simon, *Anal. Chim. Acta*, **266** (1992) 73.
- [10] A.R. Firooz, A.A. Ensafi, K. Karimi, H. Sharghi, *Mater. Sci. Eng., C*, **33** (2013) 4167.
- [11] M. Shamsipur, K. Alizadeh, M. Hosseini, C. Caltagirone, V. Lippolis, *Sens. Actuators B*, **113** (2006) 892.
- [12] M.M.F. Choi, X.J. Wu, Y.R. Li, *Anal. Chem.*, **71** (1999) 1342.
- [13] M. Noroozifar, M. Khorasani Motlagh, A. Taheri, R. Zare Dorabei, *Turk. J. Chem.*, **32** (2008) 249.

