



وزارة التعليم العالي
والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية العلوم
قسم الكيمياء



تقدير فيتامينات E و C بواسطة تفاعلات التعقيد والاكسدة والاختزال
باستخدام طرائق طيفية مختلفة

رسالة مقدمة إلى
مجلس كلية العلوم / جامعة ديالى
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الكيمياء

من قبل

نور جاسم محمد علي

بكالوريوس علوم الكيمياء / جامعة ديالى 2015

بإشراف

أ.م.د. عباس شبيب حسن

أ.م.د. أحمد مهدي سعيد

2018 م

العراق

1439 هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ فَمَنْ حَاجَّكَ فِيهِ مِنْ بَعْدِ مَا جَاءَكَ مِنَ
الْعِلْمِ فَقُلْ تَعَالَوْا نَدْعُ أَبْنَاءَنَا وَأَبْنَاءَكُمْ وَ
نِسَاءَنَا وَنِسَاءَكُمْ وَأَنْفُسَنَا وَأَنْفُسَكُمْ ثُمَّ
نَبْتَهِلْ فَنَجْعَلْ لَعْنَتَ اللَّهِ عَلَى الْكَاذِبِينَ ﴾

صَدَقَ اللَّهُ الْعَلِيُّ الْعَظِيمُ

﴿ آل عمران : 61 ﴾

الاهداء

- الى من بلغ الرسالة وادى الامانة ونصح الامة الى نبي الرحمة ونور العالمين نبينا محمد (ص) .
- الى قدوتي الاولى ونبراسي الذي ينير دربي
- الى من جلله الله بالهيبه والوقار
- الى من علمني العطاء بدون انتظار
- الى من احمل اسمه بكل افتخار ابي الغالي .
- الى ملاكي في الحياة . . ذلك النبع الصافي
- الى التي رآني قلبها قبل عينيها
- وحضنتني احشاؤها قبل يديها
- الى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي امي الحبيبة .
- الى الايادي التي اخذت بي الى الامام
- الى اصحاب الكلمة الطيبة واصحاب الفضل الاكبر
- لأجمل جوهرة في حياتي وهدية ربي الي زوجي واخواني .
- الى من تذوقت معهم اجمل اللحظات الى من ساقطدهم اخوتي بالله ومن احببتهم بالله
- طلاب الدراسات العليا قسم الكيمياء .
- الى من اعطانا ادواته الهندسية لتسطر دروبنا العشوائية ونصعد الاجاد اساتذتنا

اليكم اهدي ثمرة جهدي

نور جاسم

شكر وتقدير

بسم الله الرحمن الرحيم

((رَبِّ أَوْزِعْنِي أَنْ أَشْكُرَ نِعْمَتَكَ الَّتِي أَنْعَمْتَ عَلَيَّ وَعَلَىٰ وَالِدَيَّ وَأَنْ أَعْمَلَ صَالِحًا تَرْضَاهُ))

الحمد لله الذي لا توارى عنه سماء سماء ولا ارض ارضاً، والصلاة والسلام على رسوله مشكاة الضياء وذؤابة العلياء وعلى اله مصابيح الظلمة وينابيع الحكمة. . فلا بد لي وقد انتهيت من كتابة الرسالة أتقدم بخالص شكري وتقديري الى استاذي الفاضلين (أ.م.د. أحمد مهدي سعيد و أ.م.د. عباس شبيب حسن) اللذان تفضلاً بالأشراف على هذه الرسالة وتعهداها بالتوجيه المستمر، فأرشداني وساروا معي منذ ان كانت فكرة حتى باتت على ماهي عليه بين ايديكم فهونا علي ما صعب وخففا ما ثقل فجزاهما الله عني خير الجزاء . كما أتقدم بجزيل الشكر والامتنان الى السيد العميد المحترم وعمادة كلية العلوم ورئاسة قسم الكيمياء وكافة التدريسين والعاملين فيها وادعوا الله ان يكلل مساعيهم بالموفيقية والنجاح. واقدم فائق شكري وتقديري الى جميع زميلاتي وزملائي الاعزاء طلبة الدراسات العليا كافة واطمئن بالذكر منهم (نور قاسم و محمد رضا) وأصدقائي ومن أحب الذين وقفوا الى جانبي واعانوني على تسهيل الصعاب متمنيا لهم السعادة والتوفيق . وأخيرا أقدم امتناني لمن كانوا سبب في استمرار واستكمال مسيرة حياتي، من وقفوا معي بأشد الظروف ومن حفزوني على المثابرة والاستمرار وعدم اليأس، أقدم لكم أجمل عبارات الشكر والامتنان من قلب فاض بالاحترام والتقدير لكم (عائلتي الكريمة) وجزاكم الله عني خير الجزاء وابقاكم سندا وعونا لي واتمنى من الله العلي القدير ان يوفق الجميع ويوفقي معهم لتقديم كل ما هو خير لوطننا الحبيب والانسانية جمعاء وان يجعلنا ممن " أُوتِيَ كِتَابَهُ بِيَمِينِهِ فَيَقُولُ هَؤُلَاءِ اقْرَءُوا كِتَابِيهِ " .

الله ولي التوفيق

الباحثة

الملخص

هذه الدراسة تضمنت تقدير فيتامين E و C بشكلهما النقي وفي المستحضرات الصيدلانية بطريقتين. الاولى تكوين معقد للفيتامينات مع ايون الذهب وقياس المعقد طيفيا بالأشعة فوق البنفسجية - المرئية والامتصاص الذري اللهي. الثانية تكوين محلول ملون بوجود ايون الحديدك والفيتامينات وثنائي كرومات البوتاسيوم . اظهرت المعقدات أعظم امتصاص عند الطول الموجي 535 و599.8 نانومتر لفيتامين E و C. واعطى المحلول اللوني أعظم امتصاص عند 565 و564.4 نانومتر لمزيج كبريتات الحديدك الامونياكية (FAS) ونتروروسيد الصوديوم (SNP) مع الفيتامينات و ثنائي كرومات البوتاسيوم . أظهرت النتائج ان قيمة R^2 هي (0.9991 و 0.9992)، حد الكشف و الحد الكمي و مدى الخطية و R.S.D (0.18 و 0.04) (0.59 و 0.14) (40 - 2 و 22 - 1) مايكروغرام/ ملتر ، (0.57 و 0.38) لطريقة الاشعة فوق البنفسجية المرئية والامتصاص الذري اللهي على التوالي لفيتامين E . وقيمة R^2 وحد الكشف و الحد الكمي و الخطية و R.S.D (0.9992 و 0.9993) (0.24 و 0.09) (0.78 و 0.28) (45 - 2 و 22 - 1) مايكروغرام/ ملتر، (0.48 و 0.82) لطريقة الاشعة فوق البنفسجية المرئية والامتصاص الذري اللهي على التوالي لفيتامين C. بينت النتائج كذلك ان قيمة R^2 هي (0.9989 و 0.9991) (0.9991 و 0.9979)، حد الكشف (0.50 و 0.50) و (0.10 و 0.25)، الحد الكمي (1.65 و 1.65) و (0.33 و 0.83)، مدى الخطية هو (28 - 0.5 و 30 - 0.50) و (50 - 0.1 و 50 - 0.25) مايكروغرام/ ملتر، R.S.D (4.28 و 3.63) و (2.88 و 1.62) لكاشف FAS و كاشف SNP لتقدير فيتامين E و فيتامين C على التوالي. اثبتت النتائج المستحصلة الى ان الطرق المستحدثة بالإمكان تطبيقها لتقدير فيتامين E و C بحالتها النقية وفي مستحضراتها الصيدلانية بدقة عالية وكلفة قليلة دون الحاجة الى معاملات معقدة.

قائمة المختصرات

المختصر	العبرة الكاملة
Cm-1	1/Centimeter
A	Acid
ATP	Adenosine triphosphate
ABS	Analytical balance sensitive
BDH	British drug houses
R 2	Correlation coefficient
FAS	Ferric ammonium sulphate
FAAS	Flame atomic absorption Spectrophotometry
FAD	flavin adenine dinucleotide
FMN	Flavin mononucleotide
FT-IR	Fourier-transform infrared spectroscopy
GCC	Global chemical company
HPLC	High performance liquid chromatography
L.O.D	Limits of detection
L.O.Q	Limits of quantitation
µg/mL	Micrograms/ milliter
ε	Molecular absorptivity
M.Wt	Molecular mass
nm	Nanometer
NAD	Nicotinamide adenine dinucleotide
D	Potassium dichromate
pH	Power of hydrogen
RE	Relative error
R.S.D	Relative standard deviation
rpm	Rotation per minute
SDI	Samara drug industry

SNP	Sodium nitro prusside
S.D	Standard deviation
S.E	Standard error
UPLC	Ultra performance liquid chromatography
UV-VIS	Ultra violet-visible
V	Vitamin

قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	الفقرة
الفصل الاول		
1	المقدمة	1
1	الفيتامينات	1-1
2	الطبيعة الوظيفية للفيتامين	1-1-1
2	تصنيف الفيتامينات	2-1-1
2	الفيتامينات الذائبة في الماء	1-2-1-1
3	فيتامين C (حامض الأسكوربيك)	1-1-2-1-1
3	الانتشار	2-1-2-1-1
3	الوظيفة الكيميائية الحياتية	3-1-2-1-1
4	نقصان حامض الأسكوربيك	4-1-2-1-1
4	الفيتامينات الذائبة في الدهون	2-2-1-1
5	فيتامين E (α -توكوفيرول)	1-2-2-1-1
5	الانتشار	2-2-2-1-1
6	الوظيفة الكيميائية الحياتية	3-2-2-1-1
6	نقصان فيتامين E	4-2-2-1-1
6	التعقيد	2-1
7	القياس الطيفي	3-1
8	قياسات الامتصاص في مطيافية فوق البنفسجية- المرئية	1-3-1
8	الفصائل الماصة للإشعاع	2-3-1
12	الاستخدامات التحليلية للامتصاص في المنطقة ما فوق البنفسجية - المرئية	3-3-1
13	قانون بير لامبرت	4-3-1
14	الامتصاص الذري	4-1
14	امتصاص الذرات للطاقة الإشعاعية	1-4-1
15	مطياف الامتصاص الذري	2-4-1
17	التطبيقات التحليلية الكمية	3-4-1
18	الكواشف الكيميائية المستخدمة	5-1
18	ثلاثي كلوريد الذهب	1-5-1

18	نتروروبوسيد الصوديوم	2-5-1
19	ثنائي كرومات البوتاسيوم	3-5-1
20	استعراض المراجع	6-1
20	الطرق التحليلية لتقدير فيتامين E	1-6-1
27	الطرق التحليلية لتقدير فيتامين C	2-6-1
36	اهداف الدراسة	7-1
الفصل الثاني		
37	الجزء العملي	2
37	الاجهزة والادوات	1-2
37	المواد الكيميائية	2-2
39	تحضير المحاليل	3-2
39	تحضير محاليل الخزن القياسية	1-3-2
41	الطرائق العملية المستخدمة في تقدير الفيتامينات	4-2
41	التعقيد مع ايون الذهب	1-4-2
42	مطيافية الاشعة فوق البنفسجية - المرئية	1-1-4-2
42	طيف الامتصاص الاعظم	1-1-1-4-2
42	الظروف الفضلى	2-1-1-4-2
42	تأثير الدالة الحامضية	1-2-1-1-4-2
43	تأثير زمن التفاعل	2-2-1-1-4-2
43	تأثير درجة الحرارة	3-2-1-1-4-2
44	تركيز ايون الذهب	4-2-1-1-4-2
44	الصيغة الجزيئية (نسبة الاتحاد المولية) للمعدن	5-2-1-1-4-2
45	المنحني القياسي لمطيافية امتصاص الاشعة فوق البنفسجية - المرئية	6-2-1-1-4-2
45	مطيافية الامتصاص الذري اللهبى	2-1-4-2
46	تركيز ايون الذهب	1-2-1-4-2
46	المنحني القياسي لمطيافية الامتصاص الذري اللهبى	2-2-1-4-2
46	استرجاعية المواد القياسية	3-1-4-2
47	التطبيق على العينات الدوائية التجارية	4-1-4-2

48	طريقة تفاعل الاكسدة-الاختزال باستخدام ثنائي كرومات البوتاسيوم	2-4-2
49	اطياف الامتصاص للكواشف المستخدمة	1-2-4-2
49	الظروف الفضلى	2-2-4-2
49	نوع المذيب	1-2-2-4-2
50	تسلسل الاضافات	2-2-2-4-2
50	زمن الاستقرار	3-2-2-4-2
51	حجم كبريتات الحديدك الامونياكية و نثروبروسيد الصوديوم	4-2-2-4-2
51	حجم كاشف ثنائي كرومات البوتاسيوم	5-2-2-4-2
52	حجم الحامض	6-2-2-4-2
52	تأثير درجة الحرارة	7-2-2-4-2
53	المنحنى القياسي الطيفي	8-2-2-4-2
54	استرجاعية المواد القياسية	9-2-2-4-2
54	التطبيق على العينات الدوائية التجارية	10-2-2-4-2
الفصل الثالث		
55	النتائج والمناقشة	3
55	التعقيد مع ايون الذهب	1-3
55	مطيافية الاشعة فوق البنفسجية – المرئية	1-1-3
55	طيف الامتصاص الاعظم	1-1-1-3
57	الظروف الفضلى	2-1-1-3
57	تأثير الدالة الحامضية	1-2-1-1-3
59	زمن التفاعل	2-2-1-1-3
60	تأثير درجة الحرارة	3-2-1-1-3
61	تركيز ايون الذهب	4-2-1-1-3
62	الصيغة الجزيئية (نسبة الاتحاد المولية) للمعد	5-2-1-1-3
65	مطيافية الامتصاص الذري اللهبى	2-1-3
65	تركيز ايون الذهب	1-2-1-3
66	منحنيات المعايرة القياسية	2-2-1-3

66	المنحني القياسي لمطيافية امتصاص الأشعة فوق البنفسجية – المرئية	1-2-2-1-3
67	المنحني القياسي لمطيافية الامتصاص الذري اللهبى	2-2-2-1-3
71	استرجاعية المواد القياسية	3-2-1-3
72	التطبيق على العينات الدوائية التجارية	4-2-1-3
74	طريقة تفاعل الاكسدة-الاختزال باستخدام ثنائي كرومات البوتاسيوم	2-3
74	اطياف الامتصاص للكواشف المستخدمة	1-2-3
76	الظروف الفضلى	2-2-3
76	نوع المذيب	1-2-2-3
77	تسلسل الاضافة	2-2-2-3
78	زمن الاستقرار	3-2-2-3
79	حجم كبريتات الحديدك الامونياكية و نثروبوسيد الصوديوم	4-2-2-3
80	حجم ثنائي كرومات البوتاسيوم	5-2-2-3
82	حجم الحامض	6-2-2-3
83	درجة الحرارة	7-2-2-3
84	المنحني القياسي الطيفى	8-2-2-3
86	استرجاعية المواد القياسية	3-2-1-3
87	التطبيق على العينات الدوائية التجارية	4-2-1-3
89	مقارنة الطرق الاربعة المستخدمة في التقدير	3-3
90	الاستنتاجات	4-3
91	التوصيات	5-3
92	المصادر	

قائمة الجداول

الصفحة	الموضوع	رقم الجدول
الفصل الثاني		
38	المواد الكيميائية المستخدمة	1-2
38	المستحضرات الصيدلانية التجارية المستخدمة	2-2
الفصل الثالث		
57	اللون والطول الموجي الاعظم لمعدقات الفيتامينات مع الذهب	1-3
64	قمة فيتامين C و E قبل وبعد التعقيد بمطيافية الاشعة ما تحت الحمراء	2-3
69	الحسابات الإحصائية لمنحني المعايرة الخاص بفيتامين E	3-3
70	الحسابات الإحصائية لمنحني المعايرة الخاص بفيتامين C	4-3
71	استرجاعية المواد القياسية لفيتامين E	5-3
72	استرجاعية المواد القياسية لفيتامين C	6-3
73	تحديد فيتامين E في المستحضرات الصيدلانية	7-3
73	تحديد فيتامين C في المستحضرات الصيدلانية	8-3
73	مقارنة النتائج مع طرائق تحليلية اخرى (فيتامين E)	9-3
73	مقارنة النتائج مع طرائق تحليلية اخرى (فيتامين C)	10-3
78	تأثير تسلسل الاضافة لفيتامين E	11-3
78	تأثير تسلسل الاضافة لفيتامين C	12-3
86	الحسابات التحليلية لمنحنيات المعايرة	13-3
87	استرجاعية المواد القياسية لفيتامين E وفيتامين C	14-3
88	تحديد فيتامين E و C في المستحضرات الصيدلانية	15-3
89	مقارنة الطرق الاربعة بتقدير احد التراكيز القياسية المعلومة	16-3
89	مقارنة الطرق الاربعة بتقدير النماذج التجارية	17-3

قائمة الاشكال

رقم الشكل	الموضوع	الصفحة
الفصل الاول		
1-1	فيتامين C (حامض الاسكوربيك)	3
2-1	بعض اشكال فيتامين E	5
3-1	مخطط لمستويات الطاقة النسبية للاوربياتالات الجزيئة الالكترونية	9
4-1	مكونات مطياف الامتصاص الذري	15
الفصل الثالث		
1-3	طيف الامتصاص لفيتامين E بتركيز 100 ppm	55
2-3	طيف الامتصاص لأيون الذهب بتركيز 100 ppm	56
3-3	طيف الامتصاص لفيتامين C بتركيز 100 ppm	56
4-3	طيف معقد الذهب مع فيتامين E	57
5-3	طيف معقد الذهب مع فيتامين C	57
6-3	الدالة الحامضية pH المثلى لمعقد توكوفيرول - ذهب	58
7-3	الدالة الحامضية pH المثلى لمعقد حامض الاسكوربيك- ذهب	58
8-3	زمن التفاعل الامثل لمعقد توكوفيرول - ذهب	59
9-3	زمن التفاعل الامثل لمعقد حامض الاسكوربيك- ذهب	59
10-3	درجة الحرارة المثلى لمعقد توكوفيرول - ذهب	60
11-3	درجة الحرارة المثلى لمعقد حامض الاسكوربيك- ذهب	60
12-3	تركيز ايون الذهب لمعقد توكوفيرول - ذهب	61
13-3	تركيز ايون الذهب لمعقد حامض الاسكوربيك- ذهب	61
14-3	طريقة جوب للمعقد توكوفيرول - ذهب	62
15-3	طريقة جوب للمعقد حامض الاسكوربيك- ذهب	62
16-3	طريقة النسبة المولية للمعقد توكوفيرول - ذهب	63
17-3	طريقة النسبة المولية حامض الاسكوربيك- ذهب	63

64	مقترح الصيغة التركيبية لمعدن توكوفيرول - ذهب	18-3
64	مقترح الصيغة التركيبية لمعدن حامض الاسكوربيك - ذهب	19-3
66	تركيز ايون الذهب لطريقة الامتصاص الذري اللهبى	20-3
67	منحنى المعايرة لفيتامين E بمطياف الاشعة فوق البنفسجية - المرئية	21-3
67	منحنى المعايرة لفيتامين C بمطياف الاشعة فوق البنفسجية - المرئية	22-3
68	منحنى المعايرة لفيتامين E بمطياف الامتصاص الذري اللهبى	23-3
68	منحنى المعايرة لفيتامين C بمطياف الامتصاص الذري اللهبى	24-3
74	طيف ثنائي كرومات البوتاسيوم بتركيز 100 ppm	25-3
75	طيف كبريتات الحديدك الامونياكية بتركيز 100 ppm	26-3
75	طيف نتروروبوسيد الصوديوم بتركيز 100 ppm	27-3
75	طيف محلول المزيج (V+FAS+ D+ A)	28-3
76	طيف محلول المزيج (V+SNP+D+A)	29-3
76	لون محلول المزج قبل و بعد اضافة الكاشف	30-3
77	تأثير المذيب على فيتامين E	31-3
77	تأثير المذيب على فيتامين C	32-3
79	تأثير الزمن على فيتامين E	33-3
79	تأثير الزمن على فيتامين C	34-3
80	تأثير حجم FAS و SNP على فيتامين E	35-3
80	تأثير حجم FAS و SNP على فيتامين C	36-3
81	تأثير حجم ثنائي كرومات البوتاسيوم على فيتامين E	37-3
81	تأثير حجم ثنائي كرومات البوتاسيوم على فيتامين C	38-3
82	تأثير حجم الحامض على فيتامين E	39-3
82	تأثير حجم الحامض على فيتامين C	40-3
83	تأثير درجة الحرارة على فيتامين E	41-3

84	تأثير درجة الحرارة على فيتامين C	42-3
84	منحنى المعايرة لفيتامين E	43-3
85	منحنى المعايرة لفيتامين C	44-3

الفصل الأول

المقدمة واستعراض المراجع

Introduction and Literatures Review

Review of references

6-1- استعراض المراجع

1-6-1- الطرق التحليلية لتقدير فيتامين E

Analytical methods for determination vitamin E

قام الباحث Jadoon S. وآخرون بتقدير فيتامين E في المستحضرات الصيدلانية وحليب الأطفال ومصل الدم باستعمال مطيافية الحقن الجرياني ، باستعمال فرو سيانيد البوتاسيوم ككاشف، وقد ر عند طول موجي 735 نانومتر، ومدى خطية تحليلية (0.1-40 مايكروغرام/مل) وحد كشف 0.04 مايكروغرام /مل، ومعامل ارتباط 0.999 وكانت قيم الانحراف النسبي القياسي في حدود (1.1-3.6%) وكانت الاسترجاعية (93±3 - 97.5±4 %) [46].

قام الباحث Zhao B. وجماعته بتقدير فيتامين E بواسطة HPLC مع كاشف نظام الصمام الضوئي عند الطول الموجي (293.4) نانومتر وعمود (RP-18 ID) 125x4ملم) وسرعة جريان (1.2) مل / دقيقة مع طور متحرك مكون من ميثانول : اسيتونتر ايل : نتراهايدروفيوران (5 : 20 : 75 v/v/v) كان حد الكشف الكمي (0.25 مايكروغرام /مل) و النتائج خطية عند مدى (0.25-5 مايكروغرام /مل) و الاستردادية 100% وقيمة معامل الارتباط 0.9781 و تم تقدير فيتامين E في كبسولات مضادات الاكسدة الفموية [47].

قدر الباحث Korchazhkina O. وآخرون فيتامين E بواسطة HPLC مع كاشف UV كانت استردادية الطريقة (99.6 ± 0.4 %) وكان حد الكشف (0.65) مايكروغرام/مل سرعة الجريان 1 مل/دقيقة بطول موجي 295 نانومتر وقيمة معامل الارتباط 0.999 [48].

قام الباحث Seker M. وآخرون وصف طريقة تحليلية لتحديد ايزومرات فيتامين E بواسطة كروماتوغرافيا الطور المعكوس مع كاشف الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي 295 نانومتر و طور متحرك يتكون من (هكسان: ايزوبروبيل

بحجوم 0.01: 99.99) وقيمة الانحراف القياسي النسبي RSD (2.50 - 3.30 %) ونسبة الخطأ (0.84- 6.54 %) وسرعة جريان الطور المتحرك (1.5 مل/دقيقة) و الاستردادية كانت (91-102%)^[49] .

قدر الباحث Mcmahon A. فيتامين E بواسطة كروماتوغرافيا الطور العادي كان مدى الخط التحليلي (0.03- 8 ملغم/100غرام) وحد الكشف (0.01 ملغم/100غرام) وحد الكشف الكمي (0.035 ملغم/100غرام) و الاستردادية (60- 100 %)^[50] .

قام الباحث Brabcova I. جماعته بفصل دقيق وسريع لتقدير خلاص فيتامين E في المكملات الغذائية باستعمال عمود RP-18 (4.6x150ملم) ويتكون الطور المتحرك من (ميثانول : ماء بحجوم 98 : 2) وسرعة الجريان 2.0 مل/دقيقة وتم الكشف عنه في طول موجي 290 نانومتر وكان معامل الارتباط 0.9992 و الاستردادية كانت بمدى (96.4 - 103.6 %) والانحراف القياسي النسبي في مدى (1.1- 3.6 %)^[51] .

طور الباحث Rao K. وجماعته طريقة لتقدير فيتامين E في الأقراص وعلى عمود C18 ومكونات الطور المتحرك (اسيتونتريل : ميثانول بحجوم 75 : 25) وسرعة الجريان 1.0 مل / دقيقة بطول موجي 220 نانومتر وبزمن احتجاز 9.07 دقيقة وكانت الطريقة خطية ضمن (1- 500 مايكروغرام /مل) و الاستردادية (100.02 %) ($R^2 = 1$) والضبط بحدود 0.04 %^[52] .

قام الباحث E. Tutem وجماعته بالتقدير الطيفي لفيتامين E بمستحضرات صيدلانية باستعمال كاشف copper(II)-neocuproine ، بمطيافية الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي 292 نانومتر ومدى

الخطية التحليلية ($10 \times 2.4 \times 10^{-6}$ - $10 \times 9 \times 10^{-5}$) ومعامل ارتباط 0.996 وانحراف قياسي نسبي 2.1% وتم مقارنة الطريقة مع طريقة HPLC^[53].

طور الباحث Neagu M. وآخرون طريقة كروماتوغرافيا الطور المعكوس لتقدير فيتامين E وكان معدل الجريان 0.8 مل/دقيقة والخطية بمدى (6.70 ملغم/مل - 10.05 مايكروغرام/مل) عند الطول الموجي 265 نانومتر قيمة معامل الارتباط 0.9999 ونسبة الاسترداد (97.6 - 100.5%)^[54].

أقترح الباحث Sadilek P. وجماعته طريقة لتقدير فيتامين E في بلازما البشر بواسطة HPLC ومعدل الجريان كان 1.3 مل/دقيقة بطول موجي 285 نانومتر والاستردادية (91.4%) حد الكشف 0.84 مايكرومول/لتر و حد الكشف الكمي 2.80 مايكرومول / لتر ومعامل الارتباط 0.9988^[55].

أجريت دراسة من قبل الباحث Devries J. ومجموعته لتحديد فيتامين E بواسطة HPLC وكاشف U.V عند طوليين موجيين (313 ، 328 نانومتر) والاستردادية كانت (100 ± 16%) وحد الكشف (0.1 ملغم/100 غرام) وحد الكشف الكمي (0.2 ملغم/100 غرام)^[56].

وضع الباحث Barba F. ورفاقه طريقة لتقدير واستخلاص لفيتامين E في المشروبات المختلفة وتم الفصل على عمود C18 (ملغم 4.6 x 150) والطور المتحرك يتكون من (اسيتونترايل : ميثانول بحجوم 90 : 10) بكاشف ال UV عند الطول الموجي 265 نانومتر و قيمة معامل الارتباط 0.9940 ونسبة الاسترداد 99.0% وحد الكشف وحد الكشف الكمي (1.41 ، 1.18 نانو غرام) على التوالي^[57].

قام الباحث Ueland P. و Midttun O. بتقدير فيتامين E بواسطة HPLC مع مطياف الكتلة كانت قيمة معامل الارتباط (0.9988) والاستردادية

(91.9 - 105.0 %) ومنحني المعايرة خطي ضمن مدى (18.93 - 52.2) مايكروغرام /مل [58].

طوّر الباحث وجماعته E. Gimeno طريقة لقياس التوكوفيرول في الزيوت النباتية بوساطة كروماتوغرافيا السائل ذات الطور المعكوس مع كاشف الأشعة فوق البنفسجية يتم الفصل على عمود -2 ODS (4.4 x 150 ملم) وطور متحرك (ميثانول : ماء بحجوم 9.6 : 4) وسرعة جريان 2 مل / دقيقة ومعامل الارتباط 0.999 عند الطول الموجي 292 نانومتر والانحراف النسبي القياسي 2.69 % والاستردادية 98.14 % [59].

وضع الباحث R. Prabakaran طريقة فعالة لتقدير خلاص فيتامين E في أفراس الفيتامين بوساطة HPLC عند الطول الموجي 280 نانومتر وسرعة جريان 2.0 مل/دقيقة ويزمن احتجاز 1.829 دقيقة وكانت الطريقة خطية بمدى (80 - 120 %) مايكروغرام / مل ومعامل الارتباط 0.9991 وقد تبين أن الانحراف القياسي النسبي للدقة أقل من 2.0 % [60].

صمم الباحث Yibin Z. وآخرون طريقة طيفية لتقدير ايزومرات فيتامين E في الطعام تم التحليل بوساطة كاشف الفلورة حيث كانت مكونات الطور المتحرك (هكسان : رباعي بيوتيل مثيل أو رباعي هايدروفيوران : ميثانول بحجوم 20:10:1) معامل الارتباط 0.9999 وحد الكشف (20 مايكروغرام/كيلوغرام) ونسبة الاسترداد (79.2 - 114.8 %) [61].

ابتكر الباحث Jadoon S. وآخرون طريقة لتقدير فيتامين E وهي كروماتوغرافيا الحقن الجرياني باستعمال نظام تكوين معقد الحديد فيروين وتم قياس المركب عند الطول الموجي 562 نانومتر وخطية منحني المعايرة كانت (0.1 - 20 مايكروغرام/مل) وقيمة الانحراف القياسي النسبي

(1.1-2.6 %) وقيمة معامل الارتباط 0.9993. وحد الكشف 0.03 مايكروغرام/مل^[62].

قد وضع الباحث Liu Z. واثنان آخران طريقة استخلاص على الطور الصلب معتمدا على ألياف النانو، لتقدير فيتامين E في بلازما البشر، كان حد الكشف 0.3 مايكروغرام/مل والمدى الخطي (0.5 - 30 مايكروغرام / مل) والانحراف القياسي النسبي المنوي اصغر من 6% ونسبة الاسترداد 99.2 % ومعامل الارتباط 0.9965^[63].

اقترح الباحث Kadioglu Y. وآخرون طريقة للتقدير المباشر لفيتامين E في المستحضرات الصيدلانية وحليب الأبقار و تم الفصل بأستعمال كروماتوغرافيا الغاز مع كاشف التآين اللهبى وانجزت بوقت 8.4 دقيقة بمدى الكمي (1-30) مايكروغرام/مل والانحراف القياسي النسبي المنوي اقل من 8.5% الدقة أو نسبة الخطأ اقل من 11.0% وحد الكشف وحد الكشف الكمي (0.3-0.5) مايكروغرام/مل على التوالي معامل الارتباط 0.9998 الاستردادية كانت (92.0 - 105.0%) للمستحضرات الصيدلانية و (96.0 - 103.0%) لحليب الأبقار^[64].

أجرى الباحث Khalili M. وآخرون دراسة لتحديد فيتامين E باستعمال HPLC وتبين أن مدى تركيزه (105.67 ± 0.56 مايكروغرام /100غرام) بمكونات الطور المتحرك (اسيتونترايل :ميثانول : اثيل استيت بحجوم 88 : 10 : 2) وسرعة جريان 1.0 مل / دقيقة وطول موجي 250 نانومتر^[65].

طَوَّر الباحث Irakli M. وآخرون طريقة لتحليل التوكوفيرول باستعمال كاشف الفلورة بطوليين موجيين 290 نانومتر للإثارة و320 نانومتر للانبعاث سرعة الجريان (1-1.2) مل/دقيقة حد الكشف 1.60 ملغم/غرام و الانحراف القياسي النسبي أقل من 10 % و حد الكشف الكمي 4.84 مايكروغرام/مل و معامل ارتباط 0.9975 و المدى الخطي 2.0 - 60 مايكروغرام/غرام^[66].

وصف الباحث Wong Y وجماعته طريقة UPLC لتقدير التوكوفيرول بكاشف النظام الصمام الضوئي بطول موجي 292 نانومتر وكاشف الفلورة بطول موجي 297 نانومتر للإثارة و328 نانومتر للانبعاث و سرعة الجريان 0.38 مل/دقيقة وقيمة معامل الارتباط 0.9992 و حد كشف (3.0-1.0 مايكروغرام/لتر) لكاشف الفلورة و(30- 74 مايكروغرام/لتر) لكاشف الصمام الثنائي وكانت الاستردادية (2±109 - 2±85.9) %^[67].

قام الباحث Milagros M. وجماعته باستخلاص التوكوفيرول باستعمال كروماتوغرافيا السائل تم الفصل بمكونات طور متحرك (ميثانول : ماء بحجوم 99 : 1) وسرعة الجريان 1.0 مل/دقيقة و كانت الاستردادية (80-114%) مع الانحراف القياسي النسبي المنوي أقل من 15% ومعامل ارتباط 0.998^[68].

قام الباحثان Bolanos G. و Murcillo J بدراسة تقوم على الامتزاز على هلام السليكا لايزومرات فيتامين E من زيت النخيل يتبع الامتزاز مع استخلاص CO₂ فوق الحرج تم الحصول على 30% w / v من فيتامين E و تضبيب ظروف الامتزاز من حرارة 40 - 70 و كثافة CO₂ من 0.6 - 0.8 غرام/سم³ والعمود مصنوع من السليكا جل حجم جزيئاته (0.063- 0.200 نانومتر) وحجم المسام 0.84 مل/غرام والمساحة المحددة 480 - 540 متر²/غرام^[69].

تم تطوير طريقة HPLC من قبل الباحثة Irakli M. وجماعتها لتقدير فيتامين E أو مضادات الاكسدة في الطماطم معدل الجريان 1.5 مل/دقيقة معامل الارتباط 0.9970 الطول الموجي 290 نانومتر للإثارة و320 نانومتر للانبعاث بكاشف الفلورة وكاشف النظام الصمام الضوئي 450 نانومتر وحد الكشف 0.06 ملغم/غرام وحد الكشف الكمي 0.19 ملغم/غرام^[70].

قام الباحث Ozturk M. و Ylmaz B. وأخران بتطوير طريقة مشتقة الطيف لتقدير فيتامين E في المستحضرات الصيدلانية المذيب المستخدم الايثانول وتطبيق طيف المشتقة الأولى والثانية وتم القياس عند الطول الموجي 384، 304 نانومتر للمشتقة الأولى و 288، 296 نانومتر للمشتقة الثانية وكان المنحنى خطي ضمن مدى تراكيز من (10-250 مايكروغرام/مل) و قيمة انحراف قياسي نسبي اقل من 1.99 ومعامل ارتباط اكثر من 0.9995 [71].

وضع الباحثان Frank J. و Grebenstein N. طريقة كروماتوغرافيا السائل ذات الطور المعكوس لفصل سريع للتوكوفيرول من بلازما الانسان و كبد الفأر وتم الفصل على عمود فينو ميناكس (150x4.6ملم، 2.6 مايكرومتر) مع طور متحرك (ميثانول : ماء بحجوم 85 : 15) وسرعة الجريان 0.8 مل/دقيقة حد الكشف (67-156 بيكوغرام) و الاستردادية كانت (82 - 122%) لجميع التحليلات و تم الكشف بوساطة كاشف الفلورة بطوليين موجيين 296 نانومتر للإثارة و 325 نانومتر للانبعاث [72].

حدد الباحث Tsochatzis E. واثنان معه التوكوفيرول في محتوى أصناف الشعير بوساطة كروماتوغرافيا السائل ذات الطور المعكوس مع كاشف الفلورة 292 نانومتر للإثارة و 335 نانومتر للانبعاث المدى الخطي (0.25-20 نانوغرام/مل) و معامل الارتباط 0.9992 و حد الكشف وحد الكشف الكمي (0.1، 0.25 نانوغرام/مل) على التوالي و الانحراف القياسي النسبي المنوي 7.4% و الاستردادية (86.1 - 102.5 %) [73].

قام Ueland P. و Midttun O. بتقدير فيتامين E في حجم صغير من البلازما البشري التحليل أنجز بوساطة الطور المعكوس يتكون الطور المتحرك من (20% ميثانول: 80% فورمات الامونيوم) نسبة الاسترداد (91.9 - 105.0%)

سرعة الجريان 1100 مايكرو لتر/دقيقة معامل الارتباط 0.9988 مدى منحنى المعايرة (18.93 – 52.2) [74].

قام الباحث Chen H وزملائه بالكشف عن التوكوفيرول في زيت الزيتون بوساطة كروماتوغرافيا السائل ذات الطور المعكوس مع كاشف الفلورة وهذه الطريقة أعطت حد كشف كمي (7.22 نانو غرام/ غرام) و استردادية 98.8 % و معامل ارتباط 0.9970 و الطور المتحرك يتكون من (ميثانول : رباعي هايدرو فيوران بحجوم 90 : 10) وتم تطبيق الطريقة على زيت عباد الشمس، البندق، فول الصويا، الذرة، الفول السوداني وزيت اللوز [75].

1-6-2- الطرق التحليلية لتقدير فيتامين C

Analytical methods for determination vitamin C

قام الباحث Ijeri V وأخرا ن بتقدير فيتامين C بالمستحضرات الصيدلانية وعصائر الفواكه باستعمال الأقطاب الكهربية المعدلة على أساس مركبات حلقة مايكروية وتقدير الفيتامين بالأكسدة حيث السلوك الفولتامترى لفيتامين C في أقطاب عجينة الكربون والأقطاب المعدلة إذ استخدمت معقدات الزنك على سطح القطب المختزل لأكسدة الفيتامين عند 200 ملي فولت وتعزيز تيارات الذروة ولوحظت الخطيية للمنحنى بمدى (0.6-500 مايكرو غرام/سم³) مع حد كشف 0.1 مايكرو غرام/سم³ بوساطة الفولتامترية التفاضلية النبضية [76].

طوّر الباحث Rizzolo A وأخرا ن طريقة مناسبة لاستخلاص حامض الأسكوربيك من الكمثرى وأنسجة الفاكهة وتم إجراء التحاليل بوساطة HPLC مع كاشف UV في 254 نانومتر عمود ODS-3 (5 مايكرو متر ، 4.6 x 250 ملم) و حجم الحقن 5 مايكرو لتر وسرعة الجريان 0.7 مل/دقيقة الطور المتحرك عبارة

عن حامض اورثوفسفوريك و معامل الارتباط 0.992 و حد الكشف 0.5 ملغم/كيلوغرام و خطية التراكيز (0.01- 400 مايكروغرام /مل) زمن الاحتجاز 0.008 ± 8.72 دقيقة [77].

حدد الباحثان Kall M. و Andersen C. كمية فيتامين C في مختلف عينات الغذاء والبلازما بأستعمال تقنية HPLC و تم فصل الشكلين النشطين من فيتامين C في أقل من 10 دقائق في مدى (RSD = 0.3 - 1.9%) عند 350 نانومتر للإثارة و 430 نانومتر للانبعاث سرعة الجريان 2.1 مل/ دقيقة معامل الارتباط 0.9999 والانحراف القياسي النسبي المنوي للبلازما 3.0 % و للملفوف 3.66 % نسبة الاسترداد للبلازما 97.5% و 101.3% للملفوف [78].

حدد الباحث Khan M. وآخرون طريقة طيف الأشعة فوق البنفسجية لتقدير فيتامين C في الفواكه والخضروات بتعقيد الفيتامين لتكوين معقد أحمر ويقاس عند طول موجي 521 نانومتر وكانت التراكيز مطاوعة لقانون بير لامبرت ضمن مدى من (12-118 ملغم/100غم) للفواكه و(22-135 ملغم/100غم) بالخضروات والامتصاصية المولارية 0.0323 لتر/مول.سم وقيمة الانحراف القياسي النسبي تراوحت (0.20-2.45%) [79].

اقترح الباحثين Madere R. و Behrens W. طريقة لتقدير حامض الأسكوربيك في المنتجات الغذائية والأنسجة الحيوانية بواسطة HPLC و طور متحرك (20 مايكرومل بفر فوسفات و 0.17% حامض ميتا فسفوريك pH=2.2) و تم استخدام كاشف أمبيرومتر في 0.7 فولت و 20 ملي امبير سرعة الجريان 0.7 مل / دقيقة للمنتجات الغذائية و 0.6 مل/دقيقة للأنسجة الحيوانية بمستويات حد الكشف منخفضة 0.5 نانوغرام و منحنى المعايرة (0.5- 2.0 نانوغرام) نسبة الاسترداد (97 - 102 %) [80].

حلل الباحثان Khosravi F. و Asadollahzadeh H. حامض الأسكوربيك في الحمضيات المختلفة بوساطة كروماتوغرافيا السائل ذات الطور المعكوس مع كاشف الصمام الثنائي بطول موجي 254 نانومتر و الاستردادية 97.3-103.6% والانحراف القياسي النسبي المنوي 0.02% وحد الكشف 0.2 ملغم / لتر زمن الاحتجاز 3.2 دقيقة وخطية التراكيز 0.5 - 200 ملغم / لتر وتم الحصول على معامل ارتباط 0.999 [81].

قام الباحث Arya S. واخران بالتقدير الطيفي لفيتامين C وذلك بتعقيد الفيتامين مع $\text{iron(II)-4-(2-pyridylazo)resorcinol}$ والمستخلص بوساطة كحول البيوتان وقيست الامتصاصية عند الطول الموجي 710 نانومتر وكانت التراكيز مطاوعة لقانون بير لامبرت ضمن مدى اكثر من 5.5 مايكروغرام /مل والانحراف القياسي 0.016 [82].

وصف الباحث Mitic S. وزملائه طريقة HPLC لقياس فيتامين C في النماذج الصيدلانية معدل الجريان 0.7 مل / دقيقة حجم الحقن 50 مايكرو لتر عند الطول الموجي 280 نانومتر زمن احتجاز 4 دقيقة وتم الحصول على نسبة استردادية (99.58-101.93%) وحد الكشف وحد الكشف الكمي (1.95، 6.5 مايكروغرام/مل) على التوالي ومدى التراكيز (0.25-1.5 ملغم / مل) ومعامل الارتباط 0.9998 والانحراف القياسي النسبي المنوي بين 0.38-1.22% [83].

فصل الباحث Wu T. وجماعته حامض الأسكوربيك عن طريق الترحيل الكهربائي الشعري مع كاشف كهروكيميائي وكانت الظروف المثلى باستعمال 60 ملي مول/لتر بفر البورات (pH = 9.0) والجهد المطبق 12 كيلو فولت وحد كشف (10×10^{-6} غرام/مل) و الانحراف القياسي النسبي المنوي 4.5% ومدى التراكيز (10×10^{-6} غرام /مل) معامل الارتباط 0.9978 [84].

عرض الباحثان Cai L. و Xu C. طريقة لتحديد حامض الأسكوربيك في العينات المعقدة عن طريق الحقن الجرياني وقد استخدمت هذه الطريقة لتحديد حامض الأسكوربيك في عينات البول باستعمال عمود مايكروبي وأعطت هذه الطريقة استرداده ممتازة (93.1- 111.6 %) مع حد كشف $(10 \times 96.03 \text{ مول} / \text{ لتر})$ ومعامل الارتباط 0.9970 والانحراف القياسي النسبي المئوي $(10 \times 3 \text{ مول} / \text{ لتر})$ [85].

قام الباحث Dengle S. بالدراسة الجهدية لتقدير معقدات فيتامين C مع أيونات الفلزات الانتقالية الحديد (III) الكروم (II) والفلناديوم (II) تم تحديد ثوابت الاستقرارية للمعقدات وقياس الدالة الحامضية عند درجة حرارة 298 K في محلول مائي وقوة أيونية 0.1، 0.3، 0.6 M (NaClO_4) وتم دراسة تأثير القوة الأيونية على ثوابت الاستقرارية لفيتامين C مع المعادن [86].

قدر الباحث Gupta S. وجماعته حامض الأسكوربيك بتقنية البولاروغرافي في المستحضرات الصيدلانية واستعملت طريقة الاضافة القياسية لبفر فضلات البوتاسيوم الهيدروجينية (pH=4) يحتوي على 0.25% حامض الاوكزاليك و0.008% محلول جيلاتيني و الاستردادية لحامض الأسكوربيك 99.98 % والمدى الخطي 0-35 مايكروغرام / مل والانحراف القياسي النسبي المئوي 1.3% [87].

حدد الباحث Wonsawat W. حامض الأسكوربيك بتقنية الفولتامترية لتقدير كميات من فيتامين C في عصير البرتقال وكان تركيز الفيتامين في مدى (0 – 10.0 ملي مولاري) و حد الكشف 1.36 ملي مولاري و الجهد المطبق 0.01 فولت ومعامل الارتباط 0.9928 [88].

وقام الباحث Dengle S. بالدراسة الجهدية لتقدير معقدات فيتامين C مع أيونات الفلزات الانتقالية كوبلت ، نيكل ، نحاس و الزنك الثنائية، تم تحديد ثوابت الاستقرارية للمعقدات وقياس الدالة الحامضية عند درجة حرارة 298 K في محلول

مائي وقوة أيونية 0.1، 0.3، 0.6 M (NaClO₄) وتم دراسة تأثير القوة الأيونية في ثوابت الاستقرارية لفيتامين C مع المعادن^[89].

قام الباحثان Khorasai M. و Noroozifar M. بتحليل حامض الأسكوربيك في المستحضرات الصيدلانية بطريقة التحليل الكهربائي المحفز باستعمال حامض الاورثوفسفورك (pH = 3.9) بمنحنى معايره في مدى 5ملي مولاري وحد الكشف $10 \times 5.2 \times 10^{-4}$ ملي مولاري، والانحراف القياسي النسبي المنوي 2.8% معامل الارتباط 0.9986 والاستردادية 99.5%^[90].

طَوَّر الباحث Pisoschi A. وجماعته طريقة لتقدير حامض الأسكوربيك في عصير الفاكهة بواسطة الطريقة الفولتامترية تحت جهد 490 ملي فولت و يتراوح تركيز حامض الأسكوربيك (0.83-1.67) لعصير البرتقال (0.58-1.93) لعصير الليمون ونسبة الاسترداد تراوحت (94.35 - 104 %) ومعامل الارتباط 0.9995 وقيمة الانحراف القياسي النسبي المنوي 1.14% و حد الكشف 2×10^{-8} مول/لتر المدى الخطي ($4 \times 10^{-7} - 1.2 \times 10^{-3}$ مول / لتر)^[91].

أوجد Moeslinger T. وزملاؤه طريقة لتقدير حامض الأسكوربيك بحد كشف أقل من 0.5 مايكرومول / لتر ومعامل ارتباط 0.995 ومنحنى المعايرة (0 - 1000 مايكرومول / لتر) وكانت نسبة الاسترداد (93 - 105 %) واستعمل كاشف الفلورة بطوليين موجيين 365 نانومتر للإثارة و418 نانومتر للانبعاث^[92].

طَوَّر الباحث Fadhel D. طريقة لتقدير حامض الأسكوربيك في المحلول المائي اعتمادا على قدرته في اختزال ألوان البرمنغنات والدايكرومات (530 ، 350 نانومتر) على التوالي بمجموعة واسعة من منحنيات المعايرة (1-16 جزء من المليون) للبرمنغنات و (2-90 جزء من المليون) للدايكرومات والامتصاصية المولارية (2355.70 ، 3094.75) وقيمة الانحراف القياسي النسبي

المئوي (0.73 ، 1.49) و الاستردادية (100.20، 99.43 %) و قيمة معامل الارتباط (0.9956 ، 0.996) للبرمنغات والدايكرومات على التوالي [93].

اقترح الباحثان Grzegorzyc K. و Rutkowski M. العديد من الطرق للتقدير الكمي للفيتامينات المضادة للأكسدة وأعطت حد كشف 0.05 مايكرومتر ومعامل ارتباط 0.999 واستردادية 99.0 – 101.2% وحساسية عالية [94].

طور الباحث Antonelli M. الطريقة اللونية لتقدير فيتامين C في المواد الغذائية فقد تضمنت الدراسة أكسدة فيتامين C بأنزيم الأسكورات المؤكسد A.O وتم القياس عند دالة حامضية 5.6 وحرارة 25م وقيست الامتصاصية عند طول موجي 254 نانومتر وكانت التراكيز خطية بمدى من (3-270 ملغم /لتر) ومعامل الارتباط 0.9979 [95].

قام الباحثان El Sharaa I. و Mussa S. بتحليل فيتامين C في محتويات عصير الفاكهة المعبأة بواسطة تقنية الأشعة فوق البنفسجية وكان حد الكشف لهذه الطريقة 0.01 جزء من المليون وحد الكشف الكمي 0.017 جزء من المليون و الانحراف القياسي النسبي المئوي 2.4% و معامل الارتباط 0.9950 وكان منحنى المعايرة (0 - 30 جزء من المليون) [96].

قام الباحث Spinola V. وآخرون بدراسة طريقة لتقدير مجموع محتوى فيتامين C في العديد من الفواكه والخضروات بواسطة UPLC بطور متحرك من حامض الفورميك 0.1% و نسبة الاسترداد 96.6±4.4% لحامض الأسكوربيك و(103.1± 4.8%) لفيتامين C الكلي وحد الكشف وحد الكشف الكمي (0.022 ، 0.067 مايكروغرام / مل) على التوالي سرعة الجريان 250 مايكرو لتر/دقيقة و حجم الحقن 2 مايكرو لتر و معامل الارتباط 0.9998

و باستعمال كاشف الصمام الثنائي بطول موجي 245 نانومتر وخطية منحني المعايرة (0.05 - 2 مايكروغرام / مل) [97].

اقترح الباحث De Quiros A. وآخرون طريقة كروماتوغرافيا السائل تعتمد على طور صلب جديد واطهرت الطريقة حجم حقن 20 مايكرو لتر و سرعة الجريان 0.8 مل/ دقيقة بطول موجي 245 نانومتر والطور المتحرك 0.1% حامض الفورميك و المدى الخطي (20 - 400) ملغم / لتر ومعامل الارتباط 0.9996 وحد كشف 0.01 ملغم/ لتر وقيمة الانحراف القياسي النسبي المنوي اصغر من 2% [98].

قدر الباحث Sahin M. وآخرون حامض الأسكوربيك بوساطة كاشف متعدد البيروكس المجهدادي وأيون كروماتوغرافيا و بمدى خطي واسع (10×10^{-6} - 10×10^{-2} مولاري) و الانحراف القياسي النسبي المنوي 2.45% وحد الكشف 7.0×10^{-5} ملي مولاري و بطول موجي 267 نانومتر وسرعة جريان 1.5 مل/ دقيقة [99].

اقترح الباحث Karatepe M. طريقة جديدة لقياس حامض الأسكوربيك في مصل الدم لمرضى السكري والافراد الأصحاء بمكونات طور متحرك فوسفات البوتاسيوم أحادية القاعدة (pH= 3.6) وسرعة جريان 2.1 مل/دقيقة بطول موجي 250 نانومتر حجم الحقن 20 مايكرو لتر و المدى الخطي 2.5-25 مايكرومول/لتر والانحراف القياسي للمصابين بمرض السكري 7.42% وللأشخاص الاصحاء 9.86% [100].

قام الباحث Chebrolu K. وآخرون باستعمال طريقة HPLC لقياس حامض الأسكوربيك في الفواكه والخضروات المختلفة عند الطول الموجي 254 نانومتر و طور متحرك 0.01 مول/لتر فوسفات الامونيوم ثنائية الهيدروجين (pH = 2.6) و سرعة الجريان 0.1 مل / دقيقة و حجم الحقن 5 مايكرو لتر و منحني المعايرة كان

في مدى (1.25-0.019 مايكروغرام) و معامل الارتباط 0.9995 ونسبة الاسترداد 113.33 غرام /100غرام^[101].

اقترح الباحث Odriozola I. وزملاؤه طريقة HPLC-UV لتحديد حامض الأسكوربيك ومقارنتها في الفراولة والطماطم والتفاح واعطت هذه الطريقة خطية تصل الى 5 ملغم /100غرام وكان حد الكشف 0.17 ملغم /100غرام وحد الكشف الكمي 0.57ملغم /100غرام و معامل الارتباط 99.44% و الدقة 0.6 % وقيمة الانحراف القياسي النسبي 3.9 % و الاستردادية 93.6 – 104.4 % وطول موجي 254 نانومتر بسرعة الجريان 1.0 مل/ دقيقة و الطور المتحرك 0.01 % حامض الكبريتيك (pH = 2.6)^[102].

وضع الباحث Novakova L. وآخرون العديد من الأساليب استنادا إلى تقنيات تحليلية مختلفة لتحليل حامض الأسكوربيك في البلازما والطعام الحاوي على فيتامينات متعددة معامل الارتباط 0.9999 و الانحراف القياسي النسبي المنوي 2.4-3.7% وكذلك حامض الأسكوربيك الموجود في الفواكه والخضروات عند الطول الموجي 254 نانومتر و 210 نانومتر و معامل الارتباط 0.9992 و الاستردادية 81.7-105.9% والانحراف القياسي النسبي المنوي اقل من 1 %^[103].

طوّر الباحثان Zakova P. و Kandar R. طريقة لتقدير حامض الأسكوربيك باستعمال HPLC مع كاشف UV بمكونات الطور المتحرك (5% ميثانول :25 ملي مول/ لتر فوسفات صوديوم ثنائي الهيدروجين pH=4.8) بسرعة جريان 5 مل/ دقيقة بطول موجي 265 نانومتر ونسبة الاسترداد 96.1 % وحد الكشف 3 مايكرومول/ لتر ومدى منحنى المعايرة (2-250 مول/ لتر)^[104].

طريقة HPLC. UV وضعها الباحثان Kim G. و Kim Y. لتقدير حامض الأسكوربيك في البلازما البشرية باستعمال عمود C18 (4.6x280 مايكرومتر ،

5مايكرومتر)، سرعة جريان الطور المتحرك 1.2 مل/دقيقة و بطول موجي 254 و265 نانومتر. معامل الارتباط 0.9995 ونسبة الاسترداد (98.98- 118.41%) و حد الكشف الكمي (1 مايكروغرام / مل) [105].

وضع الباحث L. Suntornsuk وآخرون طريقة لتقدير كمية حامض الأسكوربيك المحتوى في مستخلص الأعشاب بوساطة المعايرة المباشرة وأظهرت هذه الطريقة خطية ممتازة إذ كان معامل الارتباط أكبر من 0.9900، على مدى تراكيز (100-500% ملغم/مل) نسبة الاسترداد 97% وقيمة الانحراف القياسي النسبي اصغر من 1.5% و حد الكشف 2.2 ملغم و حد الكشف الكمي (7.3 ملغم) [106].

اقترح الباحثان Rose R. و Nahrwold D. طريقة للتحليل الكمي لحامض الأسكوربيك في حليب الأطفال بوساطة HPLC تم التحليل بكاشف الأشعة فوق البنفسجية عند طول موجي 254 نانومتر بمدى تركيز (0.005-0.1 ملغم/مل) ومعامل الارتباط 0.999، وزمن احتجاز 6.8 دقيقة ونسبة الاسترداد $100 \pm 1.2\%$ [107].

Aims of study

1-7- أهداف الدراسة

- 1- استخدام أيون الذهب في تكوين معقدات مع بعض الفيتامينات ذات الخواص المضادة للأكسدة .
- 2- تقدير المعقدات المتكونة بصورة مباشرة بتقنية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية.
- 3- تطبيق تقنية الامتصاص الذري في التقدير غير المباشر لهذه الفيتامينات لأغراض السيطرة النوعية للمستحضرات الدوائية والغذائية الموجودة فيها ومقارنة محتواها من المادة الدوائية الفعالة للمستحضرات الدوائية لمناسبي مختلفة.
- 4- الاستفادة من خاصية الأكسدة والاختزال في التقدير غير المباشر للفيتامينات في صيغتها النقية وفي مستحضراتها الدوائية التجارية.

1- المقدمة

Introduction

1-1- الفيتامينات

Vitamins

هي مركبات عضوية ضرورية لإنجاز الوظائف الحيوية بالصورة الصحيحة والفيتامينات تشبه الأحماض الأمينية الأساسية من حيث عدم امكانية تكوينها بوساطة الجسم الحيواني ويجب ان تكون موجودة ضمن غذاء الحيوان، ولكنها تختلف عن الأحماض الأمينية من حيث المقادير اللازمة يوميا والتي تكون بالملي غرام (حوالي 50 ملغم / يوم) وليس بالغرام. وهكذا فإن الفيتامين يمكن تعريفه عموما بأنه المادة الحيوية الضئيلة التي يحتاجها الجسم لكي تقوم الخلايا بوظائفها الطبيعية وإن كلمة فيتامين مشتقة من كلمة vita التي تعني الحياة ومن الاصطلاح الكيميائي امين amine. أول فيتامين تم تشخيصه كيميائيا هو فيتامين B1 وهو عبارة عن أمين ولكن ليس لجميع الفيتامينات مجاميع أمينية. الفيتامينات صنف آخر من الأغذية العضوية التي تعتبر ضرورية للنمو الممتاز والفعالية والتكاثر في الحيوانات. تؤخذ بكميات محددة مع الأغذية وعند فقدان واحد من هذه الفيتامينات من الأغذية المتداولة فالنتيجة هي الإصابة بمرض النقص الغذائي الذي يمكن معالجته أو منع حدوثه بالتغذية على هذه المواد الغذائية قليلة الكمية التي يفقدها الجسم. إن الأمراض التي تنشأ عن شحة الفيتامينات قد يكون سببها الرئيس الفقر والتقييد في تناول غذاء خاص دون غيره، ومن ناحية أخرى فإن الإفراط في تناول بعض الفيتامينات A و D و K و E يؤدي إلى تراكمها في شحوم الجسم وغالباً ما تصل إلى تركيز معين يؤدي إلى التسمم. يحتاج جسم الإنسان لنموه الطبيعي إلى الفيتامينات كمركبات إضافية في الغذاء فضلا عن الكربوهيدرات والدهنيات والبروتينات والأملاح اللاعضوية والماء. الفيتامينات ذات طبيعة عضوية لا تستطيع بعض الأحياء من بنائها^[1].

Nature vitamin function**1-1-1-1 الطبيعة الوظيفية للفيتامين**

تم التعرف على أمراض النقص الغذائي في الإنسان منذ أكثر من 200 سنة مضت وقد شاع مرض الاسقربوط scurvy بين البحارة؛ لفقدان الفواكه الطازجة والخضروات من غذائهم. وقد وجد الأطباء البريطانيون طريقة لعلاج هذا المرض ومنع الاصابة به؛ وذلك بإضافة عصير الليمون إلى الغذاء. وقد تم استخلاص حامض الأسكوربيك أو فيتامين C لأول مرة سنة 1928 والذي يسبب نقصه ظهور أعراض الاسقربوط وفي الوقت الحاضر جميع الفيتامينات الضرورية لتغذية الإنسان معروفة، وإن معظم الفيتامينات موجودة في جميع الحيوانات والنباتات ولها نفس الوظيفة ومع هذا لا تحتاج جميع الأنواع من الكائنات الحية إلى جميع هذه الفيتامينات. إن خلايا جميع أنواع الكائنات الحية الراقية تحتوي على حامض الأسكوربيك والذي تستخدمه في بعض الأفعال الحيوية في الخلية [2].

Classification of vitamins**1-1-2-1 تصنيف الفيتامينات**

تصنف الفيتامينات إلى مجموعتين رئيسيتين حسب ذوبانها، الأولى مجموعة الفيتامينات الذائبة في الماء، و الثانية مجموعة الفيتامينات الذائبة في الدهون.

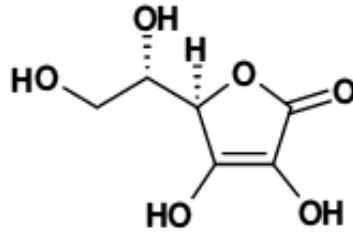
Water soluble vitamins**1-1-2-1-1 الفيتامينات الذائبة في الماء**

إن الفيتامينات الذائبة في الماء و التي تتضمن جميع فيتامينات المعقد B و فيتامين C تعمل كمرافقات أنزيمات أو كمركبات وسطية لمرافقات الأنزيمات [3].

تقوم مساعدات الإنزيم العضوية غير البروتينية بأداء عملها ، وهي اما ان تكون سهلة الانفصال عن الإنزيم وتدعى مساعدات الإنزيم Coenzymes أو تكون مرتبطة بصورة قوية مع الإنزيم وتدعى بالمجموعة المرتبطة Prosthetic group. تتميز ادوار هذه المساعدات أما في تحرير الطاقة مثل NAD و ATP و FAD و FMN أو تشارك في عمليات التفاعلات الكيميائية الحياتية المحفزة من قبل الإنزيمات. تشتق العديد من الإنزيمات المساعدة من الفيتامينات الذائبة بالماء [4].

1-1-2-1-1- فيتامين C (حامض الأسكوربيك) (Ascorbic acid)

هو من أشهر أنواع الفيتامينات الذائبة في الماء، الاسم النظامي لحامض الأسكوربيك 2-oxo-L-threo-hexono-1,4-lactone-2,3-enediol. إن حامض الأسكوربيك أو فيتامين C (شكل 1-1) يمكن تكوينه عند بعض الحيوانات من السكريات السداسية، غير أن الإنسان لا يستطيع تكوين هذا الفيتامين [5].



شكل (1-1): فيتامين C (حامض الأسكوربيك)

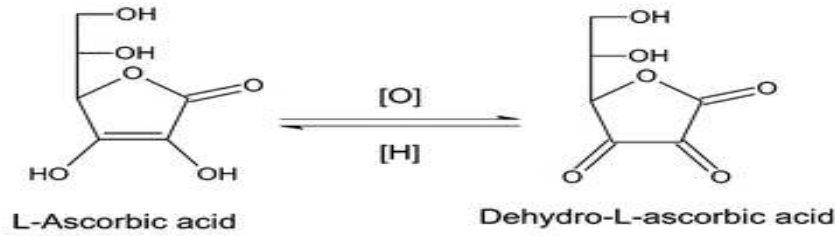
Occurrence**1-1-2-1-1- الانتشار**

مصادر الفيتامين هي الفواكه، الخضراوات الطازجة، الطماطم، الفلفل الأخضر، الكرفس، البطاطا. إن حاجة الجسم تبلغ 75 ملغم يوميا وتزداد بمقدار 15 ملغم عند المرأة الحامل والمرضع وتزداد هذه الكمية في الحالات المرضية [6].

Biochemical function**1-1-2-1-1- الوظيفة الكيميائية الحياتية**

تحدد وظيفة حامض الأسكوربيك بقابليته الاختزالية؛ إذ يختزل حامض اسكوربيك المؤكسد عادة، بواسطة الكلوتاثايون (GSH) إلى شكله الفعال منزوع الهيدروجين. و يعمل حامض الأسكوربيك مانعا لأكسدة (ماده مختزلة) لمركبات حيوية عديدة مثل ميتا هيموكلوبين Methaemoglobin والسائتوكرومات cytochromes المؤكسدة و Fe^{+3} وغيرها. كذلك يعمل حامض الأسكوربيك مرافقا انزيميا في تفاعلات إدخال جزئ أوكسجين إلى المادة الأساس، مثلا إدخال أوكسجين إلى البرولين و اللايسين لتكوين هيدروكسي برولين وهيدروكسي لايسين على التوالي اللذان يدخلان في تركيب البروتين كولاجين. كما يعمل حامض الأسكوربيك أيضا في تعزيز عملية

امتصاص الحديد في المعى الاثنى عشري.. يتأیض حامض الأسكوربيك إلى أوكساليك وبترسب في الكلتيين بشكل املاح الكالسيوم القليلة الذوبان [7].



4-1-2-1-1- نقصان حامض الأسكوربيك Deficiency of Ascorbic acid

إن نقص حامض الأسكوربيك يؤدي إلى حدوث مرض الاسقربوط الذي يتميز بحدوث ورم ونزيف وتغيرات فسيولوجية في اللثة والأسنان. وأعراض نقص حامض الأسكوربيك منها فقدان الوزن، التعب الشديد، ضيق التنفس، تورم اللثة ونزفها، تراخي الأسنان وتشوهها وتسوسها و نزيف تحت الجلد وفي المفاصل والعظام [8].

2-2-1-1- الفيتامينات الذائبة في الدهون Fat soluble vitamins

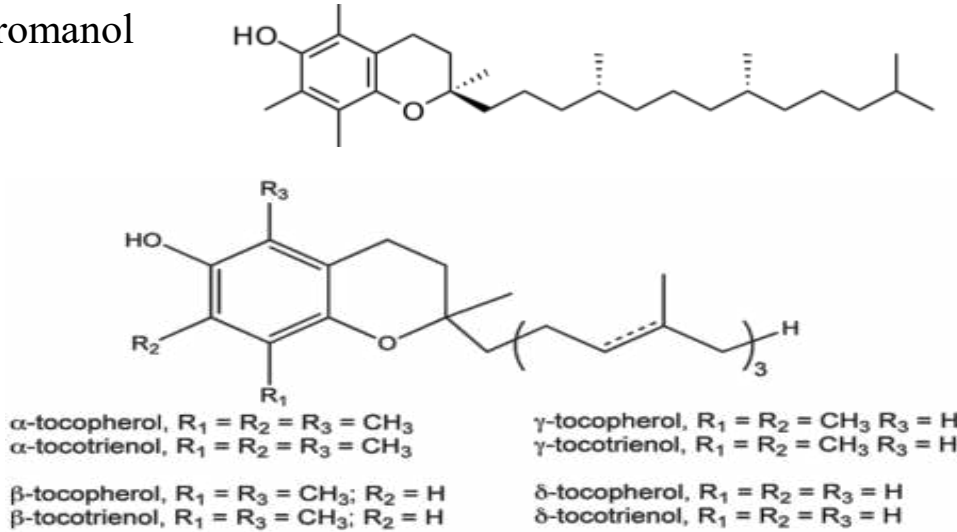
إن الفيتامينات الذائبة في الدهون لا تعمل كمراقات انزيمية كما هو الحال في الفيتامينات الذائبة في الماء. وتشمل الفيتامينات الذائبة في الدهون فيتامين A و D و E و K. وعكس ما هو عليه الحال في الفيتامينات الذائبة بالماء فإن الجسم يستطيع خزن كميات كبيرة من الفيتامينات الذائبة في الدهن تكفيه لعدة شهور. ان تناول كميات كبيرة منها قد يؤدي إلى إلحاق الضرر بصحة الإنسان، وبما أنها تذوب في الدهون، فإن عملية امتصاصها تعتمد بشكل مباشر على امتصاص الدهون، فأى خلل يحدث في امتصاص المواد الدهنية يؤدي إلى نقص في هذه الفيتامينات، تمتص هذه الفيتامينات مع المواد الدهنية في الأمعاء الدقيقة. لقد تم التعرف على وظائف هذه الفيتامينات بصورة عامة في الأنسجة [9].

α-Tocopherol

1-1-2-2-1-فيتامين E (α-توكوفيرول)

يوجد فيتامين E في الطبيعة بأربعة أشكال مختلفة، وهي الفا alpha، بيتا beta، كما gamma، دلتا delta توكوفيرول شكل (2-1). إن أكثر هذه الأشكال فعالية ووفرة هي الفا (α) – توكوفيرول الاسم النظامي هو:

(2R)-2,5,7,8-Tetramethyl-2-[(4R,8R)-(4,8,12-trimethyltridecyl)]-6-chromanol



شكل (2-1): بعض أشكال فيتامين E

يتم امتصاص فيتامين E عن طريق الأمعاء الدقيقة وينقل عن طريق الدم إلى الكبد بواسطة البروتين الدهني chylomicrons ومنه إلى أنسجة الجسم المختلفة. إن فيتامين E يعتبر عاملاً فعالاً مانعاً للأكسدة antioxidant. إذ يعمل فيتامين E على حماية (منع) الأحماض الدهنية غير المشبعة والدهون الأخرى من الأكسدة والتحول إلى بيروكسيدات الدهون lipid peroxides (المتلفة للأغشية الحيوية)، وحماية فيتامين A من التأكسد. ويسبب نقصه ضمور العضلات والعقم عند الحيوانات، ويحتاج الإنسان إلى 14 ملغم من هذا الفيتامين يومياً [10].

Occurrence

1-1-2-2-1-الانتشار

يوجد فيتامين E (التوكوفيرول) في الدهون النباتية Plant oils بمختلف الكميات، يوجد بكثرة في الخضراوات، البيض، الكبد، الفستق، الجوز، أجنة الحنطة،

الرز و بذور القطن. وان أكثر الأشكال نشاطا لهذه المركبات هو الألفا توكوفيرول α -Tocopherol 5,7,8 trimethyl - tocol. ويوجد التوكوفيرول أيضا في دهن الجسم الحيواني ويعتقد ان المايثوكوندريا هي مركز الألفا توكوفيرول الموجود في عضلات القلب [11].

1-1-2-2-3- الوظيفه الكيمائية الحياتية Biochemical function

ان الوظيفة الرئيسة للفيتامين E تكمن في عمله كمضاد للأكسدة يحمي الجسم من الجذور الحرة ومركبات الأوكسجين النشطة، إذ إنه يعد أهم مضاد أكسدة ذائب في الدهن موجود في خلايا الجسم، وهو موجود في الجزء الدهني من أغشية الخلايا، إذ إنه يقوم بحمايتها من الأكسدة والتلف الناتج عنه، وهو يقوم بذلك عن طريق تحويل الجذور الحرة إلى نواتج غير مؤذية بمنحها ذرة هيدروجين. ويعتبر فيتامين E جزءا من نظام كامل للدفاع عن الخلايا من تأثيرات الأكسدة يشمل العديد من الإنزيمات وبعض العناصر الغذائية الأساسية الأخرى، والتي يمكن أن تؤثر مستوياتها على عمل هذا الفيتامين. أهميته مع غيره من العناصر الغذائية في حماية الجسم من الأمراض والحالات الصحية المتعلقة بالأكسدة، والتي تشمل الشيخوخة، والتهاب المفاصل، والسرطان وأمراض القلب عن طريق حمايته لجزيئات الكوليسترول الضار LDL من الأكسدة، ويعد عاملا أساسيا في هذه الأمراض [1].

1-1-2-2-4- نقصان فيتامين E Deficiency of vitamin E

يحتاج الإنسان إلى الفيتامين للاعتقاد بتأثيره العالي في الاجهاض الاعتيادي والتهاب العضلة الليفي الأولى، ويعتقد معظم الباحثين أن الحاجة إلى الفيتامين E في الإنسان غير ضروري. تختلف أعراض نقص فيتامين E في الحيوانات المختلفة [2].

1-2- التعقيد Complexation

هو الترابط الذي يحصل بين ذرة مركزية و أيون واحد أو أكثر. يتكون كل معقد من تفاعل أنواع من حوامض - قواعد لويس إذ أن أحد الذرات الحاوية على أوربيتال

خال تجذب زوجا من الألكترونات من ذره أخرى. ولكي يحدث الارتباط نتيجة تفاعل كهذا يجب أن يكون الفلز حاويا على أوربتالات متماثلة متوفرة خالية وذات طاقة واطنة معتدلة [12]. المعقدات الدوائية هي معقدات ناتجة من تفاعل المادة الدوائية مع مادة أخرى (عضوية أو لا عضوية) تسمى الليكاند، وقد يكون الدواء في بعض الحالات هو الليكاند [13]. هناك أنواع عدة من المعقدات منها: معقدات الأيونات الفلزية مثل معقدات اثيلين ثنائي الأمين رباعي حامض الخليك مع الفلزات، معقدات الجزيئات العضوية مثل معقدات الكافئين مع المستحضرات الدوائية ذات الصيغة التركيبية الحامضية و معقدات الاحتواء مثل معقدات فيتامين E مع اليوريا [14]. ومن أهم فوائد التعقيد في مجال الأدوية هي:

- زيادة قابلية الذوبان (التحلل المائي) للدواء.
- زيادة ثباتيه الأدوية واستقراريتها ويعمل التعقيد على حماية مجاميع معينة من التكسر.
- المعقدات المعدنية للأدوية بدأت تسجل كمنتجات طبية منها معقدات الذهب تستخدم لعلاج اضطرابات المفاصل في البشر والحيوانات الأخرى وأيضا التي تمتلك نوى مشعة تستخدم في التشخيص الطبي مثل الكشف عن السرطان.
- يزيد من عملية وصول الدواء لمنطقة المستقبل بصورة سريعة و سهلة ومضبوطة.
- ممكن من خلال التعقيد نحصل على ظروف مثالية في القياس.
- زيادة فعالية المستقبلات للمواقع الفعالة و تنظيم هندسية المركبات.
- سهولة فصل المركبات الايزومرية والنظائر البصرية عن طريق تعقيدها.
- تحسين الصفات الفيزيائية والكيميائية للدواء [15، 16].

Spectrophotometry

3-1-القياس الطيفي

يختص بدراسة وقياس امتصاص الأشعاع الكهرومغناطيسي أو انبعائه كدالة للطول الموجي باستخدام المطياف Spectrophotometer وعليه فهو يصلح للمواد الملونة وغير الملونة.

1-3-1- قياسات الامتصاص في مطيافية فوق البنفسجية- المرئية

Absorption measurements in UV - VIS spectrophotometry

تؤلف كل من منطقتي ما فوق البنفسجية Ultraviolet والمرئية Visible حيزا صغيرا جدا من الطيف الكهرومغناطيسي الكلي . بسبب طاقة اشعاعات هاتين المنطقتين ولها القدرة ذاتها على اثارة الكترونات التكافؤ في الذرات والجزيئات فتدرس المنطقتين معا. يعبر عن الأطوال الموجية لهذه المنطقتين بوحدة النانومتر غالبا و الانكستروم^[17]. توجد منطقة واحدة للأشعة المرئية ومنطقتين للأشعة ما فوق البنفسجية وتتراوح الأطوال الموجية للمنطقة المرئية بين (380 - 780) نانومتر. ما فوق البنفسجية فتشمل منطقة ما فوق البنفسجية القريبة Near ultraviolet أو ما تسمى بمنطقة الكوارتز Quartz ultraviolet (200-380) نانومتر ومنطقة ما فوق البنفسجية البعيدة Far ultraviolet من (10 - 200) نانومتر وتسمى أحيانا بمنطقة فراغ ما فوق البنفسجية Vacuum ultraviolet، و تسمى بهذا الاسم لأن العمل بها يتطلب تفريغ مسالك الاشعاع من الهواء الجوي (الأوكسجين بالذات) الذي يمتص عند الطول الموجي 200 نانومتر ودون هذا الرقم. يتطلب العمل ضمن هذه المناطق الطيفية استخدام نوع خاص من السليكا لصنع أوعية الامتصاص وبصريات الجهاز. ويعبر عن نتائج امتصاص مادة معينة ضمن هاتين المنطقتين باستخدام مطياف ملائم بطرائق عديدة أشهرها طيف الامتصاص وهو رسم العلاقة بين الطول الموجي λ (أو التردد ν) مقابل قيمة الامتصاص^[18].

Absorbing species

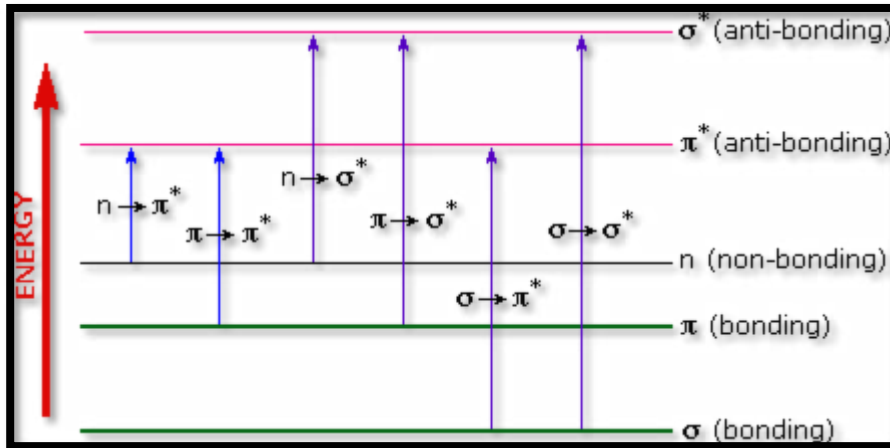
1-3-2- الفصائل الماصة للإشعاع

تتضمن عملية امتصاص الفصائل لإشعاع ما فوق البنفسجية والمرئية إثارتها إلى حالة الكترونية جديدة يعقبها وبزمن قصير جدا عودتها إلى حالة الاستقرار بإحدى عمليات الاسترخاء المعروفة كتحويل طاقة الاثارة إلى حرارة، أو انبعاث اشعاعات فسفرة أو فلورة، أو حصول تفاعل كيميائي ضوئي. ترتبط الأطوال الموجية لقسم الامتصاص مع أنواع الاواصر الموجودة في الفصائل قيد الدراسة مما يجعل طيف

الامتصاص وسيلة مهمة في تشخيص المجاميع الفعالة فيها. إن امتصاص الطاقة الإشعاعية في منطقتي ما فوق البنفسجية والمرئية من قبل فواصل المواد العضوية يعتمد على عدد وترتيب الألكترونات الموجودة فيها (جزيئات أو أيونات) إذ يحصل ما يمكن تسميته بالامتصاص الانتخائي Selective absorption الذي ينتج عنه انتقال الكتروني من مستويات الاستقرار إلى مستويات الاثارة [19].

توجد ثلاثة أنواع من الانتقالات الالكترونية هي انتقالات الكترونات (σ, π, n) وانتقالات الكترونات f, d وانتقال الشحنة في المعقدات.

أولاً/ الفواصل الحاوية على الكترونات n, π, σ : يمثل هذا النوع كل الجزيئات والأيونات العضوية وكذلك العديد من الأيونات السالبة اللاعضوية. إن الألكترونات المعنية بالامتصاص هي الألكترونات التي تكون أواصر من نوع سكما σ (sigma) والألكترونات التي تكون أواصر من نوع باي π (pi). والألكترونات اللاتاصرية Non bonding المقصود بها الكترونات التكافؤ التي لا تشارك في التآصر الكيميائي في الجزيئة ويرمز لها بالكترونات n ، شكل (3-1). [20]



شكل (3-1): مخطط لمستويات الطاقة النسبية لاوربيتالات الجزيئة الالكترونية

- انتقالات $\sigma \rightarrow \sigma^*$: تتضمن إثارة الكترون سكما σ المتآصر في الجزيئة إلى الأوربتال مضاد التآصر σ^* عند امتصاص الإشعاع المطلوب وعندئذ توصف الجزيئة

بأنها في حالة اثاره من نوع $\sigma-\sigma^*$. أن الطاقة اللازمة لهذا الانتقال كبيرة جدا نسبة إلى الانتقالات الأخرى و لا توفرها أشعة ما فوق البنفسجية الاعتيادية القريبة بل تحتاج إلى طاقة اشعاع منطقة ما فوق البنفسجية البعيدة أو المفرغة. مثال على المركبات التي تعاني انتقال $\sigma-\sigma^*$ هي الهيدروكربونات المشبعة التي ليس لها الألكترونات n ولا π ولها أوامر σ فقط [21].

- انتقالات $n-\sigma^*$: يحدث هذا النوع في المركبات العضوية المشبعة التي تحتوي على ذرة أو ذرات لها أزواج غير مشتركة من الألكترونات (الكربونات لا تأصيرية) ويحتاج هذا النوع من الانتقالات إلى طاقة أقل من الطاقة اللازمة للانتقال $\sigma-\sigma^*$ ولهذا يمكن أن يتم بامتصاص الأشعاعات التي تتراوح أطولها الموجية بين (250 - 150) نانومتر. إن الاختلاف في الطول الموجي اللازم لحصول هذا الانتقال ناتج عن الاختلاف في نوع الأصرة التي ترتبط بها الذرة التي تحتوي على زوج الألكترونات الحر n وبدرجه أقل على شكل الجزئية [22].

- انتقالات $\pi-\pi^*$ ، $n-\pi^*$: بسبب احتياجها لطاقة قليلة لذا تعتمد معظم تطبيقات الامتصاص للمركبات العضوية في المنطقتين المرئية وما فوق البنفسجية على هذه الأنواع من الاثارة. تتوفر الطاقة المطلوبة في منطقة الطيف التي تتراوح أطوالها الموجية بين (700-180) نانومتر لكلا الانتقالين. يتطلب هذا الانتقال وجود مجموعة غير مشبعة لتوفير أوربتالات π وتسمى مثل هذه المجموعة بالكروموفور Chromophore [23]. يختلف الطول الموجي للإشعاع الممتص اللازم لأثاره كروموفور معين من مركب إلى اخر نتيجة عوامل عدة أهمها:

- تأثيرات المذيب Solvent Effect: يعمل المذيب القطبي على خفض مستويات طاقة الجزئية المذابة إذ تسبب الزيادة في قطبية المذيب المستخدم في إزاحة الطول الموجي الذي يحدث عند الامتصاص المسبب لانتقال $n-\pi^*$ إلى طول موجي أقصر وهذا ما يعرف بالانزياح الأزرق Hypsochromic or Blue Shift بينما تسبب

الزيادة في قطبية المذيب المستخدم في إزاحة الطول الموجي الذي يحدث عند الامتصاص المسبب لانتقال $\pi-\pi^*$ إلى طول موجي أطول وهذا ما يعرف بالانزياح الأحمر Bathochromic or Red Shift.

- تأثير وجود مجاميع كروموفور متقارنة: يقصد بعملية التقارن Conjugation Process هنا وجود أوامر مزدوجة متناوبة مع أخرى منفردة لهذا تتسبب عملية التقارن في انتشار شحنة π الالكترونية على طول الجزيئة وبذلك تنخفض طاقة الأوربتال نقيض التأصر π^* ونتيجة لذلك يزاح الامتصاص المسبب $\pi-\pi^*$ إلى الطول الموجي الأطول (انزياح أحمر).

- تأثير وجود مجاميع Auxochrome : هي مجاميع فعالة لا تظهر من تلقاء نفسها امتصاصا انتخابيا في منطقة ما فوق البنفسجية التي تزيد أطوالها الموجية عن 200 نانومتر إلا ان وجودها في الجزيئة إلى جانب الكروموفور يسبب إنزياح قمم امتصاص الكروموفور إلى اطوال موجية أعلى (إزاحة حمراء). المجاميع الشائعة هي الهيدروكسيل والامين وبعض الهالوجينات وجمعيتها تملك زوجا واحدا من الألكترونات على الأقل له القابلية على دخول رنين (تأثير متبادل) مع الكترونات π في الكروموفور وإن تأثير التبادل بين الكترونات n لهذه المجاميع مع الكترونات π في الكروموفور يعمل على تثبيت حاله π^* وهذا يقلل من طاقتها . إن فعل وجود Auxochrome بجانب الكروموفور يزيد أيضا من شدة قمة الامتصاص [24].

ثانيا/ الفصائل الحاوية على الألكترونات f-d: تمتص معظم أيونات العناصر الانتقالية وعناصر اللانثانات و الأكتينيات في المنطقتين المرئية وما فوق البنفسجية من الطيف وتكون الانتقالات الالكترونية للمدارات 3d، 4d مسؤولة عن امتصاص العناصر الانتقالية و 4 d , 5d لعناصر اللانثانات و الاكتينيات.

ثالثا/ امتصاص فصائل إنتقال الشحنة: تظهر العديد من المعقدات اللاعضوية وبعض المعقدات العضوية امتصاصا مميزا سببه انتقال الشحنة Charge Transfer ولكي يظهر المعقد طيف انتقال الشحنة فإنه من الضروري أن يكون لأحد مكونات المعقد

خاصية هبه الألكترونات وللمكونات الأخرى خاصية تقبلها. وتتضمن عملية امتصاص الأشعة من قبل معقد انتقال الشحنة اثاره الألكترون من المكون الواهب إلى أوربتال المكون المتقبل، والمعقد المتكون يسمى معقد انتقال الشحنة. إن عملية الأثاره هي بمثابة عملية أكسدة واختزال داخلي. من الأمثلة الشائعة على معقدات انتقال الشحنة هي معقدات الحديدك مع الثايبوسيانيت [25].

1-3-3- الاستخدامات التحليلية للامتصاص في المنطقة ما فوق البنفسجية - المرئية

Analytical uses of absorption in UV –VIS

للقياسات الطيفية ضمن هاتين المنطقتين استخدامات تحليلية في العديد من المجالات منها الصناعية والزراعية والطبية والصيدلانية والكثير من الاستخدامات الأخرى، يمكن وضع هذه الاستخدامات تحت صنفين أساسيين من صنوف التحليل هما:

أولا - التحليل الوصفي (النوعي) Qualitative analysis

إن مطيافية الامتصاص في هاتين المنطقتين قليلة الأهمية لأغراض التشخيص النوعي (الوصفي) إذ إن المواد التي تمتص اشعاع ما فوق البنفسجية والمرئية عادة هي التي لها أوربتالات π (كصنف المركبات الأروماتية أو الأليفينات) أو أوربتالات π والكثرونات n (مثل مركبات الكاربونيل) وذلك بسبب كون امتصاصات مركبات الصنف الواحد غالبا ما تكون ضمن مدى متقارب من الأطوال الموجية وإن حزم الامتصاص غالبا ما تكون عريضة وقليلة العدد مما يجعل من مطيافية الامتصاص في هاتين المنطقتين قليلة الأهمية لأغراض التشخيص الوصفي (النوعي) [26].

ثانيا- التحليل الكمي Quantitative analysis

تعتبر هذه التقنية احدى أهم الوسائل المستخدمة لأغراض التحليل الكمي، وهذا يعود إلى اسباب عدة من أبرزها، الحساسية العالية، إمكانية استجابة الكثير من

- الفصائل العضوية و اللاعضوية، القدرة على التحكم في انتقائية الامتصاص، الدقة الجيدة ، السهولة والسرعة في الأداء التحليلي، ومن أهم مجالات التطبيق:
- إيجاد تركيز مادة معينة أو مادتين في أن واحد باستخدام قانون الامتصاص العام.
 - دراسة الأيونات المعقدة طيفياً.
 - تعيين ثوابت التفكك للدلائل والحوامض والقواعد الضعيفة.
 - التسخيحات الفوتومترية [27].

Lambert – beer law

4-3-1- قانون بير لامبرت

يشير قانون بير-لامبرت أن شدة الضوء المرار خلال العينة يتناقص حسب الزيادة في تركيز وعرض خلية العينة ضمن الطول الموجي المحدد، وينطبق ذلك على أي شكل آخر من الأشعة الكهرومغناطيسية. إذ إن تركيز المقدار الضوئي المقاس يتناسب طردياً مع الطاقة الممتصة من الضوء، بينما تتناقص طاقة الحزمة النافذة بشكل لوغاريتمي على طول مسار العبور. ويشير القانون إلى وجود ارتباط لوغاريتمي بين نفاذية الضوء وحاصل ضرب معامل امتصاص المادة، والمسافة التي يقطعها الضوء خلال المادة.

واستنتج لامبرت المعادلة التالية التي عرفت باسم معادلة بيير - لامبرت :

$$A = -\log T = \log p_0/p = \epsilon bC = abC_M$$

إذ إن ϵ معامل الامتصاص المولاري، a معامل الامتصاص، b سمك (عرض) خلية القياس، C تركيز المادة (غم/لتر)، C_M التركيز المولاري (مول/لتر). شروط تطبيق قانون بير لامبرت هي أن تكون المواد الماصة في المحلول منفصلة عن بعضها البعض، وأن يكون وسط الامتصاص موزعاً بصورة متجانسة في الحجم الكلي لتجنب تبعثر الإشعاع، ويتألف الإشعاع الساقط من أشعة متوازية، يكون الضوء الساقط أحادي اللون أو على الأقل ذو عرض أضيق من قطر الوسط الماص، وأن لا يُسبب الضوء المستخدم أي إشباع ضوئي لتجنب استنزاف الإشعاع [28].

4-1- الامتصاص الذري

Atomic absorption

الامتصاص الذري طريقة تحليلية لتعيين معظم العناصر وخاصة العناصر الفلزية في محاليلها أو في حالتها الصلبة ولا تتأثر هذه الطريقة بالحالة الموجود فيها الفلز في العينة فيما إذا كان بالحالة الحرة أو الجزيئية. فمثلا يمكن تقدير مجموع مقدار الكاديوم الموجود في عينه من الماء بغض النظر فيما إذا كانت حالة الكاديوم في العينة على شكل كلوريد أو نترات أو كبريتات أو في أية حالة أخرى^[29]. تتميز طريقة الامتصاص الذري على سواها من الطرق التحليلية الطيفية أو الطرائق الأخرى ذات الغرض نفسه بميزات تعطيها أهمية تحليلية كبيرة منها تطبيقاتها الواسعة والحساسية العالية إذ يكون مدى الحساسية بين أجزاء من المليون ppm إلى أجزاء من البليون ppb والانقائية إذ يمكن قياس عنصر بوجود عدة عناصر بدون الحاجة لفصله عن بقية العناصر الموجودة في العينة والدقة والمصادقية (التكرارية) في النتائج وسهولة تحضير النماذج قيد الفحص نسبيا. يعاب على هذه الطريقة بأنه لا يقاس أكثر من عنصر واحد في كل مرة كما ويجب تغير الطول الموجي للأشعة المستعملة عند قياس عنصر آخر بتغيير مصدر الأشعة^[30].

1-4-1- امتصاص الذرات للطاقة الإشعاعية

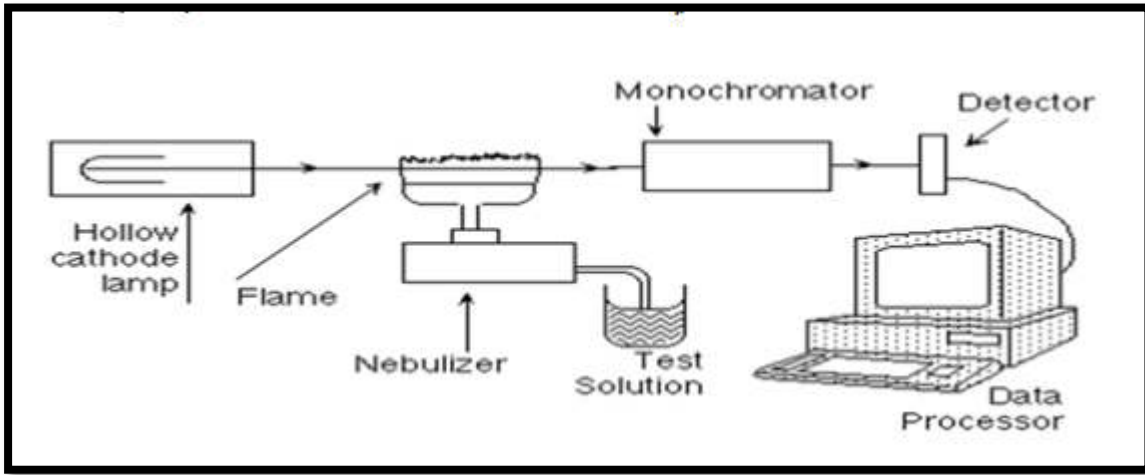
Absorption atoms of radiation energy

تعتمد مطيافية الامتصاص الذري على دراسة ما تمتصه ذرات العنصر المعني بالقياس من الطاقة الإشعاعية في طول موجي محدد ومناسب لذلك العنصر ومقدار هذا الامتصاص يتناسب طرديا مع عدد ذرات العنصر الموجودة في منطقه الامتصاص. عند امتصاص الطاقة الإشعاعية تنتقل من مستوى أقل طاقة إلى مستوى أعلى طاقة. لا تهيج الذرات دورانيا ولا اهتزازيا (تذبذبيا) كما يحدث للجزيئات وإنما تحدث انتقالات الكترونية فقط لذلك يظهر الطيف الامتصاصي للذرات خطوطا طيفية مميزة قليلة. تردد كل امتصاص يمكن حسابه من المعادلة $E=hu$ ، إذ تمثل E مقدار الطاقة اللازمة لإثارة الذرة وهي تساوي E_2-E_1 عندما تكون E_1

مستوى الطاقة الواطئ للذرة و E_2 المستوى الذي أثبتت إليه [31]. عند امتصاص بخار ذرات العناصر للطاقة الإشعاعية فإن هذه الذرات في حالة الاستقرار (جميعها أو معظمها) تتحول إلى إحدى حالات الاثارة وعليه يجب أن تكون درجة حرارة التذرية (الحرارة اللازمة لتحويل عينة العنصر إلى الحالة الحرة المستقرة) في الامتصاص الذري أوطأ ما يمكن لتقليل عدد الذرات المثارة على أن تكون هذه الدرجة الحرارية كافية لتفكك الجزيئات إلى ذراتها الحرة دون أثارها [32]. تحتاج العناصر اللافلزية إلى طاقة عالية للإثارة مقارنة بالعناصر الفلزية. وإن حالة الاثارة الأولى للعناصر اللافلزية تقع في منطقة ما فوق البنفسجية المفرغة ذات الطاقة العالية مما يجعل قياس العناصر اللافلزية قياسا مباشرا صعبا أو غير ممكن من الناحية التقنية، لكن تقاس بطريقة غير مباشرة. فمثلا ترسب الكلوريدات ككلوريد الفضة وتقاس كمية الفضة في الراسب بواسطة الامتصاص الذري ومنها يمكن حساب كميته الكلوريد [33].

2-4-1- مطياف الامتصاص الذري Atomic absorption apparatus

يتألف مطياف الامتصاص الذري من المكونات الرئيسية الآتية شكل (4-1):



شكل (4-1): يوضح مكونات مطياف الامتصاص الذري

- مصدر الشعاع الرنيني: تستعمل في الوقت الحاضر سلسلة من المصادر الإشعاعية التي تعطي خطوط انبعاث حادة لعنصر أو لمجموعة محددة من العناصر. وأكثر هذه المصادر استخداما مصباح الكاثود المجوف (HCL) Hallow cathod lamp

الذي يحتوي على قطبين لأحدهما شكل الكأس مصنع من العنصر المعني للحصول على خطوط طيفية (أو سبيكة لهذا العنصر)، ويمثل الكاثود الذي تتصل نهايته بالدائرة الكهربائية. أما قطب الأنود مصنع من سلك لمادة التنتستن. تملأ حجرة المصباح المصنوعة من زجاج البوروسليكيست وتنفذ من الكوارتز بأحد الغازات النبيلة بضغط 4-10 تور تقريبا" [34].

- الموقد و المرذاذ Burneres and Nebulizers: إن إدخال العينة إلى داخل اللهب بصورة ثابتة ومنتظمة يتطلب جهازاً " ينثر العينة بصورة منتظمة خلال اللهب. إن الطريقة العملية الوحيدة لتحويل العينة السائلة إلى قطيرات دقيقة هي التريز، ولهذا يطلق مصطلح المرذاذ Nebulizer على الجهاز الذي يقوم بذلك، فالمرذاذ والموقد Burner، يشكلان وحدة متكاملة. ويوجد نوعان من المرذاذات التي تستخدم في المطيافية الذرية عموماً" هما المرذاذ اللهبى ذو الاستهلاك الكلى و المرذاذ اللهبى ذو الخلط الجاهز [35].

- موحذات (مفرقات) اللون Monochrometers: تستخدم المواشير والمحرزات وعملها ينصب على عزل (فصل) الخطوط الممتصة عن بقية الخطوط المنبعثة عن مصدر الأشعاع [36].

- المكشاف Detector: غالباً ما يستخدم مكشاف الاتاييب الضوئية المضاعفة .Photomultiplier tubes

- غازات الوقود والغازات المؤكسدة Fuel and oxidant gases: يستعمل الأوكسجين والهواء وأوكسيد النتروز كغازات مؤكسدة في اللهب. أما غازات الوقود فيمكن استعمال غاز الهيدروجين أو الاستيلين أو البروبان أو البيوتان أو الميثان. أما بالنسبة للأجهزة الأخرى فتختلف فقط بوسيلة التسخين كالجهاز الذي يعمل وفق تقنية الامتصاص الذري الكهروحراري (غير لهبي). فيستبدل اللهب بوسط حراري اخر مسخن كهربائياً لإنتاج البخار الذري للعنصر كأن يكون هذا بواسطة عبارة عن فرن من الكرافيت النقي. وهناك تقنية الامتصاص الذري ذو التذرية الباردة الخاص

بعنصر الزئبق. وتقنية توليد هيدريد الفلز الخاصة بعناصر الرصاص و البزموت و الانتيمون والجرمانيوم والزرنيخ والقصدير والسيلينيوم والتيلوريوم التي تفصل من العينة باختزالها بواسطة بوروهيدريد الصوديوم وتحويلها إلى هيدريدات طيارة [37].

3-4-1- التطبيقات التحليلية الكمية Quantitative application

يستند التحليل الكمي في مطيافية الامتصاص الذري على تعيين مقدار الشعاع الممتص من قبل النموذج وبالتالي عدد الذرات الماصة للإشعاع الواقعة في مسار الاشعاع ، وإذ أن عدد الذرات الفعلي في المذرة غير دقيق، لذلك يتطلب التعيين الكمي تقنيات عملية من أهمها:

- تحضير منحنيات المعايرة: يحضر منحنى المعايرة من محاليل معلومة التركيز بالنسبة للعنصر المعني. يتم رسم العلاقة بين التركيز والامتصاصية للحصول على علاقة خطية. لإيجاد تركيز المجهول يجب قياسه في ظروف مطابقة بالضبط لظروف المنحنى، وباستعمال معادلة الدرجة الأولى للعلاقة الخطية بين الامتصاصية والتركيز (قانون لامبرت-بير) أو بطريقة التسقيط (الإيصال) بين قيمة امتصاصية المجهول على الاحداثي الصادي وإيصالها بخط العلاقة الطردي و من ثم، إنزال عمود على احداثي التركيز السيني اي ضمن حدود المنحنى.

- طريقة الاضافات القياسية: تتضمن الطريقة تحضير محاليل قياسية ولكن هنا يضاف حجم ثابت من المحلول المجهول إلى كلا من المحاليل القياسية ومحلول البلانك و يتم رسم العلاقة بين التركيز والامتصاصية للحصول على علاقة خطية واستخراج تركيز المجهول من نقطة التقاطع مع المحور السيني وتستخدم هذه الطريقة في حالة النماذج المعقدة والتي يمكن أن تتداخل مكوناتها في التقدير مع العنصر أو المادة المراد تقديرها [38].

5-1- الكواشف الكيميائية المستخدمة Chemicals reagents used**5-1- 1- ثلاثي كلوريد الذهب Gold tri chloride**

كلوريد الذهب الثلاثي مركب كيميائي له الصيغة $AuCl_3$ ويكون على شكل دايمر ثنائي Au_2Cl_6 ، ويوجد على شكل بلورات حمراء^[39]. وهو أكثر مركبات الذهب شيوعا على الرغم من ندرتها بشكل عام. يوجد هذا المركب للذهب في حالة الأكسدة $+3$ ، لذلك فهو مركب ثابت. يذوب كلوريد الذهب الثلاثي في الماء بشكل جيد، كما يذوب في الإيثانول. عند التسخين إلى درجات حرارة تتجاوز 250 درجة مئوية يتفكك المركب حراريا ليحرر غاز الكلور و مركب كلوريد الذهب الأحادي^[40]. يستخدم كلوريد الذهب الثلاثي لتحضير مركبات الذهب الأخرى. كما يستخدم بشكل واسع في عمليات التحفيز في تفاعلات الكلة المركبات العطرية^[41].

2-5-1- نتروبروسيد الصوديوم Sodium nitroprusside

هو مركب غير عضوي صيغته $Na_2[Fe(CN)_5NO]$ عادة ما يكون مرتبط بالماء مثل ثنائي الهيدرات وهو ملح أحمر اللون يذوب في الإيثانول والماء يستخدم هذا المركب كدواء لعلاج حالات ارتفاع الضغط الشديد وأحيانا يستعمل لعلاج بعض حالات القصور القلب، ويختصر أحيانا بـ SNP، من أسمائه التجارية Nitropress^[42]. يستخدم نتروبروسيد الصوديوم أيضا ككاشف تحليلي للكشف عن كيتونات الميثيل، وللكشف عن الأمينات التي غالبا ما توجد في المخدرات غير المشروعة. يعتبر هذا المركب على قائمة منظمة الصحة العالمية النموذجية للأدوية الأساسية فقد استخدم نتروبروسيد الصوديوم في التطبيقات السريرية باعتباره موسع وعائي قوي للشرايين والأوردة لمدة 40 عاما (تأثيره على الشرايين أكثر من الأوردة) وذلك نتيجة لتفككه إلى أحادي أكسيد النيتروجين NO مما يسبب في توسع الأوعية السريع وخفض ضغط الدم بشكل حاد. يتم استخدامه سريريا في جراحة القلب وأزمات ارتفاع ضغط الدم وفشل القلب وجراحة الأوعية الدموية وجراحة الأطفال. وجود الحديد الثلاثي في الصيغة التركيبية للمركب جعل بالإمكان الاستفادة منه في تطبيقات الأكسدة والاختزال^[43].

Potassium dichromate**1-5-3- ثنائي كرومات البوتاسيوم**

هو مركب صلب برتقالي اللون جاف و غير ممتيع (يختلف عن ثنائي كرومات الصوديوم) ، صيغته الكيميائية $K_2Cr_2O_7$ ، و وزنه الجزيئي 294.18 و كثافته 2.676 غرام/سم³، و درجة انصهاره 398 درجة مئوية، و قابل للذوبان في الماء و غير قابل للذوبان في الكحول(الايثانول) . و يحضر ثنائي كرومات البوتاسيوم عن طريق تحميض محلول كرومات البوتاسيوم. الأيون يحتوي على ذرات الأكسجين و الكروم و تكافؤه 6 و صيغته الكيميائية $(Cr_2O_7)^{2-}$. تعد المحاليل التي تحتوي على أيون ثنائي الكرومات محاليل مؤكسدة قوية. يستخدم هذا المركب في الصناعة كعامل مؤكسد، كما يستخدم كصبغ في صناعات الدهانات و الزجاج و البلاستيك و غيرها، يستخدم كعامل مؤكسد قوي و ككاشف من الكواشف التحليلية. ثنائي كرومات البوتاسيوم مادة سامة و مسرطنة كما أنها ممكن أن تسبب تقرحات في اليدين و اتلاف في الأغشية المخاطية، لذا وجب التعامل معها بكل حذر^[44].

يختزل ايون ثنائي كرومات البوتاسيوم إلى الحالة ثلاثية التكافؤ في محيط حامضي:



بعد الكاشف مفيدا لكون محلوله مستقرا لمدة غير محدودة ولكونه خاملا نحو حامض الهيدروكلوريك. يمكن الحصول على الكاشف الصلب بدرجة نقاوة عالية وبتكاليف معقولة كما يمكن تحضير المحاليل القياسية من الوزن مباشرة و يمكن غلي المحاليل القياسية لثنائي كرومات البوتاسيوم لمدة طويلة دون أن تتجزأ و تعد مادة قياسية أولية و تستخدم في وسط حامضي (حامض الكبريتيك المخفف أو حامض الهيدروكلوريك). من الاستعمالات الرئيسية لثنائي الكرومات معايرة الحديد^[45].

الفصل الثاني

الجزء العملي

Experimental part

Practical part

2-الجزء العملي

Apparatus and instruments

1-2-الأجهزة والأدوات

- مطياف الأشعة فوق البنفسجية - المرئية

UV-VIS spectrophotometer Jasco V-650, England

- مطياف الامتصاص الذري

Flame atomic absorption spectrophotometer, Shimadzu (AA-670)

- Japan

Sensitive balance: KERN / ABS - Germany

- ميزان حساس

pH-Meter: Inolab 7110 - Germany

- مقياس الرقم الهيدروجيني

Oven S-NO 104544 ,Termaks - Germany

- فرن تجفيف من نوع

Water Bath YCW – 012S- Taiwan

- حمام مائي

- جهاز تحريك وتسخين

Stirring hot plate MS-H280-pro ISO LAB laboratory GmbH

- مطياف الأشعة ما تحت الحمراء

Fourier transform spectrophotometer, Perkin Elmer Spectrum 65

FT-IR spectrophotometer- Germany

- جهاز الطرد المركزي

Centrifuge HERMLE LABORTI CHINK Type Z200A –

Germany , 6000rpm

Chemical materials

2-2-المواد الكيميائية

جميع المواد الكيميائية التي استخدمت في البحث نقية ومن منشأء عالمية كما

مبين في الجدول (1-2).

جدول رقم (1-2): المواد الكيميائية المستخدمة

ت	اسم المادة	الصيغة الكيميائية	الوزن الجزيئي	الشركة	النقاوة
1	Ascorbic acid	C ₆ H ₈ O ₆	176.12	S.D.I	99%
2	α-Tocopherol	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	430.71	S.D.I	98%
3	Hydrochloric acid	HCl	36.46	BDH	37%
4	Sodium hydroxide	NaOH	39.99	GCC	99%
5	Sulfuric acid	H ₂ SO ₄	98.08	BDH	98%
6	Potassium Dichromate	K ₂ Cr ₂ O ₇	294.18	GCC	99%
7	Sodium nitro prusside	Na ₂ [Fe(CN) ₅ NO]	261.918	GCC	99%
8	Acetone	C ₃ H ₆ O	58.08	BDH	98%
9	Ferric ammonium sulphat	NH ₄ Fe(SO ₄) ₂ .12H ₂ O	482.19	BDH	98%
10	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46.07	BDH	99%
11	Methanol	CH ₃ OH	32.04	BDH	98%
12	Sodium tetrachloroaurate	NaAuCl ₄ .2H ₂ O	398	BDH	99%

المستحضرات الصيدلانية التجارية المستخدمة

Pharmaceuticals commercial formulated used

أستخدمت النماذج التجارية المتوافرة في الأسواق المحلية ومن مناشيء مختلفة لغرض تقدير الفيتامينات وكما موضح في الجدول (2-2) أدناه.

جدول رقم (2-2): المستحضرات الصيدلانية التجارية المستخدمة

Medicament name	Contents	Dosing mg	Origin
PHILVITAI E	Vitamin E	400	Philippian
Misavit E-100	Vitamin E	100	MVC
Chewable Tablets	Vitamin C	250	Furat Pharma tablet Iraq
Cetavit tablet	Vitamin C	500	Al Shahba, Syria
German Calcium + Vitamin C	Vitamin C	75	Germany

Preparation of solutions**3-2- تحضير المحاليل**

حُضرت المحاليل القياسية المركزة في هذا البحث باستخدام المواد الكيميائية المدونة في الجدول (1-2) وباستعمال القوانين والعلاقات الكيميائية الرياضية ومن ثم تخفيفها لتحضير محاليل ذات تراكيز اقل.

1-3-2-تحضير محاليل الخزن القياسية**Preparation of standard stock solutions**

- محلول الخزن القياسي لفيتامين C (1000 mg.L^{-1})

Vitamin C standard stock solution

حُضر محلول الخزن القياسي لفيتامين C بتركيز (1000 جزء من المليون) بإذابة 0.1 غرام من المادة الصلبة القياسية لفيتامين C في 100 ملتر من الماء المقطر في قنينة حجمية سعة 100 ملتر.

- محلول الخزن القياسي لفيتامين E (1000 mg.L^{-1})

Vitamin E standard stock solution

حُضر محلول الخزن القياسي لفيتامين E بتركيز (1000 جزء من المليون) بوزن 0.1 غرام من المادة السائلة القياسية لفيتامين E في 100 ملتر من الأسيتون في قنينة حجمية سعة 100 ملتر.

- محلول الخزن القياسي لأيون الذهب (1000 mg.L^{-1})

Gold ion standard stock solution

حُضر محلول الخزن القياسي لأيون الذهب بتركيز (1000 جزء من المليون) بإذابة 0.202 غرام من ملح الذهب المادة الصلبة القياسية في 100 ملتر من 3% حامض الهيدروكلوريك في قنينة حجمية سعة 100 ملتر.

- محلول الخزن القياسي لثنائي كرومات البوتاسيوم (1000 mg.L^{-1})

Potassium Dichromate Standard stock solution

حُضِرَ المحلول القياسي لثنائي كرومات البوتاسيوم بتركيز (1000 جزء من المليون) بإذابة 0.1 غرام من المادة الصلبة القياسية في 100 ملتر من الماء المقطر في قنينة حجمية سعة 100 ملتر.

- محلول الخزن القياسي لنتروبروسيد الصوديوم (1000 mg.L^{-1})

Sodium nitro prusside standard stock solution

حُضِرَ محلول الخزن القياسي لنتروبروسيد الصوديوم بتركيز (1000 جزء من المليون) بإذابة 0.1 غرام من المادة الصلبة القياسية في 100 ملتر من الماء المقطر في قنينة حجمية سعة 100 ملتر.

- محلول الخزن القياسي لكبريتات الحديدك الأمونياكية (1000 mg.L^{-1})

Ferric ammonium sulphat standard stock solution

حُضِرَ المحلول القياسي لكبريتات الحديدوز الأمونياكية بتركيز (1000 جزء من المليون) بإذابة 0.1 غرام من المادة الصلبة القياسية في 100 ملتر من الماء المقطر في قنينة حجمية سعة 100 ملتر.

- تحضير محلول حامض الهيدروكلوريك (HCl) بتركيز (1 مولاري):

Preparation of hydrochloric acid solution (HCl) at a concentration of 1 molar

سحب 8.33ml من حامض الهيدروكلوريك المركز ذو النسبة المئوية (37%) والوزن النوعي (1.19) والذي يكون تركيزه المولاري (12.063 Mole/L) ويوضع في قنينة حجمية سعة 100 ملتر ويكمل الحجم بالماء إلى حد العلامة .

- تحضير محلول حامض الكبريتيك (H_2SO_4) بتركيز (1 مولاري):

Preparation of sulfuric acid solution (H_2SO_4) at a concentration of 1 molar

سحب (5.5ml) من حامض الكبريتيك المركز ذو النسبة المئوية (98%) و وزنه النوعي (1.84) و الذي يكون تركيز المولاري (18.400 Mole/L) ويوضع في قنينة حجمية سعة 100مللتر حاوية على 20مللتر ماء وأكمل الحجم إلى العلامة بالماء المقطر.

- تحضير محلول هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) بتركيز (1 مولاري):

Preparation of sodium hydroxide solution (NaOH) at a concentration of 1 molar

وزن (4 gm) من هيدروكسيد الصوديوم و بعد إذابته بكمية من الماء المقطر نقل إلى قنينة حجمية سعة 100مل وأكمل الحجم بالماء المقطر إلى حد العلامة.

واستعملت محاليل الخزن أعلاه لاحقاً في تحضير المحاليل المطلوبة في البحث وبتراكيز مختلفة بتطبيق قانون التخفيف.

4-2- الطرائق العملية المستخدمة في تقدير الفيتامينات

Practical methods used in estimating vitamins

1-4-2- التعقيد مع أيون الذهب Complexation with gold ion

قدّرت الفيتامينات بهذه الطريقة بوساطة التعقيد مع أيون الذهب الثلاثي ومن ثم تقدير معقد الفيتامين بطريقتين هما مطيافية امتصاص الأشعة فوق البنفسجية المرئية ومطيافية الامتصاص الذري اللهب.

2-1-4-1-1- مطيافية الأشعة فوق البنفسجية - المرئية

Ultra violet-visible absorption spectrophotometry

2-1-1-4-2- طيف الامتصاص الأعظم

Maximum absorption spectrum

- لإيجاد طيف الامتصاص للفيتامينات وأيون الذهب يؤخذ 2 ملتر من محاليل الفيتامينات وأيون الذهب ذوات التركيز 100ppm ويوضع محلول كل مادة في قنينة حجمية سعة 10 ملتر ويكمل الحجم بالماء المقطر أو الاسيتون. يسجل طيف الأشعة فوق البنفسجية-المرئية لمحاليل الذهب مع كلا من فيتامين C و فيتامين E على انفراد مقابل محلول خلب الأشكال (3-3 - 1-3).

- لإيجاد طيف الامتصاص لمعدن الذهب مع الفيتامينات في أوساط مختلفة (حامضي، متعادل و قاعدي) تم مزج 2 ملتر من كلا من محلولي الفيتامينات (على انفراد) مع 2 ملتر من محلول أيون الذهب بتركيز 100 جزء بالمليون في ستة قناني حجمية سعة 10 ملتر (ثلاثة لكل فيتامين) يضاف 1 ملتر من محلول حامض الهيدروكلوريك و 1 ملتر من محلول هيدروكسيد الصوديوم و 5 ملتر من الماء المقطر إلى القناني الحجمية الأولى والثانية والثالثة لكل فيتامين على التوالي ويكمل الحجم إلى العلامة. يترك المحلول بعد مزجه مدة 10 دقائق بدرجة حرارة المختبر، ثم تقاس أطيف الأشعة فوق البنفسجية - المرئية للمحاليل مقابل محلول خلب. يسجل أعلى امتصاص عند الطول الموجي الأعظم (535 نانومتر) لمعدن فيتامين E و(599.8 نانومتر) لمعدن فيتامين C مع الذهب، الأشكال (3-4 و 3-5) والجدول (3-1).

Optimization condition

2-1-1-4-2- الظروف الفضلى

pH effect

2-1-1-4-2- تأثير الدالة الحامضية

تم سحب 2 ملتر من محاليل الفيتامينات بتركيز 100 جزء بالمليون إلى سبعة قناني حجمية سعة 10 ملتر (لكل فيتامين) و يضاف إليها 2 ملتر من محلول الذهب

بالتركيز نفسه ويضبط الوسط فيها إلى دالة حامضية تتراوح بين (2-12) بإضافة محلولي حامض الهيدروكلوريك أو هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 0.1 و 1 مولاري وبعد إكمال الحجم بالماء المقطر إلى العلامة. تترك المحاليل جانباً بدرجة حرارة المختبر لمدة 10 دقائق، يسجل الامتصاص عند الطول الموجي الأعظم (535 نانومتر) لمعقد فيتامين E و(599.8 نانومتر) لمعقد فيتامين C مع الذهب المسجل في دراسة طيف الامتصاص الأعظم السابقة، الأشكال (3-6 و 3-7).

Reaction time effect

2-2-1-1-4-2- تأثير زمن التفاعل

تنقل 2 مللتر من محلول الفيتامينات بتركيز 100 جزء بالمليون إلى 13 قنينة حجمية سعة 10 مللتر ويضاف إليها 2 مللتر من محلول الذهب بالتركيز نفسه. يضبط الوسط عند الدالة 7 لمحلول فيتامين E و 10 لمحلول فيتامين C ثم إكمال الحجم بالماء المقطر إلى العلامة. تترك المحاليل جانباً بدرجة حرارة المختبر بأزمان مختلفة هي (60 - 5 دقيقة)، يسجل الامتصاص عند الطول الموجي الأعظم (535 نانومتر) لمعقد فيتامين E و (599.8 نانومتر) لمعقد فيتامين C مع الذهب المسجل سابقاً، الأشكال (3-8 و 3-9).

Temperature effect

2-2-1-1-4-2- تأثير درجة الحرارة

تم سحب 2 مللتر من محلول الفيتامينات بتركيز 100 جزء بالمليون إلى 12 قنينة حجمية سعة 10 مللتر و يضاف إليها 2 مللتر من محلول الذهب بالتركيز نفسه ويضبط الوسط عند الدالة 7 لمحلول فيتامين E و 10 لمحلول فيتامين C ثم إكمال الحجم بالماء المقطر إلى العلامة. تسخن القناني إلى درجات حرارة مختلفة تتراوح بين (45 - 15 م°) في حمام مائي وبزمن ثابت هو 30 دقيقة لفيتامين E و 15 دقيقة لفيتامين C. يسجل الامتصاص عند الطول الموجي الأعظم (535 نانومتر) لمعقد فيتامين E و (599.8 نانومتر) لمعقد فيتامين C مع الذهب المسجل سابقاً، الأشكال (3-10 و 3-11).

Gold ion concentration**4-2-1-1-4-2- تركيز أيون الذهب**

تتقل الحجوم التالية (6 - 1 ملتر) من محلول الذهب بتركيز 100 جزء بالمليون إلى 13 قنينة حجمية سعة 10 ملتر و يضاف إليها 2 ملتر من محلول فيتامين C بالتركيز نفسه ويضبط الوسط عند الدالة 7 لمحلول فيتامين E و 10 لمحلول فيتامين C ثم إكمال الحجم بالماء المقطر إلى العلامة. تسخن القناني إلى درجات حرارة هي 20 درجة لفيتامين E و 30 درجة لفيتامين C في حمام مائي وبزمن ثابت هو 30 دقيقة لفيتامين E و 15 دقيقة لفيتامين C. يسجل الامتصاص عند الطول الموجي الأعظم (535 نانومتر) لمعدن فيتامين E و (599.8 نانومتر) لمعدن فيتامين C مع الذهب المسجل سابقاً، الأشكال (3-12 و 3-13).

4-2-1-1-4-2- الصيغة الجزيئية (نسبة الاتحاد المولية) للمعدن**Molecular formula or complex structure**

استعملت طريقتان لمعرفة عدد جزيئات الفيتامين (العضيدة) المرتبطة بأيون الذهب (الفلز المركزي) بطريقتين هما:

- التغيير المستمر (طريقة جوب) Continues variation (job method)

تمزج حجوم مختلفة (9-1 ملتر) من محلول الفيتامينات بتركيز 2.94×10^{-4} مولاري لفيتامين E وفيتامين C في 18 قنينة حجمية سعة 10 ملتر مع حجوم مكملة (1 - 9 ملتر) من محلول أيون الذهب بالتركيز نفسه المولاري للفيتامين، وبعد ضبط الظروف الفضلى، يسجل الامتصاص عند الطول الموجي الأعظم (535 نانومتر) لمعدن فيتامين E و (599.8 نانومتر) لمعدن فيتامين C مع الذهب المسجل سابقاً. وترسم العلاقة بين الامتصاص كأحداثي عمودي والنسبة بين حجمي المحلولين (الذهب و الفيتامين) كأحداثي أفقي، الأشكال (3-14 و 3-15).

تمزج حجوم مختلفة (3 - 0.25 مللتر) من محلول الفيتامينات بتركيز 2.94×10^{-4} مولاري لفيتامين E وفيتامين C في 14 قنينة حجمية سعة 10 مللتر مع حجم ثابت (1 مللتر) من محلول أيون الذهب بالتركيز نفسه المولاري للفيتامين لكل قنينة، وبعد ضبط الظروف الفضلى، يسجل الامتصاص عند الطول الموجي الأعظم (535 نانومتر) لمعقد فيتامين E و(599.8 نانومتر) لمعقد فيتامين C مع الذهب المسجل في دراسة طيف الامتصاص الاعظم السابقة. ترسم العلاقة بين الامتصاص كإحداثي عمودي ونسبة حجم محلول الفيتامين إلى الحجم الكلي للمحلول كإحداثي أفقي، الأشكال (3-16 و 3-17).

2-1-4-1-1-6- المنحني القياسي لمطيافية امتصاص الأشعة فوق البنفسجية -

المريئية Ultra violet - visible absorption calibration curve

حضرت محاليل قياسية تراوحت تراكيزها بين (50 - 1 جزء في المليون) من محلول الفيتامينات، وبعد إضافة 3 مللتر من محلول الذهب ذو التركيز 100 جزء في المليون وضبط الظروف الفضلى، يسجل الامتصاص عند الطول الموجي الأعظم (535 نانومتر) لمعقد فيتامين E و (599.8 نانومتر) لمعقد فيتامين C مع الذهب المسجل في دراسة طيف الامتصاص الاعظم السابقة. وتم رسم العلاقة الطردية بين الامتصاص كإحداثي عمودي والتركيز كإحداثي أفقي، الأشكال (3-21 و 3-22) والجداول (3-3,3-4).

2-1-4-2 - مطيافية الامتصاص الذري اللهبى :-

Flame atomic absorption spectrophotometry (FAAS)

أن الاستفادة من هذه التقنية في تقدير الفيتامينات بصورة غير مباشرة عن طريق تقدير كمية أيون الذهب المرتبط بالمعقد التناسقي المحضر.

Gold ion concentration**1-2-1-4-2- تركيز أيون الذهب**

تنقل الحجوم التالية (3 - 0.5 مللتر) من محلول الذهب بتركيز 100 جزء بالمليون إلى 12 قنينة حجمية سعة 10 مللتر و يضاف إليها 1.5 مللتر من محلول الفيتامينات بالتركيز نفسه وضبط الظروف الفضلى المثبتة في تقنية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية السابقة، و بعد فصل المحاليل بجهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة/ دقيقة يذاب الراسب ذو اللون الارجواني (فيتامين E) بالأسيتون بقنينة حجمية سعة 5 مللتر والراسب الأسود (فيتامين C) بالأسيتون بقنينة حجمية سعة 5 مللتر، ويسجل قيم الامتصاص الذري للمحاليل باستعمال مصباح الكاثود المجوف الخاص بالذهب عند الطول الموجي 242.8 نانومتر الذي يمثل شعاع رتين العنصر وباستعمال غاز الاستيلين كغاز وقود والهواء كغاز مؤكسد، الشكل (3-20) .

1-2-2-1-4-2- المنحني القياسي لمطافية الامتصاص الذري للذهب:-**Flame atomic absorption spectrophotometry calibration curve**

حضرت محاليل قياسية تراوحت تراكيزها بين (25 - 1 جزء في المليون) من محلول الفيتامينات، وبعد إضافة 1.5 مللتر من محلول الذهب ذو التركيز 100 جزء في المليون وضبط الظروف الفضلى، و بعد فصل المحاليل بجهاز الطرد المركزي بالسرعة المذكورة سابقا، يذاب الراسب المتكون بالأسيتون بقنينة حجمية سعة 5 مللتر، ويقاس الامتصاص الذري، وترسم العلاقة الطردية بين قيم الامتصاص الذري كإحداثي عمودي والتركيز كإحداثي أفقي الأشكال (3-23 و 3-24) والجداول (3-3,3-4).

Recovery of standard material**2-3-1-4-2- استرجاعية المواد القياسية**

اختيرت للدراسة ثلاثة تراكيز مختلفة لكل واحد من الفيتامينات ولكل طريقة ضمن حدود منحني المعايرة وهي (30, 20, 10 مايكروغرام/مل) لطريقة امتصاص الأشعة فوق البنفسجية-المرئية و (15, 10, 5 مايكروغرام/مل) لطريقة الامتصاص

الذريّ اللهي وثلاث تكرارات لكل منها. و حساب الاسترجاعية للمواد القياسية بعد قياس الامتصاص عند الأطوال الموجية في الظروف الفضلى للطريقتين. بالتعويض في معادلة الخط المستقيم من الدرجة الأولى الخاصة بمنحني المعايرة المحضر و المرسوم في دراسة سابقة يمكن حساب تراكيز المجهول. تم اختبار الضبط من خلال " النسبة المئوية للانحراف القياسي النسبي (% RSD)" والدقة من خلال حساب "النسبة المئوية للخطأ النسبي" (% RE)، الجداول (3-5 و 3-6).

2-4-1-4- التطبيق على العينات الدوائية التجارية

Application on commercial drug samples

- مطيافية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية :-

Ultra violet-visible absorption spectrophotometry

فرغت محتويات عشرين مضغوطة جيلاتينية من نموذجين تجاريين لفيتامين E من شركات مختلفة (100, 400 ملغرام/مضغوطة)، و عشرين حبة من نموذجين تجاريين لفيتامين C من شركات مختلفة (250, 500 ملغرام/حبة) وتوزن بدقة وتطحن بشكل جيد. يوزن بالضبط 0.1 غرام منها ويذاب في 100 مللتر من المذيب في قنينة حجمية. حضرت تراكيز مختلفة لكل واحد من المستحضرات الأربعة ويضاف إليها 3 مللتر من محلول الذهب بالتركيز نفسه، وبعد ضبط الظروف التجريبية الفضلى المثبتة مسبقاً، يقاس الامتصاص عند الطول الموجي الأعظم λ_{max} ضد محلول الخلب. و بالتعويض في معادلة الخط المستقيم من الدرجة الأولى الخاصة بمنحني المعايرة المحضر و المرسوم في الخطوة السابقة يمكن حساب تراكيز وكميات الفيتامينات في النماذج التجارية، الجداول (3-7 و 3-8).

Atomic absorption spectroscopy flame

تفرغ محتويات عشرين مضغوطة جيلاتينية من إنموذجين تجاريين لفيتامين E من شركات مختلفة (400, 100 ملغرام/مضغوطة) ، و عشرين حبة من إنموذجين تجاريين لفيتامين C من شركات مختلفة (250, 500 ملغرام/ حبة) وتوزن بدقة وتطحن بشكل جيد. يوزن بالضبط 0.1 غرام منها ويذاب في 100 ملتر من المذيب في قنينة حجمية. حضرت تراكيز مختلفة لكل واحد من المستحضرات الأربعة ويضاف إليها 1.5 ملتر من محلول الذهب بالتركيز نفسه، وبعد ضبط الظروف التجريبية الفضلى المثبتة مسبقا و بعد فصل المحاليل بالسرعة المثبتة سابقا، يذاب الراسب المتكون بالأسيتون بقنينة حجمية سعة 5 ملتر، وتسجل قيم الامتصاص الذري للمحاليل ، و بالتعويض في معادلة الخط المستقيم من الدرجة الأولى الخاصة بمنحني المعايرة المحضر و المرسوم في دراسة سابقة يمكن حساب تراكيز وكميات الفيتامينات في النماذج التجارية. الجداول (3-7 و 3-8).

2-4-2- طريقة تفاعل الاكسدة-الاختزال باستخدام ثنائي كرومات البوتاسيوم

Method oxidation-reduction reaction using potassium dichromate

تم تقدير الفيتامينات بهذه الطريقة بواسطة اختزال أيون الحديد الثلاثي باستخدام الفيتامينات أولا ثم تفاعل الحديد الثنائي مع ثنائي كرومات البوتاسيوم ثانيا. تم استخدام مصدرين للحديد الثلاثي هما كبريتات الحديدك الأمونياكية و نتروبروسيد الصوديوم.

2-4-2-1- أطياف الامتصاص للكواشف المستخدمة

Absorption spectra of used reagents

لإيجاد طيف الامتصاص لثنائي كرومات البوتاسيوم وكبريتات الحديد الأمونياكية و نتروبروسيد الصوديوم يؤخذ 2 ملتر من محاليل هذه المواد ويوضع محلول كل مادة في قنينة حجمية سعة 10 ملتر ويكمل الحجم بالماء المقطر. يسجل طيف الأشعة فوق البنفسجية- المرئية وقيمة الامتصاص العظمى عند الطول الموجي الأعظم للمحاليل كلا على أفراد مقابل محلول خلب، الأشكال (3-25 - 3-27).

- لإيجاد طيف الامتصاص لمزيج المواد مع الفيتامينات تم مزج 1 ملتر من كلا من محلولي الفيتامينات بتركيز 100 جزء بالمليون (على أفراد) مع 2 ملتر من محلول كبريتات الحديد الأمونياكية أو 2 ملتر من محلول نتروبروسيد الصوديوم بتركيز 100 جزء بالمليون في أربعة قناني حجمية سعة 10 ملتر (اثنان لكل فيتامين) يضاف 1 ملتر من محلول ثنائي كرومات البوتاسيوم بتركيز 100 جزء بالمليون و 0.5 ملتر من محلول حامض الكبريتيك 0.1 مولاري . يكمل الحجم إلى العلامة، يترك المحلول بعد مزجه مدة 10 دقائق بدرجة حرارة المختبر إذ يتكون لون أخضر غامق قليلا. تم قياس أطياف الأشعة فوق البنفسجية - المرئية للمحاليل مقابل محلول خلب. سجل أعلى امتصاص عند الطول الموجي 564.4 نانومتر (SNP) و 565 نانومتر (FAS) لكلا الفيتامينين، الأشكال (3-28 و 3-29).

Optimum conditions

2-4-2-2- الظروف الفضلى

Solvent type

2-4-2-2-1- نوع المذيب

مزج 1 ملتر من كلا من محلولي الفيتامينات بتركيز 100 جزء بالمليون (على أفراد) مع 2 ملتر من محلول كبريتات الحديد الأمونياكية أو 2 ملتر من محلول نتروبروسيد الصوديوم بتركيز 100 جزء بالمليون في 12 قنينة حجمية سعة 10 ملتر (سنة لكل فيتامين) يضاف 1 ملتر من محلول ثنائي كرومات البوتاسيوم بتركيز

100 جزء بالمليون و 0.5 ملتر من محلول حامض الكبريتيك 0.1 مولاري . يكمل الحجم إلى العلامة باستعمال مذيبات مختلفة (ماء، ايثانول و ميثانول)، يترك المحلول بعد مزجه مدة دقيقتين بدرجة حرارة المختبر إذ يتكون لون أخضر غامق قليلا. يسجل الامتصاص للمحاليل مقابل محلول خلب عند الطول الموجي 564.4 نانومتر (SNP) و 565 نانومتر (FAS) لكلا الفيتامينين، الأشكال (3-31 و 32-3).

Sequence of additions

2-2-2-4-2- تسلسل الاضافات

إجراء عدد من التجارب على تفاعل الفيتامينات مع الكواشف بتسلسلات مختلفة لإضافة الكواشف المستعملة. يمزج 1 ملتر من كلا من محلولي الفيتامينات (على انفراد) مع 2 ملتر من محلول كبريتات الحديدك الأمونياكية او 2 ملتر من محلول نتروروسيد الصوديوم بتركيز 100 جزء بالمليون في 12 قنينة حجمية سعة 10 ملتر (سعة لكل فيتامين) يضاف 1 ملتر من محلول ثنائي كرومات البوتاسيوم بتركيز 100 جزء بالمليون (بتغير تسلسل الإضافة) و 0.5 ملتر من محلول حامض الكبريتيك 0.1 مولاري يكمل الحجم إلى العلامة باستعمال الميثانول. يترك المحلول بعد مزجه مدة دقيقتين بدرجة حرارة المختبر حيث يتكون لون أخضر غامق قليلا. يسجل الامتصاص للمحاليل مقابل محلول خلب عند الطول الموجي 564.4 نانومتر (SNP) و 565 نانومتر (FAS) لكلا الفيتامينين، الجداول (3-11 و 3-12).

Stability time

3-2-2-4-2- زمن الاستقرار

اجريت دراسة لتثبيت زمن الاستقرار الأفضل والذي يعطي عنده المزيج المتكون أعلى امتصاص، فقد استعمل 28 قنينة حجمية سعة 10مل تحتوي على 1مل من الفيتامين و 2 ملتر من كبريتات الحديدك الأمونياكية او نتروروسيد الصوديوم. يضاف لكل قنينة 1ملتر من كاشف ثنائي كرومات البوتاسيوم و 0.5 ملتر من حامض الكبريتيك 0.1 مولاري. أكمل الحجم إلى العلامة باستعمال الميثانول. تترك القناتي الحجمية جانبا بدرجة حرارة المختبر بأزمان مختلفة تتراوح بين

(30-1 دقيقة). يسجل الامتصاص للمحاليل مقابل محلول خلب عند الطول الموجي 564.4 نانومتر (SNP) و 565 نانومتر (FAS) لكلا الفيتامينين، الأشكال (3-33 و 3-34).

4-2-2-4-2- حجم كبريتات الحديدك الأمونياكية و نتروبروسيد الصوديوم

Volume of ammonium sulphat and sodium nitro prusside

أجريت الدراسة لتحديد حجم كبريتات الحديدك الأمونياكية و نتروبروسيد الصوديوم الأمثل والذي يعطي عنده المزيج المتكون أعلى امتصاص. تم استعمال 26 قنينة حجمية سعة 10 مل تحتوي على 1 مل من الفيتامين وحجوم مختلفة من كبريتات الحديدك الأمونياكية أو نتروبروسيد الصوديوم تتراوح بين (2.5 – 0.05 مللتر). يضاف لكل قنينة 1 مللتر من كاشف ثنائي كرومات البوتاسيوم و 0.5 مللتر من حامض الكبريتيك 0.1 مولاري. أكمل الحجم إلى العلامة باستعمال الميثانول. تترك القناني الحجمية جانباً بدرجة حرارة المختبر لمدة 20 دقيقة لمحاليل فيتامين E و فيتامين C. يسجل الامتصاص للمحاليل مقابل محلول خلب عند الطول الموجي 564.4 نانومتر (SNP) و 565 نانومتر (FAS) لكلا الفيتامينين، الأشكال (3-35 و 3-36).

4-2-2-4-2-5- حجم كاشف ثنائي كرومات البوتاسيوم

Potassium dichromate volume

لقد أجريت دراسة لتحديد حجم ثنائي كرومات البوتاسيوم الافضل والذي يعطي عنده المزيج المتكون أعلى امتصاص. واستعملت 30 قنينة حجمية سعة 10 مل تحتوي على 1 مل من الفيتامين وحجم 2 مللتر من كبريتات الحديدك الأمونياكية أو نتروبروسيد الصوديوم للقناني الحاوية على فيتامين E و حجم 1 مللتر للقناني الحاوية على فيتامين C. يضاف للقناني الحجمية حجوم مختلفة من كاشف ثنائي كرومات البوتاسيوم تتراوح بين (1.5 – 0.05 مللتر) و 0.5 مللتر من حامض

الكبريتيك 0.1 مولاري. أكمل الحجم إلى العلامة باستعمال الميثانول. تترك اللقناني الحجمية جانباً بدرجة حرارة المختبر لمدة 20 دقيقة لمحاليل فيتامين E و فيتامين C. يسجل الامتصاص للمحاليل مقابل محلول خلب عند الطول الموجي 564.4 نانومتر (SNP) و 565 نانومتر (FAS) لكلا الفيتامينين، الأشكال (37-3 و 38-3).

Acid volume

6-2-2-4-2- حجم الحامض

أجريت دراسة لإيجاد حجم الحامض المضاف والذي يعطي عنده المزيج المتكون أعلى امتصاص. استعمل 28 قنينة حجمية سعة 10 مل تحتوي على 1 مل من الفيتامين وحجم 2 ملتر من كبريتات الحديدك الأمونياكية أو نيتروبروسيد الصوديوم لللقناني الحاوية على فيتامين E و حجم 1 ملتر لللقناني الحاوية على فيتامين C. يضاف لللقناني الحجمية حجم من كاشف ثنائي كرومات البوتاسيوم بمقدار 1 ملتر لللقناني الحاوية على فيتامين E و حجم 0.8 ملتر لللقناني الحاوية على فيتامين C. تضاف حجوم مختلفة من حامض الكبريتيك 0.1 مولاري تتراوح بين (1.5 – 0.1 ملتر). أكمل الحجم إلى العلامة باستعمال الميثانول. تترك اللقناني الحجمية جانباً بدرجة حرارة المختبر لمدة 20 دقيقة لمحاليل فيتامين E و فيتامين C. يسجل الامتصاص للمحاليل مقابل محلول خلب عند الطول الموجي 564.4 نانومتر (SNP) و 565 نانومتر (FAS) لكلا الفيتامينين، الأشكال (39-3 و 40-3).

Temperature effect

7-2-2-4-2- تأثير درجة الحرارة

أجريت دراسة لإيجاد الدرجة الحرارية الفضلى والتي يعطي عندها المزيج المتكون أعلى امتصاص. واستعملت 20 قنينة حجمية سعة 10 مل تحتوي على 1 مل من الفيتامين وحجم 2 ملتر من كبريتات الحديدك الأمونياكية أو نيتروبروسيد الصوديوم لللقناني الحاوية على فيتامين E و حجم 1 ملتر لللقناني الحاوية على فيتامين C. يضاف لللقناني الحجمية حجم من كاشف ثنائي كرومات البوتاسيوم بمقدار 1 ملتر لللقناني الحاوية على فيتامين E و حجم 0.8 ملتر لللقناني الحاوية على فيتامين C. يضاف حجم 1 ملتر من حامض الكبريتيك. أكمل الحجم إلى العلامة

باستعمال الميثانول. تترك القناني الحجمية جانباً بدرجات حرارة مختلفة تتراوح بين (30 – 10 درجة مئوية) لمدة 20 دقيقة لمحاليل فيتامين E و لمحاليل فيتامين C. يسجل الامتصاص للمحاليل مقابل محلول خلب عند الطول الموجي 564.4 نانومتر (SNP) و 565 نانومتر (FAS) لكلا الفيتامينين، الأشكال (3-41 و 3-42).

8-2-2-4-2- المنحني القياسي الطيفي spectral standard Curve

حضرت محاليل قياسية تراوحت تراكيزها بين (0.1 - 50 جزء في المليون) من محلول الفيتامينات. واستعملت 48 قنينة حجمية سعة 10مل تحتوي كل قنينة على تركيز معلوم من الفيتامين وحجم 2 مللتر من كبريتات الحديدك الأمونياكية او نثروبروسيد الصوديوم للقناني الحاوية على فيتامين E و حجم 1 مللتر للقناني الحاوية على فيتامين C. يضاف للقناني الحجمية حجم من كاشف ثنائي كرومات البوتاسيوم بمقدار 1 مللتر للقناني الحاوية على فيتامين E و حجم 0.8 مللتر للقناني الحاوية على فيتامين C. يضاف للقناني الحجمية حجم 1 مللتر من حامض الكبريتيك (1 M). أكمل الحجم إلى العلامة باستعمال الميثانول. تترك القناني الحجمية جانباً بدرجات حرارة 25 درجة مئوية لمدة 20 دقيقة لمحاليل فيتامين E و لمحاليل فيتامين C. يسجل الامتصاص للمحاليل مقابل محلول خلب عند الطول الموجي 564.4 نانومتر (SNP) و 565 نانومتر (FAS) لكلا الفيتامينين. ورسمت العلاقة الطردية بين الامتصاص كإحداثي عمودي والتركيز كإحداثي أفقي الأشكال (3-43 و 3-44) والجدول (3-13).

Recovery of standard material 9-2-2-4-2-استرجاعية المواد القياسية

اختارت الدراسة ثلاثة تراكيز مختلفة لكل واحد من الفيتامينات ولكل طريقة ضمن حدود منحنى المعايرة وهي (30, 20, 10 مايكروغرام/مل) لفيتامين C و (15, 10, 5 مايكروغرام/مل) لفيتامين E باستخدام الكاشفين وثلاثة تكرارات لكل منها. تم حساب الاسترجاعية للمواد القياسية بعد قياس الامتصاص للمحاليل في الظروف الفضلى التي تم تثبيتها في الدراسات السابقة مقابل محلول خلب عند الطول الموجي 564.4 نانومتر (SNP) و 565 نانومتر (FAS) لكلا الفيتامينين. بالتعويض في معادلة الخط المستقيم من الدرجة الأولى الخاصة بمنحنى المعايرة المحضر والمرسوم سابقاً. واختبار الضبط من خلال "النسبة المئوية للانحراف القياسي النسبي (% RSD)" والدقة من خلال حساب "النسبة المئوية للخطأ النسبي" (% RE)، الجدول (3-14).

10-2-2-4-2-التطبيق على العينات الدوائية التجارية**Application on commercial drug samples**

تفرغ محتويات عشرين مضغوطة جيلاتينية من نموذجين تجاريين لفيتامين E من شركات مختلفة (400, 100 ملغرام/مضغوطة)، و ثلاثين حبة من ثلاثة نماذج تجارية لفيتامين C من شركات مختلفة (75, 500, 250 ملغرام/حبة) وتوزن بدقة وتطحن بشكل جيد. يوزن بالضبط 0.1 غرام منها ويذاب في 100 ملتر من المذيب في قنينة حجمية. حضرت تراكيز مختلفة لكل واحد من المستحضرات الخمسة ويضاف إليها كميات من الكواشف حسب الظروف التجريبية الفضلى المثبتة مسبقاً. وقياس الامتصاص للمحاليل في الظروف الفضلى التي تم تثبيتها في الدراسات السابقة مقابل محلول خلب عند الطول الموجي 564.4 نانومتر (SNP) و 565 نانومتر (FAS) لكلا الفيتامينين. بالتعويض في معادلة الخط المستقيم من الدرجة الأولى الخاصة بمنحنى المعايرة المحضر و المرسوم سابقاً، الجدول (3-15).

الفصل الثالث

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

Results and discussions

3 - النتائج والمناقشة

قدرت الفيتامينات بطريقتين هما طريقة التعقيد مع أيون الذهب ومن ثم تقدير المعقد بتطبيق مطيافية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية ومطيافية الامتصاص الذري اللهي. أما الطريقة الثانية لتقدير الفيتامينات فهي الاستفادة من خاصية الاختزال للفيتامينات لغرض اختزال أيون الحديدك (استعمال كواشف للاختزال جديدة) ثم مفاعلة أيون الحديدوز المتكون مع كاشف ثنائي كرومات البوتاسيوم وقياس طيف الامتصاص بمطيافية الأشعة فوق البنفسجية - المرئية.

Complexation with gold ion

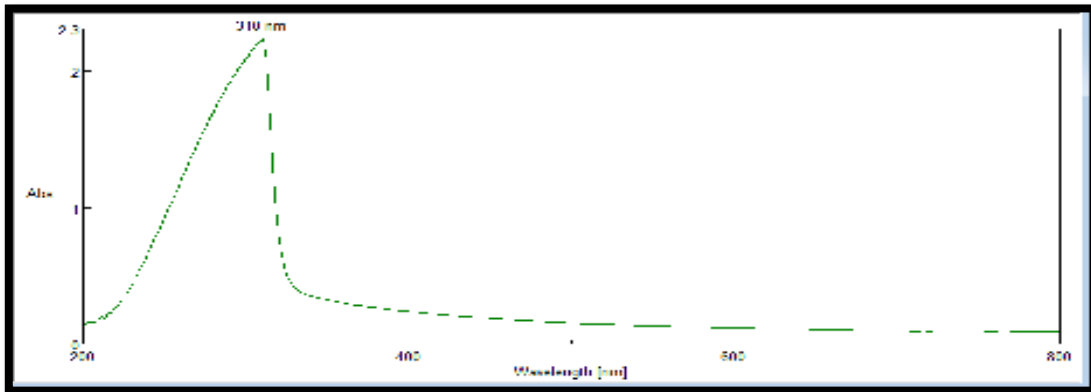
1-3- التعقيد مع أيون الذهب

1-1-3-1-3 مطيافية الأشعة فوق البنفسجية - المرئية

Ultra violet-visible absorption spectrophotometry

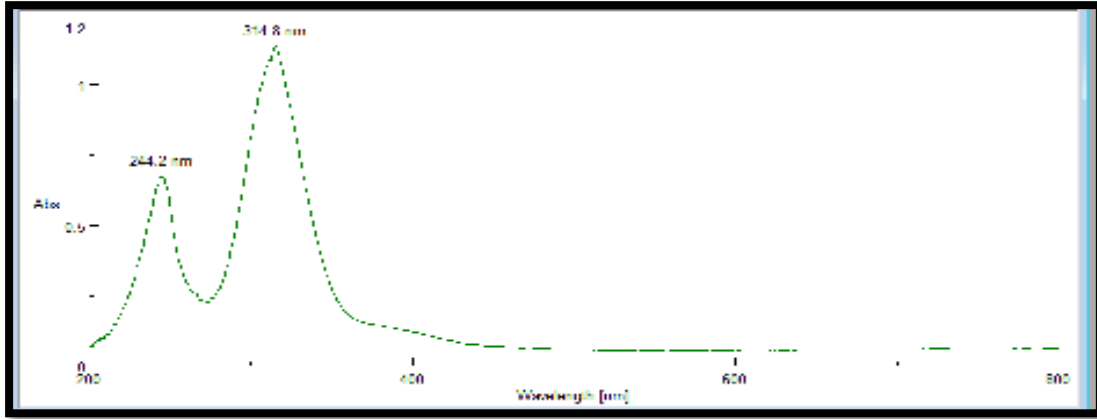
1-1-1-3-1-3 طيف الامتصاص الأعظم Maximum absorbance spectrum

تم تسجيل طيف الامتصاص للفيتامينات والذهب حسب طريقة العمل والظروف التشغيلية المذكورة آنفاً في الفقرة (1-1-1-4-2). حضر محلول لكل من الفيتامينات والذهب يحتوي على تركيز معلوم من المادة القياسية المذابة في المذيب الماء أو الأسيتون. الأشكال (1-3-3-3) توضح الأطياف التي تم الحصول عليها للفيتامينات والذهب.

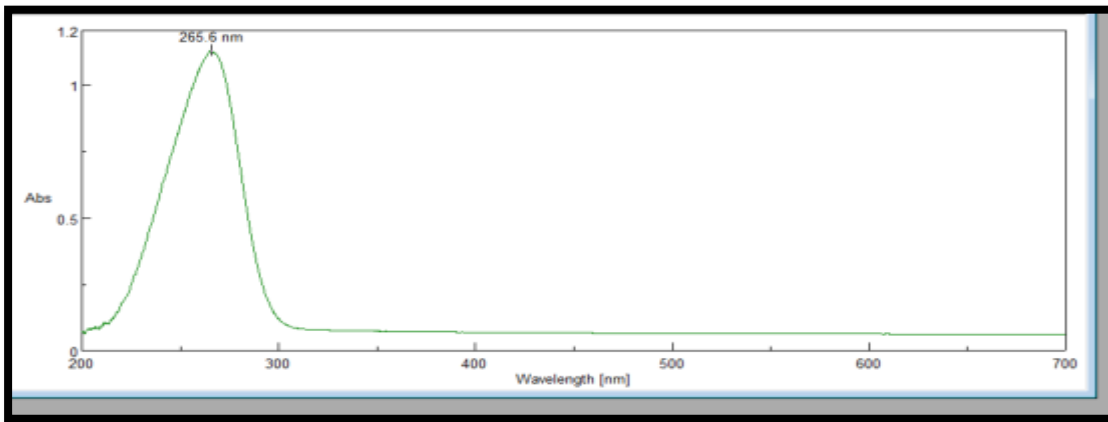


شكل (1-3): طيف الامتصاص لفيتامين E بتركيز 100 ppm

قد أعطت الأطياف المستحصلة قمم امتصاص عند الأطوال الموجية (310 نانومتر) لفيتامين E، (314 ، 244 نانومتر) للذهب، و (265 نانومتر) لفيتامين C. جميع هذه الأطياف تم الحصول عليها بالقياس مقابل المحلول الصوري.

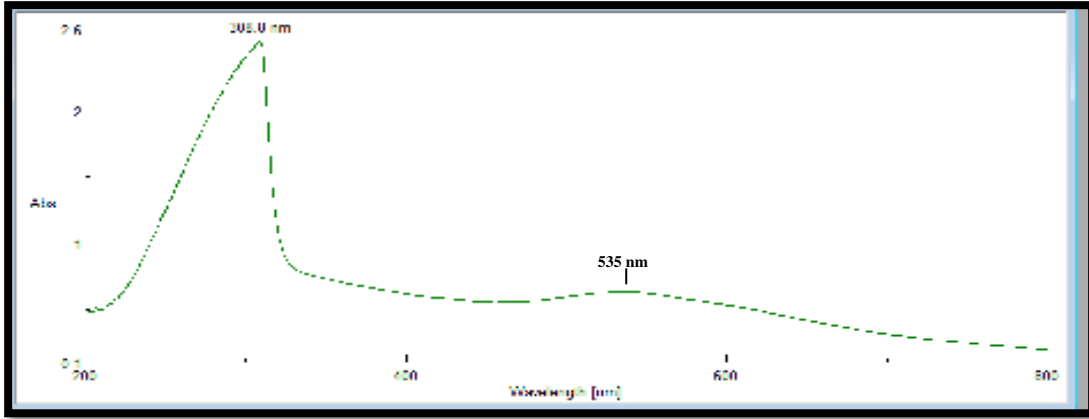


شكل (2-3): طيف الامتصاص لأيون الذهب بتركيز 100 ppm

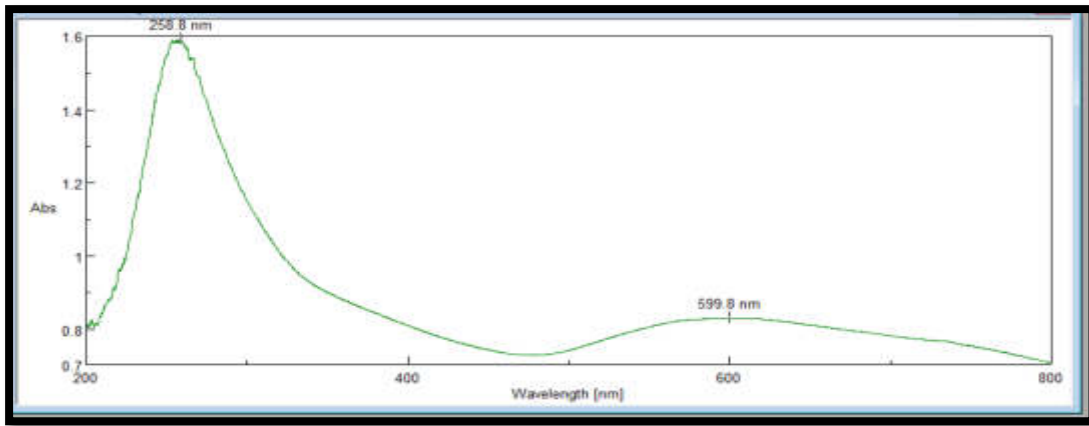


شكل (3-3): طيف الامتصاص لفيتامين C بتركيز 100 ppm

- تسجيل الطيف للمعقدات المتكونة بين الفيتامينات والذهب وفق طريقة العمل الموضحة في الفقرة (1-1-1-4-2) والتي توضح كيفية مزج الفيتامينات مع الذهب والتحكم بالوسط حامضي وقاعدي ومتعادل وتبين الأشكال (3-4 و 3-5) طيف المعقد للفيتامينات مع أيون الذهب مقابل محلول الخلب. الطيف المستحصل يبين ظهور قمة امتصاص جديدة عند الطول الموجي (535 و 599.8 نانومتر) لمعقد الذهب مع فيتامين E و C على التوالي مع اختفاء بعض القمم في اطياف المواد عندما تكون منفردة. واعتمدت القمة الجديدة لمعقدات الفيتامينات E و C والذهب. لقد لوحظ أن عملية تكوين المعقدات يرافقها تغير في ألوان المحاليل، الجدول (1-3) يوضح ألوان المحاليل بعد عملية مزج الفيتامين مع أيون الذهب.



شكل (3-4): طيف معقد الذهب مع فيتامين E



شكل (3-5): طيف معقد الذهب مع فيتامين C

الجدول (3-1): اللون والطول الموجي الأعظم لمعقدات الفيتامينات مع الذهب

اللون		الطول الموجي (نانومتر)	المعقد
بعد المزج	قبل المزج		
ارجواني قاتم	اصفر فاتح	535	Vit. E - Au
النيلى الاسود	اصفر فاتح	599.8	Vit. C -Au

Optimization condition

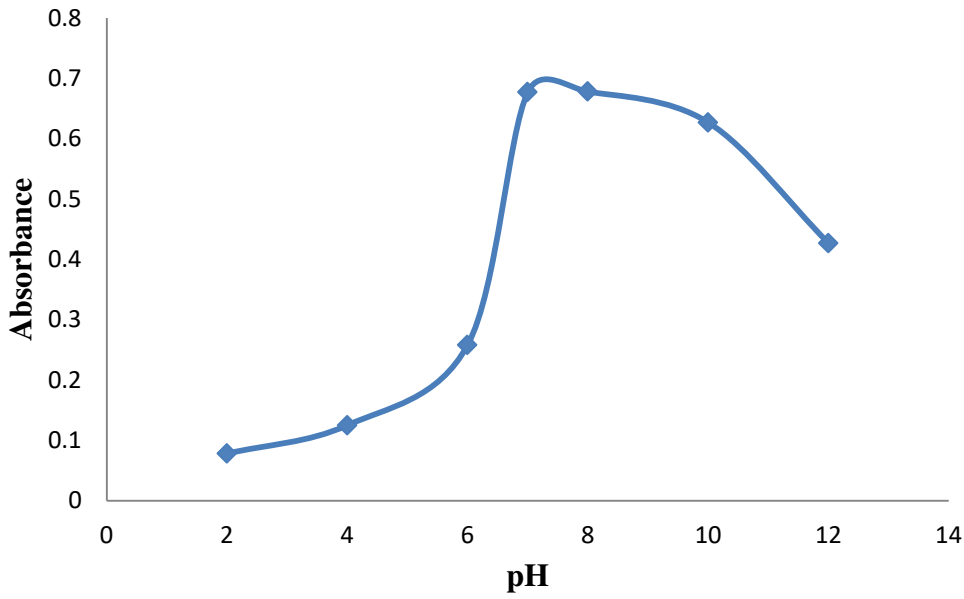
3-1-1-2- الظروف الفضلى

pH effect

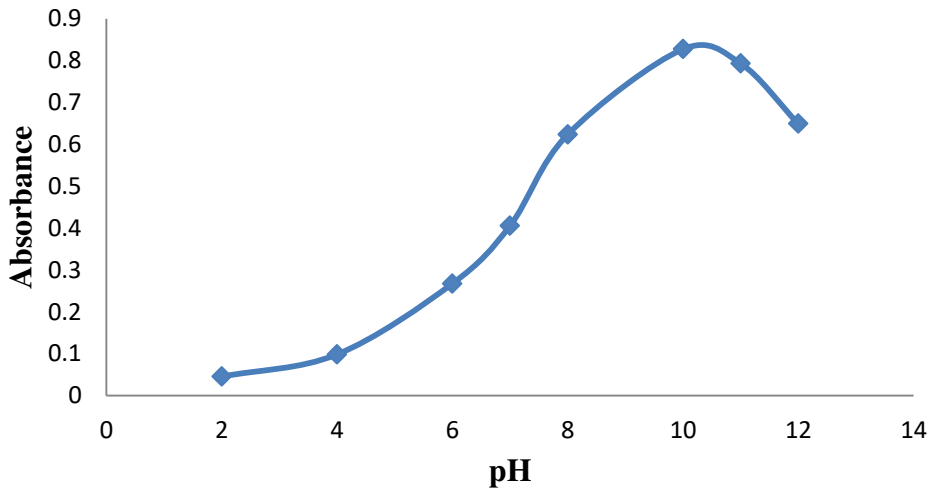
3-1-1-2-1- تأثير الدالة الحامضية

نُفذت هذه الدراسة وفق ما موضح في الفقرة (2-1-1-4-2) والتي توضح كيفية مزج حجم معلوم من الفيتامينات والذهب والتحكم بالدالة الحامضية وإكمال الحجم إلى العلامة بدرجة حرارة المختبر. قيست الامتصاصية عند الطول الموجي الأعظم (535 و 599.8 نانومتر) لفيتامين E و C على التوالي مقابل محلول الخلب. تبين

الأشكال (3-6 و 3-7) قيم الامتصاص لمعدّات الفيتامينات مع الذهب مع تغيير الدالة الحامضية. لقد وجد أن أفضل قيمة للدالة الحامضية pH هو (7) التي سجلت أعلى امتصاص لفيتامين E و pH (10) التي سجلت أعلى امتصاص لفيتامين C. إن القيم المستحصلة لتكوين المعقد تتوافق مع متطلبات عملية نزع البروتون (أيون الهيدروجين) لغرض الترابط مع أيون الذهب، إذ كلما ازدادت قيمة الدالة الحامضية بالاتجاه القاعدي زادت قابلية نزع ذرات الهيدروجين.



شكل (3-6): تأثير الدالة الحامضية لمعدّد توكوفيرول - ذهب

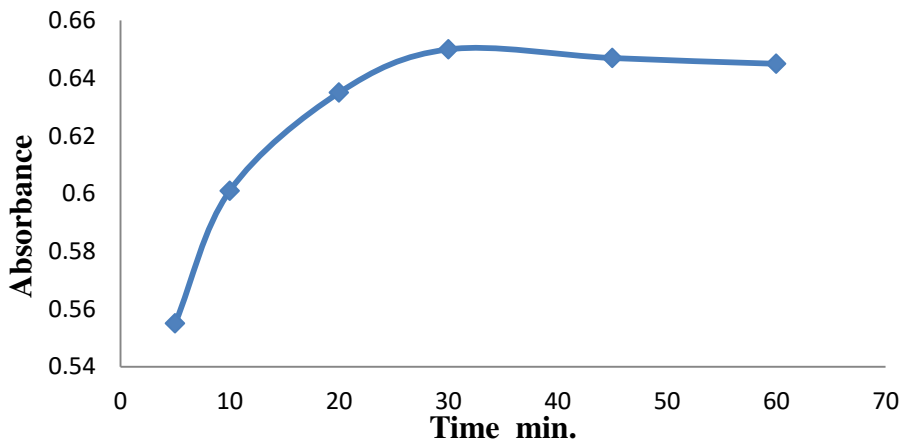


شكل (3-7): تأثير الدالة الحامضية لمعدّد حامض الأسكوربيك - ذهب

Reaction time

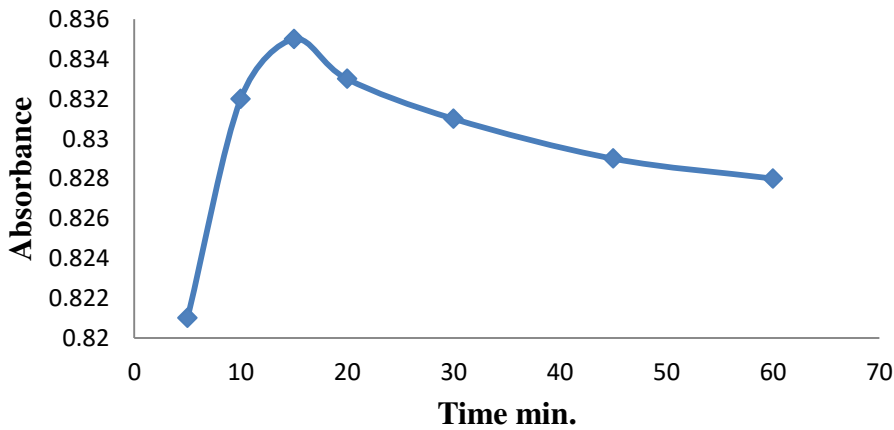
2-2-1-1-3- زمن التفاعل

أُجريت هذه الدراسة وفق ما موضح في الفقرة (2-2-1-1-4-2) والتي توضح كيفية مزج حجم معلوم من الفيتامينات والذهب عند pH (7 و 10) في درجة حرارة المختبر وإكمال الحجم إلى العلامة، يترك المحلول جانباً بأزمان مختلفة. قيس الامتصاصية عند الطول الموجي الأعظم (535 و 599.8 نانومتر) لفيتامين E و C على التوالي مقابل محلول الخلب. تبين الأشكال (8-3 و 9-3) النتائج المستحصلة لدراسة تأثير زمن التفاعل في عملية تكوين المعقد.



شكل (8-3): زمن التفاعل لمعقد توكوفيرول - ذهب

إذ يلاحظ من خلال قراءات الامتصاص أن الزمن الأمثل هو (30 و 15 دقيقة) لفيتامين E وفيتامين C على التوالي. فقد أعطى المزيج أعلى امتصاص بعدها يبقى المنحني ثابتاً، أو يحصل إنخفاض قليل قد يكون ناتج من تحلل جزء من المعقد.

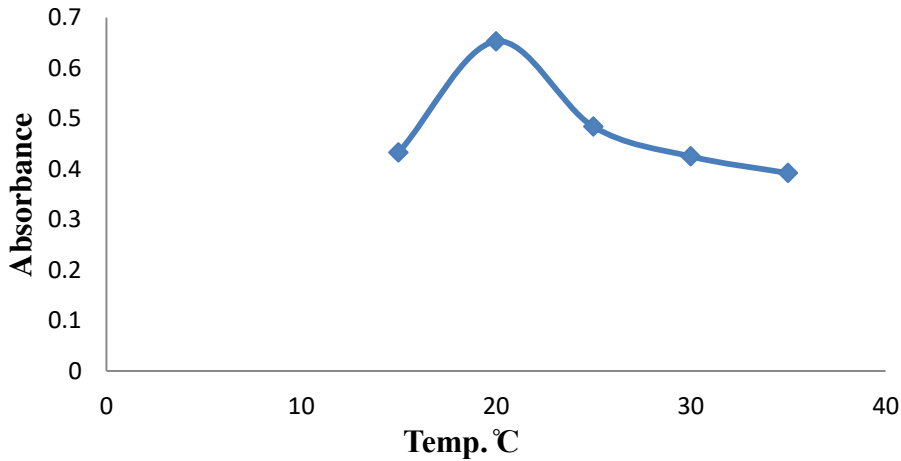


شكل (9-3): زمن التفاعل لمعقد حامض الأسكوربيك - ذهب

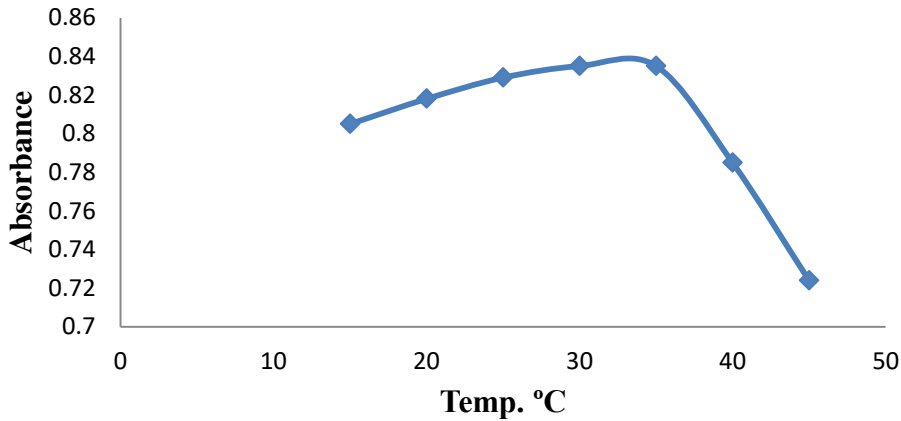
Temperature effect

3-2-1-1-3 تأثير درجة الحرارة

نُفذت هذه الدراسة وفق ما موضح في الفقرة (3-2-1-1-4-2) والتي توضح كيفية مزج حجم معلوم من الفيتامينات والذهب عند pH (7 و 10) لفيتامين E و C على التوالي وإكمال الحجم إلى العلامة، ثم ترك المزيج جانبا بزمن (30 و 15 دقيقة) وبدرجات حرارية مختلفة. قُيست الامتصاصية عند الطول الموجي الأعظم (535 و 599.8 نانومتر) لفيتامين E و C على التوالي مقابل محلول الخلب. النتائج المستحصلة موضحة في الأشكال (3-10 و 3-11)، والتي تبين أن درجة الحرارة (20 و 30 درجة مئوية) هي أفضل درجة حرارة لفيتامين E و C على التوالي لأنها أعطت أعلى امتصاص، بعدها يبدأ المنحني بالانخفاض نتيجة تحطم المعقد بسبب زيادة سرعة التصادم بين مكونات المحلول عند ارتفاع درجة الحرارة.



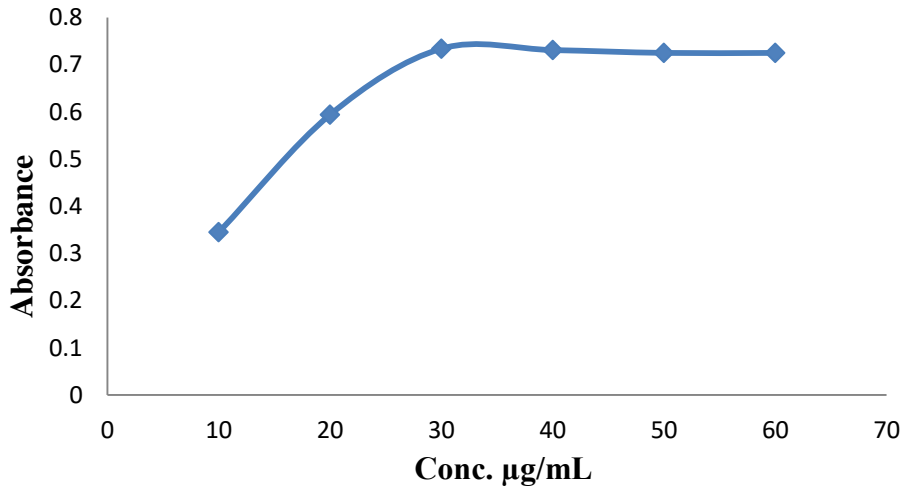
شكل (3-10): درجة الحرارة لمعقد توكوفيرول - ذهب



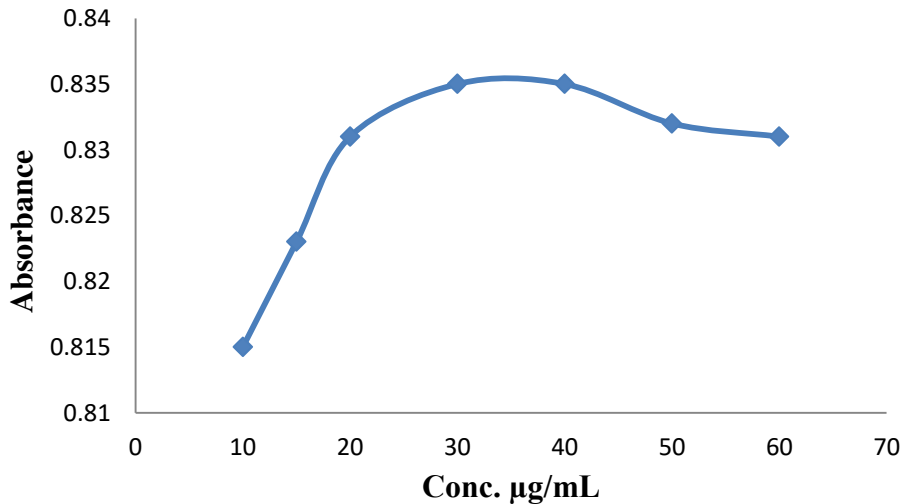
شكل (3-11): درجة الحرارة لمعقد حامض الأسكوربيك - ذهب

4-2-1-1-3 - تركيز أيون الذهب Gold ion concentration

أعدت هذه الدراسة وفق ما موضح في الفقرة (4-2-1-1-4-2) والتي توضح كيفية مزج حجم معلوم من الفيتامينات والذهب عند pH (7 و 10) ودرجة حرارة (20 و 30 درجة مئوية) بزمن (30 و 15 دقيقة) لفيتامين E و C على التوالي وإكمال الحجم إلى العلامة. قيس الامتصاصية عند الطول الموجي الأعظم (535 و 599.8 نانومتر) لفيتامين E و C على التوالي مقابل محلول الخلب. وجد إن أفضل تركيز لأيون هو (30 مايكروغرام/مل) لكلا الفيتامينين E و C، الذي أعطى أعلى امتصاصية للمعقد وبعد ذلك يبقى ثابتاً أو ينحرف قليلاً باتجاه أحادي التركيز، كما هو موضح في الأشكال (12-3 و 13-3).



شكل (12-3): تركيز أيون الذهب لمعقد توكوفيرول - ذهب



شكل (13-3): تركيز أيون الذهب لمعقد حامض الأسكوربيك - ذهب

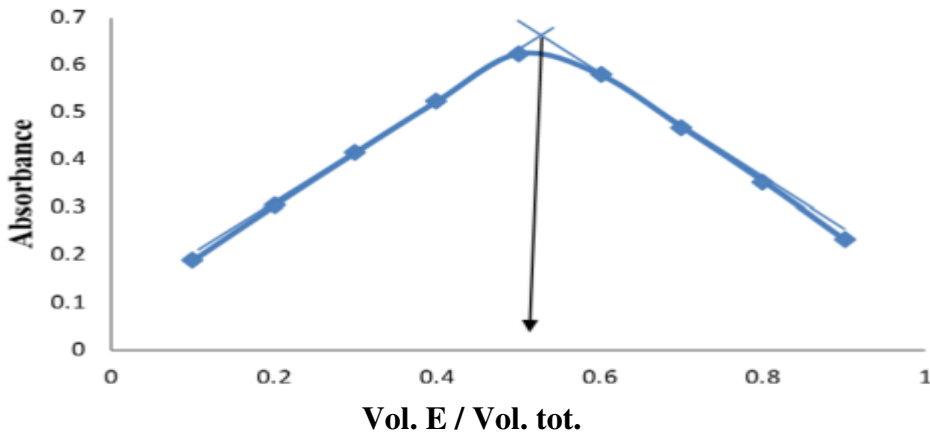
5-2-1-1-3- الصيغة الجزيئية (نسبة الاتحاد المولية) للمعقد

Molecular formula or complex structure

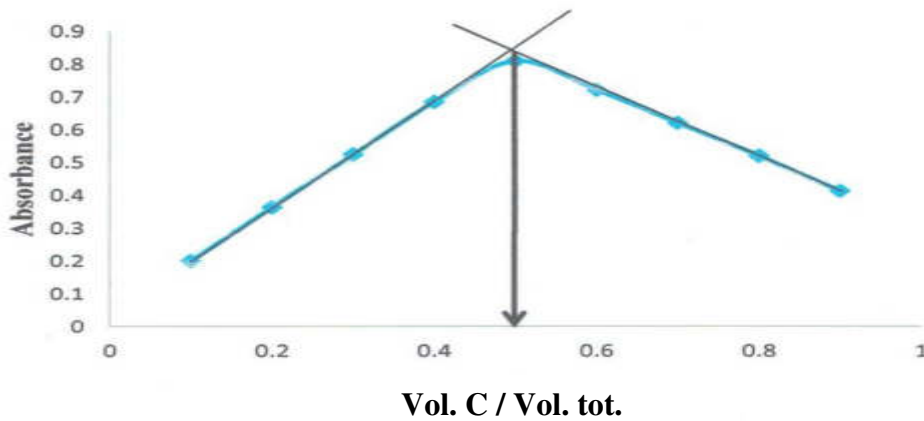
كما موضح في الفقرة (5-2-1-1-4-2) استعملت طريقتين لمعرفة عدد جزيئات الفيتامين (العضيدة) المرتبطة بأيون الذهب (الفلز المركزي) هما:

- التغيير المستمر (طريقة جوب) (Continues variation (job method)

والتي أجريت بمزج حجوم مختلفة من محلول أيون الفيتامينات والذهب بتركيز مولاري هو 2.94×10^{-4} لفيتامين E و فيتامين C إذ يكون التركيز متساوي للفيتامينات وأيون الذهب. ضبطت الظروف الفضلى وقيس الامتصاص عند الطول الموجي الأعظم (535 و 599.8 نانومتر) لفيتامين E و C على التوالي مقابل محلول الخلب. النتائج المستحصلة والموضحة في الأشكال (14-3 و 15-3) تبين أن نسبة الاتحاد بين الفيتامين والفلز هي 1:1 لكلا الفيتامينين.



شكل (14-3) طريقة جوب للمعقد توكوفيرول - ذهب

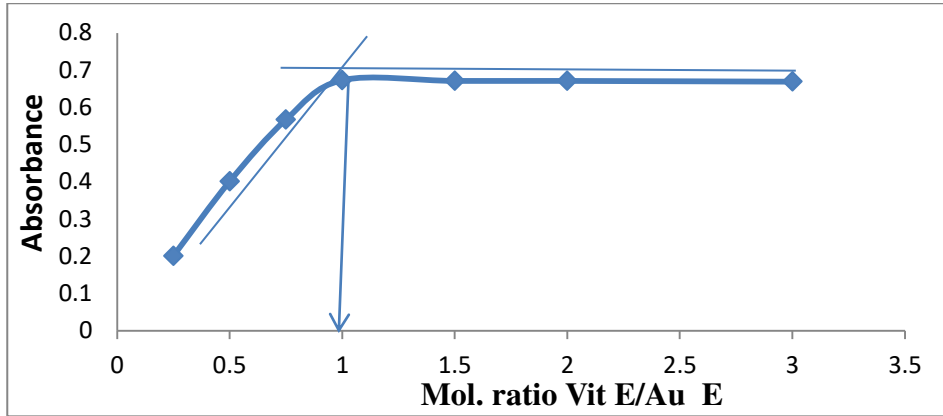


شكل(15-3) طريقة جوب للمعقد حامض الأسكوربيك - ذهب

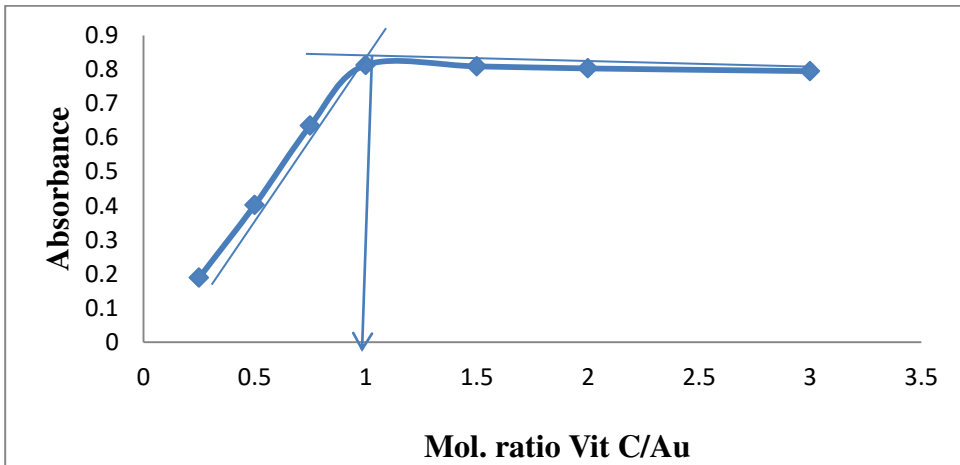
Mole ratio

- النسب المولية

تم مزج حجوم مختلفة من الفيتامينات بتركيز مولاري 2.94×10^{-4} مولاري لفيتامين E وفيتامين C مع حجم ثابت (1 ملتر) من محلول الذهب بنفس التركيز المولاري للفيتامين. وضبطت الظروف الفضلى وقيس الامتصاص عند الطول الموجي الأعظم (535 و 599.8 نانومتر) لفيتامين E و C على التوالي مقابل محلول الخلب. النتائج المستحصلة والموضحة في الأشكال (3-16 و 3-17) تبين أن نسبة الاتحاد بين التوكوفيرول وحامض الأسكوربيك مع أيون الذهب الثلاثي هي (1:1).



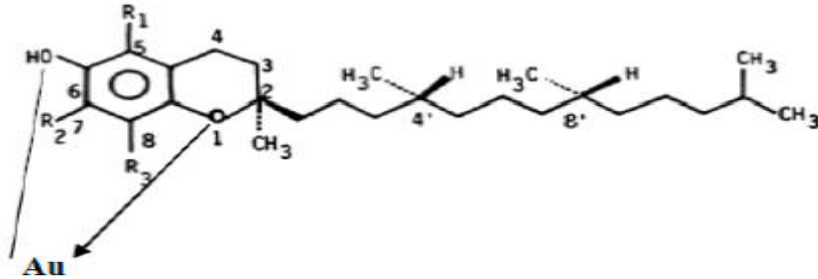
شكل (3-16): طريقة النسبة المولية للمعدن توكوفيرول - ذهب



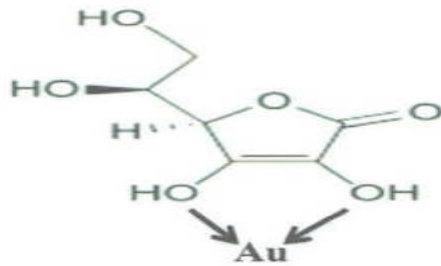
شكل (3-17) طريقة النسبة المولية حامض الأسكوربيك - ذهب

وتبين الأشكال (3-18 و 3-19) التركيب المقترح للمعدن والذي ظهر من خلال طيف الأشعة تحت الحمراء وتبين أن تناسق يحصل مع أيون الذهب بمجموعة

الهيدروكسيل وأوكسجين الأيثر لفيتامين E كما يحصل التناسق بين أيون الذهب و مجموعتي الهيدروكسيل في حامض الأسكوربيك (فيتامين C) كما في الجدول (2-3).



شكل (3-18): مقترح الصيغة التركيبية لمعقد توكوفيرول - ذهب



شكل (3-19): مقترح الصيغة التركيبية لمعقد حامض الأسكوربيك - ذهب

الجدول (2-3) قمم فيتامين C و E قبل وبعد التعقيد بمطيافية الأشعة ما تحت الحمراء

فيتامين C				
الفيتامين بعد التعقيد			الفيتامين قبل التعقيد	
الملاحظات	العدد الموجي Cm^{-1}	المجموعة الفعالة	العدد الموجي Cm^{-1}	المجموعة الفعالة
تقل الشدة	3436	OH	3524	OH
ظهرت قمة جديدة بمنطقة طبع الأصابع تدل على ارتباط ذرة الكربون مع العنصر	557	-Au-	غير موجودة	-Au-
فيتامين E				
إختفاء حزمة الاصرة OH	غير موجودة	OH	3502	OH
تقل الشدة	1168	C-O-C	1204	C-O-C
ظهرت قمة جديدة بمنطقة طبع الأصابع تدل على ارتباط ذرة الكربون مع العنصر	557	-Au-	غير موجودة	-Au-

لقد حُسب ثابت الاستقرارية للمعدّات بالاعتماد على الأشكال (3-14 و 3-15) (طريقة جوب) على وفق المعادلة الآتية [108]:

$$k = \frac{(A_1 - A_3)(A_2 - A_3)}{(A_2 - A_1)^2 C}, \quad \text{إذ إن :}$$

K = ثابت الاستقرارية

A₁ = الامتصاص الذي يمثل نقطة تقاطع المماسين .

A₂ = الامتصاص الذي يمثل أعلى نقطة .

A₃ = الامتصاص الذي يمثل أول نقطة .

C = التركيز المولاري الذي يقابل A₁ .

وجد أن قيمة ثابت الاستقرار (2.6192x10⁶ و 5.9085 X10⁵) لفيتامين E و C على التوالي والتي تبين استقرارية ونسبة تكون عالية للمعدّات في الظروف المثالية المستنبطة من التجارب التي أجريت خلال الدراسة.

3-1-2- مطيافية الامتصاص الذري اللهبى

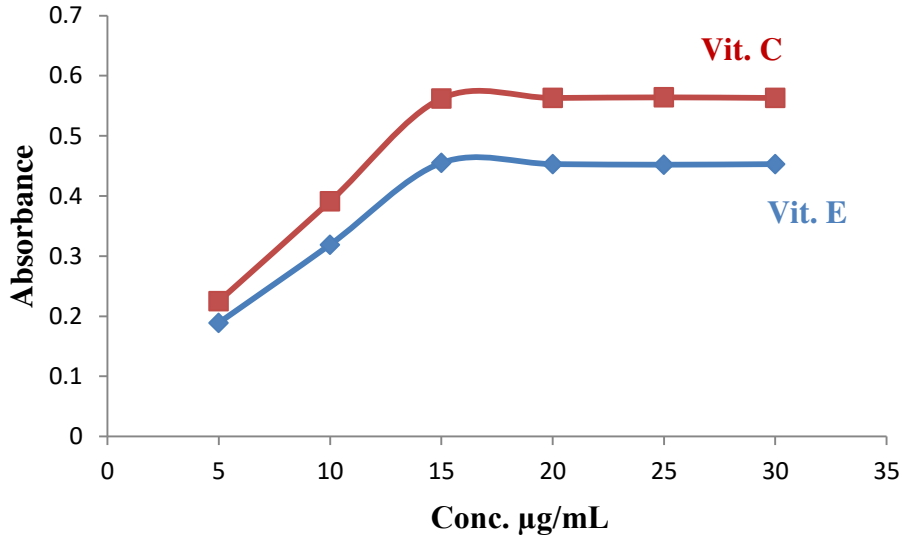
Flame atomic absorption spectrophotometry

قدرت الفيتامينات بصورة غير مباشرة عن طريق تقدير كمية أيون الذهب المرتبط بالفيتامين في المعدّ التناسقي المحضّر.

Gold ion concentration

3-1-2-1- تركيز أيون الذهب

كما موضح في الفقرة (2-1-4-2) والتي توضح كيفية مزج حجوم معلومة من الذهب والفيتامينات بالتركيز نفسه وضبطت الظروف الفضلى المثبتة في تقنية الأشعة فوق البنفسجية - المرئية السابقة وفصلت المحاليل بجهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة/دقيقة. قيست قيم الامتصاص الذري للمحاليل باستعمال مصباح الكاثود المجوف الخاص بالذهب عند الطول الموجي 242.8 نانومتر الذي يمثل شعاع رنين الذهب وباستعمال غاز الاستيلين كغاز وقود والهواء كغاز مؤكسد. النتائج المستحصلة تبين أن أفضل تركيز للذهب هو (15 مايكروغرام/ مل) لكلا الفيتامينين وكما هو موضح في الشكل (3-20).



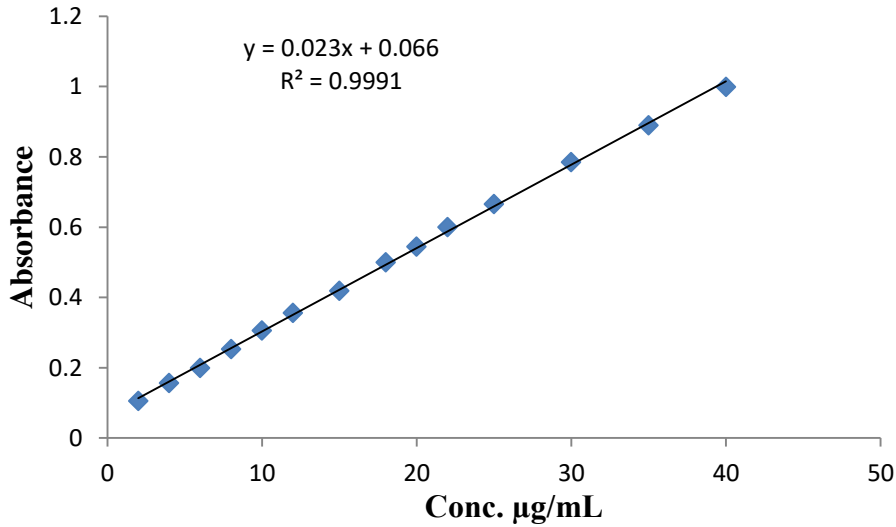
شكل (3-20) تركيز أيون الذهب لطريقة الامتصاص الذري اللهبى

2-2-1-3-2-2-1-3 منحنيات المعايرة القياسية Standard calibration curves

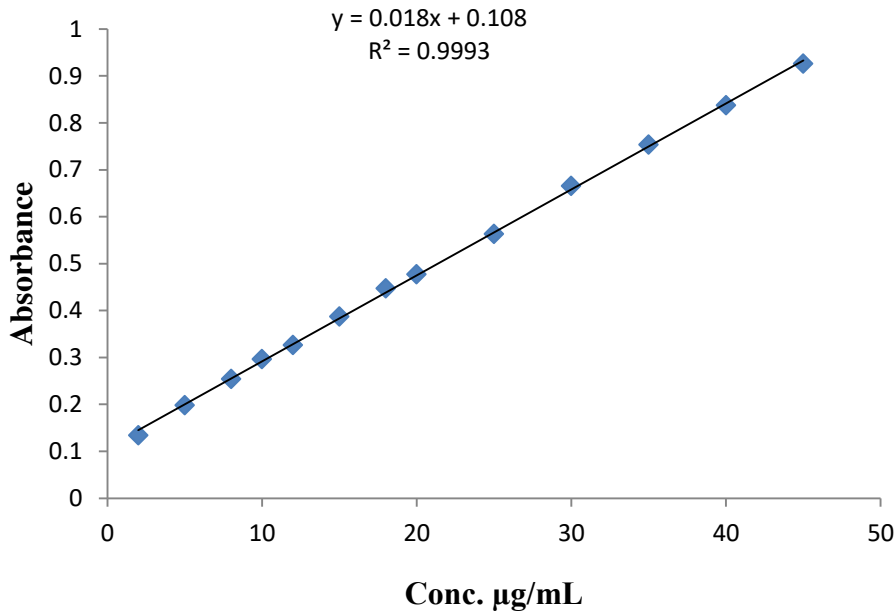
1-2-2-1-3-1-2-2-1-3 المنحنى القياسى لمطيافية امتصاص الأشعة فوق البنفسجية-المرئية

UV-VIS absorption calibration curve

تم ايجاد منحنى المعايرة كما موضح في الفقرة (2-1-1-4-2-6) فقد حضرت محاليل ذات تراكيز معلومة بعد اضافة حجم معين من أيون الذهب وضبطت الظروف الفضلى. قيس الامتصاص عند الطول الموجي الأعظم (535 و 599.8) نانومتر لفيتامين E و C على التوالي مقابل محلول الخلب. و تبين الأشكال (3-21 و 3-22) منحنى المعايرة لتعيين فيتامين E على هيئة معقد توكوفيرول-ذهب و فيتامين C على هيئة معقد حامض الأسكوربيك-ذهب بمطياف الأشعة فوق البنفسجية المرئية. لقد وجد أن أقصى تركيز يطيع قانون بير يصل إلى (40 و 45 مايكروغرام / مل) لفيتامين E و C على التوالي ثم يبدأ المنحنى بالانحراف تجاه أحداثي التركيز وقد يعزى سبب ذلك إلى التأثير بين جزيئات المعقد مع المذيب او بعضها مع بعض او قد تعود إلى عوامل آلية أو قد تتكون بعض البوليمرات عند زيادة تركيز الفيتامين التي تعطي بالنتيجة امتصاص واطئ يسبب الانحراف عن الخط المستقيم.



شكل (21-3) منحنى المعايرة لفيتامين E بمطياف الأشعة فوق البنفسجية-المرئية



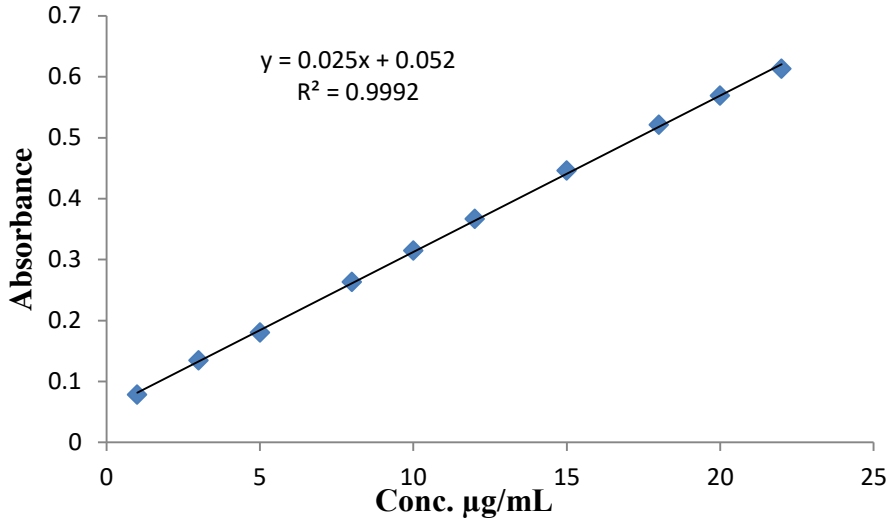
شكل (22-3) منحنى المعايرة لفيتامين C بمطياف الأشعة فوق البنفسجية-المرئية

3-2-2-2-1- المنحني القياسي لمطيافية الامتصاص الذري اللهبى

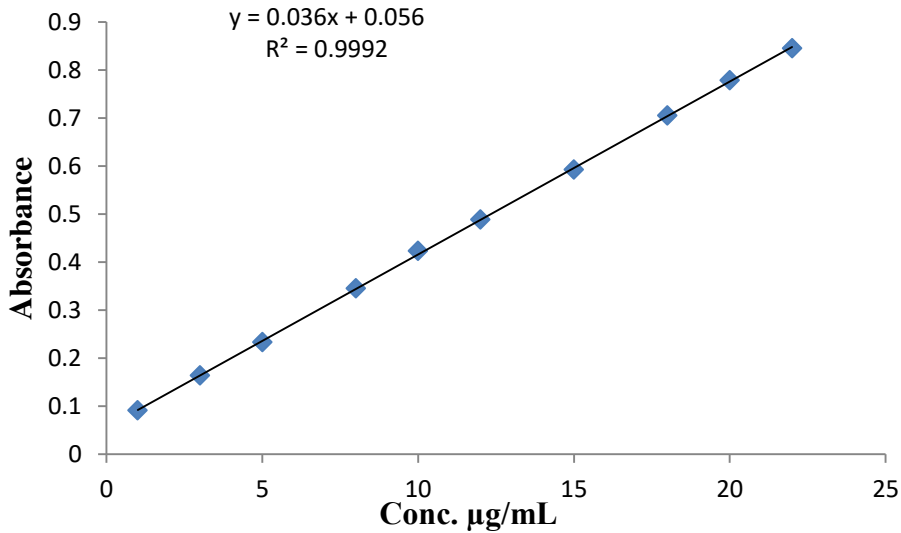
FAAS calibration curve

تم دراسة منحنى المعايرة كما موضح في الفقرة (2-2-1-4-2) فقد حضرت محاليل ذات تراكيز معلومة بعد اضافة حجم معين من أيون الذهب وضبطت الظروف الفضلى المثبتة في تقنية الأشعة فوق البنفسجية - المرئية السابقة ونبذت المحاليل بجهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة/دقيقة. وقيست قيم الامتصاص الذري للمحاليل. تبين الأشكال (23-3 و 24-3) منحنى المعايرة لتحديد فيتامين E

على هيئة معقد توكوفيرول - ذهب و فيتامين C على هيئة معقد حامض الأسكوربيك - ذهب بمطياف الامتصاص الذري اللهبى.



شكل (3-23): منحنى المعايرة لفيتامين E بمطياف الامتصاص الذري اللهبى



شكل (3-24) منحنى المعايرة لفيتامين C بمطياف الامتصاص الذري اللهبى

يبين الجدول (3-3) نتائج الحسابات التحليلية لمنحنيات المعايرة لفيتامين E بطريقتي الأشعة فوق البنفسجية-المرئية والامتصاص الذري اللهبى. إذ بينت النتائج المستحصلة أن قيمة معامل الارتباط R^2 هي (0.9992 و 0.9991) الأشعة فوق البنفسجية-المرئية والامتصاص الذري اللهبى على التوالي. فيما كانت قيم حد الكشف هي (0.18 و 0.04 مايكروغرام/ ملتر) لطريقة الأشعة فوق البنفسجية-المرئية والامتصاص الذري اللهبى على التوالي. وكانت قيمة حد الكشف الكمي هي (0.59 و 0.14 مايكروغرام/ ملتر) لطريقة الأشعة فوق البنفسجية-المرئية

والامتصاص الذري اللهبى على التوالي. وكان مدى الخطية هو (2 - 40 و 22 - 1 مايكروغرام/ ملتر) لطريقة الأشعة فوق البنفسجية المرئية والامتصاص الذري اللهبى على التوالي. كما تم حساب قيم كلا من الميل، نقطة التقاطع، الامتصاصية المولارية و قيمة t فقد أظهرت النتائج ان قيمة t المحسوبة أكبر من قيمتها الجدولية وهذا يدل على وجود علاقة قوية بين المتغيرين التركيز والامتصاص. لقد تم حساب الانحراف النسبي المنوي R.S.D وكانت القيم هي (0.57 و 0.38) لطريقة الأشعة فوق البنفسجية المرئية والامتصاص الذري اللهبى على التوالي، حسب القوانين والعلاقات المدرجة في الملحق

الجدول (3-3): الحسابات الإحصائية لمنحني المعايرة الخاص بفيتامين E

Statistical factors	Value	
	UV- VIS method	FAAS method
Linear equation	$y = 0.023 [X] + 0.066$	$y = 0.025 [X] + 0.052$
Slope (m)	0.023	0.025
Intercept	0.066	0.052
Correlation of linearity "R ² "	0.9991	0.9992
Percentage linearity (R ² %)	99.91	99.92
Correlation coefficient (r)	0.9995	0.9996
Intercept standard error	0.26	0.19
Intercept standard deviation	0.33	0.25
"R.S.D.%"	0.57	0.38
"LOD" µg/mL	0.18	0.04
"LOQ" µg/mL	0.59	0.14
Linearity range µg/mL	2 - 40	1 - 22
Molar Absorptivity L. mol. ⁻¹ . Cm ⁻¹	1285	1102
Calculated (t) values $t_{cal.} = \frac{r/\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$	115.33 >>> 2.14	101.07 >>> 2.23

يبين الجدول (4-3) نتائج الحسابات التحليلية لمنحنيات المعايرة لفيتامين C بطريقتي الأشعة فوق البنفسجية المرئية والامتصاص الذري اللهبى. إذ بينت النتائج المستحصلة ان قيمة R² هي (0.9992 و 0.9993) لطريقة الأشعة فوق البنفسجية المرئية والامتصاص الذري اللهبى على التوالي. فيما كانت قيم حد الكشف هي (0.24 و 0.09 مايكروغرام/ ملتر) لطريقة الأشعة فوق البنفسجية المرئية

والامتصاص الذري اللهبى على التوالى. وكانت قيمة حد الكشف الكمي هي (0.78 و 0.28 مايكروغرام/ مللتر) لطريقة الأشعة فوق البنفسجية - المرئية والامتصاص الذري اللهبى على التوالى. وكان مدى الخطية هو (2 - 45 و 1 - 22) مايكروغرام/ مللتر لطريقة الأشعة فوق البنفسجية المرئية والامتصاص الذري اللهبى على التوالى. كما تم حساب قيم كلا من الميل، نقطة التقاطع، الامتصاصية المولارية و قيمة t فقد أظهرت النتائج أن قيمة t المحسوبة أكبر من قيمتها الجدولية وهذا يدل على وجود علاقة قوية بين المتغيرين التركيز والامتصاص. لقد حسب R.S.D وكانت القيم هي (0.82 و 0.48) لطريقة الأشعة فوق البنفسجية المرئية والامتصاص الذري اللهبى على التوالى.

الجدول (3-4): الحسابات الإحصائية لمنحنى المعايرة الخاص بفيتامين C

Statistical factors	Value	
	UV- VIS method	FAAS method
Linear equation	$y = 0.018 [X] + 0.108$	$y = 0.036 [X] + 0.056$
Slope (m)	0.018	0.036
Intercept	0.108	0.056
Correlation of linearity "R ² "	0.9993	0.9992
Percentage linearity (R ² %)	99.93	99.92
Correlation coefficient (r)	0.9996	0.9996
Intercept standard error	0.21	0.25
Intercept standard deviation	0.31	0.29
"R.S.D. %"	0.48	0.82
"LOD" µg/mL	0.24	0.09
"LOQ" µg/mL	0.78	0.28
Linearity range µg/mL	2-45	1-22
Molar Absorptivity L. mol. ⁻¹ . Cm ⁻¹	2844	5280
Calculated (t) values $t_{cal.} = \frac{r/\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$	125.29 >>> 2.16	99.98 >>> 2.23

3-2-1-3 استرجاعية المواد القياسية

Recovery of standard materials

حُدد فيتامين (E , C) في ثلاثة تراكيز مختارة مختلفة حسب الطريقة المذكورة في (3-1-4-2). وقيست الامتصاصية عند الأطوال الموجية في الظروف الفضلى للطريقتين. وثقت النتائج التي تم الحصول عليها في الجداول (3-5 و 3-6) والتي بينت أن قيم " (SD) " هي (1.95 و 1.59) لفيتامين E و (1.97 و 1.83) لفيتامين C، لطريقة الأشعة فوق البنفسجية-المرئية والامتصاص الذري اللهبى على التوالي. أن معدل قيم الدقة من خلال حساب "النسبة المئوية للخطأ النسبي" (RE %) هي (1.51 و 1.13) لفيتامين E و(1.47 و 1.19) لفيتامين C، لطريقة الأشعة فوق البنفسجية-المرئية والامتصاص الذري اللهبى على التوالي. إن معدل قيم الاسترجاعية للمواد القياسية كانت هي (101.29 و 99.93) لفيتامين E و (100.34 و 100.32) لفيتامين C، لطريقة الأشعة فوق البنفسجية-المرئية والامتصاص الذري اللهبى على التوالي. أثبتت النتائج المستحصلة إلى أن الأساليب المقترحة لتحديد فيتامين E و C باستعمال هذه الطرق مرضية تماماً في الواقع فيما يتعلق بالمعلومات المحسوبة.

الجدول (3-5): استرجاعية المواد القياسية لفيتامين E

Method	Vitamin E µg/mL		% Recovery	% Error	R.S.D n = 3
	Taken	Found			
UV- VIS	10	10.29	102.90	Mean = 101.29 S.D. = 1.95	2.90
	20	20.36	101.80		1.80
	30	29.75	99.17		0.83
FAAS	Vitamin E µg/mL		% Recovery	% Error	R.S.D n = 3
	Taken	Found			
	5	5.08	101.60	Mean = 99.93 S.D. = 1.59	1.60
	10	9.98	99.80		0.20
15	14.76	98.40	1.60		

الجدول (3-6): استرجاعية المواد القياسية لفيتامين C

Method	Vitamin C µg/mL		% Recovery		% Error	% R.S.D n = 3
	Taken	Found				
UV- VIS	10	9.88	98.80	Mean =100.34 S.D. =1.97	1.20	0.91
	20	20.41	102.05		2.05	0.26
	30	30.33	101.16		1.16	0.27
FAAS	Vitamin C µg/mL		% Recovery		% Error	% R.S.D n = 3
	Taken	Found				
	5	4.97	99.40	Mean = 100.32 S.D. = 1.83	0.60	1.33
	10	9.93	99.30		0.70	0.67
15	15.34	102.26	2.26		0.44	

3-1-2-4- التطبيق على العينات الدوائية التجارية

Application on commercial drug samples

قدر فيتامينين E و C في عدد من المستحضرات الصيدلانية التجارية الموجودة في الاسواق المحلية بتطبيق طريقة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية وطريقة مطيافية الامتصاص الذري كما هو موضح في الفقرة (2-4-1-4). الحصول على نتائج ذات دقة وضبط عاليين كما هو مبين في الجداول (3-7 و 3-8). والتي بينت أن معدل قيم " (% RSD)" هي (1.19 و 1.36) لفيتامين E و (0.34 و 0.64) لفيتامين C، لطريقة الأشعة فوق البنفسجية-المرئية والامتصاص الذري اللهبى على التوالي. إن معدل قيم الاسترجاعية للمواد الفعالة في المستحضرات قيد الدراسة كانت هي (98.12 و 100.89) لفيتامين E و (101.12 و 99.33) لفيتامين C، لطريقة الأشعة فوق البنفسجية-المرئية والامتصاص الذري اللهبى على التوالي. أثبتت النتائج المستحصلة إمكانية تطبيق الطريقة لتقدير الأدوية في المستحضرات الصيدلانية بدقة مقبولة.

الجدول (7-3): تعيين فيتامين E في المستحضرات الصيدلانية.

Methods	Vitamin E	Label Claim mg/ tab.	Mean amount found mg/tab.	% Mean amount found	R.S.D n = 3
	Company				
UV - VIS	PHILVITAIE	400	387.44	96.86	1.33
FAAS			406.64	101.66	1.58
UV - VIS	MVC	100	99.37	99.37	1.04
FAAS			100.05	100.05	1.13

الجدول (8-3): تعيين فيتامين C في المستحضرات الصيدلانية.

Methods	Vitamin C	Label Claim mg/ tab.	Mean amount found mg/tab.	%Mean amount found	R.S.D n = 3
	Company				
UV - VIS	Furat Pharma tablet , Iraq	250	252.68	101.07	0.48
FAAS			248.31	99.32	0.82
UV - VIS	Cetavit tablet , Alshaba Syria.	500	505.85	101.17	0.19
FAAS			496.95	99.33	0.46

تم مقارنة بعض النتائج المستحصلة لتقدير الفيتامينات بالطريقتين (UV و AAS) مع طرائق HPLC لتعيين التوكوفيرول وحامض الأسكوربيك . أظهرت نتائج المقارنة والمجدولة في الجداول (9-3 و 10-3) تطابق نتائج الطريقة المطورة مع الطرق المعتمدة إذ إنه يكون هناك فرق في النتائج بين الأسلوب المطور والطريقة المعتمدة.

جدول (9-3): مقارنة النتائج مع طرائق تحليلية أخرى (فيتامين E)

Method	% Recovery			
	New Method	R.S.D n = 3	Official Method ^[109]	R.S.D
UV – VIS	101.29	1.95	99.31	2.24
FAAS	99.93	1.59		

جدول (10-3) مقارنة النتائج مع طرائق تحليلية أخرى (فيتامين C)

Method	New Method		Official Method ^[110]	
	% Recovery	R.S.D n = 3	% Recovery	R.S.D n = 3
UV – VIS	100.34	1.97	99.59 - 101.93	1.22
FAAS	100.32	1.83		

3-2- طريقة تفاعل الاكسدة-الاختزال باستخدام ثنائي كرومات البوتاسيوم

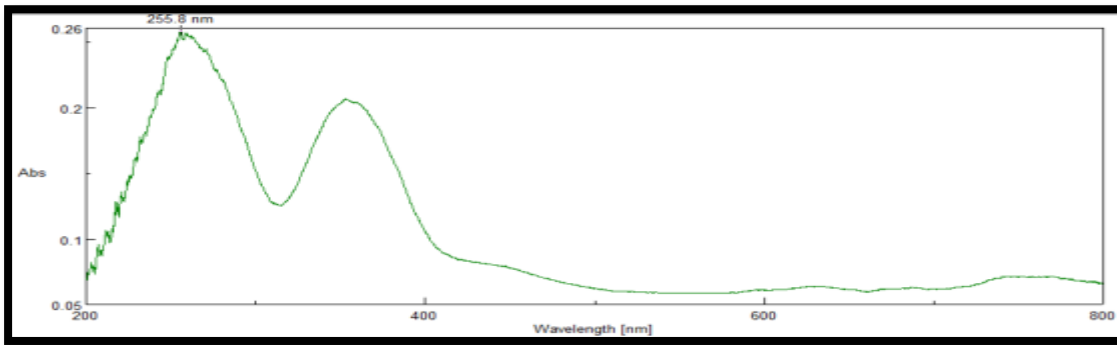
Method oxidation-reduction reaction using potassium dichromate

قدرت الفيتامينات بهذه الطريقة بواسطة اختزال أيون الحديد الثلاثي باستعمال الفيتامينات أولاً ثم تفاعل الحديد الثنائي مع ثنائي كرومات البوتاسيوم ثانياً. واستخدمت مصدرين للحديد الثلاثي هما كبريتات الحديدك الأمونياكية و نتروبروسيد الصوديوم .

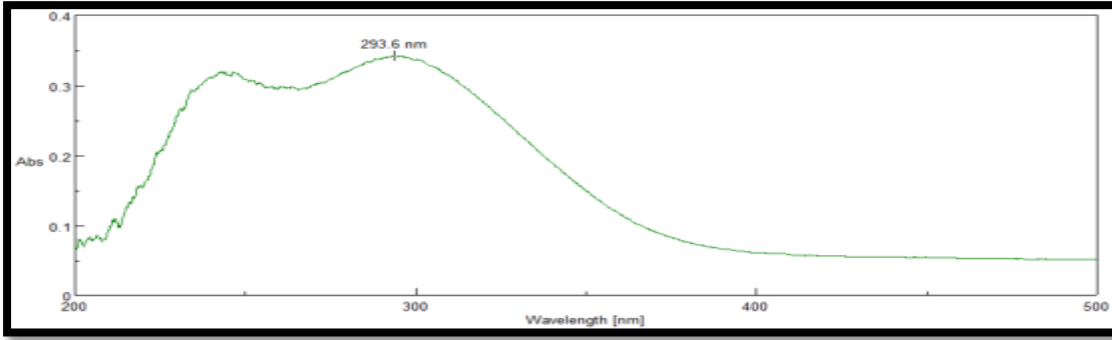
3-2-1- اطياف الامتصاص للكواشف المستخدمة

Absorption spectra of used reagents

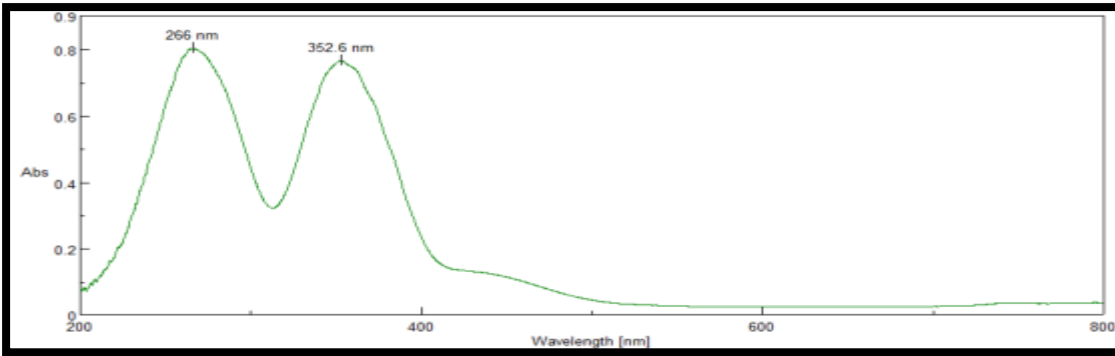
سجل طيف الأشعة فوق البنفسجية- المرئية للكواشف المستعملة في الدراسة حسب طريقة العمل والظروف العملية المذكورة في الفقرة (2-4-2-1). الأشكال (3-25 - 3-27) توضح الأطياف التي تم الحصول عليها للكواشف، فقد أعطت قمم امتصاص عند الأطوال الموجية عند (255.8 و 365 نانومتر) لثنائي كرومات البوتاسيوم، (293.6 و 290 نانومتر) لكبريتات الحديدك الأمونياكية (FAS)، (352.6 و 266 نانومتر) لنتروبروسيد الصوديوم (SNP)، وجميع هذه الأطياف تم الحصول عليها بالقياس مقابل محلول الخنب.



شكل (3-25): طيف ثنائي كرومات البوتاسيوم بتركيز 100 ppm

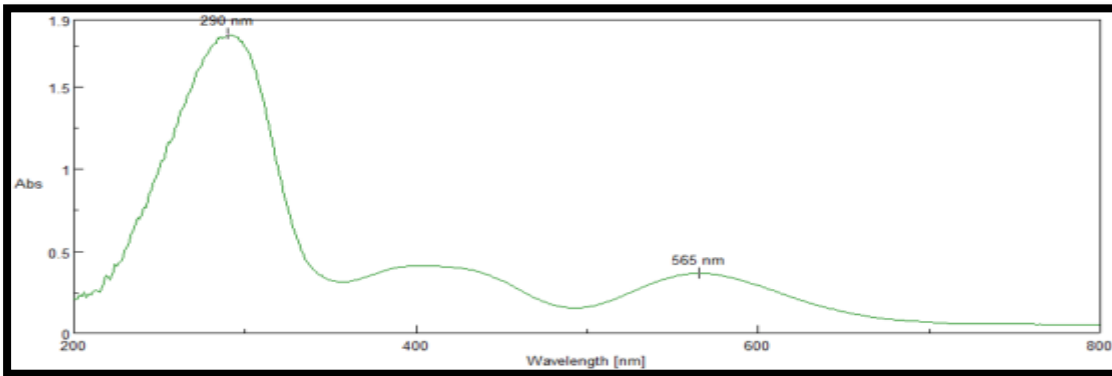


شكل (26-3): طيف كبريتات الحديدك الأمونياكية بتركيز 100 ppm

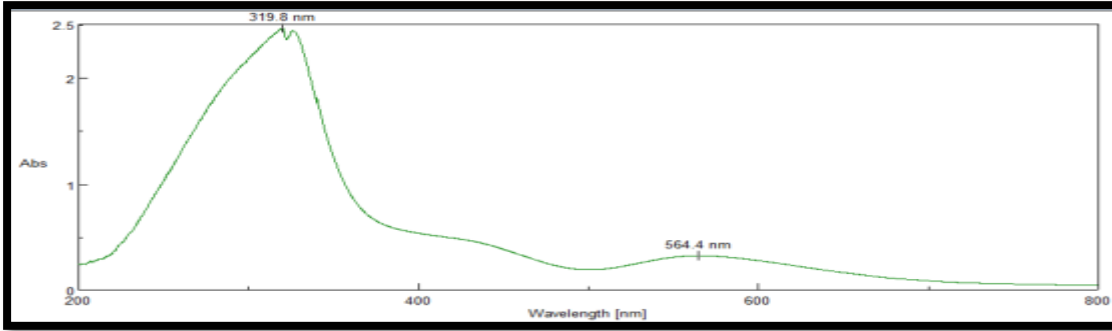


شكل (27-3): طيف نيتروبروسيد الصوديوم بتركيز 100 ppm

- لإيجاد طيف الامتصاص لمزيج المواد مع الفيتامينات طبقت الطريقة المذكورة آنفاً في الفقرة (1-2-4-2) لتسجيل طيف مزيج المواد. تم المسح الطيفي مقابل المحلول الصوري. النتائج المستحصلة أظهرت وجود قمم امتصاص جديدة كما في الأشكال (28-3 و 29-3) في المواقع عند الطول الموجي (565 نانومتر) للمزيج المتكون من (الفيتامينات وكبريتات الحديدك الأمونياكية (FAS) وثنائي كرومات البوتاسيوم وحامض الكبريتيك) و (564.4 نانومتر) للمزيج المتكون من (الفيتامينات و نيتروبروسيد الصوديوم (SNP) و ثنائي كرومات البوتاسيوم وحامض الكبريتيك).

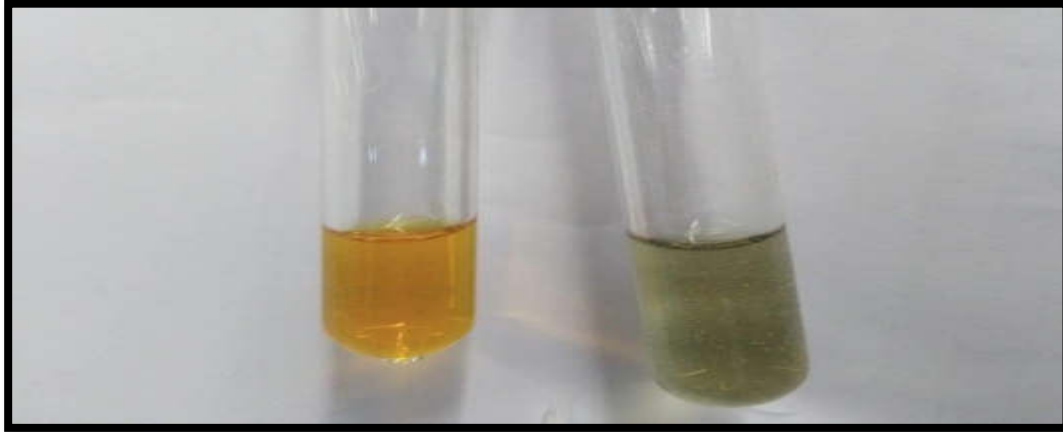


شكل (28-3) طيف محلول المزيج (V+FAS+D+A)



شكل (29-3) طيف محلول المزيج (V+ SNP+D+A)

كما تم ملاحظة تغير في لون مزيج المحاليل تدريجياً من اللون الأصفر إلى اللون الأخضر الباهت ثم الغامق وخصوصاً عند إضافة الحامض. الشكل (30-3) يبين لون المحاليل قبل وبعد عملية المزج مع ثنائي كرومات البوتاسيوم والحامض.



شكل (30-3): لون محلول المزج قبل و بعد اضافة الكاشف

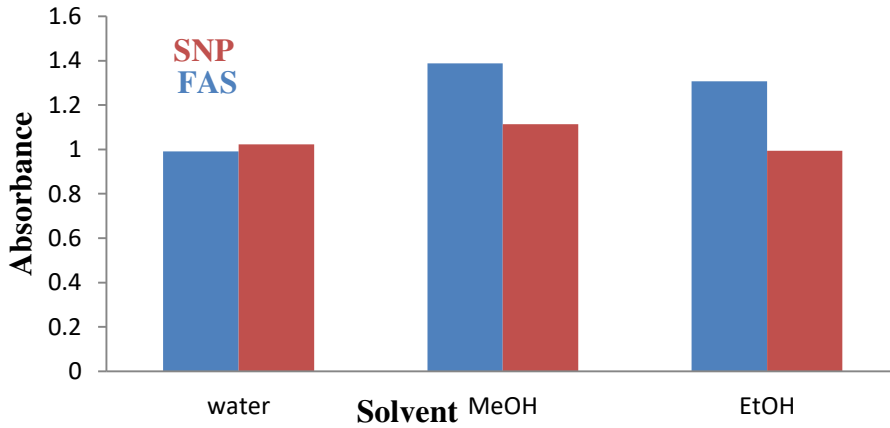
Optimum conditions

2-2-3- الظروف الفضلى

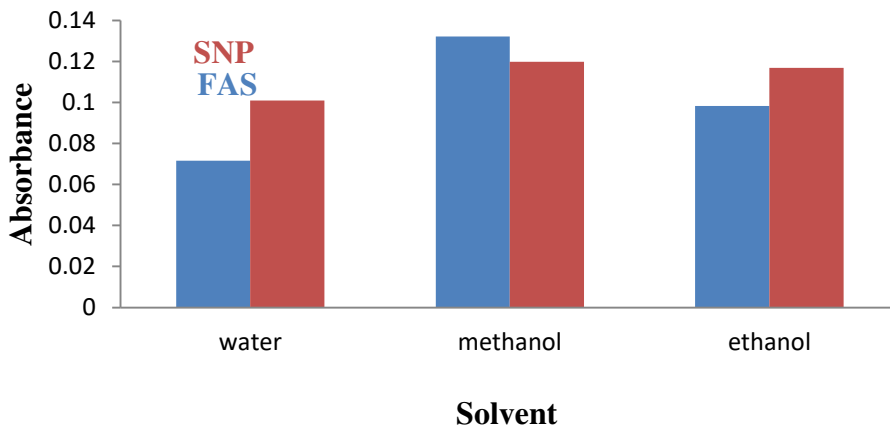
Solvent type

3-2-2-1- نوع المذيب

نفذت هذه الدراسة حسب طريقة العمل المذكورة في الفقرة (2-2-4-2) فقد استعملت عدد من المذيبات (ماء، ميثانول، إيثانول) لمعرفة تأثير المذيب وكذلك لأستعمالها في إكمال حجم المحلول إلى العلامة لاحقاً. وقيست الامتصاصية عند الطول الموجي 564.4 نانومتر لمزيج (SNP) و 565 نانومتر لمزيج (FAS) لكلا الفيتامينين مقابل محلول الخلب. النتائج المستحصلة موضحة في الأشكال (31-3 و 32-3) بينت أن أفضل مذيب هو الميثانول الذي أعطى أعلى امتصاصية لكلا الفيتامينين E و C.



شكل (31-3): تأثير المذيب على تقدير فيتامين E



شكل (32-3): تأثير المذيب على تقدير فيتامين C

2-2-2-3 - تسلسل الاضافة Sequence of additions effect

درس تسلسل اضافة المواد في التفاعل اللوني بين الفيتامينات E و C والكواشف لغرض معرفة أفضل أسلوب للإضافة للفيتامينات والكواشف. نفذت الدراسة حسب طريقة العمل المذكورة آنفاً في الفقرة (2-2-2-4-2). وقيس الامتصاص عند الطول الموجي 564.4 نانومتر لمزيج (SNP) و565 نانومتر لمزيج (FAS) لكلا الفيتامينين مقابل محلول الخب. أسلوب الاضافات و نتائج الدراسة مجدولة في الجداول (11-3 و 12-3) والتي بينت أن أفضل أسلوب لتتابع الاضافات هو إضافة كاشف الحديدك ثم الفيتامين ثم ثنائي كرومات البوتاسيوم ثم الحامض لكلا الفيتامينين، والذي يؤمن الوقت الكافي لحصول عملية اختزال الحديدك من قبل الفيتامين المضاف.

الجدول (3-11): تأثير تسلسل الاضافة على فيتامين E

NO.	Order Of Addition	Absorbance
1	V+SNP+ D+A	1.3409
2	D+V+SNP+A	0.3672
3	SNP+D+V+A	0.3027
4	SNP+V+D+A	1.3598
5	FAS+V+D+A	1.6862
6	V+FAS+D+A	1.6798
7	FAS+D+V+A	0.8773
8	D+FAS+V+A	0.8007

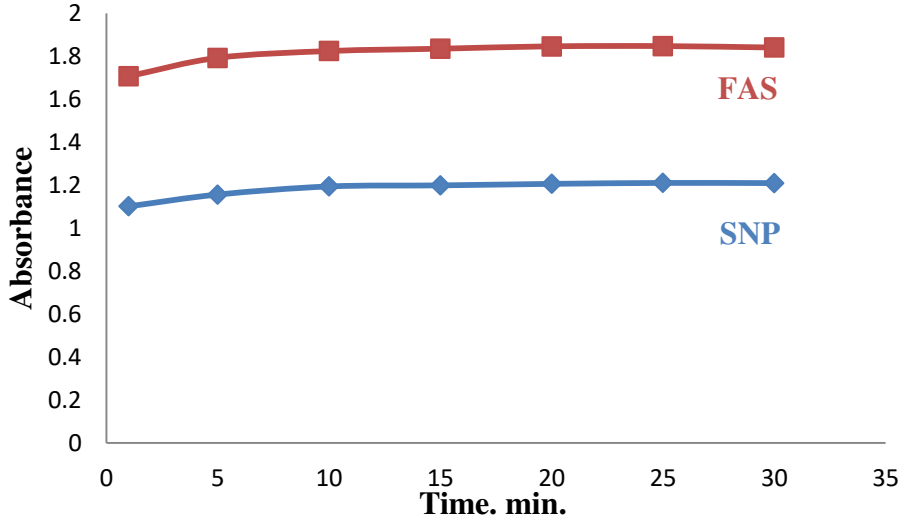
الجدول (3-12): تأثير تسلسل الاضافة على فيتامين C

NO.	Order Of Addition	Absorbance
1	V+SNP+ D+A	0.17676
2	D+V+SNP+A	0.13027
3	SNP+D+V+A	0.16058
4	SNP+V+D+A	0.1808
5	FAS+V+D+A	0.1915
6	V+FAS+D+A	0.1907
7	FAS+D+V+A	0.0713
8	D+FAS+V+A	0.0704

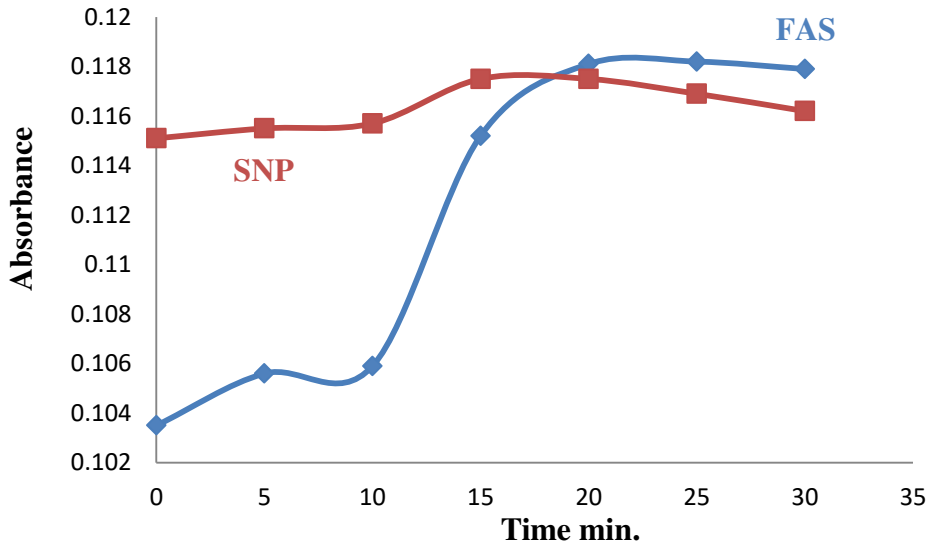
Stability time

3-2-2-3- زمن الاستقرار

نفذت هذه الدراسة حسب الطريقة الموضحة في الفقرة (3-2-2-4-2) إذ حضرت أمزجة عدة تحتوي على حجوم معلومة من الفيتامينات والكواشف وحسب تسلسل الاضافة وإكمال الحجم إلى العلامة بالميثانول. قيس الامتصاص للمحاليل بفترات زمنية مختلفة مقابل محلول خلب عند الطول الموجي 564.4 نانومتر لتتروبروسيد الصوديوم (SNP) و 565 نانومتر لكبريتات الحديدك الأمونياكية (FAS) لكلا الفيتامينين. أظهرت النتائج ان (25 و 20) دقيقة هو الزمن الافضل لكونه أعطى أقصى امتصاص لفيتامين E و C على التوالي كما موضح في الأشكال (3-33 و 3-34). تم اعتماد الزمن عند 20 دقيقة لكلا الفيتامينين؛ لأن الفرق في الامتصاص قليل عن الزمن 25 دقيقة أو ثابت.



شكل (33-3): تأثير الزمن على فيتامين E



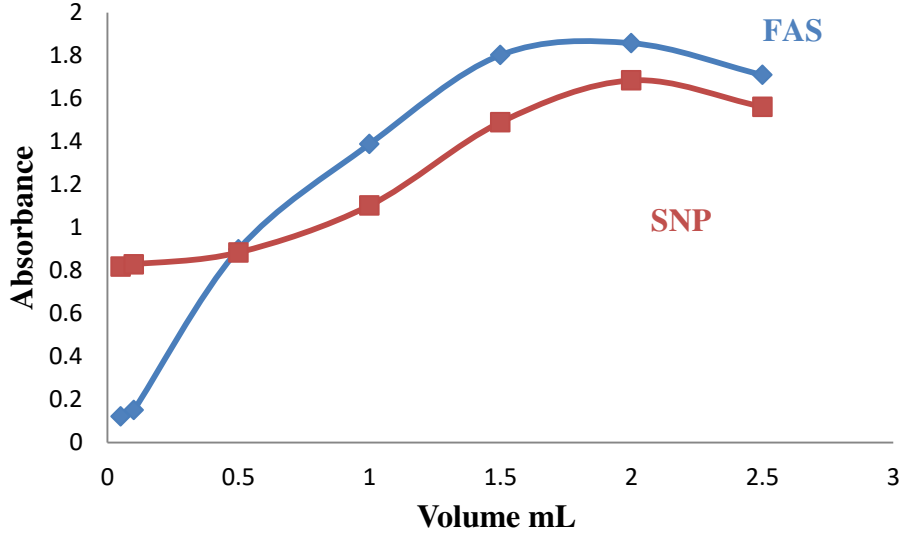
الشكل (34-3): تأثير الزمن على فيتامين C

4-2-2-3- حجم كبريتات الحديدك الأمونياكية و نتروبروسيد الصوديوم

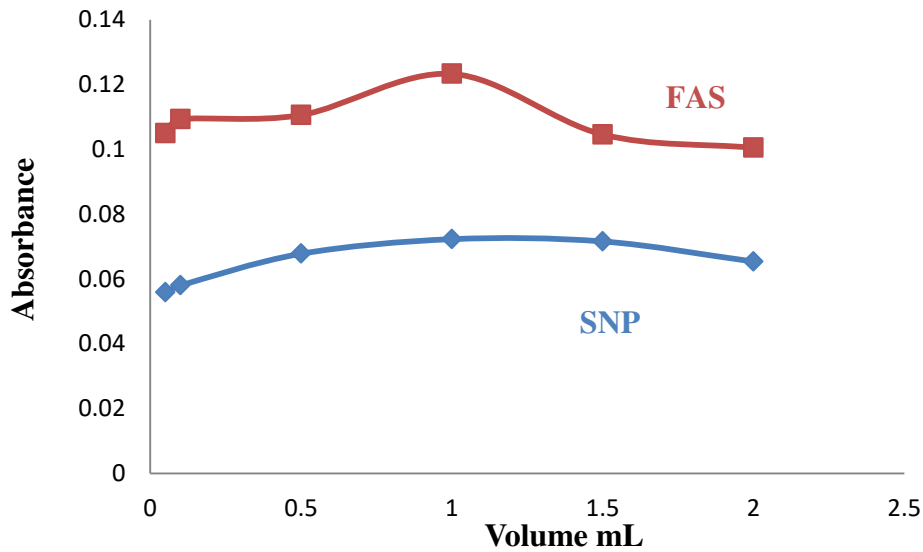
Volume of ammonium sulphate and sodium nitro prusside

تناولت الدراسة تأثير حجم كواشف الحديدك (كبريتات الحديدوز الأمونياكية و نتروبروسيد الصوديوم) لفيتاميني E و C، كما موضح في الفقرة (4-2-2-4-2) إذ حضرت أمزجة عدة تحتوي على حجوم معلومة من الفيتامينات والكواشف وحسب تسلسل الاضافة وإكمال الحجم إلى العلامة بالميثانول. يترك المحلول جانباً بدرجة حرارة المختبر لمدة (20 دقيقة) لفيتاميني E و C. سجل الامتصاص للمحاليل بقياسها مقابل محلول الخلب عند الطول الموجي 564.4 نانومتر (SNP)

و565 نانومتر (FAS) لكلا الفيتامينين. اشارت النتائج المستحصلة والموضحة في الأشكال (35-3 و 36-3) إلى أن حجم الكاشف هو (2 مل لكلا الكاشفين) لفيتامين E و (1 مل لكلا الكاشفين) لفيتامين C من الحجم المستخدمة للكاشفين هو الحجم الأنسب لأنه أعطى أعلى امتصاص.



شكل (35-3) تأثير حجم FAS و SNP على فيتامين E

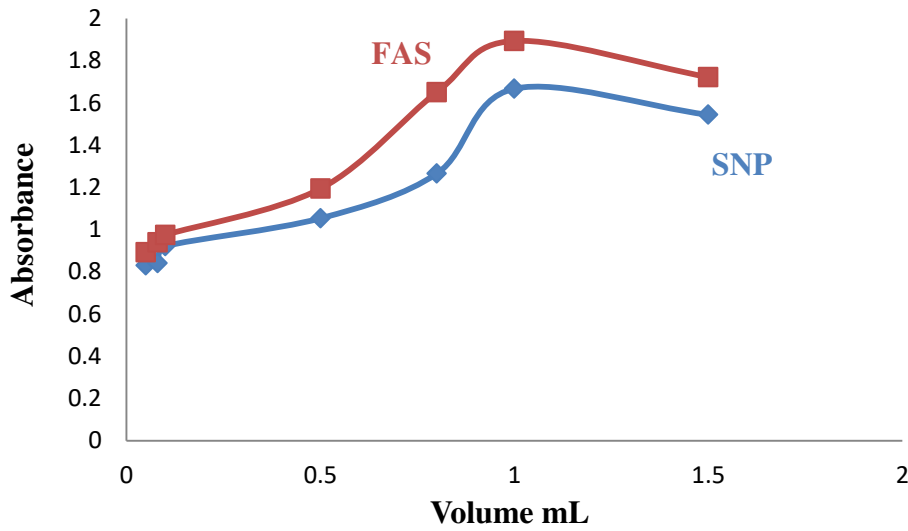


شكل (36-3): تأثير حجم FAS و SNP على فيتامين C

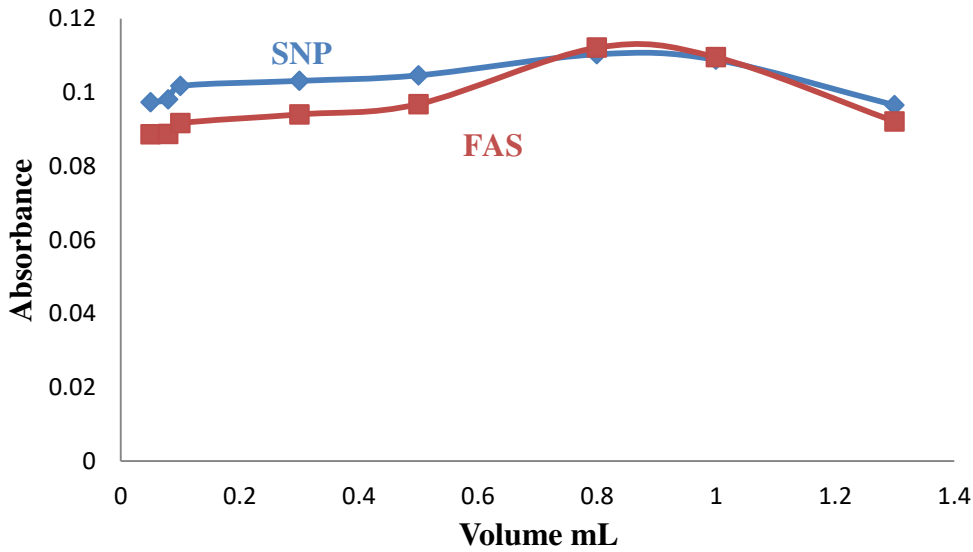
3-2-2-5- حجم ثنائي كرومات البوتاسيوم Potassium dichromate volume

درس تأثير حجم ثنائي كرومات البوتاسيوم كما موضح في الفقرة (2-2-2-4-2) إذ حضرت أمزجة عدة تحتوي على حجوم معلومة من الفيتامينات والكواشف وحسب تسلسل الاضافة وإكمال الحجم إلى العلامة بالميثانول. يترك المحلول جانباً بدرجة

حرارة المختبر لمدة (20 دقيقة) لفيتاميني E و C. يضاف حجم من الكواشف (FAS) و (SNP) هو (2مل و 1مل) لفيتامين E و C على التوالي. وقيست الامتصاصية للمحاليل مقابل محلول خلب عند الطول الموجي 564.4 نانومتر (SNP) و 565 نانومتر (FAS) لكلا الفيتامينين. تبين الأشكال (37-3 و 38-3) النتائج المستحصلة فقد أشارت إلى ان الحجم الأمثل هو (1مل) لفيتامين E و (0.8 مل) لفيتامين C هو الحجم الانسب من الحجم المستخدمة لأنه أعطى أعلى امتصاصية.



شكل (37-3): تأثير حجم ثنائي كرومات البوتاسيوم على فيتامين E

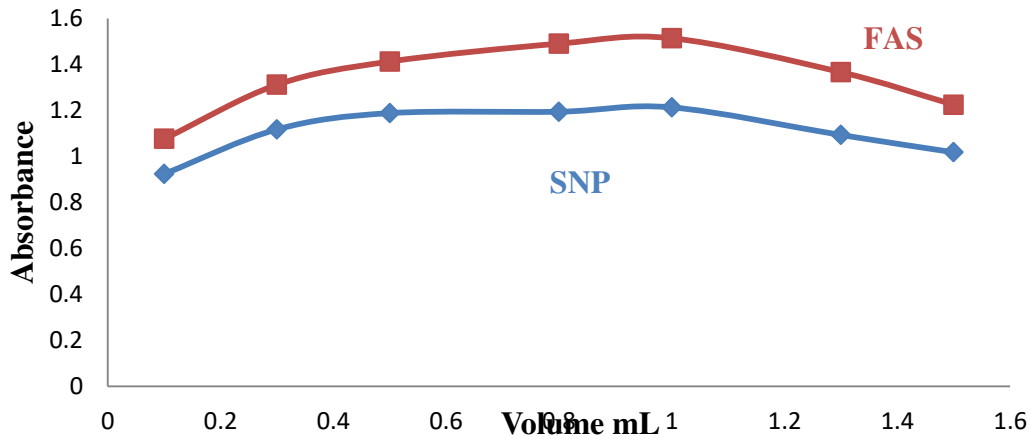


شكل (38-3): تأثير حجم ثنائي كرومات البوتاسيوم على فيتامين C

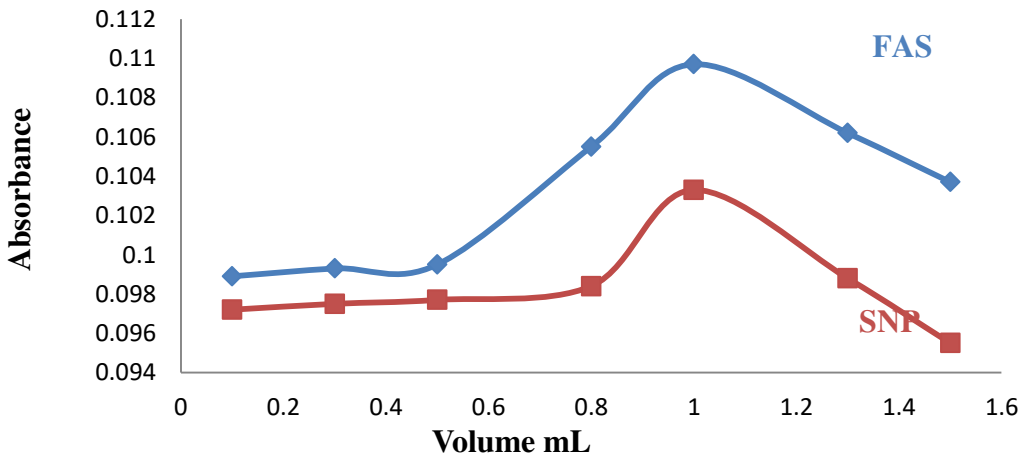
Acid volume

6-2-2-3- حجم الحامض

درس تأثير حجم الحامض (حامض الكبريتيك) كما موضح في الفقرة (6-2-2-4-2) اذ حضرت أمزجة عدة تحتوي على حجوم معلومة من الفيتامينات والكواشف وحسب تسلسل الاضافة الأمثل وإكمال الحجم إلى العلامة بالميثانول. طبقت الظروف الفضلى للزمن وحجم كواشف الحديد و حجم ثنائي كرومات البوتاسيوم. تضاف حجوم مختلفة من حامض الكبريتيك 0.1 مولاري تتراوح بين (0.1 – 1.5 مللتر). وقيست الامتصاصية للمحاليل مقابل محلول خلب عند الطول الموجي 564.4 نانومتر (SNP) و565 نانومتر (FAS) لكلا الفيتامينين. إشارت النتائج المستحصلة و الموضحة في الأشكال (39-3 و 40-3) إلى أن حجم الحامض الأمثل هو (1مل) للفيتامينين الذي أعطى أعلى امتصاصية للنتائج الملون المتكون.



الشكل (39-3): تأثير حجم الحامض على فيتامين E

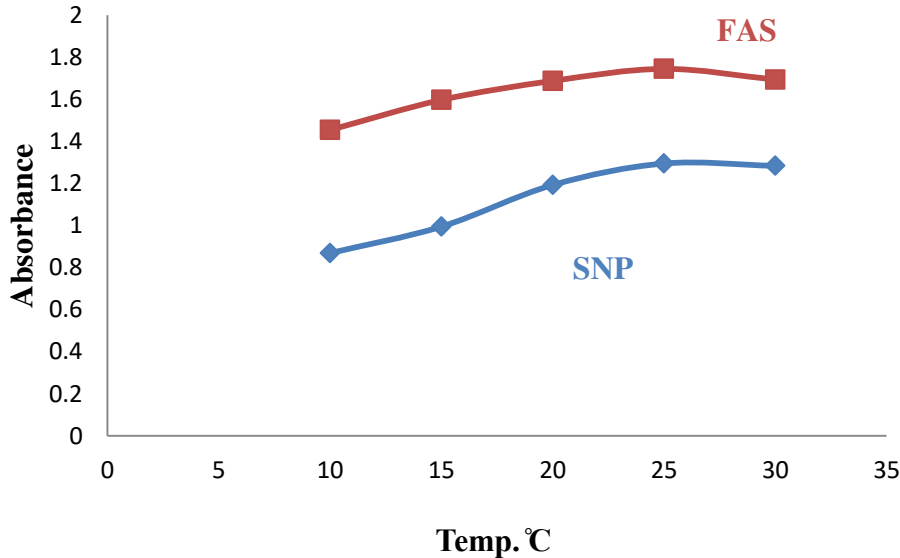


الشكل (40-3): تأثير حجم الحامض على فيتامين C

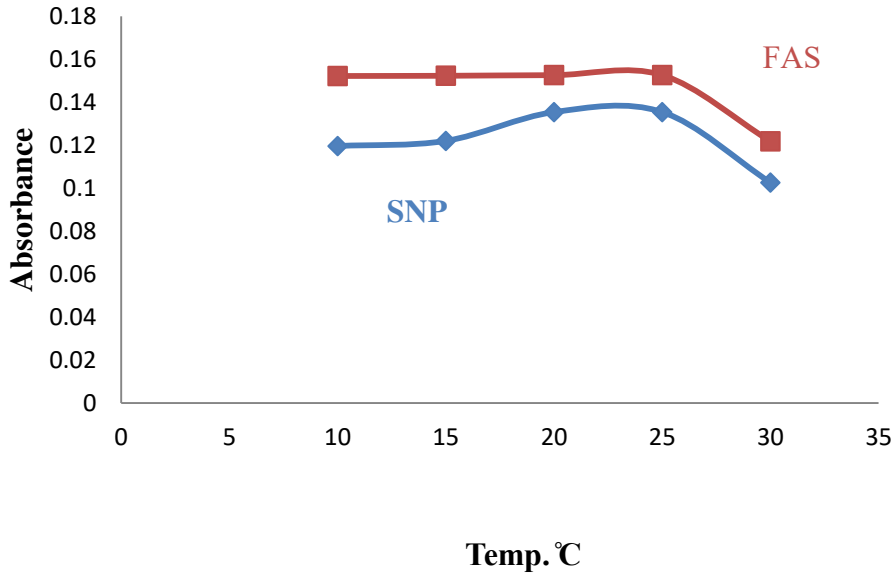
7-2-2-3- درجة الحرارة

Temperature effect

نُفذت دراسة تأثير درجة الحرارة كما موضح في الفقرة (7-2-2-4-2) إذ حضرت أمزجة عدة على حجوم معلومة من الفيتامينات والكواشف والحامض حسب الظروف الفضلى المستتبهة سابقا وحسب تسلسل الاضافة الأمثل وإكمال الحجم إلى العلامة بالميثانول. ترك المحلول لمدة (20 دقيقة) لكلا الفيتامينين و بدرجات حرارية مختلفة تتراوح بين (30 – 10 درجة مئوية). وقيست الامتصاصية للمحاليل مقابل محلول خلب عند الطول الموجي 564.4 نانومتر (SNP) و565 نانومتر (FAS) لكلا الفيتامينين. وبينت النتائج المستحصلة والموضحة في الأشكال (3-41 و3-42) ان (25 درجة مئوية) هي الدرجة الحرارية الفضلى لأنها اعطت أقصى امتصاص للنتائج الملون لكلا الفيتامينين. لوحظ حصول ثبوت الامتصاص تقريبا لفيتامين E ونقصان في قيمة الامتصاص لفيتامين C بعد درجة 25 مئوية. وهذا قد يكون ناتج من تأثير قوة العامل المختزل نتيجة ارتفاع درجة الحرارة التي تؤثر في حركية تفاعل الأوكسدة والاختزال .



الشكل(3-41): تأثير درجة الحرارة على فيتامين E

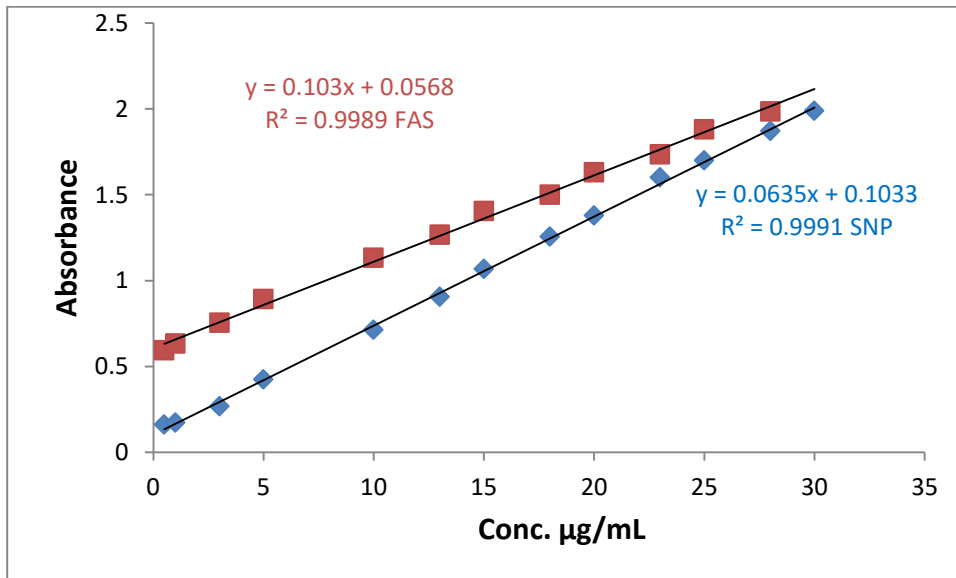


الشكل (3-42): تأثير درجة الحرارة على فيتامين C

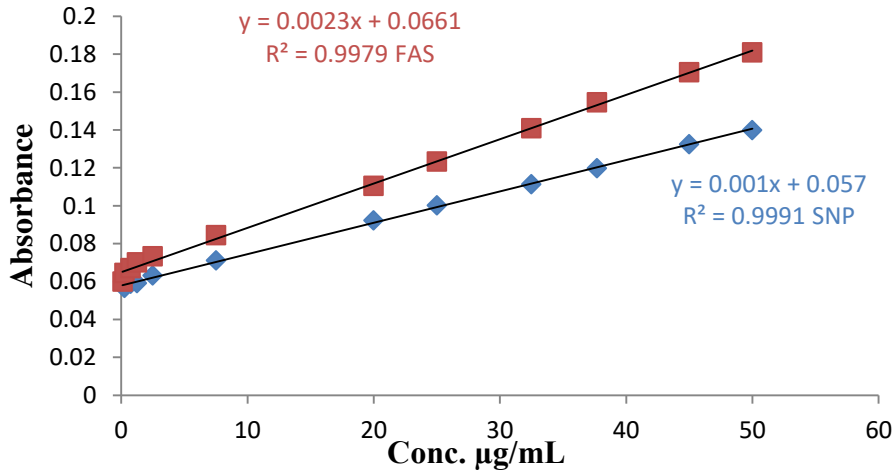
spectral standard Curve

8-2-2-3- المنحني القياسي الطيفي

نُفذت دراسة منحني المعايرة حسب الطريقة الموضح في الفقرة (2-2-4-2-8) إذ حضرت محاليل ذات تراكيز معلومة بعد اضافة حجم معين من الكواشف وطُبقت الظروف الفضلى التي تم استنباطها في الدراسات السابقة. وقبس الامتصاص للمحاليل مقابل محلول الخلب عند الطول الموجي 564.4 نانومتر (SNP) و565 نانومتر (FAS) لكلا الفيتامينين. تم رسم العلاقة الطردية بين الامتصاص كأحداثي عمودي والتركيز كأحداثي افقي. وثقت النتائج المستحصلة في الأشكال (3-43 و 3-44).



شكل (3-43) منحني المعايرة لفيتامين E



شكل (3-44): منحنى المعايرة لفيتامين C

يبين الجدول (3-13) نتائج الحسابات التحليلية لمنحنيات المعايرة لفيتامين E و لفيتامين C بطريقة الأشعة فوق البنفسجية المرئية ، باستعمال كاشف كبريتات الحديدك الأمونياكية و نتروروسيد الصوديوم. فقد بينت النتائج المستحصلة أن قيمة R^2 هي (0.9989 و 0.9991) لكاشف FAS و كاشف SNP على التوالي لتقدير فيتامين E و (0.9979 و 0.9991) لكاشف FAS و كاشف SNP على التوالي لتقدير فيتامين C. فيما كانت قيم حد الكشف هي (0.50 و 0.50 مايكروغرام/ ملتر) لكاشف FAS و كاشف SNP على التوالي لتقدير فيتامين E و (0.10 و 0.25 مايكروغرام/ ملتر) لكاشف FAS و كاشف SNP على التوالي لتقدير فيتامين C. وكانت قيمة الحد الكمي هي (1.65 و 1.65 مايكروغرام/ ملتر) لكاشف FAS و كاشف SNP على التوالي لتقدير فيتامين E و (0.033 و 0.83 مايكروغرام/ ملتر) لكاشف FAS و كاشف SNP على التوالي لتقدير فيتامين C. وكان مدى الخطيئة هو (28 - 0.5 و 30 - 0.50 مايكروغرام/ ملتر) لكاشف FAS و كاشف SNP على التوالي لتقدير فيتامين E و (50 - 0.1 و 50 - 0.25 مايكروغرام/ ملتر) لكاشف FAS و كاشف SNP على التوالي لتقدير فيتامين C. كما تم حساب قيم كلا من الميل، المقطع و قيمة t فقد أظهرت النتائج ان قيمة t المحسوبة أكبر من قيمتها الجدولية وهذا يدل على وجود علاقة قوية بين المتغيرين التركيز والامتصاص. لقد تم حساب R.S.D وكانت القيم هي (3.63 و 4.28) لكاشف FAS و كاشف

SNP على التوالي لتقدير فيتامين E و (2.88 و 1.62) لكاشف FAS و كاشف SNP على التوالي لتقدير فيتامين C.

الجدول (3-13): الحسابات التحليلية لمنحنيات المعايرة

Statistical factors	Value			
	Vitamin C		Vitamin E	
	FAS	SNP	FAS	SNP
Linear equation	Y= 0.0023[X] + 0.0661	Y= 0.001[X] + 0.057	Y= 0.103[X] + 0.0568	Y= 0.0635[X] + 0.1033
Slope (m)	0.0023	0.001	0.103	0.0635
Correlation of linearity "R ² "	0.9979	0.9991	0.9989	0.9991
Percentage linearity (R ² %)	99.79	99.91	99.89	99.91
Correlation coefficient (r)	0.9989	0.9995	0.9994	0.9995
Standard error of intercept	0.001	0.001	0.018	0.011
Standard deviation of intercept	0.003	0.001	0.062	0.037
"R.S.D. %"	2.88	1.62	4.28	3.63
"LOD" µg/mL	0.026	0.033	0.043	0.048
"LOQ" µg/mL	0.086	0.109	0.132	0.158
Linearity range µg/mL	0.1 – 50	0.25 – 50	0.5 – 28	0.5 – 30
Calculated (t) values	98.99	105.36	99.84	110.49
$t_{cal.} = \frac{r/\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$	>>>	>>>	>>>	>>>
	2.179	2.179	2.160	2.160

3-2-1-3- استرجاعية المواد القياسية

Recovery of standard materials

تم تحديد فيتامين (E , C) في ثلاثة تراكيز مختارة مختلفة لكل فيتامين باستعمال الكاشفين (FAS و SNP) حسب الطريقة المذكورة في (2-2-4-2-9). وقيست الامتصاصية عند الأطوال الموجية في الظروف الفضلى للطريقتين. وثقت النتائج التي تم الحصول عليها في الجدول (3-14) والتي بينت ان قيم " (% RSD)" هي (1.31 و 1.71) لفيتامين E للكاشف FAS و SNP على التوالي و (1.32 و 1.36) لفيتامين C للكاشف FAS و SNP على التوالي. إن معدل قيم الدقة من خلال حساب (% RE) هي (0.60 و 1.32) لفيتامين E للكاشف FAS و SNP على التوالي و (0.70 و 1.11) لفيتامين C للكاشف FAS و SNP على التوالي. إن معدل قيم

الاسترجاعية للمواد القياسية كانت هي (99.67 و 99.92) لفيتامين E للكاشف FAS و SNP على التوالي و (99.90 و 100.02) لفيتامين C للكاشف FAS و SNP على التوالي. أثبتت النتائج المستحصلة إلى ان الأساليب المقترحة لتحديد فيتامين E و C باستعمال هذه الطرق مرضية تماما في الواقع فيما يتعلق بالمعلومات المحسوبة.

الجدول (3-14): استرجاعية المواد القياسية لفيتامين E وفيتامين C

FAS		% Recovery	% Error	R.S.D n = 3
Taken	Found			
10	10.09	100.90	Mean = 99.90 S.D. = 0.82	1.01
20	19.98	99.90		1.21
30	29.67	98.90		1.74
Vitamin E µg/mL		% Recovery	% Error	R.S.D n = 3
Taken	Found			
5	4.98	99.60	Mean = 99.67 S.D. = 0.85	1.31
10	10.04	100.40		2.05
15	14.85	99.00		0.58
SNP		% Recovery	% Error	R.S.D n = 3
Taken	Found			
10	10.19	101.90	Mean = 100.02 S.D. = 1.91	1.01
20	20.06	100.30		1.18
30	29.66	98.87		1.89
Vitamin E µg/mL		% Recovery	% Error	R.S.D n = 3
Taken	Found			
5	5.01	100.2	Mean = 99.92 S.D. = 2.34	1.52
10	9.79	97.90		1.95
15	15.16	101.67		1.68

3-1-2-4- التطبيق على العينات الدوائية التجارية

Application on commercial drug samples

تم تقدير الفيتامين E و C في عدد من المستحضرات الصيدلانية التجارية المنتشرة في الأسواق المحلية بتطبيق مطيافية الأشعة فوق البنفسجية باستعمال الكاشفين (FAS و SNP) كما هو موضح في الفقرة (2-2-4-2-10). وتم الحصول على

نتائج ذات دقة وضبط عاليتين كما هو مبين في الجداول (3-15). وثقت النتائج التي تم الحصول عليها والتي بينت إن معدل قيم (% RSD) هي (1.00 و 1.39) لفيتامين E للكاشف FAS و SNP على التوالي و (1.89 و 1.44) لفيتامين C للكاشف FAS و SNP على التوالي. إن معدل قيم الاسترجاعية للمواد القياسية كانت هي (98.78 و 101.99) لفيتامين E للكاشف FAS و SNP على التوالي و (99.55 و 100.78) لفيتامين C للكاشف FAS و SNP على التوالي. أثبتت النتائج المستحصلة إمكانية تطبيق الطريقة لتقدير الأدوية في المستحضرات الصيدلانية بدقة مقبولة.

الجدول (3-15): تعيين فيتامين E و C في المستحضرات الصيدلانية.

FAS	Label Claim mg/ tab.	Mean amount found mg/tab.	% Mean amount found	R.S.D n = 3
Vitamin C Company				
Iraq	250	257.2	102.88	2.03
Syria	500	488	97.60	1.98
Germany	75	76.4	101.87	1.66
Vitamin E	Label Claim mg/ tab.	Mean amount found mg/tab.	% Mean amount found	R.S.D n = 3
Company				
PHILVITAIE	400	398.1	99.53	1.02
MVC	100	98.03	98.03	0.98
SNP	Label Claim mg/ tab.	Mean amount found mg/tab.	% Mean amount found	R.S.D n = 3
Vitamin C Company				
Iraq	250	244.6	97.84	1.11
Syria	500	510.3	102.06	2.13
Germany	75	74.06	98.75	1.07
Vitamin E	Label Claim mg/ tab.	Mean amount found mg/tab.	% Mean amount found	R.S.D n = 3
Company				
PHILVITAIE	400	404.7	101.18	1.33
MVC	100	102.8	102.8	1.44

3-3- مقارنة الطرق الأربعة المستخدمة في التقدير

أجريت مقارنة لقيم الاسترجاعية للمواد القياسية لأحد التراكيز المقدر بالطرق الأربعة والجدول (3-16) يبين الاسترجاعية للطرق الأربعة للتركيز المقدر. كذلك تم مقارنة معدل الاسترجاعية للنماذج التجارية لهذه الطرق مع بعضها كما موضح في الجدول (3-17)، وكانت النتائج المستحصلة جيدة وثبتت صلاحية ودقة الطرق الأربعة لتقدير الفيتامينات في مختلف المستحضرات الصيدلانية.

جدول رقم (3-16) : مقارنة الطرق الأربعة بتقدير احد التراكيز القياسية المعلومة

Drugs	Conc. µg/mL	Gold method		Dichromate method	
		UV - VIS	FAAS	FAS	SNP
		% Recovery	% Recovery	% Recovery	% Recovery
Vit. C	10	98.80	99.30	100.90	101.90
Vit. E	10	102.90	99.80	100.40	97.90

جدول رقم (3-17): مقارنة الطرق الأربعة بتقدير النماذج التجارية

Drugs	Gold method		Dichromate method	
	UV - VIS	FAAS	FAS	SNP
	% Recovery	% Recovery	% Recovery	% Recovery
Vit. C	101.12	99.33	100.78	99.55
Vit. E	98.12	100.89	98.78	101.99

Conclusion

3-4- الاستنتاجات

- 1- أظهرت الدراسة التي أجريت لتقدير الفيتامينات باستعمال طريقة التعقيد مع الذهب إمكانية تقدير هذه الفيتامينات بدقة عالية بحالتها النقية وفي المستحضرات الدوائية بطريقة الامتصاص الذري اللهبى وامتصاص الأشعة فوق البنفسجية المرئية.
- 2- مقارنة النتائج لطريقة الامتصاص الذري اللهبى وامتصاص الأشعة فوق البنفسجية المرئية أظهرت توافق عالي بين النتائج المستحصلة للطريقتين.
- 3- أظهرت النتائج التحليلية للطريقة اللونية الطيفية لتقدير الفيتامينات دقة عالية وخطية وسرعة التحليل للفيتامينات بالحالة النقية وفي المستحضرات الدوائية.
- 4- مقارنة النتائج المستحصلة لجميع الطرائق المستحدثة في هذه الدراسة بينت بانها متطابقة وضمن النسب الدستورية العالمية.
- 5- بينت المقارنة للنتائج المستحصلة بتطبيق الطرائق المقترحة مع طرائق تحليلية أخرى موجودة في المراجع أنها تقريبا متطابقة ضمن حدود الثقة أكثر من 95%.

Recommendations**3-5- التوصيات**

- 1- دراسة أمكانية تطبيق النتائج التي تم التوصل اليها في الدراسة في تقدير فيتامينات وادوية اخرى.
- 2- استعمال كواشف جديدة للأكسدة والاختزال وذلك لتكوين محاليل ملونة مع الفيتامينات والاستفادة من ذلك في اقتراح طرائق تحليلية طيفية جديدة.
- 3- تقدير هذه الفيتامينات باستعمال طرائق تحليلية طيفية أخرى.
- 4- الاستفادة من النتائج المستحصلة من خلال تطبيقها بتقنيات تحليلية مختلفة لتقدير الادوية.

المصادر

References

References

1. Lehninger, A., L. (1986). "**Short course in biochemistry**", Worth Publishers ING : pp121-135
2. Koolman, J. and Roehm, K., H. (2005). "**Color atlas of biochemistry**", 2nd ed , Thieme : pp364-369.
3. Harvey, R., A. (2011). "**Lippincotts Illustrated Biochemistry**" ,5th ed, Walters Kluwer : pp373- 393.
4. Lieberman M., A. and Ricer R. (2010). "**Lippincotts Illustrated and Review of Biochemistry**" , Walters Kluwer : pp176-186.
5. Hancock, R., D. and Viola, R. (2003). "**Ascorbic acid biosynthesis in higher plants and micro-organisms**", Scottish Crop Research Institute : p135.
6. Murray, R., k. , Granner, D., K., Mayes, p., A. and Rod well V., W. (2003). "**Harpers Illustrated Biochemistry**", 26th ed, , MC Graw – Hill : pp481- 492.
7. "**British pharmacopoeia**".(1999). incorporating the requirements of the 3rd ed of the European Pharmacopoeia 1997 as mended by supplements, version 3.0 : p 84 , 1303.
8. Martindale, (2002). "**the complete Drug Reference**" , 33rd ed , pharmaceutical press Landon : P1940 .
9. Merk and co. (1995). "**The Merk Index of chemicals and drugs**" 6th ed, copy right by Merk Co. ING. MC Graw -Hill p 105 : pp1055-1056.
10. د. سامي مظفر ، (1990) ، الكيمياء الحياتية ، الكتاب الاول ، الطبعة الثانية ، مطابع دار الحكمة،الصفحات 983-988 .
11. د. خولة احمد آل فليح ، (2007) ، مدخل الى الكيمياء الحياتية ، الطبعة الثانية ، دار الكتب للطباعة والنشر ، الموصل . الصفحات 175 -194 .

12. Cotton, F., A. and Wilkinson, G. (1980). "**Advanced Inorganic Chemistry ,acomperhensive text**", 4th ed. , John Wiley φ Sons : pp 47-55
13. Jain, G. and Khan, R. (2011). "**Theory and practice of physical pharmacy**", 1st ed., Elsevier : pp 385 – 402.
14. Sinko, P. (2006). "**Martins physical pharmacy and pharmaceutical science**", 6th ed., Philadelphia, Lippincott, Williams and Wilkins : pp 492 – 516.
15. Lippard, S., J. (1994). "**Metals in medicine .In Bioinorganic chemistry**" , University Science Books , mill Valley ,California : pp514-515.
16. Gielen , M. and Tiekink , E., R. (Eds) . (2005). "**Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents the use of metals in medicine**" ,John wiley and Sons : PP207-208.
17. Harris, D. (2010). "**Quantitative chemical analysis**", 8th ed, , W. H. free man and company : PP 394- 418.
18. Skoog, D., A. and West, D., M. (1988). "**Analytical chemistry (An Introduction)**" , 4th ed ,Saunders Golden sunburst series : p 426.
19. Skoog, D., A. West, D., M. and Holler F., J. (1988). "**Fundamentals of Analytical chemistry**" , 5th ed, Saunders Golden Sunburst Series : PP 460- 461.
20. Rouessac, F. and Rouessac, A. (2007). "**Chemical Analysis (Modern Instrumentation Methods and technique**", 2nd ed, John Wiley φ Sons : PP167-173 .
21. Kenkel, J. (2003). "**Analytical chemistry for Technicians**", 3rd ed ,CRC : pp184-190 .
22. Settle, F., A. (1997). "**Handbook of Instrumental Techniques for Analytical chemistry**", Prentice Hall PTR : p485.

23. Christian, G., D. (2004). "**Analytical chemistry**", 6th ed , John Wiley φ Sons INC : PP 464 - 465 .
24. Skoog, D., A., West, D., M., Holler F., J. and Crouch S., R . (2004). "**Fundamentals of Analytical chemistry**", 8th ed , Thomson : pp 788-789 .
25. Skoog, D., A., West, D., M., Holler F., J. and Crouch S., R .(2014). "**Fundamentals of Analytical chemistry**", 9th ed , Thomson, Brooks / Cole : pp724- 735 .
26. Ewing, G., W. (1990). "**Instrumental Methods of chemical analysis**". 5th ed , Mc Graw-Hill : pp63 -65 .
27. Skoog, D., A. and West, D., M. (1980). "**Principles of Instrumental Analysis**", 2th ed. , Saunders Golden Sunburst Series : pp187 – 188.
28. Harvey, D.,(2009). "**Analytical chemistry (2.0)**" ,MC Graw-Hill : pp562 -564 .
29. Kellner, R., Mermet, J., M., Otto, M. and Widmer, H., M. (1998). "**Analytical Chemistry**", Wiley -VCH : p453 .
30. Harvey, D.(2000). "**Modern Analytical chemistry**",MC Graw- Hill : pp412-415.
31. Skoog, D., A., Holler, E., J. and Crouch, S., R. (2007). "**Principles of Instrumental Analysis**", 6th ed ,Thomson : pp216 .
32. Fifield, F., W. and Kealey, D. (2000). "**Principles and practice of Analytical chemistry** ", 5th ed , Black Well Science : pp321 – 322.
33. Schwedt, G. (1997). "**The Essential Guide to Analytical chemistry**", John Wiley φ Sons : p82 .
34. Lajunen, L. (2007). "**Spectrochemical analysis by atomic absorption and emission**" , 2nd ed. ,Royal Society of Chemistry : P 39 .

35. Beaty, R., D. and Kerber, J., D. (1978). "**concepts , instrumentation and techniques in atomic absorption spectrophotometry**", USA : Perkin Elmer : p27.
36. Murty, M., V. (1974). "**Theory and principles of monochromators , spectrometers and spectrographs**", Optical Engineering , 13(1) : pp 130123- 130123 .
37. Broekert, J., A., C. (2002). "**Analytical Atomic spectroscopy with Flames and plasmas**", Wiley -VCH : pp31 - 34 .
38. "**Analytical Methods for Atomic Absorption spectroscopy**". (1996). Pertin-Elmer Corporation : p22 - 30 .
39. Cotton, F., A. and Wilkinson, G. (1980). "**Advanced Inorganic Chemistry ,acomperhensive text**", John Wiley & Sons : p978.
40. Windholz, M. (2006). "**An Encyclopaedia of Chemicals, Drugs and Biologicals**", 14 ed. , Merck & Co : p 780 .
41. Wiberg, H. (2001). "**Inorganic Chemistry** ", 101 ed. , Academic Press : p1286.
42. "**British pharmacopoeia**". (2011). incorporating the requirements of the 6th ed of the European pharmacopoeia as mended by supplements 6.1 to 6.8 : p 1187.
43. Merck and co. (2004). "**The Merck Index of chemicals and drugs**". on CD -Rom , 12th ed , copy right by Merck Co. ING. MC Graw -Hill : p 963.
44. Skoog, D., A., West, D., M. and Holler F., J. (1988). "**Fundamentals of Analytical chemistry**", 5th ed. , Saunders Golden Sunburst Series : p338 .
45. Christian, G., D. (2004). "**Analytical chemistry**", 6th ed. , John Wiley & Sons INC : PP429 - 430 .
46. Jadoon, S., Waseem, A., Yaqoob, M. and Nabi, A. (2010). "**Flow injection spectrophotometric determination of vitamin E in**

- pharmaceuticals, milk powder and blood serum using potassium ferricyanide–Fe (III) detection system", Chinese Chemical Letters, 21(6) : pp 712-715.**
47. Zhao, B., Tham, S., Y., Lu, J., Lai, M., H., Lee, L., K. and Moochhala, S. M. (2004). "**Simultaneous determination of vitamins C, E and β -carotene in human plasma by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection**", Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 7(2) : pp200-204.
48. Korchazhkina, O., Jones, E., Czauderna, M., Spencer, S., A. and Kowalczyk, J. (2006). "**HPLC with UV detection for measurement of vitamin E in human milk**", Acta Chromatographica, (16) : pp 48-57 .
49. Şeker, M., E., Çelik, A. and Dost, K. (2012). "**Determination of Vitamin E Isomers of Grape Seeds By High-Performance Liquid Chromatography–UV Detection**", Journal of Chromatographic Science, 50(2) : pp 97-101.
50. McMahon, A. (2016). "**Determination of Vitamin E and Vitamin A in Infant Formula and Adult Nutritionals by Normal-Phase High-Performance Liquid Chromatography**", Journal of AOAC International, 99(1) : pp 223-241.
51. Brabcova, I., Kovarova, L., Satinsky, D., Havlikova, L. and Solich, P. (2013). "**A fast HPLC method for determination of vitamin E acetate in dietary supplements using monolithic column**", Food Analytical Methods, 6(2) : pp380-385.
52. Rao, K., S., Keshara, N., K., Belorkara, N., V., Raoa, M., B., Srinivasab, K. and Pattnaikc, A., K. (2013). "**A Simple and Rapid HPLC Method for the Simultaneous Determination of Vitamin-**

- A and Vitamin-E in Tablet Dosage Forms"**, Research Journal of Chemical and Environmental Sciences, 1(1) : pp02-06.
53. Tutem E., Apak R., Gunayd E. and Sozgen K. (1997). **"Spectrophotometric determination of vitamin E (α – tocopherol) using copper(II)-neocuproine reagent"**, Talanta (44) : pp 249- 255.
54. Neagu, M., Soceanu, G. and Bucur, A., C. (2015). **"Validation of a High-Performance Liquid Chromatography method for the determination of vitamin A, vitamin D3, vitamin E and benzyl alcohol in a veterinary oily injectable solution"**, Medicamentul Veterinar / Veterinary Drug ,9(1) : pp 84-88.
55. Sadilek, P., Satinsky, D., Otapka, M., Sladkovsky, R. and Solich, P. (2009). **"Rapid and simple determination of vitamin A and vitamin E in human plasma by column-switching high-performance liquid chromatography"**, Current Analytical Chemistry, 5(4) : pp311-315.
56. Devries, J., W. and Silvera, K., R. (2002). **"Determination of vitamins A (retinol) and E (alpha-tocopherol) in foods by liquid chromatography: collaborative study"**, Journal of AOAC International, 85(2) : pp 424-434.
57. Barba, F., J., Esteve, M., J. and Frigola, A. (2011). **"Determination of vitamins E (α -, γ -and δ -tocopherol) and D (cholecalciferol and ergocalciferol) by liquid chromatography in milk, fruit juice and vegetable beverage"**, European Food Research and Technology, 232(5) : pp 829-836.
58. Midttun, O. and Ueland, P., M. (2011). **"Determination of vitamins A, D and E in a small volume of human plasma by a high-throughput method based on liquid chromatography/tandem mass spectrometry"** , Rapid

- Communications in Mass Spectrometry, 25(14) : pp1942-1948.
59. Gimeno, E., Castellote, A., I., Lamuela-Raventos, R., M., De La Torre, M., C. and Lopez-Sabater, M., C. (2000). "**Rapid determination of vitamin E in vegetable oils by reversed-phase high-performance liquid chromatography**", Journal of Chromatography A, 881(1) : pp251-254.
60. Prabakaran¹, R., Chenthilnathan A. and Vikraman, S. (2014). "**Validation of simultaneous determination of vitamin A acetate and vitamin E acetate in multivitamin tablets by RP-HPLC**", International Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, 3(2) : pp 27-34.
61. Yibin, Z., Baifen, H. and Yiping, R. (2016). "**Simultaneous determination of eight vitamin E isomers and vitamin A in foods by normal-phase high performance liquid chromatography**", Chinese Journal of Chromatography, 34 (7) : pp 692-696.
62. Jadoon, S., Malik, A., Qazi, M., H. and Aziz, M. (2013). "**Spectrophotometric method for the determination of Vitamin A and E using Ferrozine-Fe (II) complex**", Asian Journal of Research in Chemistry, 6(4) : pp334-340.
63. Liu, Z., Kang, X. and Fang, F. (2010). "**Solid phase extraction with electrospun nanofibers for determination of retinol and α -tocopherol in plasma**", Microchimica Acta, 168(1-2) : pp59-64.
64. Kadioglu, Y., Demirkaya, F. and Demirkaya, A., K. (2009). "**Quantitative determination of underivatized α -tocopherol in cow milk, vitamin and multivitamin drugs by GC-FID**", Chromatographia, 70(3-4) : pp 665-670.
65. Khalili M., A., R., Norhayati, A., H., Rokiah, M., Y., Asmah, R., Siti Muskinah, M. and Abdul Manaf, A. (2010). "**Determination of**

- radical scavenging activity and Vitamin A, C and E in organically grown Red Pitaya (Hylocereus sp.) "**, International Food Research Journal, 17 : PP 405-409.
66. Irakli, M., N., Samanidou, V., F. and Papadoyannis, I., N. (2011). "**Development and validation of an HPLC method for the simultaneous determination of tocopherols, tocotrienols and carotenoids in cereals after solid-phase extraction**", Journal of Separation Science, 34(12) : PP 1375-1382.
67. Wong, Y., F., Makahleh, A., Saad, B., Ibrahim, M., N., M., Rahim, A., A. and Brosse, N. (2014). "**UPLC method for the determination of vitamin E homologues and derivatives in vegetable oils, margarines and supplement capsules using pentafluorophenyl column**", Talanta, 130 : PP 299-306.
68. Milagros Delgado-Zamarreno, M., Bustamante-Rangel, M., Sierra-Manzano, S., Verdugo-Jara, M. and Carabias-Martínez, R. (2009). "**Simultaneous extraction of tocotrienols and tocopherols from cereals using pressurized liquid extraction prior to LC determination**", Journal of Separation Science, 32(9) : PP 1430-1436.
69. Murcillo, J., F. and Bolaños, G. (2013). "**Separation of vitamin-E isomers from palm oil FAMES by supercritical desorption**", Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids Cartagena de Indias (Colombia).
70. Irakli, M., Chatzopoulou, P., Kadoglidou, K. and Tsivelika, N. (2016). "**Optimization and development of a high-performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of vitamin E and carotenoids in tomato fruits**", Journal of Separation Science, 39(17) : PP 3348-3356.

71. Yilmaz, B. and Ozturk, M. (2004). "**Comparison of two derivative spectrophotometric methods for the determination of a-tocopherol in pharmaceutical preparations**" , Farmaco, 59(9) : PP 723-727.
72. Grebenstein, N. and Frank, J. (2012). "**Rapid baseline-separation of all eight tocopherols and tocotrienols by reversed-phase liquid-chromatography with a solid-core pentafluorophenyl column and their sensitive quantification in plasma and liver**", Journal of Chromatography a, 1243 : PP 39-46.
73. Tsochatzis, E., D., Bladenopoulos, K. and Papageorgiou, M. (2012). "**Determination of tocopherol and tocotrienol content of Greek barley varieties under conventional and organic cultivation techniques using validated reverse phase high-performance liquid chromatography method**", Journal of the Science of Food and Agriculture, 92(8) : PP1732-1739.
74. Midttun, O. and Ueland, P., M. (2011). "**Determination of vitamins A, D and E in a small volume of human plasma by a high-throughput method based on liquid chromatography/tandem mass spectrometry**", Rapid Communications in Mass Spectrometry, 25(14) : PP1942-1948.
75. Chen, H., Angiuli, M., Ferrari, C., Tombari, E., Salvetti, G. and Bramanti, E. (2011). "**Tocopherol speciation as first screening for the assessment of extra virgin olive oil quality by reversed-phase high-performance liquid chromatography/fluorescence detector**", Food chemistry, 125(4) : PP 1423-1429.
76. Ijeri, V., S., Jaiswal, P., V. and Srivastava, A., K. (2001). "**Chemically modified electrodes based on macrocyclic**

- compounds for determination of Vitamin C by electrocatalytic oxidation",** Analytica Chimica Acta, 439(2) : PP291-297.
77. Rizzolo, A., Brambilla, A., Valsecchi, S. and Eccher-Zerbini, P. (2002). "**Evaluation of sampling and extraction procedures for the analysis of ascorbic acid from pear fruit tissue**", Food Chemistry, 77(2) : PP 257-262.
78. Kall, M., A. and Andersen, C. (1999). "**Improved method for simultaneous determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid, isoascorbic acid and dehydroisoascorbic acid in food and biological samples**", Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 730(1) : PP101-111.
79. Khan, M., R., Rahman, M., M., Islam, M., S. and Begum, S., A. (2006). "**A simple UV-spectrophotometric method for the determination of vitamin C content in various fruits and vegetables at Sylhet area in Bangladesh**", Journal of Biological Sciences, 6(2) : PP388-392.
80. Behrens, W., A. and Madere, R. (1994). "**A procedure for the separation and quantitative analysis of ascorbic acid, dehydroascorbic acid, isoascorbic acid, and dehydroisoascorbic acid in food and animal tissue**", Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies, 17(11) : PP 2445-2455.
81. Khosravi, F. and Asadollahzadeh, H. (2014). "**Determination of ascorbic acid in different citrus fruits under reversed phase conditions with UPLC**", European Journal of Experimental Biology, 4(1) : PP 91-94.
82. Arya, S., P., Mahajan, M. and Jain, P. (2001). "**Spectrophotometric determination of vitamin C with iron (II)-4-(2-pyridylazo) resorcinol complex**", Analytica Chimica Acta, 427(2) : PP 245-251.

83. Mitic, S., S., Kostic, D., A., Naskovic-okic, D., C. and Mitic, M., N. (2011). "**Rapid and reliable HPLC method for the determination of vitamin C in pharmaceutical samples**", Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 10(1) : PP105-111.
84. Wu, T., Guan, Y. and Ye, J. (2007). "**Determination of flavonoids and ascorbic acid in grapefruit peel and juice by capillary electrophoresis with electrochemical detection**", Food Chemistry, 100(4) : PP1573-1579.
85. Cai, L. and Xu, C. (2011). "**An automated method for determination of ascorbic acid in urine by flow injection chemiluminescence coupling with on-line removal of interference**", Journal of the Chilean Chemical Society, 56(4) : PP 938-940.
86. Dengle, S., T., Durrani, A., Parveen, M., N. and Rajbhoj, A., S. (2015). "**Potentiometric study of vitamin C complexes with transition metal ions V (II), Cr (II) and Fe (III)**", World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences , 4(11) : pp 2063 – 2067.
87. Gupta, S., R., N. (2015). "**Polarographic Methods for Determination of Ascorbic Acid in Pharmaceutical Preparations**", International Journal of Chemical Engineering and Applications, 6(2) : PP 75-80.
88. Wonsawat, W. (2014). "**Determination of vitamin C (Ascorbic acid) in orange juices product**", International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering 8(6) : PP 623-625.
89. Dengle S., T., Gaikwad S., T. and Rajbhoj A., S. (2012). "**Potentiometric study of vitamin C complexes with transition metal ions Co(II), Ni(II), Cu(II)& Zn(II)**". Der Chemica Sinica, 3(4) : PP 970-973.

90. Khorasai-Motlagh, M., and Noroozifar, M. (2004). "**Electrocatalytic determination of ascorbic acid using glassy carbon modified with nickel (II) macrocycle containing dianionic tetraazaannulene ligand**", Turkish Journal of Chemistry, 28(3) : PP369-378.
91. Pisoschi, A., M., Danet, A., F. and Kalinowski, S. (2009). "**Ascorbic acid determination in commercial fruit juice samples by cyclic voltammetry**". Journal of Automated Methods and Management in Chemistry:p 2008.
92. Moeslinger, T., Brunner, M., Volf, I. and Spieckermann, P., G. (1995). "**Spectrophotometric determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid**", Clinical Chemistry, 41(8) : PP1177-1181.
93. Fadhel, D., H. (2012). "**Spectrophotometric determination of ascorbic acid in aqueous solutions**", Journal of Al-Nahrain University, 15(3) : PP 88-94.
94. Rutkowski, M. and Grzegorzczuk, K. (2007). "**Modifications of spectrophotometric methods for antioxidative vitamins determination convenient in analytic practice**", Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 6(3) : PP 17-28.
95. Antonelli, M., L., D'ascenzo, G., Laganà, A. and Pusceddu, P. (2002). "**Food analyses: a new calorimetric method for ascorbic acid (vitamin C) determination**", Talanta, 58(5) : PP 961-967.
96. Mussa, S., B. and El Sharaa, I. (2014). "**Analysis of Vitamin C (ascorbic acid) Contents packed fruit juice by UV-spectrophotometry and Redox Titration Methods**", Journal of Applied Physics, 6(5) : PP 46-52.
97. Spinola, V., Mendes, B., Camara, J., S. and Castilho, P., C. (2012). "**An improved and fast UHPLC-PDA methodology for determination of L-ascorbic and dehydroascorbic acids in fruits and vegetables. Evaluation of degradation rate during**

- storage"**, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 403(4) : PP1049-1058.
98. De Quiros, A., R., B., Fernandez-Arias, M. and Lopez-Hernandez, J. (2009). "**A screening method for the determination of ascorbic acid in fruit juices and soft drinks**", Food Chemistry, 116(2) : PP 509-512.
99. Şahin, M., Özcan, L., Usta, B. and Şahin, Y. (2009). "**Determination of ascorbic acid by polypyrrole potentiometric detector in ion chromatography**", Biosensors and Bioelectronics, 24(12) : PP 3492-3497.
100. Karatepe, M. (2004). "**Simultaneous determination of ascorbic acid and free malondialdehyde in human serum by HPLC-UV**", LCGC Asia Pacific, 7(2) : PP 36-38.
101. Chebrolu, K., K., Jayaprakasha, G., K., Yoo, K., S., Jifon, J., L. and Patil, B., S. (2012). "**An improved sample preparation method for quantification of ascorbic acid and dehydroascorbic acid by HPLC**", LWT-Food Science and Technology, 47(2) : PP 443-449.
102. Odriozola-Serrano, I., Hernández-Jover, T. and Martín-Belloso, O. (2007). "**Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits**", Food Chemistry, 105(3) : PP 1151-1158.
103. Novakova, L., Solich, P. and Solichova, D. (2008). "**HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids**", Trends in Analytical Chemistry, 27(10) : PP942-958.
104. Kandar, R. and Zakova, P. (2008). "**Determination of ascorbic acid in human plasma with a view to stability using HPLC with UV detection**", Journal of Separation Science, 31(20) : PP3503-3508.

105. Kim, Y. and Kim, M., G. (2016). "**HPLC-UV method for the simultaneous determinations of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in human plasma**", *Translational and Clinical Pharmacology*, 24(1) : PP37-42.
106. Suntornsuk, L., Gritsanapun, W., Nilkamhank, S. and Paochom, A. (2002). "**Quantitation of vitamin C content in herbal juice using direct titration**", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 28(5) : PP849-855.
107. Rose, R., C. and Nahrwold, D., L. (1981). "**Quantitative analysis of ascorbic acid and dehydroascorbic acid by high-performance liquid chromatography**", *Analytical Biochemistry*, 114(1) : PP140-145.
108. Ali, F. and Ali, S. (2010). "**A novel method for determination of trace amounts of oxyclozanid in the pharmaceutical (levozain) by molecular and flame atomic absorption spectrophotometry using gold as complexing metal**", *Iraqi Journal of Science*, 51(2) : PP228-235
109. Martinez S., Herrero V. and Negro S. (2004). "**Determination of Vitamin E in Biodegradable Microspheres by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography**", *Journal of Chromatographic Science*, 42 : PP43-48.
110. Snezana S., Danijela A., Danijela C. and Milan N. (2011). "**Rapid and Reliable HPLC Method for the Determination of Vitamin C in Pharmaceutical Samples**", *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 10 (1) : PP105-111.

111. عوض، هادي كاظم، سعيد، صالح محمد، البديري، جواد سلمان، الشلال، عبد الكريم هاشم،(1992). "الاساسيات النظرية للتحليل الكمي الوزني والحجمي للكيمياء التحليلية واللاعضوية " دار الكتب، جامعة الموصل، ص 108-111.
112. محمد ، فاضل جاسم ،(1989) " التحليل الكيمائي بمطيافية الامتصاص الذري " ، دارالكتب ، جامعة بغداد ، ص 41 – 5.
113. Ingram , B.L.(1970). Anal.Chem.;pp 42,1825, (1970) .
114. Miller , J.C., and Miller , J.N. ,(2000). " Statistics for Chemical Analysis " , 4th Edn. Prentice Hall ,pp 110-123.
115. Brynn , H.D. ,(2007) " Quality Assurance for The Analytical Chemistry Laboratory " , Oxford University Press Inc. , New York , USA ;pp 39.

الملحق الإحصائي

1. الانحراف القياسي SD [111]

$$S = \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

\bar{X} = الوسط الحسابي

X_i = القراءات

n = عدد القراءات

2. الانحراف القياسي النسبي % RSD [112]

$$\text{RSD}\% = \frac{S}{\bar{X}} \times 100$$

\bar{X} = الوسط الحسابي

S = الانحراف القياسي

3. حد الكشف L.O.D [113]

$$\text{L.O.D} = \frac{3 \cdot S}{m}$$

S = الانحراف القياسي للمحلول الصوري

m = الميل

4. حد الكشف الكمي L.O.Q

$$L.O.Q = \frac{10 \cdot S}{m}$$

S = الانحراف القياسي لمحلول الخلب

m = الميل

5. الخطأ النسبي %Er [114]

$$E_{rel} \% = \frac{AE}{T} \times 100$$

T = القيمة الحقيقية

AE = الخطأ المطلق وهو الفرق بين القيمة التحليلية والقيمة الحقيقية للتراكيز

6. الاسترجاعية المنوية %Recovery [115]

$$Rec \% = \frac{X_i}{u} \times 100$$

X_i = النتيجة التحليلية للتراكيز

u = النتيجة الحقيقية للتراكيز

7. معامل الامتصاص المولاري (لتر . مول⁻¹ . سم⁻¹)

$$\epsilon = \frac{A}{c}$$

A = الامتصاص

C = التركيز

summary

This study included the determination of vitamins E and C in its pure form and in pharmaceutical preparations using two methods. The first complex formation of vitamins with gold ion and the estimated of the complex by ultraviolet - visible and flame atomic absorption. The second method the formation of the colored solution with the presence of ferric ion, vitamins and potassium dichromates. Complexes showed the maximum absorption of 535 and 599.8 nm for vitamin E and C respectively. The Colored solution gave the maximum absorption at 565 and 564.4 nm for the mixture of ferric ammonium sulphate (FAS) and sodium nitro prusside (SNP) with the vitamins and potassium dichromates. The results showed that the value of R^2 (0.9991 and 0.9992) and the detection limit, the quantitative limit, linear rang and R.S.D (0.18 and 0.04) (0.59 and 0.14) (2.40 and 1.22) $\mu\text{g} / \text{ml}$, (0.57 and 0.38) for the ultraviolet- visible method and the flame atomic absorption respectively of vitamin E. The value of R^2 , the detection limit, the quantitative limit, linear rang and R.S.D (0.9993 and 0.9992) (0.24 and 0.09) (0.78 and 0.28) (2 - 45 and 1 - 22) $\mu\text{g} / \text{ml}$, (0.48 and 0.82) for the ultraviolet- visible method and the flame atomic absorption respectively of vitamin C.

The results showed that the value of R^2 was (0.9989 and 0.9991) (0.9979 and 0.9991), detection limit (0.50 and 0.50), (0.10 and 0.25), the quantitative limit (1.65, 1.65), and(0.0. 33 and 0.83), the linearity range is (0.5 - 28, 0.50 - 30) (0.1 - 50, 0.25 - 50) $\mu\text{g} / \text{ml}$, R.S.D (4.28, 3.63), (2.88 and 1.62) for the FAS reagent (ferric ammonium sulphate) and the SNP reagent (and nitro prusside) to determination vitamin E and vitamin C respectively. The results showed that the newly developed methods could be applied to determination vitamins E and C in their pure forms and in pharmaceutical perparations in high accuracy and low cost without needed any for complex treatments.



*Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Diyala
College of Science
Department of Chemistry*



Determination of Vitamins E and C By Complexation Reaction and Oxidation Redaction Using Different Spectral Methods

A Thesis Submitted to the Council of the College of Science, University of
Diyala in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master in
Chemistry

by

NOOR JASSIM MOHAMMED ALI

B.Sc.in Science Chemistry/ Diyala University 2015

Supervised by

Assist. Prof Dr.

Ahmed Mahdi Saeed

Assist. Prof Dr.

Abbas Shebeeb Hassan

1439 *A.H*

IRAQ

2018 *A.D*