



Semnan University

# Applied Chemistry Today

Journal homepage: <https://chemistry.semnan.ac.ir/>

ISSN: 2981-2437



## Research Article

# Measurement of 4-(2-thiazole azo) rososinol acid constants by means of ultraviolet spectroscopy and chemometrics in water-acetonitrile and water-dioxane binary mixtures

Mansoor Namazian\*, Shahriar Jahanbani, Ali Benvidi

Faculty of Chemistry, Yazd University, Yazd, Iran

### PAPER INFO

#### Article history:

Received: 28/Jan/2022

Revised: 14/Nov/2023

Accepted: 29/Nov/2023

#### Keywords:

4- (2-thiazole azo) rososinol, ultraviolet spectroscopy, two rank annihilation factor analysis, acid dissociation constant.

### ABSTRACT

In this paper, by combining ultraviolet spectroscopy and Chemometrics method, the acid dissociation constant of 4- (2-thiazole azo) rososinol was measured. The absorption spectra of the 4- (2-thiazole azo) rososinol solution have a large spectral overlap, so it will be difficult to determine its acid dissociation constant using conventional spectroscopy. Using ultraviolet-visible spectroscopy and two rank annihilation factor analysis (TRAF), acid constants, number of species, molar fraction, relative standard deviation (RSD) and net species spectrum acid dissociation of 4- (2-thiazole azo) rososinol in 20 to 80% v/v of acetonitrile in water and dioxane in water was calculated. The results obtained by the two rank annihilation factor analysis method show the efficiency of this method in determining the solution with high spectral overlap. As the percentage of solvents increases, the acid constant becomes smaller, which can be explained by the fact that the solubility and dielectric constant of water, acetonitrile and dioxane are different. The value of these variables depends on the physical parameters (dielectric constant and induction number).

DOI: <https://doi.org/10.22075/chem.2024.25783.2039>

© 2024 Semnan University.

This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)

\*.Corresponding author: Associate Professor of Physical Chemistry. E-mail address: [namazian@yazd.ac.ir](mailto:namazian@yazd.ac.ir)

**How to cite this article:** Namazian, M., Jahanbani, S., & Benvidi, A. (2024). Measurement of 4-(2-thiazole azo) rososinol acid constants by means of ultraviolet spectroscopy and chemometrics in water-acetonitrile and water-dioxane binary mixtures. *Applied Chemistry Today*, 19(71), 151-166. (in Persian)

## اندازه‌گیری ثابت‌های اسیدی ۴- (۲- تiazول آزو)رزوسینول بوسیله طیف سنجی فرابنفش و شیمی سنجی در مخلوط‌های دوتایی آب-استونیتریل و آب-دیوکسان

منصور نمازیان\*، علی بنویدی، شهریار جهانبانی  
دانشکده شیمی، دانشگاه یزد، یزد، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱۱/۰۸	در این مقاله با تلفیق روش طیف سنجی فرابنفش-مرئی و روش شیمی سنجی، ثابت تفکیک اسیدی ۴-
بازنگری مقاله: ۱۴۰۲/۰۸/۲۳	(۲- تiazول آزو)رزوسینول اندازه‌گیری شد. ۴- (۲- تiazول آزو)رزوسینول برای شناسایی و اندازه‌گیری مقادیر
پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۰۹/۰۸	کم بسیاری از یون‌های فلزی از جمله کبالت، نیکل، مس، و روی مورد استفاده قرار می‌گیرد. به مقدار کم
<b>کلمات کلیدی:</b>	در آب حل بوده و در حلال‌های آلی محلول می‌باشد. طیف جذبی محلول ۴- (۲- تiazول آزو)رزوسینول
۴- (۲- تiazول آزو)رزوسینول، فاکتوری	دارای همپوشانی طیفی زیادی است، بنابراین تعیین ثابت تفکیک اسیدی آن با استفاده از روش طیف سنجی
کاهش دو مرتبه، طیف سنجی	معمولی مشکل خواهد بود. با استفاده از طیف سنجی فرابنفش-مرئی و روش آنالیز فاکتوری کاهش دو
فرابنفش-مرئی، ثابت تفکیک اسیدی	مرتبه (TRAF) ثابت‌های اسیدی، تعداد گونه‌ها، کسر مولی، نمودار انحراف استاندارد نسبی (RSD)
	و طیف خالص گونه‌های حاصل از تفکیک اسیدی ۴- (۲- تiazول آزو)رزوسینول در محلول ۲۰/۰ تا ۸۰/۰
	درصد حجمی استونیتریل در آب و دی‌اکسان در آب محاسبه شد. نتایج بدست آمده از روش آنالیز کاهش
	مرتبه با روش نرم افزاری DATAN به عنوان یک روش مرجع با دقت بالا مقایسه شد و نتایج نشان داد
	که همخوانی خیلی خوبی بین این دو روش وجود دارد. نتایج بدست آمده از روش آنالیز فاکتوری کاهش
	دو مرتبه نشان دهنده کارایی این روش در تعیین ثابت‌های اسیدی گونه‌های با همپوشانی طیفی بالاست. با
	بررسی ثابت تفکیک اسیدی ۴- (۲- تiazول آزو)رزوسینول در حلال‌های مختلف (استونیتریل و دی‌اکسان)
	مشخص می‌شود که با افزایش درصد حلال‌ها ثابت اسیدی کوچکتر می‌شود که این را می‌توان به این صورت
	توضیح داد که قدرت حلال‌پوشی و ثابت دی‌الکتریک آب، استونیتریل و دی‌اکسان با هم متفاوتند.
	DOI: <a href="https://doi.org/10.22075/chem.2024.25783.2039">https://doi.org/10.22075/chem.2024.25783.2039</a>
	This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license. ( <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/</a> )

### ۱- مقدمه

ثابت تفکیک اسیدی یک پارامتر کلیدی و مهم در تعیین میزان یونیزاسیون مولکول‌های در محلول‌های با pH های متفاوت است. تعیین دقیق ثابت اسیدی در زمینه‌های مختلف شیمیایی و بیوشیمیایی مورد نیاز است، زیرا ثابت‌های اسیدی ترکیبات آلی در بسیاری از روش‌های تجزیه‌ای مثل تشکیل کمپلکس، تیتراسیون اسید-باز، استخراج با حلال و انتقال یون نقش مهمی ایفا می‌کنند.

بسیاری از مطالعات جدید در شیمی آلی، مبتنی بر به‌دست آوردن اثرات تعادل اسید-بازی بر تغییرات ساختار مولکولی است. با این حال، برای تعیین ثابت اسیدیته به مشکلات متعددی از قبیل حلالیت کم مولکول‌های آلی در محلول‌های آبی و مقادیر کم ثابت‌های اسیدی می‌توان اشاره کرد. بنابراین، به منظور افزایش ثابت اسیدی از یک سو و افزایش حلالیت از سوی دیگر از مخلوط

حلال‌ها استفاده می‌گردد. مخلوط شدن دو حلال تولید محلولی با خواص فیزیکی و شیمیایی کاملاً متفاوت خواهد کرد [۱-۳]. اطلاعات ترمودینامیکی وابسته به این ثابت‌ها، برای تعیین نقطه پایانی واکنش‌های اسیدی و بازی، شناخت کمی تعادل کمپلکس در محلول‌های آبی، فعالیت آنزیم‌ها و پایداری پروتئین‌ها اهمیت زیادی دارد. در مراجع مختلف نشان داده شده است که خاصیت اسیدی و بازی بر میزان سمیت [۴]، خاصیت بازداری در کروماتوگرافی [۵]، خواص دارویی ترکیبات اسیدی و بازی آلی، تأثیر قابل توجهی دارد [۶].

روش‌های مختلف کلاسیک، اسپکتروسکوپی، الکتروشیمیایی و نیز روش‌های پیچیده تئوری، برای به دست آوردن ثابت‌های اسیدی ترکیبات آلی، در محیط‌های مختلف شیمیایی به کار گرفته می‌شوند. از جمله این روش‌ها می‌توان از روش‌های پتانسیومتری معروف به روش‌های نسبت سنجی جریان برگشتی [۷]، اسپکتروفوتومتری مشتقی [۸]، روش‌های پتانسیومتری مشتقی [۹]، ولتامتری [۱۰]، روش‌های الکتروفورز ناحیه موئینه [۱۱]، اسپکتروسکوپی مادون قرمز تبدیل فوریه [۱۲]، اسپکتروسکوپی رزونانس مغناطیسی پروتون هسته [۱۳]، اسپکتروسکوپی فلئورسانس [۱۴]، روش‌های بنیادی [۱۵]، و روش‌های نیمه تجربی نام برد. تمام روش‌های ذکر شده، با شناخت دقیق نوع گونه، انتخاب شده و مورد استفاده قرار می‌گیرند. روش‌های اسپکتروسکوپی فرابنفش- مرئی به علت سادگی، هزینه پایین، راحتی کار و حساسیت خوب برای مطالعات تعادلات شیمیایی در محلول مناسب‌تر است. همپوشانی طیفی گونه با مزاحمت‌های مختلف، بزرگ‌ترین محدودیت این روش برای تشخیص همزمان چند جزء در تجزیه محلول‌ها است [۱۶].

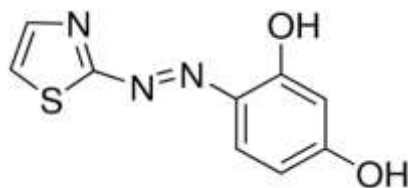
یک روند کلی در شیمی تجزیه تولید حجم بسیار زیادی از داده‌ها به ازای هر نمونه می‌باشد. این مسئله با توجه به توسعه در دستگاهوری و سیستم‌های کامپیوتری که تولید و ذخیره داده‌ها را امکان‌پذیر می‌سازند بسیار حائز اهمیت است. به منظور استفاده موثر از سیستم‌های آنالیز هوشمند روش‌هایی مورد نیاز است که بتوانند به شیمیدان‌های تجزیه در انجام بهینه آزمایش‌ها و استخراج اطلاعات مفید مورد نظر کمک کند. در سال‌های اخیر با پیشرفت ریاضیات در شیمی و توسعه استفاده از شیمی سنجی در تحلیل اطلاعات، روش‌های مختلف آزمایشگاهی به سرعت متحول شده‌اند [۱۷]. تا اواسط دهه ۱۹۶۰ اندازه‌گیری‌های تعادلات بر پایه روش‌های مختلف گرافیکی ارائه و به وسیله گانز خلاصه گردید [۱۸] و بعد از آن با ورود رایانه و طراحی آشکارسازی داده‌های اسپکتروسکوپی به صورت طیف کامل برای تعیین ثابت‌های اسیدی به کار رفت [۱۹]. این روش‌ها مبتنی بر ترکیب مدل‌های سخت و نرم هستند. در روش‌های مدل‌سازی سخت، نتایج بر اساس تبعیت از یک مدل ریاضی محاسبه و بر اساس روابط ریاضی داده‌های اندازه‌گیری شده به صورت کمی توصیف می‌شوند. مشخصه بارز روش‌های نرم عدم نیاز به مدل شیمیایی جهت تحلیل و تفکیک ماتریس داده است.

تلفیق تکنیک‌های هوشمند دستگاهی با روش‌های شیمی سنجی امکان آنالیز مخلوط‌های پیچیده و فرایندهای چند جزئی را فراهم کرده است. با در دست داشتن چنین ابزاری امکان تحلیل داده‌های اندازه‌گیری شده فراهم خواهد شد. از میان روش‌های

شیمی سنجی، تکنیک‌های تفکیک منحنی کاربرد بسیار زیادی در آنالیز چنین سیستم‌هایی دارند. در پژوهش حاضر از روش‌های تفکیک بر پایه شیمی سنجی و آنالیز کاهش مرتبه استفاده شده است. واژه شیمی سنجی در دهه ۱۹۷۰ توسط ولد [۲۰] و کوالسکی [۲۱] مطرح و با تاسیس انجمن بین المللی شیمی سنجی رشد و توسعه شیمی سنجی سرعتی بیش از پیش به خود گرفت و امروزه در زمینه‌های مختلف شیمی به خصوص شیمی تجزیه کاربرد دارد [۲۱]. آنالیز فاکتوری کاهش مرتبه (RAFA) یکی از تکنیک‌های توانمند شیمی سنجی می‌باشد که اساس آن آنالیز مرتبه برای داده‌های طیفی دو بعدی است و جهت آنالیز کمی سیستم‌هایی با همپوشانی طیفی زیاد که آنالیت در آن‌ها شناخته شده و ماتریس ناشناخته است (gray systems) به کار می‌رود [۲۲].

۴-۲- تیزول (آزو)رزوسینول برای شناسایی و اندازه‌گیری مقادیر کم بسیاری از یون‌های فلزی از جمله کبالت، نیکل، مس، و روی مورد استفاده قرار می‌گیرد. به مقدار کم در آب حل بوده و در حلال‌های آلی محلول می‌باشد. اسید آزاد آن به رنگ قرمز و با کم شدن اسیدیته محلول به رنگ‌های زرد، زرد- نارنجی و قرمز- بنفش تغییر می‌کند [۲۳]. این ترکیب به صورت لیگاند دو دندانه یا سه دندانه در تشکیل کی‌لیت‌های محلول یا نامحلول با بسیاری از یون‌های فلزی شرکت می‌کند.

در این پژوهش از روش‌های تفکیک منحنی چند متغیره جهت حذف نویز از داده‌ها، تصحیح خط زمینه، تعیین مرتبه شیمیایی، تعیین نواحی گزینشی و تفکیک ماتریس داده‌ها به الگوهای غلظتی و طیفی جهت شناسایی کیفی گونه‌ها انجام شده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که جهت انجام یک آنالیز کیفی و کمی صحیح در مورد مخلوط‌های پیچیده تلفیق روش طیف سنجی فرابنفش- مرئی با تکنیک‌های تفکیک شیمی سنجی امری کاملاً لازم و ضروری است. همچنین این روش‌ها جهت اندازه‌گیری کمی ثابت‌های اسیدی ترکیب ۴-۲- تیزول (آزو)رزوسینول (TAR)، (شمتیک ۱) مورد استفاده قرار گرفته‌اند. یکی از روش‌های خاص شیمی سنجی که برای اندازه‌گیری کمی ثابت‌های اسیدی مورد استفاده قرار می‌گیرد روش آنالیز کاهش مرتبه است که به عنوان یک ابزار قدرتمند برای برطرف کردن همپوشانی پیک‌ها و تفکیک آنها برای اندازه‌گیری کمی ثابت‌های اسیدی ۴-۲- تیزول (آزو)رزوسینول استفاده شد. در ادامه نتایج بدست آمده از روش آنالیز کاهش مرتبه با روش نرم افزاری DATAN به عنوان یک روش مرجع با دقت بالا مقایسه شد و نتایج نشان داد که همخوانی خیلی خوبی بین این دو روش وجود دارد. نزدیکی داده‌های بدست آمده از روش کاهش مرتبه و DATAN نشان داد که روش کاهش مرتبه برای اندازه‌گیری دقیق کمی ثابت‌های اسیدی مناسب است و روشی است که قابل توسعه برای محلول‌های پیچیده تر و اسیدهای چند عاملی با ثابت‌های اسیدی متفاوت می‌باشد.



شما تیک ۱- ساختار شیمیایی ۴-۲-تiazolol آزو)رزوسینول

## ۲- بخش تجربی

### ۲-۱- مواد شیمیایی و معرف‌های مورد استفاده

برای تهیه محلول ۰/۰۰۰۱ مول بر لیتر ۴-۲-تiazolol آزو)رزوسینول مقدار ۰/۰۰۲۲ گرم از ماده مورد نظر در ۱۰۰ میلی‌لیتر مخلوط آب-استونیتریل و به طور جداگانه مخلوط آب-دی اکسان حل شد و سپس بوسیله دستگاه pH متر pH آن تنظیم شد. برای تنظیم قدرت یونی محلول از محلول ۰/۱ مولار پتاسیم کلرید استفاده شد. فسفریک اسید، استیک اسید، پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات و پتاسیم هیدروکسید استفاده شده در تهیه بافرها، همگی از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. همه مواد شیمیایی دیگر با خلوص "معرف تجزیه‌ای" از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. محلول‌های بافر فسفات با افزودن محلول‌های رقیق  $H_3PO_4$  یا KOH به محلول ۰/۱ مولار نمک  $KH_2PO_4$  (بافر فسفاتی) و محلول‌های بافر استات با افزودن محلول رقیق KOH به محلول ۰/۱ مولار استیک اسید (بافر استاتی) و تنظیم pH محلول حاصل با استفاده از دستگاه pH متر تهیه شدند. دیگر مواد شیمیایی مورد استفاده با درجه خلوص تجزیه‌ای بالا خریداری شده از شرکت مرک و سیگما آلدردیج بوده است. در ضمن برای تهیه کلیه محلول‌ها از آب دو بار تقطیر استفاده شده است.

### ۲-۲- دستگاه‌های مورد استفاده

برای رسم طیف از دستگاه طیف‌سنج Cintra 101 Spectrometr GBC UV-Vis با دقت ۰/۲ نانومتر و سرعت اسکن ۳۰۰ نانومتر بر دقیقه و دستگاه طیف‌سنج Analytik Jena SPECORD-250 با دقت ۱ نانومتر استفاده شد. با استفاده از دستگاه pH سنج مدل ۶۹۲ متروهم و الکتروود ترکیبی شیشه کالومل، pH محلول‌ها اندازه‌گیری شد. از دستگاه مافوق صوت برای به هم زدن مخلوط‌ها و همگن‌سازی استفاده شد. برای ثبت طیف‌های به‌دست آمده، نوشتن و اجرای برنامه‌ها از رایانه شخصی (Core i5) استفاده گردید. از نرم‌افزار MATLAB 11 برای نوشتن برنامه کاهش مرتبه فاکتورها و در آزمایشگاه برای تحلیل طیف‌ها استفاده شد. هم‌چنین از نرم‌افزار سیگما پلات (نسخه ۱۲) و اکسل ۲۰۱۰ برای رسم نمودارها استفاده گردید.

### ۲-۳- آنالیز فاکتوری کاهش مرتبه (RAFA)

روش آنالیز فاکتوری کاهش مرتبه توانایی اندازه‌گیری کمی یک گونه در حضور بافت نامشخص را دارد. از خصوصیات ویژه این روش استفاده از داده‌های دو یا چند بعدی و همچنین قابلیت کاربرد آن در سیستم‌هایی که دارای مشکل کمبود مرتبه هستند

می توان اشاره کرد. کاهش سهم یک جزء شیمیایی از ماتریس داده‌های اولیه، یک روش کلی در RAFA به شمار می‌رود. با این حال، RAFA برای بررسی تعادلات پروتونه‌شدن اسیدهای چند پروتونه کاربرد ندارد. از روش آنالیز فاکتوری کاهش دومرتبه (TRAFA) برای تعیین ثابت‌های اسیدی اسیدهای دوپروتونه استفاده می‌شود. بعد از ثبت طیف‌های جذب الکترونی اسیدها در pHهای مختلف، سهم  $H_2A$  و  $A^{2-}$  از داده‌های جذب کسر شده که تعیین دو ثابت اسیدی متوالی را ممکن می‌سازد. تعادل بین گونه پروتونه و بدون پروتون تحت تأثیر تغییرات pH است. بنابراین می‌توان داده‌های دوبعدی را توسط طیف‌گیری در pHهای مختلف به دست آورد. محلول‌هایی با pH با فواصل مشخص تهیه و طیف هر محلول ثبت می‌گردید. در نتیجه داده‌های دوبعدی از تیتراسیون اسپکتروفوتومتری نمونه‌ها به دست می‌آید. مقادیر جذب به دست آمده در دامنه طول موجی مورد بررسی در هر pH ستون‌های ماتریس داده‌ها را تشکیل می‌دهند. بدین ترتیب ماتریس حاصل به تعداد طول موج‌ها ردیف و به تعداد واحدهای pH ستون خواهد داشت. لازم به ذکر است که ابعاد ماتریس داده‌های مربوط به نمونه‌ی مجهول و نمونه‌ی استاندارد برای انجام اعمال ریاضی در الگوریتم روش آنالیز فاکتوری کاهش مرتبه باید بوده و یعنی هر دو نمونه باید در یک دامنه‌ی طول موجی بررسی شوند (واحدهای pH یکسان). فواصل pH آنقدر نزدیک به هم انتخاب شدند تا در صورت ضرورت امکان درون‌یابی طیف‌ها وجود داشته باشد. داده‌های دوبعدی از حاصل ضرب پروفایل‌های طیفی و غلظتی به دست می‌آید. بدین ترتیب ماتریس مربوط به گونه‌ی استاندارد و مجهول بدست آمده و با توجه به الگوریتم ذکر شده که توسط نرم‌افزار MATLAB برنامه‌نویسی شده بود نمودار مجموع آخرین مقدار ویژه‌ی معنی‌دار نسبت به ضریب k رسم و مینیمم آن مشخص می‌گردد. هنگامی که سهم آنالیت از ماتریس نمونه‌ی مجهول به‌طور کامل حذف گردد، مجموع آخرین مقدار ویژه معنی‌دار به بعد مینیمم خواهد بود. در واقع مرتبه‌ی ماتریس داده‌ها با کم کردن اطلاعات مربوط به لیگاند از ماتریس اصلی داده‌ها کاهش یافته است. در هر مرحله انحراف استاندارد نسبی ماتریس باقیمانده به عنوان فاکتور تخمینی محاسبه شده است. نقاطی که انحراف استاندارد نسبی به مقدار مینیمم خود برسد نشان‌دهنده ثابت تفکیک اسیدی است.

### ۳- بحث و نتیجه‌گیری

#### ۳-۱- اهمیت اندازه‌گیری ثابت اسیدی ۴- (۲- تیزول آزو)رزوسینول

۴- (۲- تیزول آزو)رزوسینول (TAR) ترکیب به شدت حساس به نور است که به عنوان یک شناساگر فلزی در روش‌های تجزیه فوتومتری برای شناسایی و اندازه‌گیری مقادیر کم بسیاری از یون‌های فلزی از جمله کبالت، نیکل، مس، و روی مورد استفاده قرار می‌گیرد. نقطه ذوب آن ۲۰۲-۲۰۰ درجه سانتی‌گراد است و به مقدار کم در آب حل بوده و در حلال‌های آلی محلول می‌باشد. اسید آزاد آن به رنگ قرمز و با کم شدن اسیدیته محلول به رنگ‌های زرد، زرد- نارنجی و قرمز- بنفش تغییر می‌کند [۲۳]. این ترکیب به صورت لیگاند دو دندانه یا سه دندانه‌ای در تشکیل کی‌لیت‌های محلول یا نامحلول با بسیاری از یون‌های فلزی شرکت می‌کند.

۳-۲- طیف‌های جذبی ۴-۲- تiazol آزو)رزوسینول در درصد‌های مختلف آب- استونیتریل و آب-۴و۱- دی اکسان طیف‌های جذبی ۴-۲- تiazol آزو)رزوسینول در محدوده pH ۳/۰-۱۲/۰ که به فاصله ۰/۵ واحد از هم قرار دارند در حلال‌های استونیتریل (۲۰ و ۸۰ درصد) در شکل ۱ (A) و (B) و ۴و۱- دی اکسان (۲۰ و ۸۰ درصد) در شکل ۱ (C) و (D) رسم شده است.

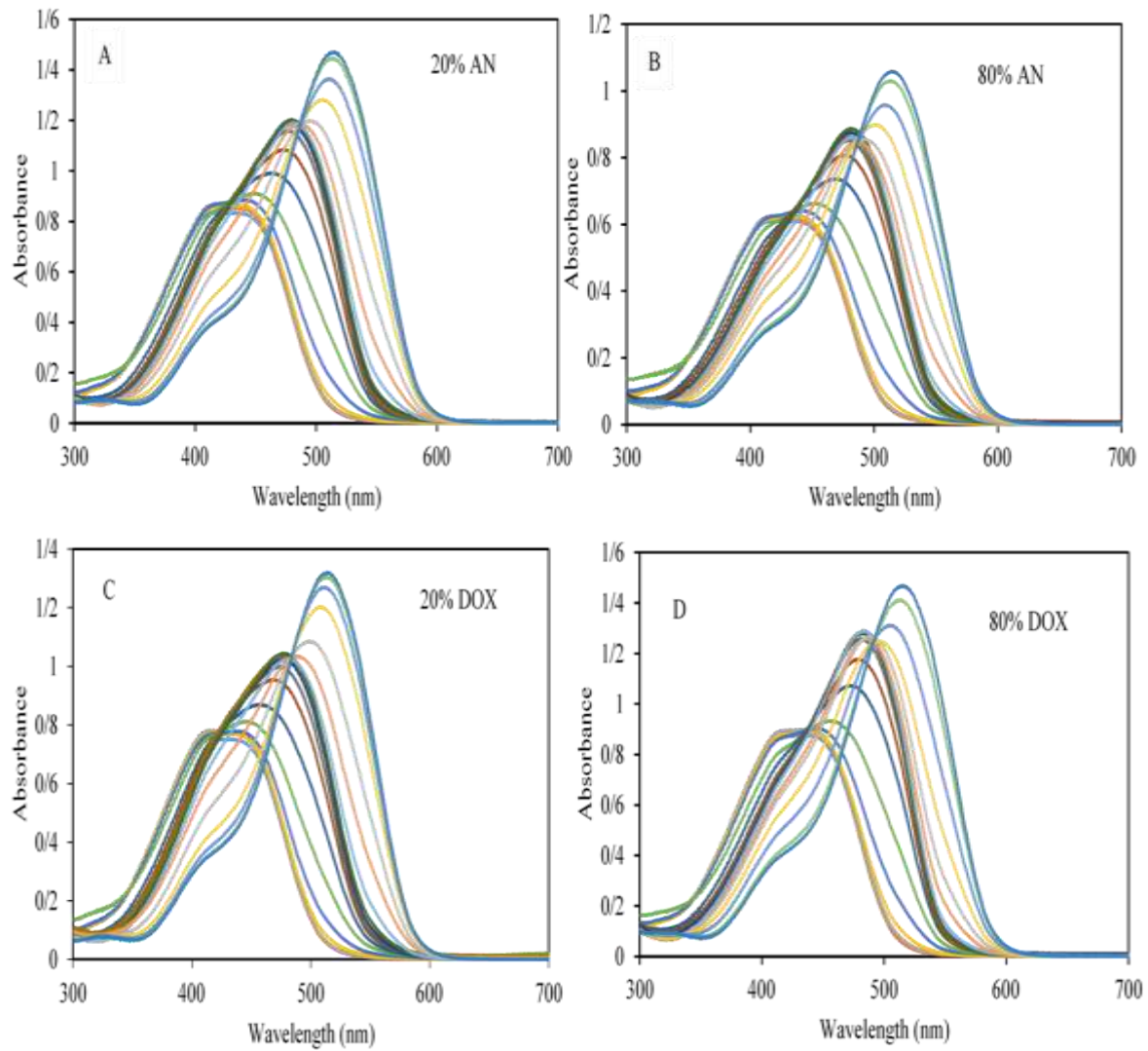
### ۳-۳- تعیین تعداد گونه‌های تعادل

تعیین تعداد گونه‌ها با انجام تحلیل مولفه‌های اصلی (PCA) در نرم افزار مطلب انجام شد. همان‌طور که در شکل ۲ (A) نشان داده شده است محلول TAR در محدوده pH ۳/۰ تا ۱۲/۰ در حلال استونیتریل شامل سه گونه اصلی می‌باشد. شکل ۲ (B) نشان می‌دهد که محلول TAR در حلال دی اکسان شامل سه گونه اصلی می‌باشد.

### ۳-۴- تعیین ثابت اسیدی ۴-۲- تiazol آزو)رزوسینول بوسیله روش آنالیز فاکتوری کاهش دومرتبه TRAFa

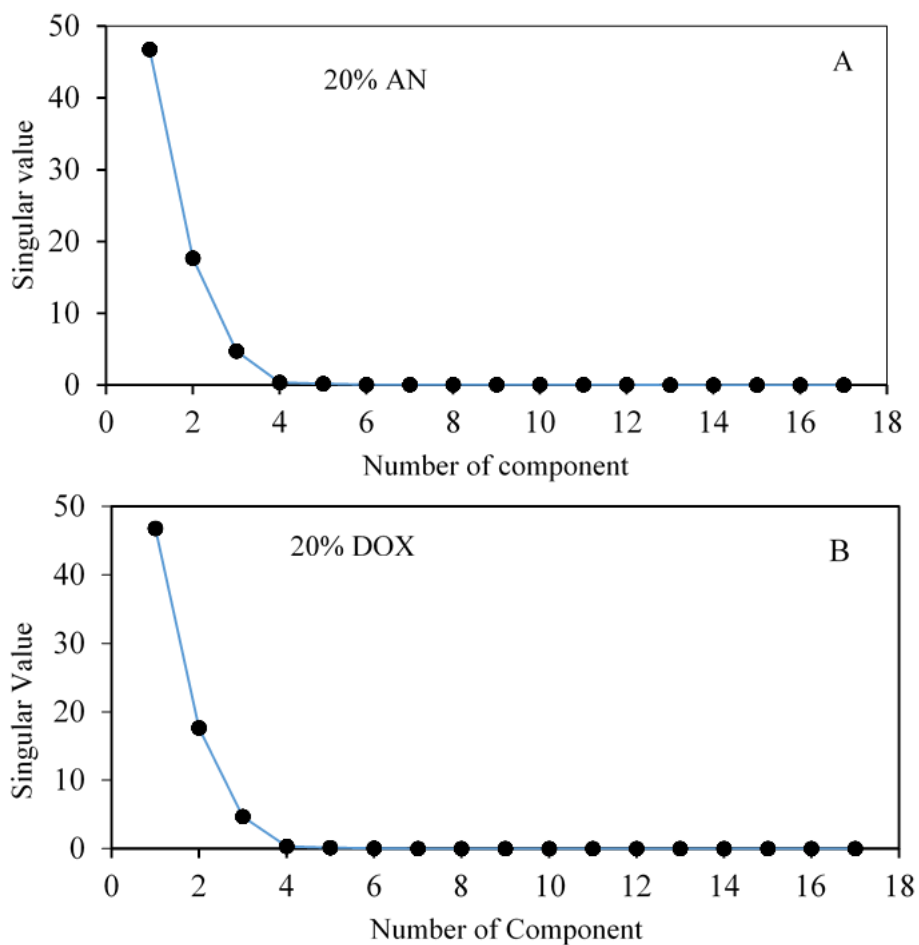
روش RAFA برای تعیین ثابت تفکیک اسیدی اسیدهای تک پروتونه استفاده می‌شود و برای اسیدهای چند پروتونه در صورت فاصله مناسب ثابت‌های اسیدی از یکدیگر کارایی دارد. بدین منظور برای بدست آوردن دقیق ثابت‌های اسیدی TAR از تکنیک TRAFa که در یک مرحله هر دو ثابت اسیدی را بدست می‌آورد استفاده شد. نمودار انحراف استاندارد نسبی (RSD) نسبت به تغییرات  $pK_{a1}$  و  $pK_{a2}$  در دو بعد رسم و در مکانی که RSD به کمترین مقدار خود رسید نشان دهنده مقادیر درست  $pK_{a1}$  و  $pK_{a2}$  می‌باشد.

در شکل ۳ نمودار سه بعدی RSD نسبت به  $pK_{a1}$  و  $pK_{a2}$  در حلال ۲۰ درصد استونیتریل برای ترکیب TAR رسم شده است. بوسیله تکنیک TRAFa برای درصد‌های مختلف حلال‌های استونیتریل و دی اکسان ثابت اسیدی اول و دوم TAR بدست آمد که در جدول ۱ خلاصه شده است.

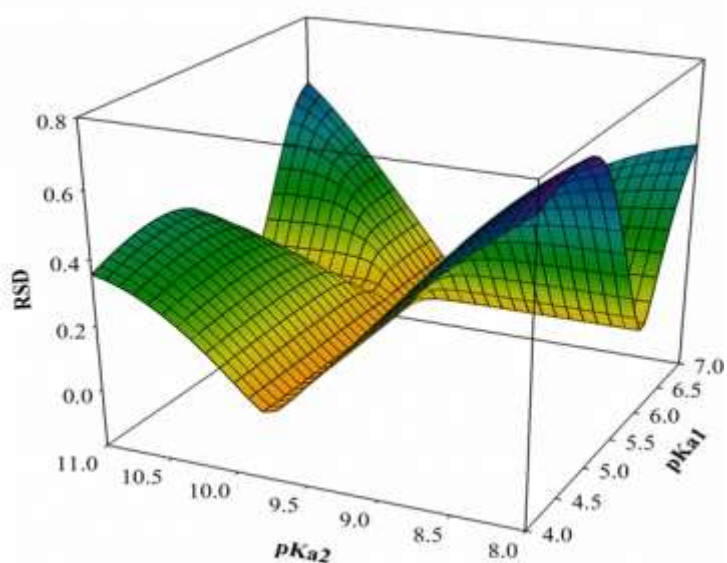


شکل ۱- طیف جذبی ۴-(۲-تiazول آزو)رزوسینول  $0.0001$  مول بر لیتر در محدوده pH های  $3/0$  تا  $12/0$  با فاصله  $0.5$  واحد (A) در محلول ۲۰ درصد حجمی استونیتریل در آب (B) در محلول ۸۰ درصد حجمی استونیتریل در آب (C) در محلول ۲۰ درصد حجمی  $0.4$ -دی اکسان در آب (D) در محلول ۸۰ درصد حجمی دی اکسان در آب





شکل ۲- نتیجه حاصل از تحلیل مولفه‌های اصلی برای TAR (A) در حلال ۲۰ درصد حجمی استونیتریل (B) در حلال ۲۰ درصد حجمی ا و ۴- دی‌اکسان



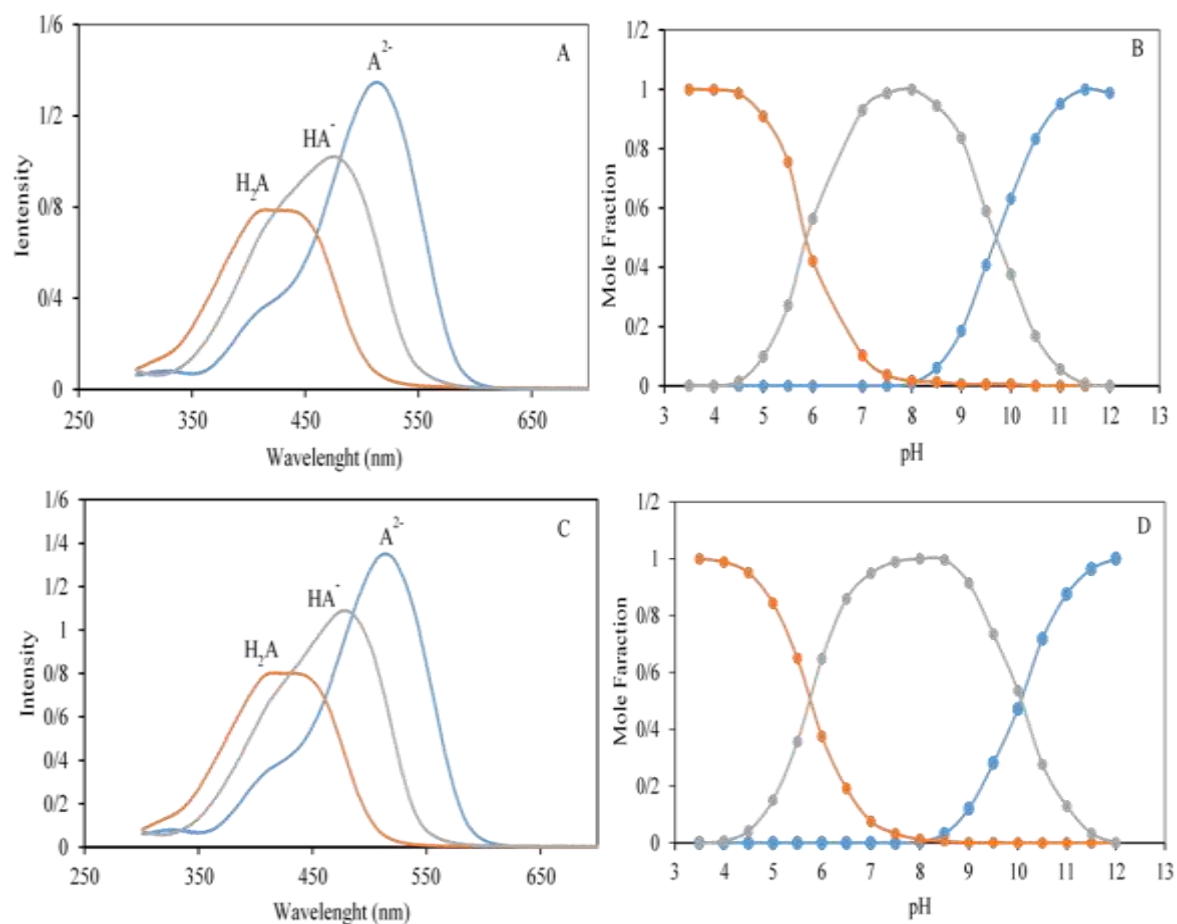
شکل ۳- نمودار سه بعدی R.S.D نسبت  $pK_{a2}$  و  $pK_{a1}$  برای TAR در حلال ۲۰ درصد حجمی استونیتریل در محدوده‌ای pH ۳/۰ تا ۱۲/۰

تکنیک TRAFPA این قابلیت را دارد که بتوان پروفایل غلظتی و طیفی گونه‌های درگیر در تعادل را بدست آورد.

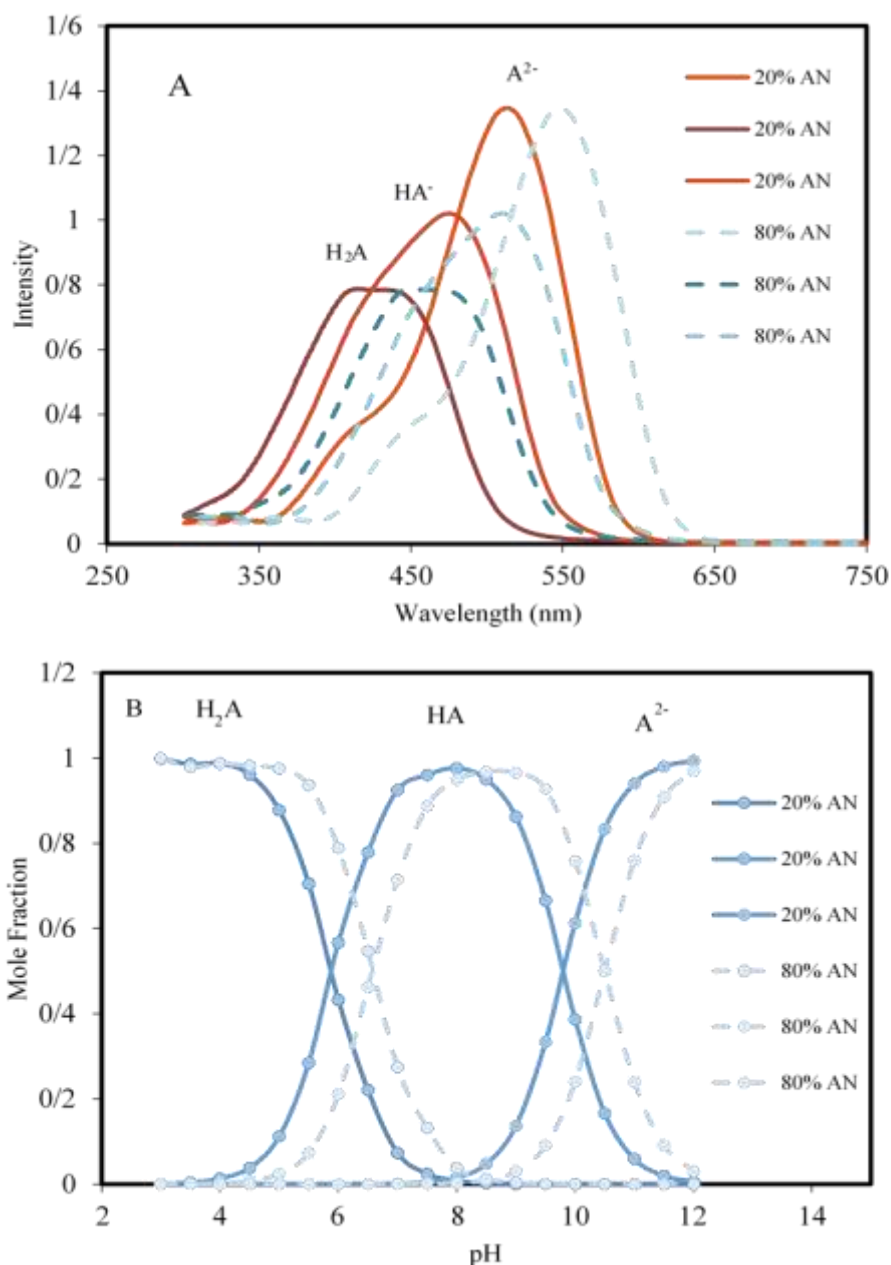
پیک‌های جذبی سه گونه حاصل از تفکیک TAR در حلال ۲۰ درصد استونیتریل در نتیجه‌ای که از TRAFPA به‌دست آورده شد که در شکل ۴ (A) نشان داده شده است به‌ترتیب عبارتند از: ۳۹۵ nm برای  $H_2A$ ، ۴۸۰ nm برای  $HA^-$  و ۵۳۰ nm برای  $A^{2-}$ . شکل ۴ (B) نشان می‌دهد که در محلول TAR در مخلوط ۲۰ درصد حجمی استونیتریل در آب  $H_2A$  تنها گونه‌ی موجود در محلول در pH ۳/۵ و قبل از آن می‌باشد. با افزایش pH کسر مولی  $H_2A$  کاهش می‌یابد. این گونه در pH ۷/۰ و بعد از آن یافت نمی‌شود. مقدار کسر مولی در pH ۵/۷ برای این گونه ۰/۵ می‌باشد. گونه  $HA^-$  در pH ۳/۵ و بالاتر از آن ظاهر می‌شود. بیشترین مقدار این گونه در pH ۸ وجود دارد و پس از آن کاهش می‌یابد. گونه  $A^{2-}$  در pH بالاتر از ۹/۰ ظاهر می‌شود. این گونه در pHهای بالاتر از ۱۱/۵ به بالاترین مقدار خود می‌رسد. مقدار نسبت مولی برای این گونه در pH ۹/۷۵ برابر ۰/۵ می‌باشد. پیک‌های جذبی سه گونه حاصل از تفکیک TAR در حلال ۲۰ درصد دی‌اکسان در شکل ۴ (C) نشان داده شده است به‌ترتیب عبارتند از: ۴۰۲ nm برای  $H_2A$ ، ۴۸۷ nm برای  $HA^-$  و ۵۴۰ nm برای  $A^{2-}$ . شکل ۴ (D) نشان دهنده پروفایل غلظتی TAR در مخلوط ۲۰ درصد حجمی دی‌اکسان در آب می‌باشد که گونه  $H_2A$  در pH ۳/۵ تا ۷/۰ و گونه  $HA^-$  در pH ۳/۵ تا ۱۱/۵ و گونه  $A^{2-}$  در pH ۸/۰ تا ۱۲/۰ وجود دارد.

طیف جذبی خالص اجزای حاصل از تفکیک اسیدی TAR برای نسبت‌های مختلف مخلوط آب و استونیتریل در محدوده pH ۳/۰ تا ۱۲/۰ در شکل ۵ (A) رسم شده است. با استفاده از طیف‌های خالص به دست آمده برای TAR روند تغییرات پیک جذبی گونه‌ها در نتیجه افزایش نسبت حجمی استونیتریل مورد بررسی قرار گرفت. با مقایسه طیف خالص حاصل از TAR در مخلوط حجمی در استونیتریل که در شکل ۵ (A) نشان داده شده است، مشخص می‌شود که افزایش درصد حجمی استونیتریل باعث جابجایی طول موج ماکزیمم به طول موج‌های بلندتر (رنگ قرمز) شده است. این جابجایی می‌تواند به دلیل خاصیت غیرالکترواستاتیک پیوند هیدروژنی باشد که باعث تثبیت بیشتر حالت پایه نسبت به تثبیت حالت برانگیخته، در انتقال از n به  $\pi^*$  می‌شود و از آنجا که آب در مقایسه با استونیتریل پیوند هیدروژنی بیشتر و قویتری دارد، حالت پایه را بیشتر تثبیت می‌کند و برای انتقال الکترونها از پایه به حالت برانگیخته انرژی بیشتری نیاز دارد و بنابراین جذب ماکزیمم در محلول ۸۰ درصد حجمی استونیتریل در آب، در طول موج‌های بالاتری قرار خواهد گرفت [۲۴].

شکل ۵ (B) کسر مولی گونه‌های مختلف موجود در محلول TAR را در محلول ۲۰ و ۸۰ درصد استونیتریل در آب را مقایسه می‌کند. همانطوریکه در شکل ۵ (B) نشان داده شده است، با مقایسه‌ی کسرهای مولی گونه‌های مختلف TAR در مخلوط ۲۰ و ۸۰ درصد استونیتریل در آب مشخص می‌گردد که با افزایش استونیتریل به آب گونه‌های حاصل از تفکیک اسیدی TAR در pHهای بالاتری یافت می‌شوند. این به این دلیل است که افزایش استونیتریل به محیط سبب می‌شود که تفکیک اسید کمتر انجام شود و مقادیر کسرهای مولی برای گونه‌ها به pHهای بالاتری جابجا شود.



شکل ۴- (A) طیف جذبی خالص TAR ۰/۰۰۰۱ مول بر لیتر در محدوده pHهای ۳/۰ تا ۱۲/۰ بدست آمده از روش TRAF-A درمحلول ۲۰ درصد حجمی استونیتریل در آب (B) پروفایل غلظتی درمحلول ۲۰ درصد حجمی استونیتریل در آب (C) طیف جذبی خالص TAR درمحلول ۲۰ درصد حجمی دی اکسان در آب (D) پروفایل غلظتی درمحلول ۲۰ درصد حجمی ۱-۴دی-اکسان در آب.



شکل ۵- (A) طیف جذبی خالص TAR ۰/۰۰۰۱ مول بر لیتر در محدوده pH های ۳/۰ تا ۱۲/۰ بدست آمده از روش TRAFa در محلول ۲۰ و ۸۰ درصد حجمی استونیتریل در آب (B) پروفایل غلظتی در محلول ۲۰ و ۸۰ درصد حجمی استونیتریل در آب

### ۳-۵- مقایسه ثابت‌های اسیدی بدست آمده برای ترکیب TAR بوسیله روش TRAFa با روش DATAN

در جدول ۱ ثابت‌های اسیدی به دست آمده برای TAR توسط روشهای TRAFa، و DATAN در درصدهای مختلف حلال‌های استونیتریل و ۱ و ۴-دی‌اکسان آورده شده است. مقایسه بین مقادیر بدست آمده توسط روش TRAFa و DATAN و نزدیکی داده‌ها به هم نشان می‌دهد که روش پیشنهادی از کارایی خوبی برای بدست آوردن ثابت اسیدی TAR برخوردار است و مقادیر بدست آمده برای TAR در توافق خوبی با دیگر منابع است. مقایسه ثابت‌های اسیدی  $pK_{a1}$  و  $pK_{a2}$  در حلال استونیتریل و ۱ و ۴-

دی‌اکسان، در جدول ۱ مشخص می‌کند که زمانی که از روش TRAFa استفاده شد با مقادیر به‌دست آمده از منابع مطابقت بیشتری دارد.

ثابت‌های اسیدی  $pK_{a1}$  و  $pK_{a2}$  در درصدهای مختلف استونیتریل در آب با افزایش درصد استونیتریل در حلال افزایش یافته است که این را می‌توان به این‌صورت توضیح داد که قدرت حلال‌پوشی و ثابت دی‌الکتریک آب و استونیتریل با هم متفاوتند. مقدار این متغیرها به پارامترهای فیزیکی ( ثابت دی‌الکتریک و عدد القایی) وابسته است. آب حلالی با قدرت آبپوشی بالا است ( ثابت دی‌الکتریک = ۷۸، عدد القایی = ۳۳) به طوری که می‌تواند TAR را تفکیک کند و آنیون و پروتون حاصل را پایدار کند. ولی استونیتریل و ۱-۴-دی‌اکسان در مقایسه با آب ثابت دی‌الکتریک و عدد القایی کمتری دارند (برای استونیتریل ثابت دی‌الکتریک = ۳۷/۵، عدد القایی = ۱۴/۱ برای ۱-۴-دی‌اکسان ثابت دی‌الکتریک = ۲/۲۵، عدد القایی = ۱۴/۸) و از قدرت حلال‌پوشی کمتری در مقایسه با آب برخوردار است که انرژی کمتری نسبت به آب برای تفکیک پروتون و آنیون می‌تواند فراهم کند و در نتیجه باعث تفکیک کمتر اسید و تثبیت کمتر گونه‌های حاصل از تفکیک می‌شود پس انتظار می‌رود با افزایش سهم استونیتریل و دی‌اکسان در مخلوط، برهمکنش میان حلال با پروتون و آنیون کاهش یابد و در نتیجه تفکیک کاهش یابد و بنابراین  $pK_a$  افزایش می‌یابد [۲۶].

جدول ۱- مقادیر بدست آمده  $pK_a$  ترکیب TAR بوسیله روشهای مختلف و در درصدهای متفاوت حلال‌های استونیتریل و ۱-۴-دی‌اکسان (مقادیر گزارش شده برای روش DTAN مربوط به مرجع [۲۵] می‌باشد)

درصد حلال	روش	$pK_{a1}$	$pK_{a2}$
AN: 20%(w/w)	TRAFa	۵/۸۹	۹/۸۰
	DATAN	۶/۰۶	۹/۸۱
AN: 40%(w/w)	TRAFa	۶/۰۷	۹/۹۵
	DATAN	۶/۰۸	۹/۹۲
AN: 60%(w/w)	TRAFa	۶/۳۰	۱۰/۱۰
	DATAN	۶/۰۹	۱۰/۰۵
AN: 80%(w/w)	TRAFa	۶/۶۰	۱۰/۵۰
	DATAN	۶/۲۵	۱۰/۴۲
DOX: 20%(w/w)	TRAFa	۶/۰۰	۱۰/۱۰
	DATAN	۶/۰۸	۹/۸۷
	مرجع [۲۳]	۵/۹۰	۱۰/۳۰
DOX: 40%(w/w)	TRAFa	۶/۰۹	۱۰/۳۰
	DATAN	۶/۱۵	۱۰/۱۵
DOX: 60%(w/w)	TRAFa	۶/۲۰	۱۰/۵۵
	DATAN	۶/۶۳۵	۱۰/۷۲
DOX: 80%(w/w)	TRAFa	۶/۴۲	۱۱/۳۱
	DATAN	۶/۹۶	۱۱/۷۸

## ۴- نتیجه گیری

در این مقاله روشی برای تعیین ثابت‌های اسیدی، اسید دوظرفیتی ۴-(۲-تiazول آزو)رزوسینول ارائه شده است. به علت اهمیت ثابت‌های اسیدی ۴-(۲-تiazول آزو)رزوسینول در شناسایی و اندازه‌گیری مقادیر کم بسیاری از یون‌های فلزی از جمله کبالت، نیکل، مس، و روی در این پژوهش به اندازه‌گیری کمی آن پرداخته شد. طیف جذبی فرابنفش-مرئی محلول ۴-(۲-تiazول-آزو)رزوسینول دارای همپوشانی طیفی زیادی است، بنابراین تعیین ثابت تفکیک اسیدی آن‌ها با استفاده از روش طیف سنجی معمولی مشکل خواهد بود. برای بررسی تعادلات پروتونه شدن اسیدهای چندپروتونه از روش آنالیز فاکتوری کاهش دو مرتبه (TRAF) برای تعیین ثابت‌های اسیدی اسیدهای دی‌پروتیک استفاده می‌شود. اندازه‌گیری آنالیت در حضور ماتریکس نامعلوم و همچنین حل سیستم‌های دارای مشکل کمبود مرتبه (Rank) از مزایای روش آنالیز فاکتوری کاهش مرتبه محسوب می‌شود. با بررسی  $pK_a$  های TAR در حلال‌های مختلف مشخص می‌شود که با افزایش درصد حلال‌ها ثابت اسیدی کوچکتر می‌شود. با مقایسه نتایج بدست آمده از روش آنالیز کاهش مرتبه با روش نرم افزاری DATAN به عنوان یک روش مرجع با دقت بالا نتیجه‌گیری شد که، همخوانی خیلی خوبی بین این دو روش وجود دارد. نزدیکی داده‌های بدست آمده از روش کاهش مرتبه و DATAN نشان داد که روش کاهش مرتبه برای اندازه‌گیری دقیق کمی ثابت‌های اسیدی مناسب است و روشی است می‌توان توسعه داد و برای محلول‌های پیچیده تر و اسیدهای چند عاملی با ثابت‌های تفکیک اسیدی متفاوت مورد استفاده قرار داد.

## ۵- مراجع

- [1] Momeni-Isfahani, T., & Niazi, A. (2014). Spectrophotometric determination of acidity constants of 2-(2-Thiazolyloazo)-Cresol in various water-organic solvent media mixtures using chemometrics methods. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 120, 630-635.
- [2] M. A. El-Gahami, A. E. Mekky, T. S. Saleh and A. S. Al-Bogami, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **129**(2014) 209-218.
- [3] Bordbar, M., Faal, A. Y., Ahari-Mostafavi, M. M., Gharagozlou, M., & Fazaeli, R. (2013). Multi-wavelength spectrophotometric determination of acidity constants of some salicylaldehyde derivatives. *Journal of Molecular Liquids*, 178, 70-77.
- [4] Cordero, J. A., He, K., Janya, K., Echigo, S., & Itoh, S. (2021). Predicting formation of haloacetic acids by chlorination of organic compounds using machine-learning-assisted quantitative structure-activity relationships. *Journal of Hazardous Materials*, 408, 124466.
- [5] Kishikawa, N., El-Maghrabey, M. H., & Kuroda, N. (2019). Chromatographic methods and sample pretreatment techniques for aldehydes determination in biological, food, and environmental samples. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 175, 112782.
- [6] Şöhretoğlu, D., & Renda, G. (2020). Medicinal natural products in osteoporosis. In *Annual reports in medicinal chemistry* (Vol. 55, pp. 327-372). Academic Press.

- [7] Tanaka, H., Tachibana, T., Oda, R., & Dasgupta, P. K. (2004). Determination of acid dissociation constants based on continuous titration by feedback-based flow ratiometry. *Talanta*, 64(5), 1169-1174..
- [8] Ghaedi, M., Hajati, S., Barazesh, B., Karimi, F., & Ghezlbash, G. (2013). *Saccharomyces cerevisiae* for the biosorption of basic dyes from binary component systems and the high order derivative spectrophotometric method for simultaneous analysis of Brilliant green and Methylene blue. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 19(1), 227-233.
- [9] Al-Saidi, H. M., Gouda, G. A., & Farghaly, O. A. (2020). Potentiometric study of a new Schiff base and its metal ion complexes: preparation, characterization and biological activity. *International Journal of Electrochemical Science*, 15(11), 10785-10801.
- [10] Berzas, J. J., Rodríguez, J., & Castañeda, G. (1997). Partial least squares method in the analysis by square wave voltammetry. Simultaneous determination of sulphamethoxypyridazine and trimethoprim. *Analytica chimica acta*, 349(1-3), 303-311.
- [11] Tanikami, Y., Mizuguchi, H., & Takayanagi, T. (2021). Determination of Two-Steps Acid Dissociation Constants of L-Ascorbic Acid by Capillary Zone Electrophoresis. *Chromatography*, 42(1), 49-54.
- [12] Dhongde, V. R., De, B. S., & Wasewar, K. L. (2019). Experimental study on reactive extraction of malonic acid with validation by Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 64(3), 1072-1084.
- [13] Lopalco, A., & Stella, V. J. (2016). Effect of molecular structure on the relative hydrogen peroxide scavenging ability of some  $\alpha$ -keto carboxylic acids. *Journal of pharmaceutical sciences*, 105(9), 2879-2885.
- [14] Taskiran, D. T., Urut, G. O., Ayata, S., & Alp, S. (2017). Spectrofluorimetric and Potentiometric Determination of Acidity Constants of 4-(4'-Acetyloxy-3'-Methoxybenzylidene)-5-Oxazolone Derivatives. *Journal of fluorescence*, 27, 521-528.
- [15] Shamsipur, M., Hemmateenejad, B., Akhond, M., & Sharghi, H. (2001). Quantitative structure–property relationship study of acidity constants of some 9, 10-anthraquinone derivatives using multiple linear regression and partial least-squares procedures. *Talanta*, 54(6), 1113-1120.
- [16] Safavi, A., & Abdollahi, H. (2001). Application of the H-point standard addition method to the speciation of Fe (II) and Fe (III) with chromogenic mixed reagents. *Talanta*, 54(4), 727-734.
- [17] Daldal, Y. D., & Demiralay, E. Ç. (2020). Chromatographic and UV–visible spectrophotometric pKa determination of some purine antimetabolites. *Journal of Molecular Liquids*, 317, 113930.
- [18] Gans, P., Sabatini, A., & Vacca, A. (1996). Investigation of equilibria in solution. Determination of equilibrium constants with the HYPERQUAD suite of programs. *Talanta*, 43(10), 1739-1753.
- [19] Gampp, H., Maeder, M., Meyer, C. J., & Zuberbühler, A. D. (1985). Calculation of equilibrium constants from multiwavelength spectroscopic data—I: Mathematical considerations. *Talanta*, 32(2), 95-101.

- [20] Wold, S., Albano, C. W. J. D., Dunn, W. J., Edlund, U., Esbensen, K., Geladi, P., ... & Sjöström, M. (1984). Multivariate data analysis in chemistry. *Chemometrics: mathematics and statistics in chemistry*, 17-95.
- [21] Sharaf, M. A., Illman, D. L., & Kowalski, B. R. (1986). *Chemometrics* (Vol. 117). John Wiley & Sons.
- [22] Bahram, M., Hasani, M., & Bahari, S. (2016). Mean centering of ratio spectra for dye degradation study in Fenton reaction. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 13, 449-455.
- [23] Bishop, E. (Ed.). (2013). *Indicators: international series of monographs in analytical chemistry* (Vol. 51). Elsevier.
- [24] Skoog, D. A., & Leary, J. J. (2013). *Instrumentelle Analytik: Grundlagen-Geräte-Anwendungen*. Springer-Verlag.
- [25] Benvidi, A., Heidari, F., Ardakani, M. M., Hajishabani, A. M., & Ghasemi, J. (2010). Spectrophotometric determination of acidity constants of 4-(2'-thiazolylazo)-resorcinol (TAR) in water-organic mixtures. *Chinese Chemical Letters*, 21(6), 725-729.
- [26] Rived, F., Canals, I., Bosch, E., & Rosés, M. (2001). Acidity in methanol-water. *Analytica chimica acta*, 439(2), 315-333.