

استفاده از گرافن اکسید اصلاح شده برای میکرو استخراج فاز جامد سیپروفلوکساسین از آب دریا و بهینه‌سازی آن با کمومتریکس

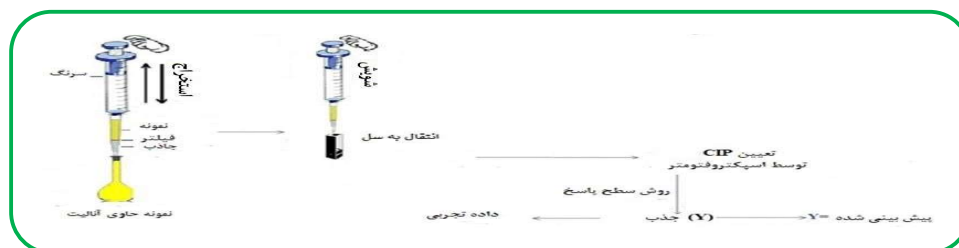
فاطمه کیخا^۱، سید حسین هاشمی^{۱*}، مسعود کیخوایی^۲ و احمد جمالی کیخا^۳

^۱ گروه شیمی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
^۲ گروه مهندسی فرآیند و تکنولوژی شیمی، دانشکده شیمی، دانشگاه پلی تکنیک گدانسک، گدانسک، لهستان
^۳ گروه مکانیک، دانشکده مهندسی دریا، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

تاریخ دریافت: ۲۸ آذر، ۱۴۰۰ تاریخ پذیرش: ۲ تیر، ۱۴۰۱

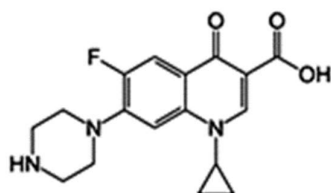
چکیده: یک نانوکامپوزیت جدید از گرافن اکسید/روی اکسید ساخته و برای میکرو استخراج فاز جامد در سرسمپلر سیپروفلوکساسین از نمونه‌های آب دریا و نمونه پلاسمای خون انسان به‌کار گرفته شد. اندازه‌گیری‌های کمی با استفاده از طیف‌سنجی فرابنفش-مرئی انجام گردید. عامل‌های مؤثر بر کارایی استخراج مانند نوع و حجم حلال شوینده، حجم محلول نمونه، تعداد چرخه‌های استخراج و شویش، مقدار جاذب، قدرت یونی و pH محلول نمونه با استفاده از دو روش یک متغیر در یک زمان و روش رویه پاسخ، مطالعه و بهینه شدند. محدوده خطی این روش بین ۲۰۰/۰ تا ۰/۱ میکروگرم برلیتر برای سیپروفلوکساسین محاسبه گردید و حد تشخیص روش، ۰/۱۷ میکروگرم برلیتر و تکرارپذیری به صورت درصد انحراف استاندارد نسبی، بهتر از ۵/۶ درصد به‌دست آمد. نتایج حاصل از کاربرد این روش در تجزیه نمونه‌های حقیقی نشان داد که می‌توان از این روش برای تعیین سیپروفلوکساسین در نمونه‌های پیچیده‌ای مثل آب دریا و پلاسمای خون انسانی با موفقیت استفاده کرد.

کلید واژه: آب دریا، پلاسمای خون انسانی، سیپروفلوکساسین، میکرواستخراج فاز جامد در سرسمپلر، نانوکامپوزیت گرافن/اکسید روی



۱- مقدمه

سیپروفلوکساسین (CIP، شکل ۱)، مشتقی از فلوروکینولون‌ها و نالیدیکسیک-اسید است [۱ و ۲]. فلوروکینولون‌ها شامل مجموعه گسترده‌ای از مواد ضدباکتریایی مشتق شده از نالیدیکسیک-اسید هستند که در سال ۱۹۶۲ به طور تصادفی کشف شدند [۳]. وجود روز افزون آنتی‌بیوتیک‌ها در محیط‌های آبی به علت کاربرد گسترده‌شان، باعث مقاومت میکروبی و باکتریایی شده و حضور این ترکیب‌ها در محیط‌های آبی روی موجودات آبی اثرهای سمی دارند. علاوه بر این، عدم تجزیه زیستی آن‌ها باعث ماندگاری زیاد این ترکیب‌ها می‌شود [۴].



شکل ۱. ساختار شیمیایی سیپروفلوکساسین.

اداره غذا و داروی آمریکا حد قابل تحمل این دارو و متابولیت‌های آن‌ها را در اندام‌های حیوانی حداکثر ۵۰۰ نانوگرم در گرم تعیین کرده است [۵]. امروزه مشخص شده که در بعضی محیط‌های آبی در محیط‌زیست، حضور

نمونه‌های پیچیده، استخراج فاز جامد میکرو در سرسمپلر (PT- μ SPE) است. این روش یک نمونه مینیاتوری از استخراج فاز جامد است که در آن ترکیب‌های هدف با تکرار عبور و شستشوی نمونه و حلال شوینده روی جاذب، میکرواستخراج می‌گردند. این روش ویژگی‌های منحصر به فردی نظیر سادگی، قیمت پایین، کاهش قابل توجه مصرف واکنشگر، زمان، جاذب و حلال‌های آلی، شرایط استخراج آسان و امکان یکپارچه‌سازی استخراج را در مقایسه با روش‌های رسمی دارد [۱۶].

در این پژوهش، ابتدا استخراج فاز جامد میکرو در سرسمپلر ترکیب سیپروفلوکسازین از نمونه‌های آب دریای خلیج جابهار توسط جاذب جدید نانوکامپوزیت گرافن اکسید/روی اکسید، (GO/ZnO)، صورت گرفت و سپس برای تجزیه آن از دستگاه طیف‌سنج نوری استفاده شد. عوامل موثر بر استخراج نیز بررسی و بهینه شدند. روش رویه پاسخ نیز برای بهینه‌سازی شرایط استخراج به‌کار رفت.

۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد شیمیایی

تمام نمک‌ها، اسیدها و حلال‌های آلی با خلوص تجزیه‌ای، از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. محلول استوک ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سیپروفلوکسازین در هیدروکلریدریک اسید یک دهم مولار تهیه و در تاریکی و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. محلول‌های کاری، روزانه با رقیق سازی از محلول استوک تهیه شدند.

۲-۲- دستگاه‌ها

اندازمگیری‌ها توسط طیف‌سنج نوری فوتونیکس Ar مدل UV-Vis 2015 ساخت ایران در طول موج ۲۳۰ نانومتر مجهز به میکروسول‌های ۱۰۰ میکرولیتری انجام شد. pH محلول‌ها با استفاده از یک pH متر مترام مدل ۶۳۰ مجهز به الکتروود ترکیبی شیشه‌کالمول تعیین شد.

۲-۳- ساخت نانوذرات روی اکسید (ZnO)

برای ساخت نانو ذرات روی اکسید، ۲ گرم روی سولفات در سدیم هیدروکسید و به مدت ۱۲ ساعت هم‌زده شد. محصول جامد سفید رنگ به دست آمده، چهار مرتبه با آب مقطر شسته و از طریق صاف کردن جمع آوری و در پایان برای به دست آمدن نانوذرات روی اکسید هوای آزاد خشک شد [۱۶].

۲-۴- تهیه و خالص‌سازی گرافن اکسید

گرافن اکسید از گرافیت طبیعی به روش هامر تهیه گردید. به طور خلاصه، یک گرم گرافیت، ۶ گرم پتاسیم پرمنگنات و یک گرم سدیم نیترات با ۶۴ میلی‌لیتر سولفوریک اسید ۹۸ درصد با هم مخلوط شدند. سپس محلول

فلوروکینولون‌ها از جمله سیپروفلوکسازین به گستره چند نانوگرم تا میکروگرم بر لیتر هم می‌رسد که نگران کننده می‌باشند [۶]. بنابراین، معرفی روش‌های جدید برای اندازه‌گیری این ترکیب در آب و خون ضروری به نظر می‌رسد. روش‌های مختلف تجزیه‌ای برای تعیین CIP همانند طیف‌سنجی نوری [۱ و ۷]، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با آشکارساز فرابنفش- مرئی [۸ و ۹] و آشکارساز فلونورسانس [۱۰ و ۱۱]، الکتروفورز مونیته [۱۲] و کروماتوگرافی مایع با آشکارساز طیف‌سنج جرمی [۱۳]، برای تعیین CIP بکار رفته‌اند. به علت غلظت ناچیز این ترکیب و اثر مزاحمت بافت پیچیده نمونه‌های حقیقی، برای تجزیه CIP یک مرحله پیش‌تغلیظ و جداسازی قبل از ورود نمونه به دستگاه، ضروری است [۵]. به کار بردن یک روش استخراج می‌تواند هم سبب تغلیظ ترکیب شده و همچنین هم‌زمان عوامل مزاحم را حذف نماید. برای استخراج سیپروفلوکسازین، روش‌هایی مانند استخراج فاز جامد (SPE) [۱]، میکرواستخراج فاز جامد (SPME)، نانوذرات مغناطیسی پوشش‌دار شده با سیلیکا با سالیسیلیک اسید [۱]، میکرواستخراج مایع- مایع پخششی [۱۴] و مولکول نگاری پلیمری [۴] به‌کار رفته‌اند.

در سال ۲۰۰۴، گرافن بعنوان جدیدترین عضو خانواده نانومواد کربنی توسط آندره گایم و کنستانتین نوسلف ساخته شد [۱۵]، بدلیل ظرفیت جذب بسیار بالا، گرافن برای آماده‌سازی نمونه در شیمی تجزیه بسیار مورد توجه می‌باشد. از گرافن به عنوان جاذب در روش استخراج فاز جامد برای پیش‌تغلیظ و جداسازی آنالیت‌های مختلف از محیط‌های گوناگون استفاده شده است. در این روش، گرافن به عنوان یک محیط جاذب برای جداسازی انتخابی ترکیب‌های هدف به‌کار می‌رود. از دلایل استفاده از گرافن به عنوان جاذب در استخراج فاز جامد می‌توان به موارد زیر اشاره نمود: ظرفیت جذب بالای گرافن به دلیل سطح بزرگ و در دسترس بودن هر دو طرف لایه گرافن برای جذب، ساختن گرافن با لایه‌برداری از گرافیت، داشتن محل‌های زیاد برای عامل‌دار کردن این جاذب و دارا بودن رسانایی الکتریکی عالی [۱۶].

گرافن اکسید شامل اتم‌های اکسیژن بسیاری در صفحه پایه بوده و لبه آن دارای گروه‌های اپوکسی، هیدروکسیل و کربوکسیل است. این گروه‌های اکسیژن‌دار می‌توانند با مولکول‌های آلی با بار مثبت برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی برقرار کنند. نیمه‌هادی روی اکسید با ریخت‌های مختلف دارای چندین ویژگی مطلوب شامل: شفافیت خوب، تحرک الکترونی زیاد، شکاف نوار وسیع و درخشندگی در دمای اتاق است. بارگیری نانوذرات ZnO روی ورقه‌های گرافن اکسید می‌تواند موجب افزایش سطح دسترس و ظرفیت جذب شده و در نتیجه برای حذف، استخراج و پیش‌تغلیظ آنالیت‌ها از جمله سیپروفلوکسازین مناسب باشد [۱۶].

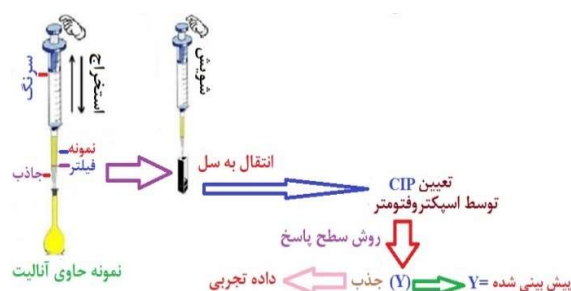
یکی از روش‌های پیش‌تغلیظ و استخراج آنالیت از

همچنین بازیابی روش توسط معادله ۲ حاصل گردید:

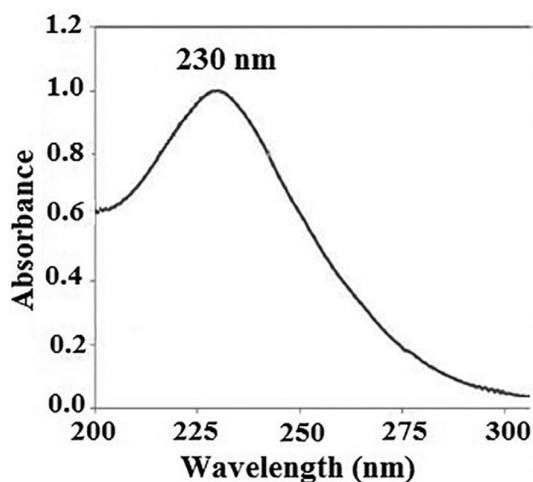
$$R = \frac{\text{اضافه شده}}{C} / (\text{اولیه} - C) \quad (2)$$

دقت روش که به صورت انحراف معیار نسبی (RSD) محاسبه شده است با انجام تکرار سه اندازه‌گیری از نمونه مورد بررسی قرار گرفت.

با هدف به دست آوردن بهترین کارایی روش پیشنهادی، عوامل مختلفی که بر کارایی استخراج اثر می‌گذارند، با استفاده از دو روش رویه پاسخ و 'یک متغیر در یک زمان' مورد بررسی قرار گرفتند. این عوامل شامل نوع و حجم حلال، میزان جاذب، تعداد چرخه‌های استخراج و شویش، pH محلول نمونه و حجم نمونه بودند. هر آزمایش سه مرتبه تکرار شد. بهینه‌سازی روش GO/ZnO PT- μ SPE با استفاده از محلول‌های استاندارد ۱۵۰ میکروگرم بر لیتر از CIP صورت پذیرفت.



شکل ۳. طرح سامانه استخراج GO/ZnO PT- μ SPE برای CIP.



شکل ۴. طیف جذبی سیپروفلوکساسین با غلظت ۲۰ میکروگرم بر لیتر پس از میکرواستخراج با روش پیشنهادی.

به مدت ۳ ساعت در حمام یخ قرار گرفت و به تدریج ۱۰۰ میلی‌لیتر آب بدون یون به آن اضافه و دمای آن به مدت ۳۰ دقیقه در حالی که محلول به طور مداوم هم می‌خورد، در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد حفظ شد. سپس ۳۰۰ میلی‌لیتر آب بدون یون به آرامی اضافه گردید و دمای آن به ۴۰ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت. بعد از آن، هیدروژن پراکسید (۱۰ میلی‌لیتر، ۳۰ درصد) اضافه و مخلوط واکنش سانتریفیوژ شد. فرآورده جامد جدا و با هیدروکلریک اسید یک دهم مولار و پس از آن با آب بدون یون شستشو داده شد تا زمانی که pH آب به خنثی رسید. در پایان، جامد به دست آمده در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت خشک شد [۱۶].

۲-۵- تهیه نانوکامپوزیت GO/ZnO

برای تهیه نانوکامپوزیت GO/ZnO، ۱ گرم از اکسید گرافن در ۴ میلی‌لیتر اتانول پخش شد و برای ۲ ساعت در حمام فراصوت قرار گرفت (محلول GO). یک گرم از نانوذرات روی اکسید در ۳/۴ میلی‌لیتر متانول و چهار دهم میلی لیتر کلروفرم در حمام فراصوت به مدت ۲ ساعت قرار داده شد (محلول روی اکسید). سپس این دو محلول با هم مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت هم‌زده شدند. رسوب حاصل با سانتریفیوژ جمع‌آوری و چندین مرتبه با متانول شسته شد. محصول نهایی به مدت یک روز در خشک کننده سرمایی، نگهداری شد [۱۶].

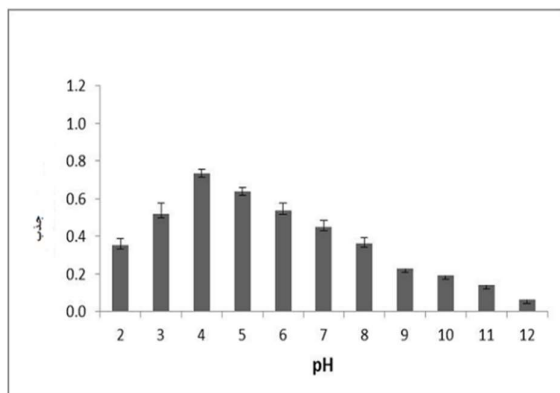
۲-۶- روش کار فرایند استخراج

برای بهینه‌سازی استخراج با نانوکامپوزیت، از محلول استاندارد ۱۵۰ میکروگرم بر لیتر از CIP استفاده شد. ابتدا ۱/۵ میلی‌گرم از نانو کامپوزیت درون سرسمپلر ۱۵۰ میکرولیتری قرار داده شد، سپس pH محلول استاندارد توسط هیدروکلریک اسید روی ۴ تنظیم گردید. بعد از آن، ۰/۲۰ گرم سدیم کلرید اضافه و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول استاندارد آماده شده ۳ مرتبه به درون سرسمپلر کشیده و خالی شد تا CIP روی جاذب استخراج شود. شویش آنالیت با ۳۵۰ میکرولیتر متانول: اسید (۱:۲) برای ۹ مرتبه صورت پذیرفت و در پایان، این حلال شوینده برای اندازه‌گیری آنالیت، بدون سل دستگاه طیف‌سنج فرابنفش-مرئی منتقل گردید. هر آزمایش ۳ بار تکرار گردید. شکل ۳ طرحی از این فرآیند می‌باشد و طیف جذبی CIP پس از استخراج، در شکل ۴ نشان داده شده است.

۳- نتایج و بحث

درصد استخراج آنالیت (%E) با استفاده از معادله (۱) محاسبه شد:

$$\%E = \frac{\text{غلظت آنالیت بعد از استخراج}}{\text{غلظت آنالیت قبل از استخراج}} \times 100 \quad (1)$$



شکل ۴. اثر pH روی کارایی استخراج سیپروفلوکساسین با GO/ZnO PT- μ SPE.

چرخه‌های استخراج و شوی، نشان داد که چرخه‌های استخراج و شوی به ترتیب ۳ و ۹ مرتبه برای CIP می‌باشد. در چرخه‌های استخراج و شوی کمتر از مقدارهای بهینه، شوی کامل صورت نگرفته و در چرخه‌های استخراج بیشتر از مقدارهای بهینه، برگشت آنالیت به محلول و برای مرحله شوی بیشتر از مقدارهای بهینه، بازگشت آنالیت به جاذب رخ می‌دهد.

۳-۵- اثر حجم نمونه

اثر حجم نمونه بر کارایی روش با افزایش حجم نمونه از ۲ تا ۱۲ میلی‌لیتر، مطابق روش کار گفته شده، بررسی شد. کارایی استخراج با بالا رفتن حجم تا ۱۰ میلی‌لیتر برای CIP بهبود ایجاد کرد (به دلیل افزایش عامل پیش‌تغلیظ) و بعد آن به دلیل رقیق شدن آنالیت کاهش نشان داد. بنابراین، حجم ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه برای آزمایش‌های بعدی انتخاب گردید.

۳-۶- اثر مقدار جاذب

یکی از دیگر عوامل موثر بر کارایی استخراج، مقدار جاذب استفاده شده در سرسمپلر می‌باشد. مقدار ۱ تا ۴ میلی-گرم از جاذب GO/ZnO مورد ارزیابی قرار گرفت. ابتدا به دلیل کم بودن مقدار جاذب، استخراج ناقص و جذب کم است. بررسی‌ها نشان داد که مقدار ۱/۵ میلی‌گرم برای این آنالیت بهترین کارایی را دارد (افزایش کارایی تا ۱/۵ میلی‌گرم به دلیل بالا رفتن سطح تماس بین جاذب و آنالیت رخ می‌دهد). با افزایش بیشتر جاذب، جذب به دلیل عبور سخت‌تر نمونه و حلال شوینده، کاهش می‌یابد.

۳-۷- روش رویه پاسخ

روش رویه پاسخ (RSM)، یک فرآیند بهینه‌سازی برای انتخاب بهترین شرایط برای میکرواستخراج فاز جامد آنالیت‌های مختلف است. در این پژوهش، متغیرهای مهم

۱-۳- اثر نوع و حجم حلال شوینده

انتخاب حلال مناسب برای شستشو از مهم‌ترین مراحل در واجذب آنالیت‌های جذب شده روی جاذب است. برای شوی موثر آنالیت‌ها با حداقل مقدار حلال، حلال‌های مختلف آلی نظیر استونیتریل، متانول، اتانول، متانول/آب (۱:۲)، متانول/آب (۱:۱)، متانول/آب (۲:۱)، متانول/استیک اسید (۱:۱)، متانول/استیک اسید (۱:۲)، متانول/استیک اسید (۲:۱)، HCl نیم و یک مولار، متانول حاوی ۵ درصد استیک اسید و استیک اسید مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج حاصله بیانگر این است که حلال متانول/استیک اسید (۱:۲) برای CIP بهترین کارایی را دارد. دلیل این امر می‌تواند این باشد که این حلال قطبی با ثابت دی-الکتریک بالا می‌تواند براحتی آنالیت مورد نظر را حل نماید. برای انتخاب حجم حلال شوینده بهینه، حجم‌های مختلفی از حلال انتخاب شده در محدوده ۱۰۰ تا ۴۰۰ میکرولیتر بررسی گردید. با توجه به نتایج، مشخص شد که حجم ۳۵۰ میکرولیتر از حلال شوینده بهترین عملکرد را داراست چرا که در حجم‌های کمتر از ۳۵۰ میکرولیتر از حلال شوینده، شوی کامل صورت نگرفته و در حجم‌های بالاتر رقیق‌سازی آنالیت رخ می‌دهد. پس برای آزمایش‌های بعدی از این حجم استفاده گردید.

۲-۳- اثر pH

اثر pH بر بازده استخراج آنالیت‌ها از نمونه‌های آبی در محدوده ۲ تا ۱۲ مطابق روش کار گفته شده بررسی گردید. کارایی استخراج در pH=۴ بهترین عملکرد را برای استخراج CIP نشان داد. بنابراین ۴ به عنوان pH بهینه در آزمایش‌های بعدی به کار رفت (شکل ۴).

۳-۳- بررسی تاثیر نوع و غلظت نمک

در استخراج، اثر نمک به طور گسترده ای بررسی می‌شود، زیرا نمک موجب حلالیت کمتر آنالیت‌ها در فاز آبی (نمونه) شده و آنالیت‌ها بیشتر به فاز استخراجی وارد می‌شوند [۱۶]. تاثیر نوع نمک بر فرآیند استخراج مطابق روش کار گفته شده بررسی گردید. نمک‌های NaCl، KCl و Na_2SO_4 برای این کار انتخاب شدند. نتایج حاصل از روش پیشنهادی نشان داد که افزودن سدیم کلرید بالاترین جذب را برای CIP به همراه دارد. همچنین، غلظت نمک در محدوده غلظتی صفر تا ۲۵۰ میلی‌گرم مورد بررسی قرار گرفت که مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم سدیم کلرید برای آنالیت مورد نظر، مقدار بهینه می‌باشد.

۳-۴- اثر تعداد چرخه‌های استخراج و شوی

چرخه‌های استخراج عبارت است از هر بار کشیده شدن محلول نمونه به داخل و خارج کردن آن از سرسمپلر می‌باشد. به همین ترتیب به هر بار کشیدن و خارج کردن حلال شوی در سرسمپلر، چرخه شوی می‌گویند. بررسی

واریانس ANOVA در جدول ۲ فایل پیوست بیان شده است.

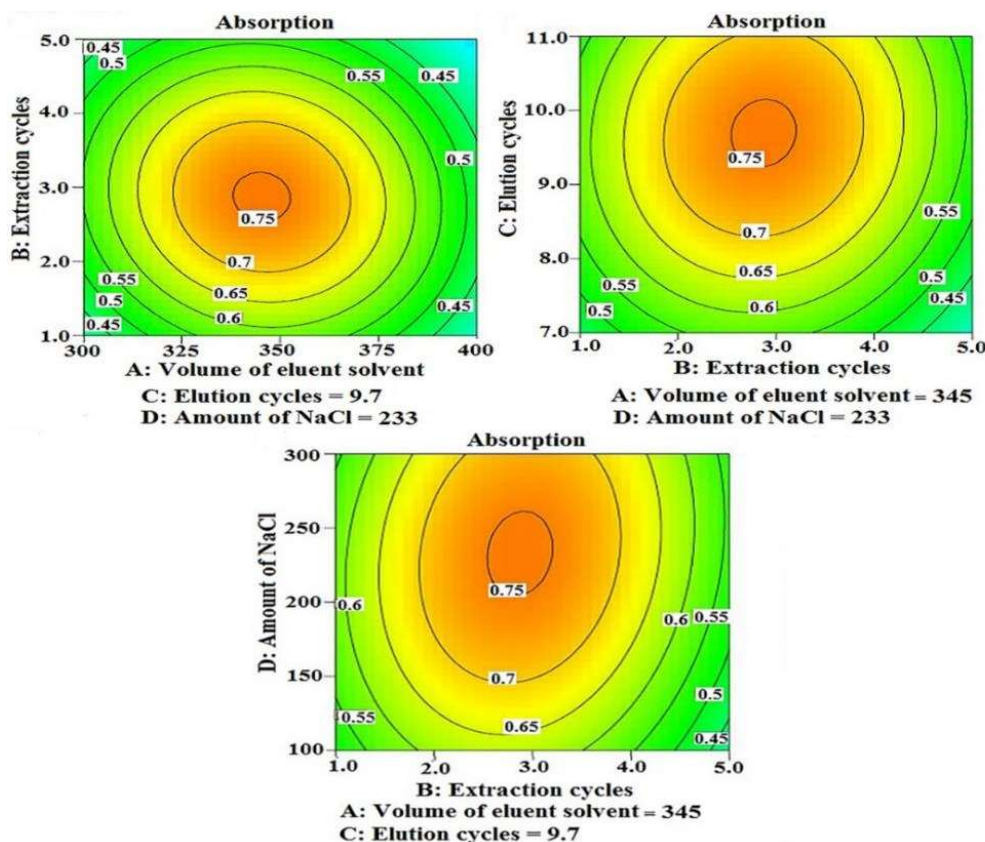
مقدارهای به دست آمده برای نقطه بحرانی به این شرح است: حجم حلال (A) ۳۴۵ میلی لیتر، تعداد چرخه‌های استخراج (B) ۹/۲، تعداد چرخه‌های شویش (C) ۷/۹ و مقدار نمک (D) ۲۳۳ میلی گرم. الگوی رگرسیون برای آنالیت منجر به ضریب تعیین $R^2 = 0/9839$ بود. نتایج نشان می‌دهد تنها ۱/۶۱ درصد تغییرات را نمی‌توان با الگو توصیف کرد. ضریب تعیین تعدیل شده $R^2 = 0/9708$ بیان کرد که الگو بسیار معنی‌دار است. علاوه بر این پیش‌بینی $R^2 = 0/9426$ نشان داد که الگو قدرت پیش‌بینی بالایی دارد. تفاوت اندک بین مقدارهای پیش‌بینی شده با الگو و نتیجه آزمایش، تحلیل واریانس این الگو و عدم تناسب ناچیز، همه توضیح دهنده این است که صحت و تناسب الگو بسیار رضایت‌بخش بوده است. درجه بالای دقت و مقدار مناسب از قابلیت اطمینان آزمایش‌های انجام شده با مقدار کم ضریب تغییرات $CV = 8/73$ بیان می‌شود و نشان می‌دهد که این الگو معنی‌دار می‌باشد. سطوح پاسخ دو بعدی برای تابع‌های دو متغیره در مرکز دیگر متغیرها در شکل ۵ نشان داده شده است.

حجم شامل محلول نمونه A یا (X_1) ، تعداد چرخه‌های استخراج B یا (X_2) ، تعداد چرخه‌های شویش C یا (X_3) و مقدار نمک D یا (X_4) است. سطح پایین، متوسط و زیاد هر سنج به ترتیب منفی یک، صفر و مثبت یک در نظر گرفته شد. رابطه ریاضی پاسخ به این متغیرها با استفاده از معادله (۴) بیان می‌شود.

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_{ii} + \sum \beta_{ij} X_i X_j + e \quad (4)$$

در این معادله، Y متغیر وابسته (پاسخ یا خروجی)، β_0 ثابت، X_1, X_2, \dots, X_k متغیرهای مستقل کد گذاری شده، β_i اثر خطی، β_{ij} اثر متقابل، β_{ii} اثر درجه دوم، ϵ خطای تصادفی یا عدم اطمینان هستند. طراحی آزمایش‌ها در جدول ۱ ارائه شده است.

برای بررسی متغیرها و معادله‌ای که بتوان برای پیش‌بینی پاسخ استفاده کرد، یک تجزیه رگرسیون چندگانه انجام می‌شود. رابطه بین پاسخ و داده‌های مستقل با معادله ۱ فایل پیوست شرح داده شده است. نقطه بحرانی در سطح را می‌توان به وسیله حل معادله ۱ فایل پیوست برای شرایط $(\partial Y/\partial A) = 0, (\partial Y/\partial B) = 0, (\partial Y/\partial C) = 0, (\partial Y/\partial D) = 0$ به دست آورد. همچنین، خلاصه تحلیل



شکل ۵. سطح پاسخ دو بعدی نشان‌دهنده اثر متغیرهای مستقل روی جذب CIP.

جدول ۱. مقایسه روش پیشنهادی در این پژوهش با روش‌های گزارش شده

روش	روش تجزیه‌ای	حد تشخیص ($\mu\text{g L}^{-1}$)	گستره خطی ($\mu\text{g L}^{-1}$)	مرجع
-	طیف‌سنجی نوری	۴۰۰	۱۰۰۰۰-۲۰۰۰	[۱۸]
مولکول‌نگاری پلیمری	کروماتوگرافی مایعی با کارایی بالا با آشکارساز فلورسانس	۰/۲	-	[۴]
استخراج فاز جامد	طیف‌سنجی نوری	۱۲	۳۰۰-۵۰	[۱۹]
استخراج مایع-مایع	کروماتوگرافی مایعی با کارایی بالا با آشکارساز فلورسانس	۱۰	۴۰۰۰-۲۰	[۲۰]
GO/ZnO PT- μ SPE	طیف‌سنجی نوری	۰/۱۷	۲۰۰-۱	این مطالعه

جدول ۲. نتایج حاصل از اندازه‌گیری CIP در نمونه‌های حقیقی در شرایط بهینه

انحراف استاندارد نسبی (n = 5)	درصد بازیابی (%)	CIP یافت شده ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CIP اضافه شده ($\mu\text{g L}^{-1}$)	ایستگاه
۳/۲	-	۱/۶	۰	
۴/۶	۹۸/۰	۲۱/۲	۲۰	ایستگاه یک، کنارک
۴/۱	۹۷/۶	۵۰/۴	۵۰	
۲/۰	-	۱/۹	۰	
۵/۶	۸۹/۵	۱۹/۸	۲۰	ایستگاه دو، تیس
۲/۷	۹۵/۴	۴۹/۶	۵۰	
۲/۰	-	۴/۱۲	۰	
۱/۲	۹۹/۴	۲۴/۰	۲۰	پلازما انسان
۳/۵	۹۹/۴	۵۳/۸	۵۰	

مایع با کارایی بالا با آشکارساز فلورسانس حد تشخیص کمتری دارند که به دلیل انتخابگری بالاتر جاذب و حساسیت بالاتر دستگاه مورد استفاده است. همچنین با وجود میکرو بودن روش استخراجی در مقایسه با کامل بودن سایر روش‌های مقایسه شده، گستره خطی آن نیز مناسب است.

۳-۹- تعیین سیپروفلوکساسین در نمونه‌های آب دریا

برای بررسی کارایی روش پیشنهادی برای تعیین سیپروفلوکساسین در نمونه حقیقی آب دریا، از یک ایستگاه در خلیج چابهار و یک ایستگاه در کنارک نمونه آب دریا جمع‌آوری و با روش GO/ZnO PT- μ SPE تجزیه شد. به دلیل اشباع بودن آب دریا از انواع نمک‌ها برای تجزیه آب دریا، مرحله افزودن نمک انجام نشد. خلیج چابهار و کنارک یک خلیج نیمه محصور برای تبادل آب آن بوده و توانایی گردش آب در آن کندتر از دریای آزاد است، و بیشتر فعالیت‌های کشاورزی، ماهی‌گیری، قایق‌رانی، کشتی‌رانی و تخلیه فاضلاب‌های کشاورزی، صنعتی و زباله‌های خانگی در حاشیه خلیج انجام می‌شود. در نتیجه این موارد، مقادیر ناچیزی از CIP در نمونه‌های ایستگاه یک، کنارک و ایستگاه دو، تیس یافت گردید که با نتایج مندرج در مرجع

۳-۸- منحنی کالیبراسیون، گستره خطی، حد تشخیص، حد تعیین، ضریب پیش‌غلظت و تکرارپذیری

در شرایط بهینه، منحنی کالیبراسیون CIP در محدوده ۱ تا ۲۰۰ میکروگرم بر لیتر خطی و از معادله کمینه مربع‌ها $A = 0.0045 C + 0.0798$ در معادله ۵ با ضریب همبستگی ۰/۹۹۳۴ پیروی می‌نمود که در آن پاسخ دستگاه $C = (\mu\text{g L}^{-1})$ و $A = (AU)$ می‌باشند. حد تشخیص و حد تعیین به ترتیب ۰/۱۷ و ۰/۵۷ میکروگرم بر لیتر از فرمول S_h و $3S_h$ محاسبه گردید که در آن S_h انحراف استاندارد حاصل از اندازه‌گیری‌های پی‌درپی محلول شاهد است [۱۷]. تکرارپذیری روش به صورت درصد انحراف معیار نسبی (%RSD) برای ۵ بار اندازه‌گیری یک محلول استاندارد با غلظت ۲۰ میکروگرم بر لیتر از آنالیت، معادل ۲/۷ درصد به‌دست آمد.

در جدول ۱ داده‌های روش ارائه شده با نتایج حاصل از پژوهش‌های مشابه مقایسه شده است که برتری روش پیشنهادی از نظر گستره خطی و حد تشخیص را بیان می‌کند. همان گونه که مشخص است، این روش توسعه‌یافته در مقایسه با بیشتر روش‌های دیگر، حد تشخیص پایین‌تری دارد. تنها دو روش مولکول‌نگاری پلیمری و کروماتوگرافی

ارزان بودن از برتریهای روش می‌باشد. استفاده از طیف-سنجی نوری خود دارای برتری‌هایی همچون سادگی، پاسخ دهی سریع و در دسترس بودن دستگاه است.

*عده‌دار مکاتبات

نشانی: ایران، استان چابهار، شهر چابهار، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، دانشکده علوم دریایی، گروه شیمی دریا، تلفن:

مراجع

- [1] M. Varak Neshin, M. Ebrahimi, J. Anal. Chem. 13 (2018) 1.
- [2] F. Vella, J. Busuttill, N. S. Bartolo, C. Sammut, V. Ferrito, A. Serracino-Ingloft, L. M. Azzopardi, G. LaFerla, J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci. 989 (2015) 80.
- [3] N. M. Kassab, A. K. Singh, E. R. M. Kedor-Hackmam, M. I. R. M. Santoro, Rev. Bras. Cienc. 41 (2005) 507.
- [4] Z. Lian, J. Wang, Marine Poll. Bull. 111 (2016) 411.
- [5] S. H. Hashemi, M. Ziyaadini, M. Kaykhahi, A. Jamali Keikha, N. Naruie, J. Sep. Sci. 43 (2019a) 505.
- [6] A. Speltini, M. Sturini, F. Maraschi, L. Consoli, A. Zeffiro, A. Profumo, J. Chromatogr. A 1379 (2015) 9.
- [7] K. Rekha, J. Santosh, T. Dilshadbee, T. Ashpak, Int. J. Adv. Sci. Res. Rev. 1 (2015) 137.
- [8] S. S. Wu, C. Y. Chein, Y. H. Wen, J. Chromatogr. Sci. 46 (2008) 490.
- [9] M. K. Khan, M. F. Khan, Pak. J. Pharm. Sci. 21 (2008) 299.
- [10] S. Watabe, Y. Yokoyama, K. Nakazawa, K. Shinozaki, R. Hiraoka, K. Takeshita, Y. Suzuki, J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci. 878 (2010) 1555.
- [11] O. R. Idowu, J. O. Peggins, J. Pharm. Biomed. Anal. 35 (2004) 143.
- [12] K. H. Bannefeld, H. Stass, G. Blaschke, J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl. 692 (1997) 453.
- [13] C. Grondin, W. Zhao, M. Fakhoury, E. Jacqz-Aigrain, Biomed. Chromatogr. 25 (2011) 827.
- [14] G. Chen, Q. Li, J. Agric. Food Chem. 61 (2013) 98.
- [15] W. A. W. Ibrahim, H. R. Nodeh, M. M. Sanagi, Crit. Rev. Anal. Chem. 46 (2016) 267.
- [16] S. H. Hashemi, M. Kaykhahi, A. Jamali Keikha, A. Parkaz, Anal. Methods 10 (2018) 5707.
- [17] N. Zhang, B. Hu, Anal. Chim. Acta 723 (2012) 54.
- [18] K. Rekha, J. Santosh, T. Dilshadbee, T. Ashpak, Int. J. Adv. Sci. Res. Rev. 1 (2015) 137.
- [19] M. I. Pascual-Reguera, G. P. Parras, A. M. Díaz, Microchem. J. 77 (2004) 79.

شماره ۴ همخوانی دارد. برای بررسی اثر نمونه محیطی بر بازیابی، به نمونه‌ها غلظت‌های ۲۰ و ۵۰ میکروگرم بر لیتر از CIP اضافه گردید. نتایج به دست آمده در جدول ۲ بیان شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، تداخل مهمی از محیط نمونه بر روی اندازه‌گیری وجود ندارد.

۱۰-۳- تعیین سیپروفلوکساسین در نمونه پلاسما خون انسان

برای ارزیابی روش پیشنهادی، تعیین سیپروفلوکساسین در نمونه پلاسما خون بیماری که در حال مصرف داروی سیپروفلوکساسین بود، نیز انجام شد. نمونه پلاسما از آزمایشگاه سینای شهر چابهار تهیه و به سرعت به آزمایشگاه برای انجام آزمایش انتقال داده شد. برای حذف پروتئین‌های موجود در پلاسما، در یک لوله آزمایش مقدار ۲۵۰ میکرولیتر پلاسما قرار داده شد و به آن ۱۰۰ میکرولیتر سدیم‌هیدروکسید ۶ مولار اضافه شد. این محلول به طور کامل تکان خورد و سپس برای مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. هنگامی که محلول سرد شد برای رسوب دادن پروتئین‌ها به آن ۵۰۰ میکرولیتر تری‌کلرواستیک‌اسید ۲۰ درصد اضافه شد (۱۰ دقیقه در محیط برای تکمیل واکنش باقی ماند) و سپس محلول حاصل با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه برای مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی حاصل از مخلوط به داخل ظرف منتقل و تا حجم ۶ میلی‌لیتر رقیق شد [۲۱]. غلظت CIP طبق روش کار گفته‌شده محاسبه و غلظت آن ۴/۱۲ میکروگرم بر لیتر به دست آمد. برای بررسی اثر نمونه محیطی بر بازیابی آنالیت‌ها در نمونه، به نمونه‌ها غلظت ۲۰ و ۵۰ میکروگرم بر لیتر از CIP اضافه گردید. نتایج در جدول ۲ نمایش داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، تداخل مهمی از محیط نمونه پلاسما خون انسان بر روی اندازه‌گیری سیپروفلوکساسین وجود ندارد. نتایج حاصل از کاربرد این روش در تجزیه نمونه‌های حقیقی نشان داد که می‌توان از این روش برای تعیین CIP در نمونه‌های پیچیده‌ای مثل آب دریا و پلاسما خون انسانی با موفقیت استفاده کرد.

۷- نتیجه‌گیری

در این پژوهش، از روش ساده میکرواستخراج فاز جامد در سرمپلر بر پایه جاذب گرافن اکسید اصلاح شده با نانوذرات روی اکسید برای پیش‌تخلیظ سیپروفلوکساسین در نمونه‌های آب دریا و پلاسما خون انسان قبل از اندازه‌گیری با روش طیف‌سنجی نوری آن استفاده شد. برای بهینه‌سازی استخراج آنالیت مورد نظر، سنج‌هایی که بر کارایی استخراج تأثیر می‌گذارند، با استفاده از دو روش یک متغیر در یک زمان و روش رویه پاسخ بررسی شدند. کارایی استخراج بالا و مصرف جاذب و حلال آلی کم، سریع و

-
- [20] S. N. Muchohi, N. Thuo, J. Karisa, A. Muturi, G. O. Kokwaro, K. Maitland, J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci. 879 (2011) 146.
- [21] S. H. Hashemi, F. Keykha, Anal. Methods 11 (2019) 5405.