

اندازه‌گیری سریع و ساده ویتامین ب12 با استفاده از نقاط کوانتومی کربنی آلاییده‌شده با نیتروژن و گوگرد سنتز شده از آب انار و سیستماتین

ناهیده محمدی¹، ناصر صمدی¹ و فرهاد اخگری وایقان^{2*}

¹ دانشکده شیمی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

² مجتمع دانشگاهی آمایش و پدافند غیر عامل، دانشگاه صنعتی مالک اشتر

(تاریخ دریافت: 1398/8/17 تاریخ پذیرش: 1400/1/27)

در این مقاله، یک روش سبب، کم‌هزینه و ساده برای تولید نقاط کوانتومی کربنی آلاییده شده با نیتروژن و گوگرد، با کمک سنتز یک مرحله‌ای آب‌گرمایی مخلوط آب انار و سیستماتین گزارش شده است. آب انار به عنوان منبع کربن و سیستماتین به عنوان منبع گوگرد و نیتروژن به کار برده شد. اندازه نقاط کوانتومی کربنی آلاییده شده، با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری و گروه‌های عاملی موجود در سطح نقاط کوانتومی کربنی آلاییده شده با طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوریه بررسی شد. نقاط کوانتومی کربنی آلاییده شده به عنوان یک حسگر فلورسانس برای تعیین انتخابی و حساس ویتامین ب12 به کار برده شد. به‌طور خلاصه، شدت فلورسانس نقاط کوانتومی کربنی آلاییده شده با نیتروژن و گوگرد در حضور ویتامین ب12 فرونشاند شد. کاهش شدت فلورسانس امکان اندازه‌گیری ویتامین ب12 با حد تشخیص و گستره خطی رضایت‌بخش را فراهم نمود. نمودار والمر-استرن رابطه خطی ($R^2 = 0/99$) بین F_0/F و غلظت ویتامین ب12 در گستره خطی 0/7 تا 110 میکرومولار را نشان داد. حد آشکارسازی $8/2 \times 10^{-8}$ M بود. همچنین برای بررسی توانایی این روش برای اندازه‌گیری نمونه‌های حقیقی، آمپول ویتامین ب12 محصول داروسازی ایران هورمون به عنوان نمونه حقیقی انتخاب گردید که نتایج نشان از کارایی بالای این روش برای اندازه‌گیری نمونه حقیقی می‌باشد.

کلید واژه: نقاط کوانتومی کربن آلاییده شده با نیتروژن و گوگرد، ویتامین ب12، فلورسانس، آب‌گرمایی، سنتز سبب

مقدمه

ویتامین ب12 (سیانوکوبالامین) یک ویتامین محلول در آب حاوی یون کبالت در داخل حلقه تتراپیرول و متعلق به گروه ویتامین‌های ب می‌باشد. این ویتامین برای تشکیل مناسب گلوبول‌های قرمز، عملکرد صحیح سامانه عصبی و مغزی، سنتز و تولید سریع DNA و به ویژه در بافت‌هایی مانند مغز استخوان که در آن سلول‌ها به سرعت در حال تقسیم هستند، مهم می‌باشد، و به عنوان یک کوآنزیم در سنتز متیونین عمل می‌کند. کمبود ویتامین ب12 می‌تواند منجر به آسیب در سامانه عصبی و مغزی، کم‌خونی، زوال عقل، کاهش حافظه، خستگی و کاهش در سرعت رشد جنین و نوزاد شود [1 و 2]. سامانه زیستی بدن انسان قادر به تولید ویتامین ب12 نیست، بنابراین ویتامین ب12 باید از طریق رژیم غذایی تأمین شود. نیاز روزانه ب12 برای بدن انسان کم و در حد 1-2 میکروگرم می‌باشد [1]، علاوه بر این، مصرف بیش از حد این ویتامین نیز ممکن است اثرهای جانبی ناخواسته در پی داشته باشد. با توجه به اهمیت و نقش این ویتامین در سامانه زیستی انسان، به‌کارگیری یک روش ساده، کم‌هزینه و قابل اعتماد برای اندازه‌گیری ویتامین ب12 لازم و ضروری می‌باشد. روش‌های متداولی مانند آمپرومتری [3]، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا [4]، کروماتوگرافی مایع جفت‌شده با پلاسمای القایی- اسپکتروسکوپی جرمی [5] و روش‌های الکتروشیمیایی [6] برای سنجش ویتامین ب12 گسترش پیدا کرده‌اند. با وجود دقت و کارایی بالا، به‌کارگیری این روش‌ها نیازمند فرآیندهای پیچیده، زمان‌بر، دستگاه‌های گران‌قیمت و افراد متخصص می‌باشد. بنابراین نیاز به توسعه روش‌های ساده، سریع، حساس و کم‌هزینه به‌شدت احساس می‌شود.

در سال‌های اخیر، حسگرهای فلورسانسی از جمله نقاط کوانتومی کربن آلاییده شده با نیتروژن و گوگرد، از طریق روش تک مرحله‌ای آب‌گرمایی از آب انار (به عنوان منبع کربن) و سیستماتین (به عنوان منبع نیتروژن و گوگرد) سنتز شدند. نقاط کوانتومی به‌دست آمده با این روش، محلول در آب و دارای بازده کوانتومی بالایی می‌باشند. در ادامه بررسی‌ها مشخص گردید که طیف فلورسانسی این نانوذرات در حضور ویتامین ب12 دچار خاموشی می‌گردد. در پایان با اصلاح و بهینه‌سازی، روشی برای اندازه‌گیری و تشخیص ویتامین ب12 با استفاده از نقاط کوانتومی کربن سنتز شده

ویتامین ب12 (سیانوکوبالامین) یک ویتامین محلول در آب حاوی یون کبالت در داخل حلقه تتراپیرول و متعلق به گروه ویتامین‌های ب می‌باشد. این ویتامین برای تشکیل مناسب گلوبول‌های قرمز، عملکرد صحیح سامانه عصبی و مغزی، سنتز و تولید سریع DNA و به ویژه در بافت‌هایی مانند مغز استخوان که در آن سلول‌ها به سرعت در حال تقسیم هستند، مهم می‌باشد، و به عنوان یک کوآنزیم در سنتز متیونین عمل می‌کند. کمبود ویتامین ب12 می‌تواند منجر به آسیب در سامانه عصبی و مغزی، کم‌خونی، زوال عقل، کاهش حافظه، خستگی و کاهش در سرعت رشد جنین و نوزاد شود [1 و 2]. سامانه زیستی بدن انسان قادر به تولید ویتامین ب12 نیست، بنابراین ویتامین ب12 باید از طریق رژیم غذایی تأمین شود. نیاز روزانه ب12 برای بدن انسان کم و در حد 1-2 میکروگرم می‌باشد [1]، علاوه بر این، مصرف بیش از حد این ویتامین نیز ممکن است اثرهای جانبی ناخواسته در پی داشته باشد. با توجه به اهمیت و نقش این ویتامین در سامانه زیستی انسان، به‌کارگیری یک روش ساده، کم‌هزینه و قابل اعتماد برای اندازه‌گیری ویتامین ب12 لازم و ضروری می‌باشد. روش‌های متداولی مانند آمپرومتری [3]، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا [4]، کروماتوگرافی مایع جفت‌شده با پلاسمای القایی- اسپکتروسکوپی جرمی [5] و روش‌های الکتروشیمیایی [6] برای سنجش ویتامین ب12 گسترش پیدا کرده‌اند. با وجود دقت و کارایی بالا، به‌کارگیری این روش‌ها نیازمند فرآیندهای پیچیده، زمان‌بر، دستگاه‌های گران‌قیمت و افراد متخصص می‌باشد. بنابراین نیاز به توسعه روش‌های ساده، سریع، حساس و کم‌هزینه به‌شدت احساس می‌شود.

تعیین گردید.

بخش تجربی

مواد و دستگاه‌ها

انارهای از یکی از باغ‌های شهر ساوه- ایران که به انار یوسف خانی مشهور می باشد، تهیه شد. سیستمین و دیگر مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش، از شرکت مرک آلمان خریداری و بدون خالص‌سازی استفاده شدند. همه محلول‌ها در این بررسی، از آب بدون یون دوبر تقطیر تهیه شدند.

طیف‌های جذبی فرابنفش-مرئی با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی با آرایه دیودی مدل بایووئو II ساخت کشور آمریکا ثبت شدند. طیف نشر فلورسانس با دستگاه اسپکتروفلوریمتر جاسکو مدل FP-6500 ثبت شد. طیف‌سنجی فتوالکترونی اشعه ایکس با استفاده از طیف‌سنج اشعه ایکس با منبع XR_3E_2 twin anode BesTec 8025-8025 مدل BesTec ساخت کشور آلمان به دست آمدند. اندازه نقاط کوانتومی کربن با میکروسکوپ الکترونی عبوری فلیپس ساخت کشور آمریکا اندازه‌گیری شدند. طیف‌های زیرقرمز تبدیل فوریه با استفاده از دستگاه طیف‌سنج زیرقرمز مدل NEXUS670 ساخت کشور آمریکا ثبت شدند.

تهیه نقاط کوانتومی کربن آلیپده-شده با نیتروژن و گوگرد (N,S-CDs)

نقاط کوانتومی کربن آلیپده شده با نیتروژن و گوگرد از مخلوط آب انار و سیستمین و با استفاده از روش آب‌گرمایی تهیه گردید. مقدار 0/4 گرم سیستمین در 40 میلی‌لیتر آب انار حل و محلول حاصل به یک اتوکلاو با جداره‌های داخلی تفلونی منتقل و به مدت 8 ساعت در آن در دمای 180 درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. برای جداسازی نقاط کوانتومی کربن با ابعاد بزرگ و دیگر ناخالصی‌ها و دستیابی به نقاط کوانتومی کربن با فلورسانس بالا، محلول حاصل که قرمز رنگ بود با دور بالای 10000 دور بر دقیقه به مدت 15 دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول بالایی جمع‌آوری و به وسیله دستگاه خشک‌کن با انجماد، خشک گردید. در ادامه، محلول 1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از نقاط کوانتومی کربن تهیه گردید و جهت مشخصه‌یابی در یخچال در دمای 5 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

بهینه‌سازی شرایط آزمایش

بررسی اثر تغییر pH و بافر بر شدت فلورسانس نقاط کوانتومی کربن (N,S-CQDs). برای این منظور، محلولی با غلظت ثابت از نقاط کوانتومی کربنی و بافر رابینسون تهیه گردید و تغییر شدت فلورسانس این محلول قبل و بعد از افزایش محلول 10 میکرومولار ویتامین ب12 بر حسب تغییر pH مورد بررسی قرار گرفت و میزان اختلاف شدت فلورسانس در حضور و عدم حضور ویتامین (F₀/F) در pH های مختلف محاسبه گردید. در ادامه نتایج برای بافر استات در pH های اسیدی با مقدار های به دست آمده با بافر رابینسون مقایسه گردید.

بررسی اثر غلظت نقاط کوانتومی کربن بر شدت فلورسانس. جهت بررسی اثر غلظت نقاط کوانتومی کربن بر شدت فلورسانس، حجم‌های مشخصی از محلول 1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رقیق‌شده نقاط کوانتومی کربن

(10، 15، 20، 25 و 30 میکرولیتر) به محلول 5 میلی‌مولار بافر استات با pH = 3 اضافه و شدت فلورسانس در حضور و عدم حضور محلول 10 میکرومولار ویتامین ب12 ثبت گردید.

بررسی اثر زمان بر پاسخ فلورسانس نقاط کوانتومی کربن در حضور غلظت ثابتی از ویتامین ب12. مقدار 20 میکرولیتر از نقاط کوانتومی کربن با غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به محلول 5 میلی‌مولار بافر استات با pH = 3 اضافه و شدت فلورسانس این محلول بعد از افزایش محلول 10 میکرومولار ویتامین ب12 در گستره زمانی 8-0/5 دقیقه بررسی شد.

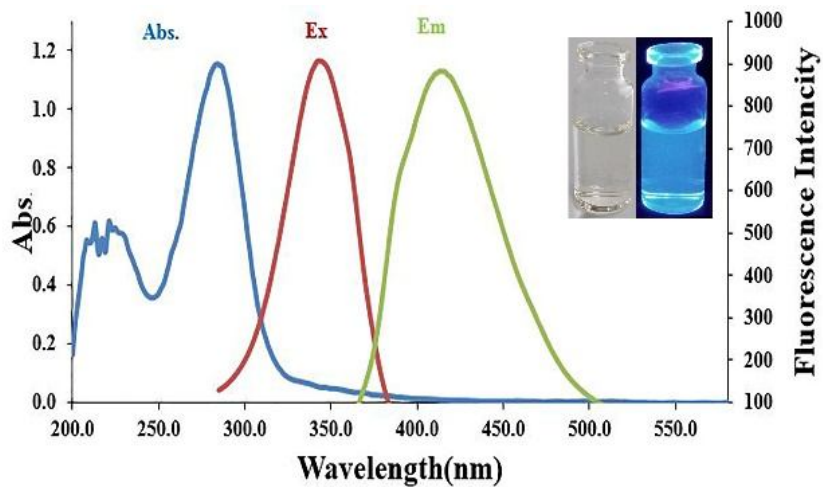
سنجش فلورسانس ویتامین ب12. 20 میکرولیتر از محلول رقیق‌شده نقاط کوانتومی کربن به محلولی از بافر (5 میلی‌مولار، pH = 3) افزوده و غلظت‌های متفاوتی از ویتامین ب12 به محلول اضافه گردید (حجم نهایی 5 میلی‌لیتر بود). بعد از گذشت 8 دقیقه، طیف فلورسانس محلول حاصل در طول موج تحریک 340 نانومتر ثبت گردید. برای تعیین حد تشخیص، از نمونه شاهد 8 بار طیف‌گیری شد و مقدار میانگین محاسبه گردید. سپس انحراف استاندارد نیز با استفاده از فرمول $S = \sqrt{\frac{\sum(x-y)^2}{N-1}}$ محاسبه و حد تشخیص با استفاده از فرمول $LOD = \frac{3S}{m}$ تعیین شد.

نتایج و بحث

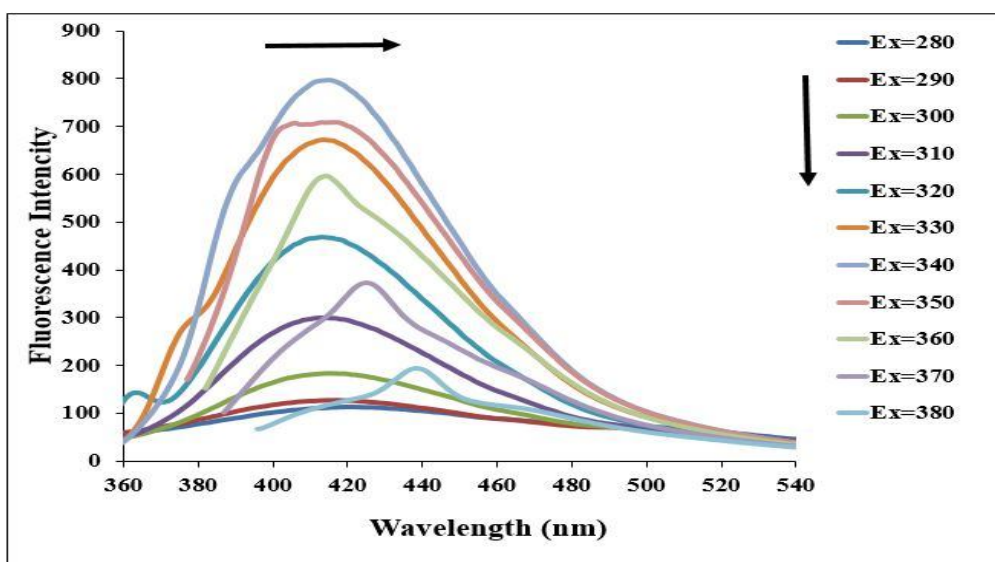
مشخصه‌یابی نقاط کوانتومی کربن (N,S-CQDs)

طیف فرابنفش-مرئی یک پیک در 284 نانومتر نشان می‌دهد که مربوط به انتقالات $\pi \rightarrow \pi^*$ می‌باشد [14] (شکل 1). همچنین بعد از تحریک در طول موج 340 نانومتر، یک پیک نشر فلورسانس قوی در 414 نانومتر مشاهده گردید. تصویر گرافیکی نوری نقاط کوانتومی کربن تحت تابش‌دهی با نور مرئی و فرابنفش در شکل 1 نشان داده شده است. زمانی که طول موج تحریک از 280 نانومتر تا 380 نانومتر تغییر می‌کند، پیک نشر نقاط کوانتومی کربن جابجایی قرمز پیدا می‌کند (شکل 2). این جابجایی در طول موج نشر می‌تواند به دلیل وجود نقاط کوانتومی کربن با ابعاد و اندازه‌های متفاوت باشد [15].

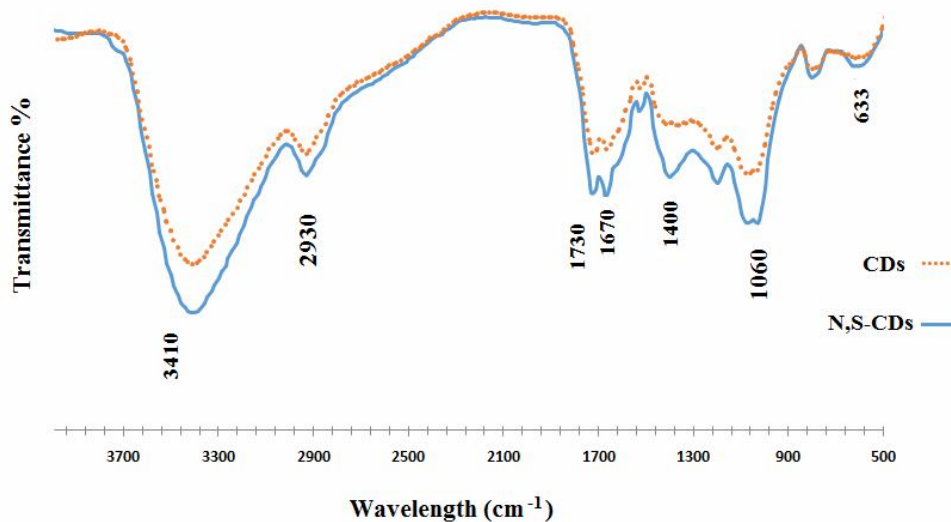
نوع گروه‌های عاملی موجود در سطح نقاط کوانتومی کربن با استفاده از طیف‌سنجی زیرقرمز تبدیل فوریه بررسی شد. همان‌طور که در شکل 3 قابل مشاهده است، در طیف زیرقرمز تبدیل فوریه نقاط کوانتومی عامل‌دار شده با نیتروژن و گوگرد (N,S-CQDs)، نوار ارتعاشی قوی در محدوده 3410 cm^{-1} می‌تواند مربوط به ارتعاش کششی گروه‌های عاملی N-H و OH باشد. نوار موجود در 2930 مربوط به ارتعاش کششی C-H و نوارهای موجود در 1730 و 1670 cm^{-1} به ترتیب مربوط به ارتعاش‌های گروه C=O و C-O می‌باشند. همچنین نوارهای موجود در محدوده $100-1400 \text{ cm}^{-1}$ را می‌توان به گروه‌های C-S، C-O و C-H نسبت داد [13، 14، 17 و 20]. برای بررسی تغییرها در اثر افزایش سیستمین، طیف نقاط کوانتومی در غیاب سیستمین نیز ثبت شد (شکل). به نظر می‌رسد با افزایش سیستمین در مرحله سنتز، تغییر قابل توجهی در طیف‌های زیرقرمز ایجاد نمی‌شود اما شدت نوارها در محدوده 633 و 1400 cm^{-1} افزایش پیدا کرده است که می‌تواند به ترتیب به



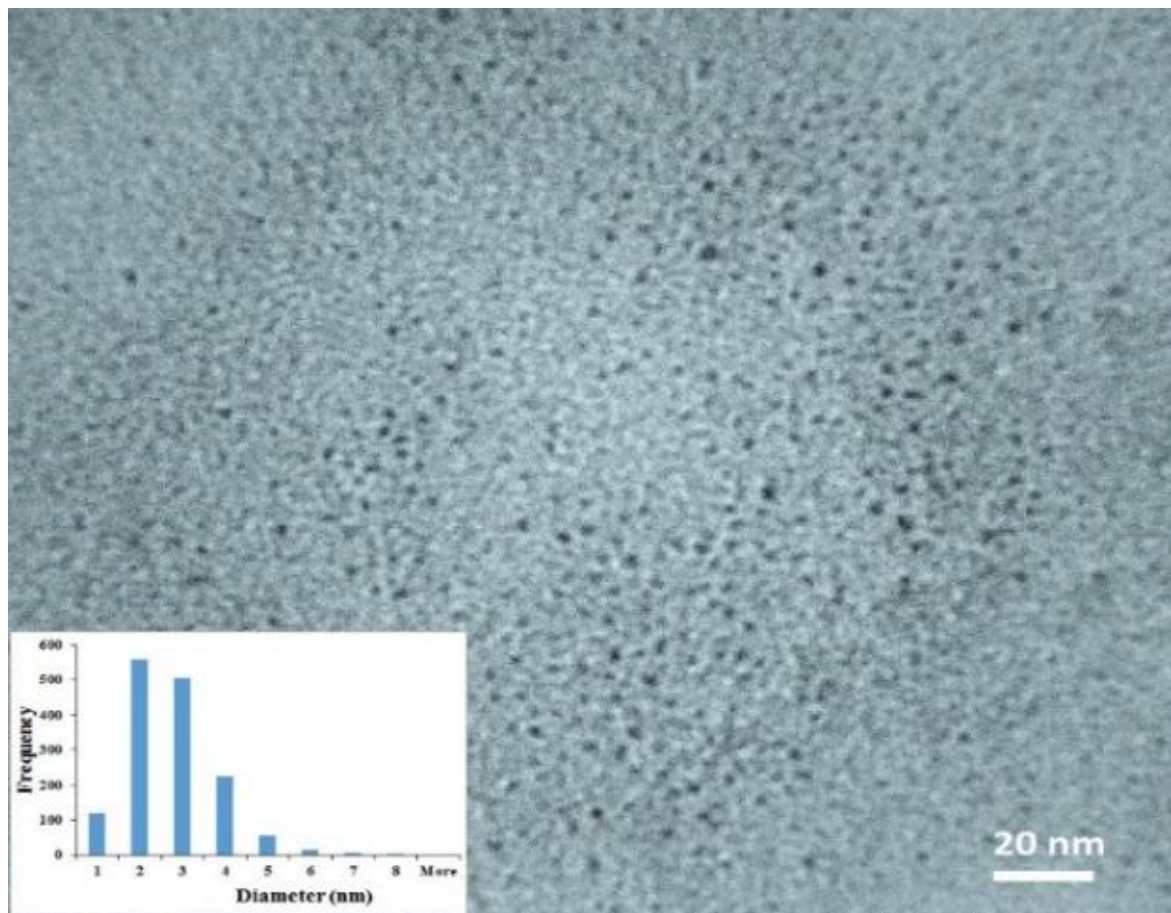
شکل 1. طیف جذب فرابنفش-مرئی و تحریک و نشر نقاط کوانتومی کربنی. تصویر گرافیکی نوری نقاط کوانتومی کربن تحت تابش‌دهی با نور مرئی و فرابنفش (داخل شکل).



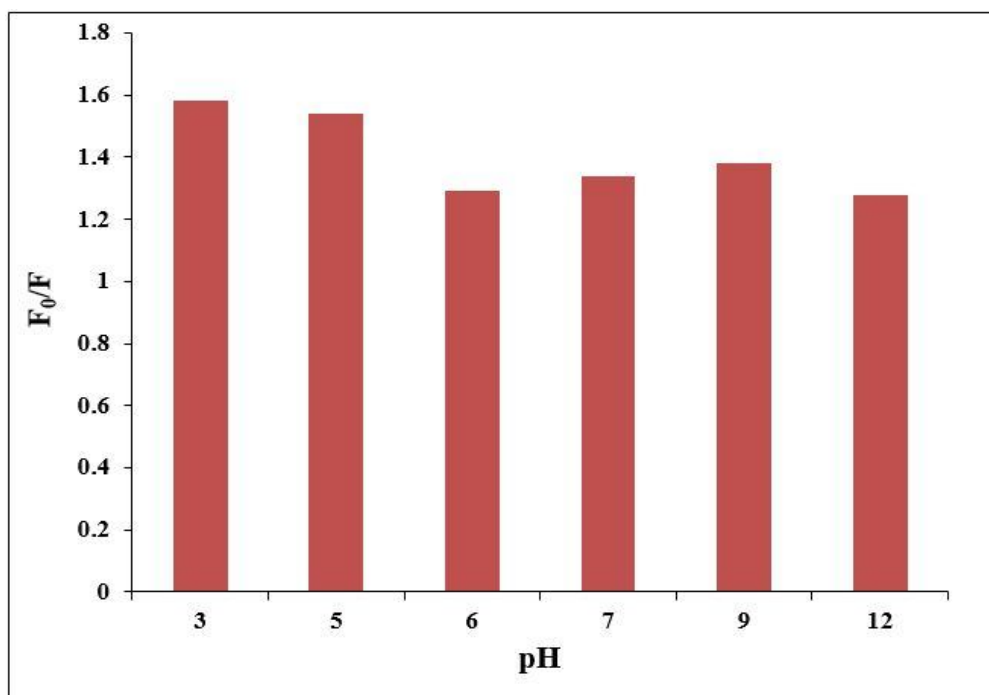
شکل 2. بررسی وابستگی طیف نشر به تحریک در نقاط کوانتومی.



شکل 3. طیف زیرقرمز تبدیل فوریه نقاط کوانتومی کربن.



شکل 4. تصویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی عبوری.



شکل 5. اثر pH بر روی شدت نسبی فلورسانسی نقاط کوانتومی کربن در حضور محلول 10 میکرومولار ویتامین ب₁₂.

برگشت الکترون به حالت پایه متفاوت می‌گردند. در هنگام تحریک نقاط کوانتومی کربنی با طول موج مختلف، سطوح انرژی متفاوتی به عنوان تله انرژی عمل می‌کنند که این امر موجب تفاوت در مکان طیف نشری نقاط کوانتومی کربن می‌گردد [17].

کالیبراسیون

همان‌طور که در شکل 8 قابل مشاهده است، در شرایط بهینه 20 میکرو لیتر نقاط کوانتومی کربن، بافر استات با $\text{pH} = 3$ و غلظت 5 میلی‌مولار، زمان 5 دقیقه، طول موج تحریک 340 نانومتر، شدت فلورسانسی نقاط کوانتومی کربن (N,S-CDs) با افزایش غلظت ویتامین ب12 کاهش می‌یابد. سازوکار این پدیده می‌تواند با برهمکنش‌های موجود بین گروه‌های عاملی روی سطح نقاط کوانتومی کربن و ویتامین ب12 توضیح داده شود. فلورسانسی نقاط کوانتومی کربن به دلیل تله‌های انرژی گروه‌های آلی بر روی سطح آنها رخ می‌دهد [18]. سیوتینو و همکاران ادعا کردند که فلورسانسی از ترکیب مجدد الکترون‌های القاشده با نور که حفره‌های موجود در هسته‌های بلوری را ترک کرده و به گروه‌های سطحی مهاجرت کرده‌اند، به وجود می‌آید [19]. زمانی که ویتامین ب12 به سامانه اضافه شود، ممکن است با گروه‌های عاملی بر روی سطح نقاط کوانتومی کربن برهمکنش کنند و یا با حالت پایه گروه‌های آلی روی سطح نقاط کوانتومی کربن ترکیب شود و در نتیجه باعث فرونشاندن شدت فلورسانسی نقاط کوانتومی کربن گردد. در حضور ویتامین ب12 در محدوده غلظت 0/7 تا 110 میکرومولار، رابطه‌ی خطی بین فرونشانی فلورسانس نقاط کوانتومی کربن و غلظت ویتامین ب12 می‌تواند توسط معادله استرن-والمر توضیح داده شود:

$$F_0/F = 1 + K_{sv}[Q]$$

در اینجا F_0 و F به ترتیب شدت فلورسانسی در غیاب و حضور ویتامین ب12 می‌باشد. K_{sv} ثابت استرن-والمر و $[Q]$ غلظت ویتامین ب12 می‌باشد. نمودار استرن-والمر یک رابطه خطی ($R^2 = 0/9761$) بین F_0/F و غلظت ویتامین ب12 در محدوده 0/7 تا 110 میکرومولار را نشان می‌دهد (شکل 9). حد آشکار سازی $8/2 \times 10^{-8} \text{ M}$ از طریق رابطه $(3S/m)$ محاسبه گردید. S انحراف استاندارد نمونه شاهد و m شیب منحنی کالیبراسیون می‌باشد.

اندازه‌گیری ویتامین ب12 در نمونه تزریقی

برای بررسی صحت روش پیشنهادی، این روش برای نمونه تزریقی ویتامین ب12 محصول شرکت داروسازی ایران هورمون استفاده گردید. 1 میلی‌لیتر از آمپول ویتامین ب12 با غلظت 1000 میکروگرم بر میلی‌لیتر (737/8 میکرومولار) به عنوان محلول استوک انتخاب گردید. در ادامه از این محلول و با استفاده از آب بدون یون، نمونه‌هایی با غلظت‌های متفاوت تهیه و آزمایش فلورسانسی برای این نمونه‌ها با استفاده از روش افزایش استاندارد انجام گردید. میزان بازدهی روش برای 3 مرتبه تکرار آزمایش محاسبه گردید (جدول 1).

گزینه‌پذیری سنجش ویتامین ب12

برای بررسی اثر عوامل تداخلی در سنجش ویتامین ب12، فلورسانسی

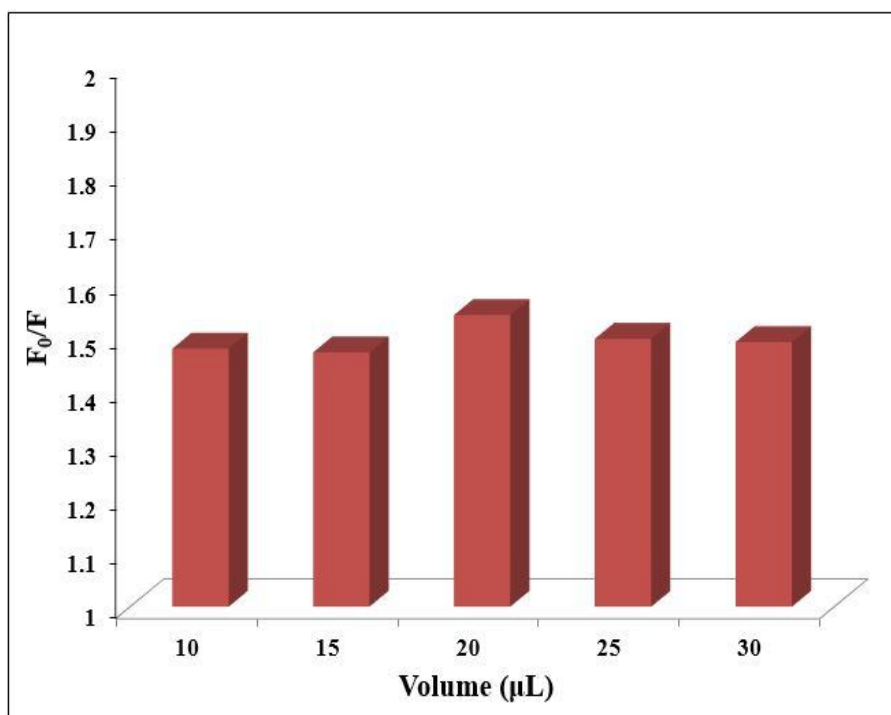
گروه‌های C-S و C-N نسبت داده شود [14 و 15]. شکل 4 تصویر نقاط کوانتومی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری را نشان می‌دهد. نتایج بررسی‌ها در شمارش بیش از 1400 نقطه کوانتومی موجود در عکس نشان می‌دهد که اندازه بیشتر نقاط کوانتومی کربن سنتز شده، در حدود 2 تا 3 نانومتر می‌باشد.

بررسی اثر pH. همان‌طور که در نمودار شکل 5 و در حضور بافر رابینسون مشخص است، میزان اختلاف شدت فلورسانس نقاط کوانتومی کربن در حضور و عدم حضور ویتامین (F_0/F) در محیط‌های اسیدی بیشتر است و با افزایش pH شدت فلورسانسی کاهش می‌یابد. توضیح دقیق و مشخصی برای توجیه رفتار فلورسانسی وابسته به pH نقاط کوانتومی کربن وجود ندارد. این رفتار می‌تواند احتمالاً به دلیل وجود روش‌های مختلف برای تهیه نقاط کوانتومی کربنی و وجود گروه‌های مختلف در سطح این نانوذرات باشد. نقاط کوانتومی کربن دارای گروه‌های عاملی هیدروکسیل و کربوکسیل در سطح خود می‌باشند. در ادامه به مقایسه نتایج در حضور بافر استات در محیط اسیدی پرداخته شد و نتایج مقایسه نشان داد که در صورت استفاده از بافر استات به طور جزئی در $\text{pH} = 3$ نتایج بهتری حاصل می‌گردد. پس بافر استات و $\text{pH} = 3$ به عنوان بافر و pH بهینه انتخاب شدند.

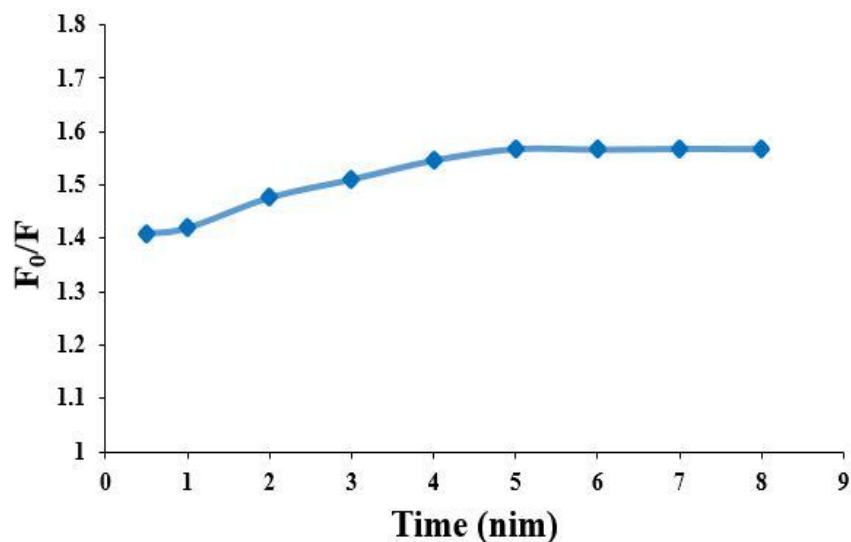
اثر غلظت نقاط کوانتومی کربنی. با توجه به نمودار شکل 6، زمانی که حجم اضافه‌شده از محلول نقاط کوانتومی کربن (1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) کمتر از 20 میکرو لیتر است، نسبت شدت فلورسانسی در غیاب ویتامین ب12 (F_0) به شدت فلورسانسی در حضور ویتامین ب12 (F) کم است، همچنین در حجم‌های بیشتر از 20 میکرو لیتر نیز، شدت نسبی فلورسانسی کاهش می‌یابد و این نسبت در حجم 20 میکرو لیتر از محلول نقاط کوانتومی کربن بیشینه مقدار را دارد. بنابراین، حجم 20 میکرو لیتر به عنوان حجم بهینه نقاط کوانتومی کربن انتخاب گردید.

اثر زمان. اثر زمان یکی از عامل‌های مهم در اندازه‌گیری‌های تجزیه‌ای می‌باشد، از این رو شدت نسبی فلورسانسی (F/F_0) در طول 8 دقیقه بررسی گردید. همان‌گونه که در شکل 7 نشان داده شده است، نسبت شدت فلورسانسی در حضور ویتامین ب12 (F) به شدت فلورسانسی در غیاب ویتامین ب12 (F_0) بعد از گذشت 5 دقیقه ثابت مانده است. بنابراین زمان 5 دقیقه به عنوان زمان بهینه انتخاب شد.

بررسی وابستگی طیف نشر به طول موج تحریک. برای بررسی اثر طول موج تحریک بر شدت پیک نشری نقاط کوانتومی کربن، تأثیر تغییر طول موج تحریک در محدوده 280 تا 380 نانومتر بررسی شد. با توجه به نتایج موجود در شکل 2، زمانی که طول موج تحریک 340 نانومتر است، شدت فلورسانسی بیشینه مقدار را دارد. این رفتار نقاط کوانتومی کربن می‌تواند به دلیل عواملی مانند اندازه ذرات و گروه‌های عاملی موجود در سطح نقاط کوانتومی کربن باشد. در نقاط کوانتومی کربن مشابه نقاط کوانتومی نیمه‌رسانا رابطه معکوس بین اندازه ذرات و شکاف نوار (فاصله بین نوار ظرفیت و نوار هدایت) وجود دارد. با افزایش اندازه ذرات، انرژی شکاف نوار کاهش می‌یابد. این تغییر انرژی شکاف نوار موجب جابجایی طیف نشری به طول موج‌های بلندتر می‌گردد [16]. عامل دیگری که موجب این رفتار نقاط کوانتومی کربن می‌شود، گروه‌های عاملی مختلف موجود در سطح این نانوذرات هستند. اوربیتال مولکولی گروه‌های عاملی با اوربیتال‌های الکترونی هسته کربنی ترکیب شده و موجب ایجاد تله‌های انرژی می‌گردد. با ایجاد این تله‌های انرژی مسیرهای



شکل 6. اثر حجم افزودن شده از نقاط کوانتومی کربن بر روی میزان فرونشانی فلورسانس نقاط کوانتومی کربن.



شکل 7. اثر زمان بر روی شدت نسبی فلورسانس نقاط کوانتومی کربن.

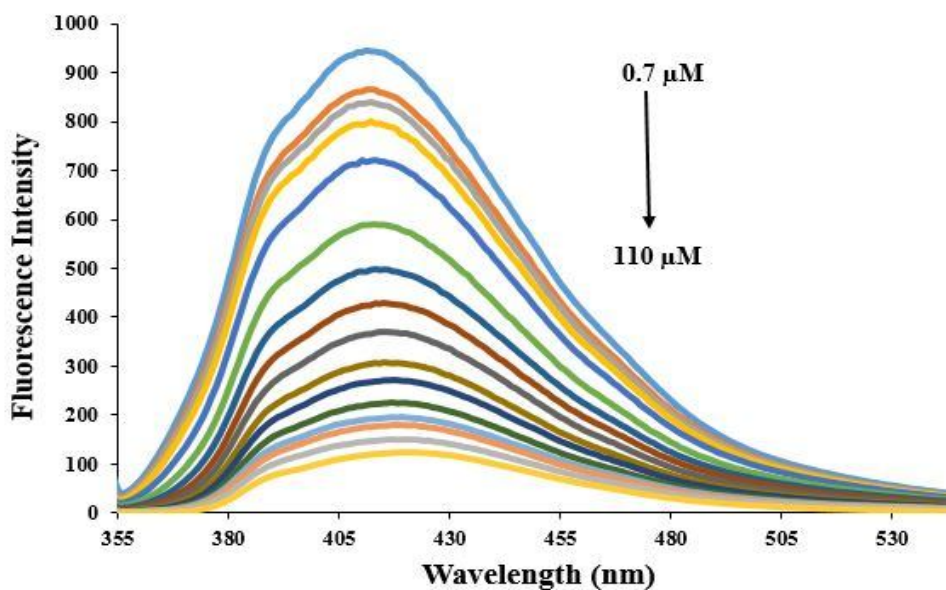
گزارش می‌باشد

نتیجه گیری

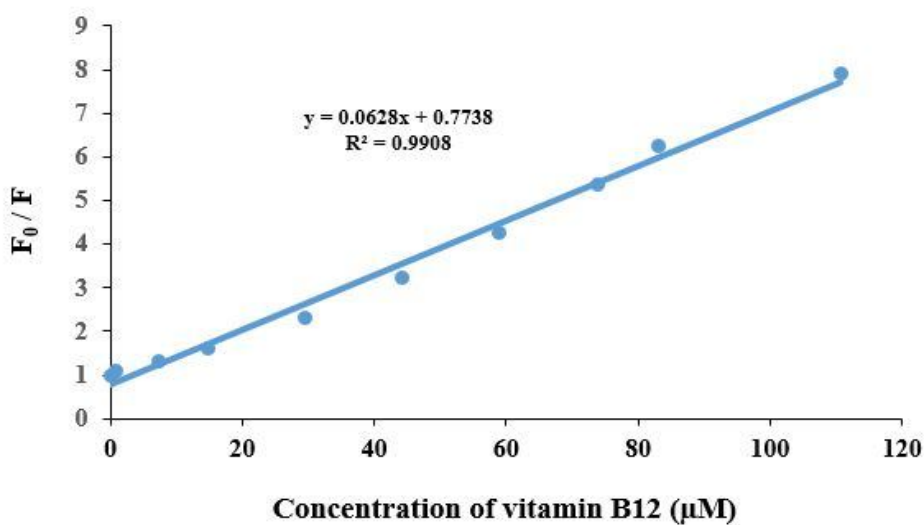
به‌طور خلاصه، نقاط کوانتومی کربن آلاینده شده با نیتروژن و گوگرد از طریق روش یک مرحله‌ای آب‌گرمایی مخلوط آب انار و سیستامین سنتز شد. نقاط کوانتومی کربن رفتار نشر فلورسانس وابسته به

نقاط کوانتومی کربن در حضور ویتامین ب12 با غلظت ثابت 5 میکرومولار و عوامل تداخلی با غلظت 35 میکرومولار ثبت گردید. نتایج موجود در جدول 2 نشان می‌دهد که نمونه‌های زیستی و یون‌های فلزی تأثیر کمی در اندازه‌گیری ویتامین ب12 دارند.

در جدول 3 مقایسه روش‌های مختلف برای اندازه‌گیری ویتامین ب12 ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود محدوده خطی و حد آشکارسازی روش موجود در این مقاله بهتر و یا به خوبی روش‌های قبلی



شکل 8. تغییرات شدت فلورسانسی نقاط کوانتومی کرین در حضور غلظت‌های مختلف ویتامین ب12.



شکل 9. رابطه خطی بین شدت فلورسانسی نقاط کوانتومی کرین و غلظت ویتامین ب12.

جدول 1. میزان ویتامین ب12 در نمونه های تزریقی

نمونه	غلظت (μM)	توزیع شده	پیدا شده	درصد بازیابی (%)
1	6/5	6/64	6/326	95/27
2	18	18/00	18/189	101/04
3	29	29/07	29/304	100/81

اندازه‌گیری سریع و ساده ویتامین ب12 با .../جلد سوم، شماره دوم، سال 1399

جدول 2. اثر گونه‌های تداخل کننده (غلظت ویتامین ب12 $5 \mu\text{M}$ می‌باشد)

گونه‌های افزوده شده ($35 \mu\text{M}$)	تغییر شدت فلورسانسی (%)
تیامین	0/13
سیستئین	-0/32
آسکوربیک اسید	-3/46
گلوکز	0/75
اوریک اسید	-3/37
اوره	-2/66
K^+	-2/31
Na^+	3/18
Ca^{2+}	1/87
Mg^{2+}	2/43
Zn^{2+}	-5/07

جدول 3. مقایسه روش‌های مختلف استفاده شده برای اندازه‌گیری ویتامین ب12

روش	حد آشکارسازی (μM)	محدوده خطی (μM)	مرجع
آمپرومتری	0/012	-	[3]
الکتروشیمیایی	1/6	-	[6]
فلوریمتری	0/1	0-60	[20]
فلوریمتری	0/11	0/74-10/33	[7]
فلوریمتری	$0/21 \times 10^{-3}$	1×10^{-3} -20	[21]
فلوریمتری	0/32	0/25-28/1	[22]
فلوریمتری	0/082	0/7-110	پژوهش حاضر

مراجع

- 1) A.D. Smith, M.J. Warren, H. Refsum, Adv. Food Nutr. Res. 83 (2018) 215.
- 2) Deanship of Graduate Studies Study The Interaction of Hydrophilic Vitamins (Vitamin C and Vitamin

طول موج تحریک را از خود نشان می‌دهند. با افزایش طول موج تحریک، نشر فلورسانس نقاط کوانتومی کربن به سمت طول موج‌های بلند حابجا می‌شوند. نقاط کوانتومی کربن به عنوان یک ردیاب مؤثر برای تعیین انتخابی و حساس ویتامین ب12 با حد تشخیص $8/2 \times 10^{-8}$ میکرومولار عمل کرد. علاوه بر این، این نانوحسگر پیشنهادی نتایج رضایتبخشی برای تعیین ویتامین ب12 در نمونه تزریقی را ارائه می‌دهد.

- 13) X.W. Hua, Y.W. Bao, F.G. Wu, ACS Appl. Mater. Interfaces 10 (2018) 10664.
- 14) F. Akhgari, N. Samadi, K. Farhadi, M. Akhgari, Can. J. Chem. 95 (2017) 1.
- 15) F. Akhgari, N. Samadi, K. Farhadi, J. Fluoresc. 27 (2017) 921.
- 16) فرهاد اخگری وایقان، حسن فتاحی، یونس موسائی اسکوتی، دنیای نانو، 21 (1393) 3131.
- 17) فرهاد اخگری، تهیه و مشخصه‌یابی نانونقاط کوانتومی و توسعه کاربردهای تجزیه‌ای آنها به منظور طراحی نانوحسگرهای جدید فلورسانتی و رنگسنجی، دانشگاه ارومیه، 1395.
- 18) D. Carolan, C. Rocks, D.B. Padmanaban, P. Maguire, V. Svrcek, D. Mariotti, Sustain. Energy Fuels 1 (2017) 1611.
- 19) A. Sciortino, E. Marino, B. Van Dam, P. Schall, M. Cannas, F. Messina, J. Phys. Chem. Lett. 7 (2016) 3419.
- 20) L. Ding, H. Yang, S. Ge, J. Yu, Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc. 193 (2017) 305.
- 21) G. Kalaiyarasan, J. Joseph, J. Microchim. Acta 184 (2017) 3883.
- 22) P. Taylor, J. Gholami, M. Manteghian, A. Badiei, M. Javanbakht, H. Ueda no. July, 2015.
- B12) With HSA Using Spectroscopic Techniques Mohammed Ayman Mohammed Abuallan M. Sc. Thesis Jerusalem-Palestine, 2018.
- 3) M. Ovalle, E. Arroyo, M. Stoytcheva, R. Zlatev, L. Enriquez, A. Olivas, Anal. Methods 7 (2015) 8185.
- 4) M. Nakos, I. Pepelanova, S. Beutel, U. Krings, R.G. Berger, T. Scheper, Food Chem. 216 (2017) 301.
- 5) R. Wenzel, D. Major, K. Hesp, P. Doble J. Trace Elem. Med. Biol. 50 (2018) 634.
- 6) M. Moazeni, F. Karimzadeh, A. Kermanpur, A. Allafchian, AIP Conf. Proc. 1920 (2018).
- 7) E. Vaishnavi, R. Renganathan, Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc. 115 (2013) 603.
- 8) A. Cayuela, M.L. Soriano, C. Carrillo-Carrión, M. Valcárcel, Chem. Commun. 52 7 (2016) 1311.
- 9) M. Farshbaf, S. Davaran, F. Rahimi, N. Annabi, R. Salehi, A. Akbarzadeh, Artif. Cells, Nanomedicine Biotechnol. 46 (2018) 1331.
- 10) X. Sun, Y. Lei, TrAC-Trends Anal. Chem. 89 (2017) 163.
- 11) J. Zhang *et al.*, J. Colloid Interface Sci. 511 (2018) 296.
- 12) D.L. Zhao, T.S. Chung, Water Res. 147 (2018) 43.