

تعیین مقادیر بسیار ناچیز رانیتیدین در آب آشامیدنی، قرص، سرم خون و ادرار انسان با یک روش رنگ‌سنجی بر پایه تجمع نانوذره‌های طلا

مریم مرادی^۱، محمودرضا سهرابی^{۲*} و سعید مرتضوی نیک^۳

۱. دانشجوی دکتری شیمی تجزیه، دانشکده شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران
۲. استاد شیمی تجزیه، دانشکده شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران
۳. استادیار شیمی معدنی، دانشکده شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

دریافت: دی ۹۸ بازنگری: تیر ۹۹ پذیرش: تیر ۹۹

چکیده

این پژوهش روش ساده، حساس و سریع طیف‌سنجی فرابنفش- مرئی برای تعیین مقادیر بسیار ناچیز داروی رانیتیدین (RAN) در برخی نمونه‌ها مانند آب آشامیدنی، قرص، سرم خون و ادرار انسان با به‌کارگیری نانوذره‌های طلا (AuNPs) را معرفی می‌کند. ویژگی تشدید پلاسمون سطحی (SPR) نانوذره‌های طلا و برهم‌کنش بین رانیتیدین و نانوذره‌های طلا پایه این روش است. افزودن رانیتیدین به نانوذره‌های طلا منجر به تجمع نانوذره‌ها شد. میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) تجمع نانوذره‌های طلا در حضور رانیتیدین را اثبات کرد. همچنین، توزیع اندازه نانوذره‌ها با پراکندگی نور پویا (DLS) بررسی شد. عامل‌های موثر بر جذب مانند pH، نوع و حجم بافر، غلظت AuNPs، زمان برهم‌کنش، قدرت یونی و یون‌های مداخله‌کننده بررسی شد و شرایط بهینه به دست آمد. گستره خطی در شرایط بهینه ۲/۵ تا ۳۰ میکروگرم برلیتر به دست آمد. همچنین، ضریب تعیین (R^2) برابر با ۰/۹۹۵۵، حد تشخیص (LOD) و حد تعیین کمی (LOQ) به ترتیب برابر با ۱/۴۵ و ۱/۶۳ میکروگرم برلیتر بود. افزون‌براین، اثر گونه‌های مداخله‌کننده بررسی شد. در نهایت، نتیجه‌ها نشان داد که روش پیشنهادی از پتانسیل بالایی برای تعیین سریع، حساس و دقیق رانیتیدین برخوردار است.

کلمات کلیدی: رنگ‌سنجی، رانیتیدین، نانوذره‌های طلا، تشدید پلاسمون سطحی، طیف‌سنجی، مقادیر بسیار ناچیز

مقدمه

مهم‌ترین نگرانی‌های انسان است. زیرا این آلاینده‌ها موجب تهدید محیط‌زیست و تاثیر بر زندگی موجودات زنده می‌شوند. افزایش شدید تولید و مصرف آلاینده‌های آب در چند دهه

آلودگی دارویی و گسترش آن در محیط‌زیست خطر بزرگی است که سلامت انسان و حیوانات را تحت شعاع قرار می‌دهد. از دیدگاه زیست‌محیطی، مساله آلودگی آب، از

طلا در رنگ‌سنجی است که برپایه تغییر رنگ از قرمز به آبی بوده، که به دلیل ویژگی رزونانس پلاسمون سطح (SPR) است برپایه این ویژگی، تجمع نانوذره‌ها باعث می‌شود رنگ قرمز محلول‌های نانوذره‌ها طلا به رنگ آبی تبدیل شود [۱۱]. افزودن نانوذره‌ها طلا به آنالیت باعث به وجود آمدن سیگنال قوی در ناحیه مرئی شده که به سبب پیوند نانوذره‌ها طلا با آنالیت است و دیگر به روش‌های آماده‌سازی اولیه نیاز ندارد و می‌توان مقادیر بسیار ناچیز آنالیت را تعیین کرد، همچنین، نسبت به سایر روش‌های مشابه حد تشخیص به‌طور قابل توجهی کاهش می‌یابد [۱۲].

رانیتیدین^۱ N-[۲-[[۵]]-(دی متیل آمینو) متیل]-۲-فورانیل-[۳-متیل اتیل] اتیل]-N-متیل-۲-نیترو-۱-اتیلن دی آمین، (شکل ۱) یکی از داروهای است که با این روش قابل تعیین است [۱۳ و ۱۴]. کاربرد اصلی آن در درمان زخم معده و گاستریت است. رانیتیدین برای درمان کوتاه مدت زخم‌های فعال دوازدهه و معده، ترشح بیش از حد اسید معده، برگشت محتویات معده به مری مورد استفاده قرار می‌گیرد و با مهار گیرنده‌های هیستامین نوع دو (H₂RA) ترشح اسید معده را کم می‌کند [۱۵]. رانیتیدین با اکسایش N، اکسایش S و دی‌متیل‌دارشدن، دگرگشت^۸ می‌شود، ولی به‌طور عمده به‌عنوان داروی بدون تغییر از بین می‌رود. پس از تجویز خوراکی یا تزریقی حدود ۳۰ تا ۷۰ درصد بدون تغییر باقی‌مانده و از راه ادرار طی ۲۴ ساعت دفع می‌شود [۱۶].

در مطالعه حاضر، یک روش طیف‌سنجی برپایه تجمع AuNPs به‌عنوان یک روش ساده، سریع، ارزان و حساس، برای تعیین رانیتیدین در آب آشامیدنی، قرص، سرم خون و ادرار انسان گزارش شده است. این روش می‌تواند در بسیاری از آزمایشگاه‌های داروسازی، تشخیص طبی، پاتولوژی و تصفیه خانه‌ها به صورت روشی متداول و دائمی برای تعیین

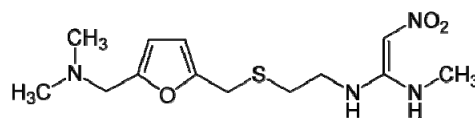
گذشته موجب پیدایش مشکل‌های زیادی برای جانداران و محیط‌زیست شده است [۱].

آلاینده‌های دارویی از جمله پادزیست‌ها، داروهای ضد افسردگی و غیره از راه ادرار و مدفوع، نفوذ فاضلاب‌های بیمارستانی و زباله‌های دارویی به سفره‌های آب زیرزمینی وارد می‌شوند و به دلیل محلول بودن در آب، با فرایندهای ابتدایی که در تصفیه خانه‌های آب به‌کار گرفته می‌شوند، تصفیه نمی‌شوند [۲]. بنابراین، اندازه‌گیری و شناسایی ترکیب‌های دارویی در محیط‌های آبی برای محافظت از سلامت و ایمنی انسان، لازم است. از روش‌های متفاوتی برای تعیین داروهای متفاوت در نمونه‌های آبی و زیستی از جمله زیست‌واکنشگاه غشایی (MBR^۱) [۳]، سوانگاری مایع-یونش تراکمی جفت‌شده با طیف‌سنجی جرمی^۲ [۴]، طیف‌سنجی جرمی سوانگاری گازی^۳ (GC/MS) [۵]، سوانگاری مایع با عملکرد بالا با طیف‌سنجی جرمی زمان-پرواز (HPLC/Q-TOF) [۶]، میکرو استخراج مایع-مایع پخشی (DLLME^۵) و سوانگاری مایع با عملکرد بالا (HPLC^۶) [۷] استفاده شده است. با این حال، بسیاری از این روش‌ها وقت‌گیر هستند و نیاز به حلال‌های آلی گران‌قیمت، ابزارهای پیشرفته و مربیان ماهر دارد [۸]. برای رفع این کاستی‌ها، روش‌های رنگ‌سنجی مورد توجه بسیاری قرار گرفته است [۹]. بر خلاف روش‌های دیگر، عملکرد ساده و مشاهده عینی از ویژگی‌های عالی این روش‌ها است [۱۰]. نانوذره‌های طلا (AuNPs) به دلیل ویژگی فیزیکی و شیمیایی ویژه‌ای که دارند، در کاربردهای زیستی و غیر زیستی جایگاه ویژه‌ای را به خود اختصاص داده‌اند. از جمله کاربردهای نانوذره‌های

1. Membrane bioreactor
2. Liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry
3. Gas chromatography mass spectrometry
4. High-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry
5. Dispersive liquid-liquid microextraction
6. High-performance liquid chromatography
7. Ranitidine
8. Metabolism

داروی رانیتیدین با دستگاه طیف‌سنج فرابنفش - مرئی به کار گرفته شود.

برخی از عامل‌های مؤثر مانند pH، زمان برهم‌کنش، حجم و نوع بافر و قدرت یونی بهینه شدند.



شکل ۱ ساختار شیمیایی رانیتیدین

بخش تجربی

مواد شیمیایی

تری سدیم سیترات ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$)، اگزالیک اسید ($H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$)، سدیم دی‌هیدروژن فسفات (NaH_2PO_4)، سدیم استات ($Na_3C_6H_5O_7$)، سرب (II) نیترات ($Pb(NO_3)_2$)، قلع (II) نیترات ($SnNO_3$)، نقره نیترات ($AgNO_3$)، منیزیم نیترات ($Mg(NO_3)_2$)، آهن (II) سولفات ($FeSO_4$)، مس (II) سولفات ($CuSO_4$)، آلومینیم کلرید ($AlCl_3$)، باریم کلرید ($BaCl_2$)، سدیم کلرید ($NaCl$)، کلسیم کلرید ($CaCl_2$)، روی کلرید ($ZnCl_2$)، نیتریک اسید (HNO_3)، هیدروکلریک اسید (HCl)، سود ($NaOH$) و اتانول از شرکت مرک و تتراکلروآئوریک اسید ($HAuCl_4 \cdot 3H_2O$) از شرکت لوباکمی خریداری شدند. دارو تهیه شد. در همه آزمایش‌ها، آب مقطر دو بار تقطیر به کار گرفته شد.

دستگاه‌ها

توزین مواد با ترازوی Sartorius مدل ۱S-124 Practum ساخت کشور آلمان با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم، و ثبت مقدار جذب نمونه با طیف‌سنج UV-Vis مدل ۱۰۰ Varian Cary ساخت شرکت Agilent بررسی شد. مشخصات ریخت نانوذره‌های طلا، با دستگاه میکروسکوپ

الکترونی عبوری (TEM) مدل CM۱۲۰ ساخت کشور هلند و همچنین، تعیین توزیع اندازه نانوذره‌ها، با دستگاه پراکندگی نور پویا (DLS) MALVERN مدل ZEN۳۶۰۰ ساخت کشور انگلستان انجام شد. pH متر pH Lab Metrohm ۸۲۷ برای تعیین pH، میکروپی‌بت‌های ۱۰-۱۰۰ و ۱۰۰۰-۱۰۰۰ میکرولیتری، Transferpette ساخت آلمان برای جابه‌جا کردن مایعات و همزن مغناطیسی IKA C-Digital ۱۰ MAG HS برای گرمادهی و هم‌زدن مایعات به کار گرفته شد. از دستگاه فراصوت EYELA مدل Rikakikai ساخت کشور ژاپن برای هم‌گن‌سازی مایعات، از دستگاه گریزانه Z۲۰۶A HERMLE ساخت کشور آلمان برای جداسازی اجزای یک مخلوط مایع و از آون ۳۵ L Memeert برای خشک کردن شیشه‌آلات استفاده شد.

روش‌های آزمایش

همه ظروف شیشه‌ای به کار گرفته در این پژوهش با محلول ۱:۳ از $HNO_3:HCl$ و سپس با آب مقطر دوبار تقطیر شسته، در آون خشک و در دمای محیط خنک شد.

آماده‌سازی نانوذرات طلا (AuNPs)

نانوذره‌ها طلا با روش ترکیب آماده‌سازی شد [۱۷]. نانوذره‌های طلا با کاهش تتراکلروآئوریک اسید ($HAuCl_4 \cdot 3H_2O$) با سدیم سیترات تهیه شد. برای این کار، ۰/۰۲۰۵ گرم از پودر زرد رنگ تتراکلروآئوریک اسید در مقداری آب مقطر دوبار تقطیر حل و به یک بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری افزوده و تا خط نشانه به حجم رسانده شد (رنگ محلول زرد روشن است). سپس محلول در یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته و یک مگنت وارد محلول و بر دستگاه گرم‌کن مجهز به همزن مغناطیسی با سرعت ۴۰۰ rpm قرار داده شد. گرم‌کن دستگاه روشن و محلول گرمادهی شد تا به جوش آید. هنگام جوشیدن بر ارلن یک شیشه ساعت حاوی مقداری یخ گذاشته تا از تبخیر محلول

داروی رانیتیدین به محلول به دست آمده افزوده شد. محلول به دست آمده به مقدار مشخصی نانوذره طلا افزوده و جذب آن با شرایط بهینه ثبت شد.

آماده سازی نمونه ادرار انسان

نمونه ادرار انسان مصرف کننده قرص رانیتیدین به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه گریزان با سرعت ۴۰۰۰rpm (دور بر دقیقه) قرار داده شد و مایع شفاف سرریز، سپس به یک بالن ۱۰ میلی لیتری افزوده شد. پس از آن، غلظت های متفاوتی از داروی رانیتیدین به محلول به دست آمده افزوده شد. با افزودن مقدار مشخصی نانوذره طلا به محلول به دست آمده، جذب آن در شرایط بهینه تعیین شد.

آماده سازی نمونه آب آشامیدنی

در این مرحله، بدون آماده سازی نمونه، غلظت های متفاوتی از داروی رانیتیدین به آب آشامیدنی افزوده شد. سپس، این محلول به مقدار مشخصی نانوذره طلا افزوده و اندازه گیری تحت شرایط بهینه انجام شد.

نتیجه ها و بحث

ویژگی های طیفی

طیف UV-Vis و رنگ محلول ها در شکل ۲ نشان داده شده است. رنگ AuNPs قرمز بود و بیشینه جذب در ۵۲۰ نانومتر به دست آمد. در حضور رانیتیدین کاهش جذب این نانوذره ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر و افزایش جذب در ۶۴۰ نانومتر رخ داد. برهم کنش بین نانوذره های طلا و RAN و تجمع نانوذره های طلا منجر به تغییر رنگ از قرمز به آبی شد.^۱

جلوگیری شود. پس از جوشیدن در ۵ تا ۶ مرحله، هر بار حدود یک میلی لیتر از محلول تری سدیم سیترات ۱/۱٪ وزنی افزوده شد تا تغییر رنگ از زرد خیلی روشن بلافاصله به خاکستری و خیلی سریع به رنگ قرمز شرابی درآید. گرمادهی و هم زدن ۱۰ دقیقه ادامه یافت و سپس، دستگاه همزن مغناطیسی خاموش و محلول در دمای اتاق خنک شد. دوباره محلول را در بالن ۱۰۰ میلی لیتری ریخته و اگر کاهش حجم داشت، با آب مقطر تا خط نشانه به حجم رسانده و در ظروف تیره رنگ در دمای ۴°C و دور از نور نگهداری شد. غلظت نانوذره به دست آمده 4×10^{-4} مول بر لیتر بود. سپس، برای تعیین غلظت های متفاوت نانوذره ها، محلول به دست آمده، رقیق شد.

آماده سازی محلول مادر رانیتیدین

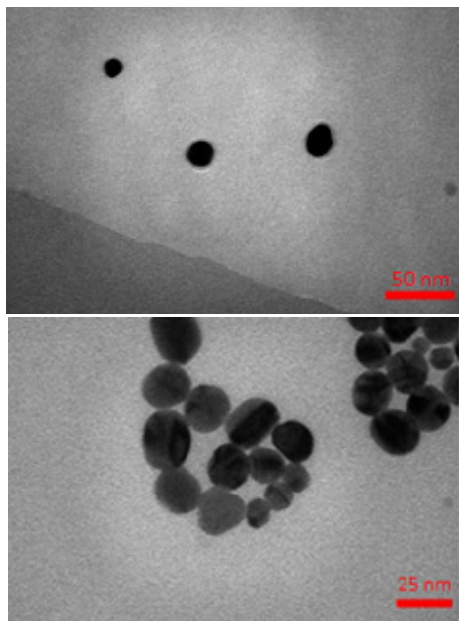
بدین منظور ۰/۱ گرم از این دارو در داخل یک بالن ۱۰۰ میلی لیتری ریخته و با آب مقطر دوبار تقطیر تا خط نشانه به حجم رسانده و برای مراحل بعدی آزمایش، رقیق سازی انجام شد.

آماده سازی محلول قرص رانیتیدین

۱۰ عدد قرص رانیتیدین پودر و مقدار ۰/۱ گرم از آن در مقداری آب مقطر دوبار تقطیر ریخته شد. پس از آن ۱۰ دقیقه در دستگاه گریزان با سرعت ۴۰۰۰rpm (دور بر دقیقه) قرار داده شد و مایع شفاف بالایی سرریز و از کاغذ صافی عبور داده شد. سپس، محلول به یک بالن ۱۰۰ میلی لیتری ریخته و تا خط نشانه به حجم رسانده شد. در انتها محلول به دست آمده به مقدار مشخصی نانوذره طلا افزوده و تحت شرایط بهینه جذب آن اندازه گیری شد.

آماده سازی نمونه سرم خون

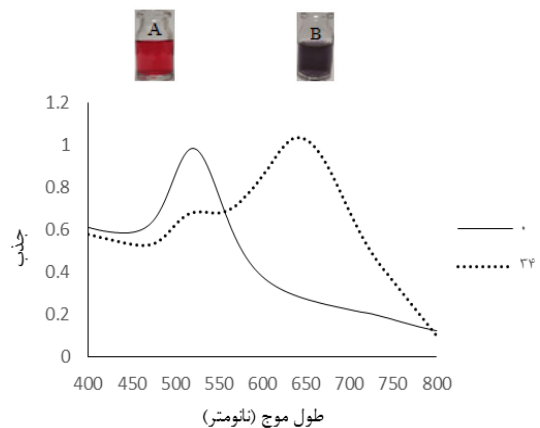
نمونه خون انسان مصرف کننده قرص رانیتیدین را به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه گریزان با سرعت ۴۰۰۰rpm (دور بر دقیقه) قرار داده، سپس مایع شفاف سرریز و به یک بالن ۱۰ میلی لیتری افزوده شد. پس از آن غلظت های متفاوتی از



(الف)

(ب)

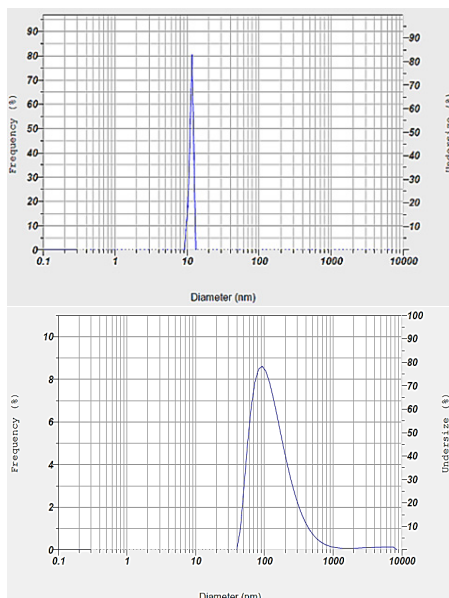
شکل ۳ تصاویر TEM نانوذره‌های طلا بدون حضور (الف) و با حضور RAN (ب)



شکل ۲ طیف UV-Vis نانوذره‌های طلا بدون حضور (A) و با حضور رانتیدین (B)

ویژگی‌های AuNPs

تصویرهای TEM از AuNPs در حضور و بدون حضور RAN به ترتیب در شکل‌های ۳-الف و ۳-ب نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، پیش از افزودن RAN، AuNP ها به خوبی پراکنده و کوچک هستند. از طرف دیگر، پس از افزودن RAN، تجمع نانوذره‌ها رخ داده است. توزیع اندازه نانوذره‌ها در حضور و بدون حضور RAN با DLS^۱ در شکل‌های ۴-الف و ۴-ب مشخص شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود قله نمودار توزیع، پیش و پس از افزودن RAN به ترتیب در ۱۰ و بیشتر از ۱۰۰ نانومتر است.



(الف)

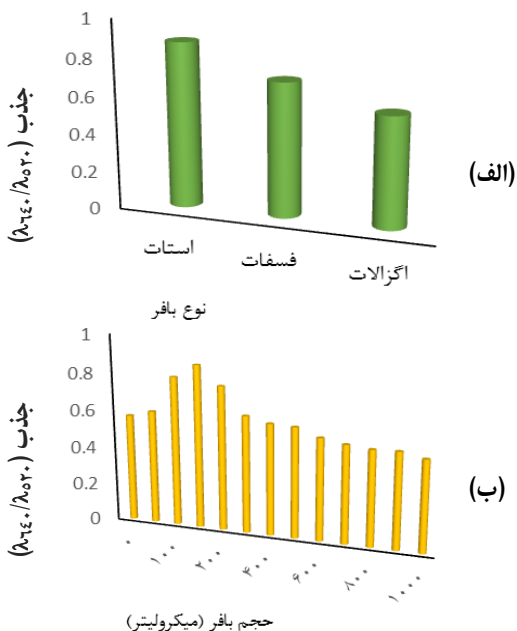
(ب)

شکل ۴ نمودار DLS نانوذره‌های طلا بدون حضور (الف) و با حضور RAN (ب)

1. Dynamic light scattering

اثر نوع و حجم بافر

تأثیر بافرهای متفاوت و نیروی یونی آن‌ها بر شدت نسبی جذب نانوذره طلا در تعیین RAN بررسی شد. هر جا که نسبت جذب ($\lambda_{۶۴۰}/\lambda_{۵۲۰}$) به بالاترین مقدار خود برسد، نانوذرها بیشینه تجمع را خواهند داشت. نتیجه‌ها نشان داد که شدت نسبی جذب در بافر استات بیشتر از بافرهای دیگر است. (شکل ۶-الف) همچنین، مقدار بهینه بافر استات ۱۵۰ میکرولیتر بود (شکل ۶-ب). بنابراین، ۱۵۰ میکرولیتر از بافر استات ۱ مولار، به‌عنوان بافر بهینه به‌منظور تثبیت pH در تعیین RAN به‌کاررفت.

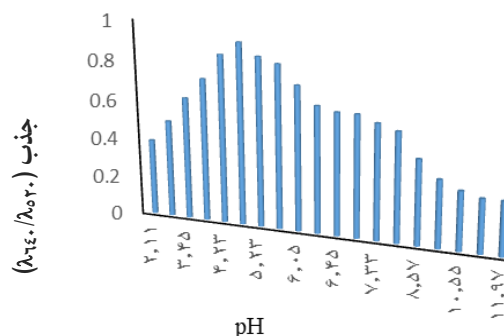


شکل ۶ اثر نوع بافر (الف) و حجم بافر (ب) بر تشدید پلاسмон سطحی

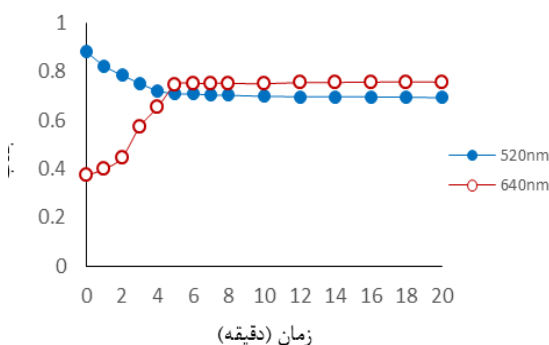
اثر غلظت AuNPs

غلظت‌های متفاوت AuNPs در گستره ۰/۱ تا ۱۰۰ نانومول بر لیتر برای بررسی حساسیت روش پیشنهادی مورد بررسی قرار گرفت. هر جا که شدت نسبی جذب به بالاترین مقدار خود برسد، نانوذرها بیشترین تجمع را خواهند داشت. برپایه شکل ۷، با افزایش غلظت AuNPs تا

به‌دلیل حضور گروه‌های هیدروکسیل، کربوکسیل و آمین در محلول‌های مورد استفاده، pH عامل مهمی بود که باید در نظر گرفته می‌شد و pH محلول نقش مهمی در تجمع AuNPs دارد. اثر pH در گستره ۲ تا ۱۲ برای محلول‌های آبی حاوی ۳۴ میکروگرم بر لیتر از RAN بررسی شد. به‌منظور تنظیم pH، حجم مناسب هیدروکلریک اسید و سدیم هیدروکسید به محلول‌ها افزوده شد و تغییرات pH با pH متر اندازه‌گیری شد. برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک عامل اصلی تجمع نانوذره‌های طلا در حضور این مواد هستند. با در نظر داشتن این مسئله، برای افزایش احتمال برهم‌کنش الکترواستاتیک، بهترین شرایط زمانی که در آن نسبت جذب ($\lambda_{۶۴۰}/\lambda_{۵۲۰}$) به بالاترین مقدار خود برسد، قابل دستیابی است. فرض بر این است که نانوذرها بیشترین تجمع را خواهند داشت و خوشه‌ای شدن رخ می‌دهد [۱۸]. همان‌طور که در شکل ۵ نشان داده شده است، نانوذره‌های طلا تهیه‌شده در pH برابر با ۴/۷۵ پایدار است. گونه‌ها نیز بهترین ساختار برای برهم‌کنش با نانوذره‌های طلا را در این pH داشتند و تشدید پلاسمون سطحی در حضور RAN بهبود یافت. بنابراین، pH برابر با ۴/۷۵ برای مطالعه بیشتر انتخاب شد.



شکل ۷ اثر pH بر تشدید پلاسمون سطحی

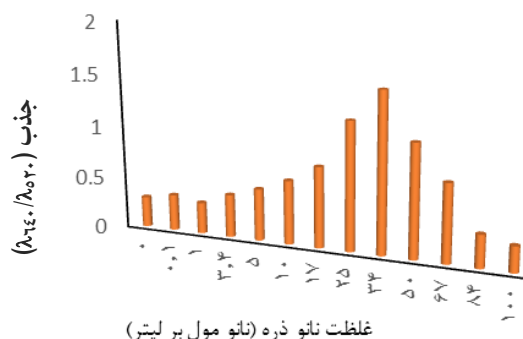


شکل ۸ اثر زمان بر تشدید پلاسمون سطحی

اثر قدرت یونی

قدرت یونی نقش مهمی در فرایند تجمع دارد که می‌توان به توانایی الکترولیت‌های قوی در محدود کردن لایه دوگانه الکتریکی ناشی از ماده پوشش‌دهنده، نسبت داد. نانوذره‌ها به‌طور معمول باردارند و نسبت به تغییرات دی‌الکتریک محلول، بسیار حساس هستند. NaCl از الکترولیت‌های قوی به حساب می‌آید. بنابراین، به‌طور موثری می‌تواند بار الکتریکی محلول را تحت تاثیر قرار دهد و منجر به کاهش فاصله بین‌ذره‌ای و در نهایت تجمع ذره‌ها شود [۱۹]. برای مطالعه اثر قدرت یونی، از غلظت‌های متفاوت NaCl در گستره صفر تا ۵ میکروگرم برلیتر استفاده شد. تغییرهای بار الکتریکی با کمیت ثابت دی‌الکتریک (ϵ) توصیف می‌شود. شکل ۹ نشان می‌دهد، با افزایش غلظت NaCl تا ۰/۵ میکروگرم برلیتر، مقدار اثرگذاری ϵ بیشتر شده، شدت نسبی جذب افزایش و فاصله بین ذره‌ها کاهش یافته است. همچنین، نانوذره‌ها تجمع یافته‌اند. با افزایش غلظت NaCl بیش از ۰/۵ میکروگرم برلیتر، فاصله بین ذره‌ها کاهش یافته و دافعه الکترواستاتیک بین یون‌ها بیشتر از نیروی جاذبه شده است، به همین دلیل تجمع نانوذره‌ها کاهش می‌یابد. بنابراین، غلظت ۰/۵ میکروگرم برلیتر مقدار بهینه است.

۳۴ نانومول بر لیتر، نسبت جذب ۶۴۰/۵۲۰ افزایش می‌یابد و با افزایش بیشتر از ۳۴ نانومول بر لیتر، به‌علت اینکه نانوذره‌ها به‌طور معمول بار دارند در غلظت‌های بالاتر تراکم بارهای الکتریکی بین یون‌ها بیشتر شده و دافعه الکترواستاتیک بین یون‌ها بیشتر از نیروی جاذبه می‌شود. به همین دلیل تجمع نانوذره‌ها طلاً کاهش یافته و در نتیجه شدت جذب در طول موج ۶۴۰/۵۲۰ کاهش می‌یابد. بنابراین، مقدار بار الکتریکی از یک حدی به بعد تاثیر عکس دارد. [۱۹]. در نتیجه برای مطالعه‌های بیشتر، غلظت مطلوب AuNPs، ۳۴ نانومول بر لیتر انتخاب شد.



شکل ۷ اثر غلظت AuNPs بر تشدید پلاسمون سطحی

اثر زمان برهم‌کنش

زمان‌های متفاوت برهم‌کنش بین AuNPs و RAN (صفر تا ۲۰ دقیقه) بر طیف‌های جذب، مورد بررسی قرار گرفت. همان‌طور که در شکل ۸ نشان داده شده است، تغییر قابل توجهی در جذب پس از ۵ دقیقه مشاهده نشد. بنابراین، یکی از مزایای این روش، بیشینه جذب در زمان کوتاه (۵ دقیقه) است.

RAN ترسیم شد. معادله خطی خوبی با روش پیشنهادی در گستره ۲۵ تا $300 \mu\text{g l}^{-1}$ نشان داده شد. بهترین نتیجه مربوط به غلظت ۳۴ ppb بود زیرا تجمع نانوذره‌ها، کامل شد و تغییر رنگ محلول از قرمز به آبی مشاهده شد (شکل ۱۱). همچنین، یک جابه‌جایی قرمز از ۵۲۰ تا ۶۴۰ نانومتر داشتیم. افزون‌براین، حد تشخیص (LOD) و حد تعیین کمی (LOQ) با استفاده از معادله‌های ۱ و ۲ محاسبه شد.

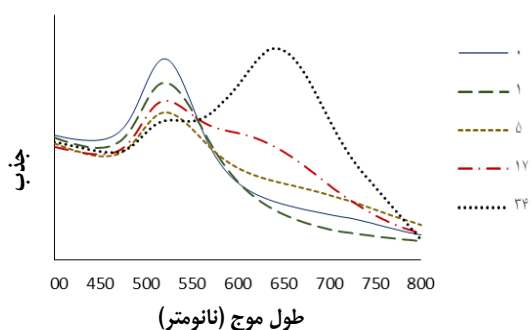
$$\text{LOD} = y_B + 3S_B \quad (1)$$

$$\text{LOQ} = y_B + 10S_B \quad (2)$$

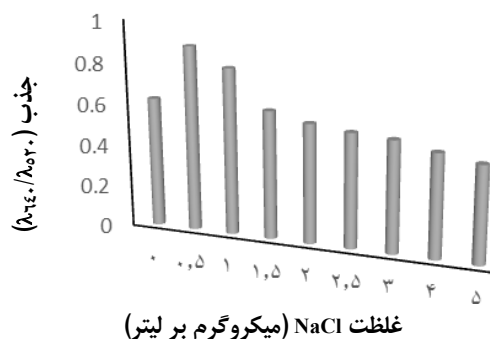
در آن‌ها، y_B و S_B به ترتیب عرض از مبدا خط و واریانس و انحراف استاندارد شاهد را نشان می‌دهند [۲۰]. LOD و LOQ به ترتیب ۱/۴۵ و ۱/۶۳ میکروگرم بر لیتر تخمین زده شد. نتیجه‌ها نشان دهنده حساسیت بالای این روش برای تعیین RAN است، همچنین، ضریب تعیین ($R^2 = 0.9955$) بود که نشان‌دهنده برازش خوب منحنی است.



شکل ۱۰ تصاویر واکنش رنگ‌سنجی AuNPs-RAN با غلظت‌های متفاوت RAN (غلظت‌های A, B, C, D و E به ترتیب برابر با صفر، ۱، ۵، ۱۷ و 34 mg l^{-1} هستند).



شکل ۱۱ طیف‌های فرابنفش-مرئی AuNPs-RAN در غلظت‌های متفاوت



شکل ۹ اثر قدرت یونی بر تشدید پلاسمون سطحی

بررسی اثر یون‌های مزاحم

انتخاب روش پیشنهادی با افزایش یون‌های متفاوت مانند Sn^{2+} , SO_4^{2-} , Fe^{2+} , Na^+ , Ag^+ , Cu^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cl^- , NO_3^- و Mg^{2+} به محلول‌های حاوی مقدار ثابت RAN و AuNPs بررسی شد. نتیجه‌ها در جدول ۱ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، تداخل با Na^+ , Ba^{2+} , Mg^{2+} و Pb^{2+} بسیار ضعیف است. در بین یون‌های آزمایش شده، غلظت‌های به نسبت زیاد Ag^+ ، SO_4^{2-} و NO_3^- مجاز است ولی Zn^{2+} ، Fe^{2+} و Cl^- فقط در غلظت‌های به نسبت کم مجاز هستند (۱۰ برابر غلظت RAN). غلظت مجاز این یون‌های مزاحم بیشتر از غلظت RAN است که نشان‌دهنده گزینش‌پذیری خوبی بین دارو و سایر گونه‌ها است.

جدول ۱ اثر یون‌های مزاحم بر تعیین RAN

غلظت قابل تحمل ([X] [RAN])	گونه‌های مداخله کننده
برابر ۱۰۰۰	Mg^{2+} و Pb^{2+} , Na^+ , Ba^{2+}
برابر ۱۰۰	NO_3^- و SO_4^{2-} , Ag^+
برابر ۱۰	Al^{3+} و Cl^- , Fe^{2+} , Zn^{2+}

کاربردهای تجزیه‌ای

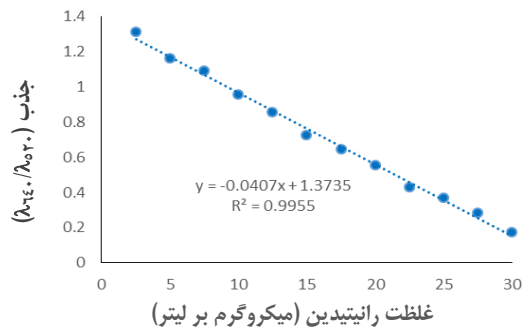
تصاویر رنگ‌سنجی، طیف‌های UV-Vis و نمودار واسنجی در شکل‌های ۱۰ تا ۱۲ نشان داده شده‌اند. برای به‌دست آوردن نمودار واسنجی، نسبت جذب در برابر غلظت

جدول ۲ تعیین RAN در نمونه‌های واقعی (n=۳)

نمونه	RAN افزوده شده ($\mu\text{g l}^{-1}$)	RAN به‌دست آمده ($\mu\text{g l}^{-1}$)	بازیابی (%)	RSD (%)
قرص	۰	۱,۳۸	---	۹
	۱۲,۵	۱۳,۶۶	۹۸,۱۷	۸
	۲۵	۲۴,۷۸	۹۳,۵۷	۶
آب آشامیدنی	۰	---	---	۳
	۱۲,۵	۱۲,۴۷	۹۹,۶۹	۹
	۲۵	۲۵,۴۸	۱۰۱,۸۸	۲
سرم خون	۰	۰,۶۹	---	۸
	۱۲,۵	۱۳,۴۲	۱۰۱,۸۷	۱۰
	۲۵	۲۴,۷۸	۹۶,۳۷	۹
ادرار انسان	۰	۰,۴۳	---	۹
	۱۲,۵	۱۳,۰۶	۱۰۱,۰۷	۴
	۲۵	۲۴,۷۱	۹۷,۱۵	۷

مقایسه روش حاضر با روش‌های دیگر

جدول ۳ مقایسه‌ای بین روش پیشنهادی و سایر روش‌ها را نشان می‌دهد. LOD و LOQ پژوهش حاضر از روش‌های گزارش شده بر پایه LC-SPE، LC-MS/MS و HPLC بهتر است. افزون‌براین، ابزارهای تجزیه سایر روش‌های گزارش شده پیچیده‌تر هستند.



شکل ۱۲ نمودار واسنجی ۲,۵ تا $30 \mu\text{g l}^{-1}$ رانیتیدین

بررسی نمونه‌های واقعی

تأیید روش پیشنهادی از نظر کاربرد و اعتبارسنجی با تعیین مقادیر بسیار کمی از RAN در قرص، آب آشامیدنی، سرم خون و ادرار انسان مورد بررسی قرار گرفت. محلول‌های استاندارد RAN با غلظت‌های متفاوت به نمونه‌های واقعی افزوده شدند. سرانجام، RAN با روش پیشنهادی تعیین شد. نتیجه‌ها، از جمله درصد بازیابی و درصد انحراف استاندارد نسبی (RSD) در جدول ۲ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، نتیجه‌های نمونه‌های واقعی رضایت‌بخش بود و نشان داد که تعیین مقادیر کم غلظت RAN با روش پیشنهادی با سرعت بالا امکان‌پذیر است.

جدول ۳ مقایسه روش پژوهش حاضر با روش‌های دیگر گزارش شده در مقاله‌ها برای تعیین RAN

ردیف	روش‌های تجزیه و تحلیل	گستره خطی ($\mu\text{g l}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g l}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g l}^{-1}$)	نوع نمونه	منبع
۱	SDME-LC-MS*/MS	۰٫۰۲۸-۱۵	۰٫۰۰۹۴	۰٫۰۲۸	نمونه‌های آب	[۲۱]
۲	سوانگاری مایع (LC)	۵۰-۱۵۰۰	۵	۱۵	پلاسمای خون	[۲۲]
۳	LC-SPE**	۸-۸۰۰	۲	۸	پلاسمای خون	[۲۳]
۴	LC-MS/MS	۱۰-۵۰۰	۳	۱۰	خون	[۲۴]
۵	HPLC***	۵۰-۲۰۰۰	۱۰	۵۰	پلاسمای خون	[۲۵]
۶	طیف‌سنجی فرابنفش - مرئی	۲٫۵-۳۰	۱٫۴۵	۱٫۶۳	آب آشامیدنی، قرص، سرم خون و ادرار انسان	پژوهش حاضر

* Single drop microextraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry

** Liquid chromatographic-solid phase extraction

*** High Performance Liquid Chromatography

نتیجه‌گیری

گرفت که روش پیشنهادی از حساسیت و گزینش‌پذیری خوبی برای اندازه‌گیری RAN برخوردار است. افزون‌براین، اندازه‌گیری با این روش، ساده و کم هزینه است و برخلاف روش HPLC، هیچ فرایند آماده‌سازی اولیه در این روش انجام نشده است و تعیین RAN در ۵ دقیقه در محلول‌های آبی امکان‌پذیر است. نتیجه‌های اندازه‌گیری RAN در نمونه‌های متفاوت مانند آب آشامیدنی، قرص، سرم خون و ادرار انسان نشان‌دهنده صحت روش پیشنهادی است.

در این مطالعه، یک روش حساس و انتخابی به نام «رنگ‌سنجی» برای تعیین RAN در آب آشامیدنی، فرمولاسیون دارویی و نمونه‌های زیستی با استفاده از AuNPs معرفی شد. پیک جذبی SPR نانوذره‌های طلا پایه این روش است. تعیین RAN می‌تواند با چشم غیر مسلح و روش طیف‌سنجی UV-Vis انجام شود. همچنین، با توجه به حد تشخیص پایین و مزاحمت پایین یون‌ها می‌توان نتیجه

مراجع

- [1] Verlicchi, P.; Galletti, A.; Petrovic, M.; Barcel, D.; J. Hydrology 389, 416-428, 2010.
- [2] Giraldo, A.L.; Penuela, G.A.; Torres, P.R.A.; Pino, N.J.; Palominos, R.A.; Mansilla, D.; Water Research 44, 5158-5167, 2010.
- [3] Radjenovic, J.; Petrovic, M.; Barcelo, D.; Anal Bioanal Chem 387, 1365-1377, 2007.
- [4] Miao, X.S.; Metcalfe, C.D.; Journal of Chromatography A 998, 133-141, 2003.
- [5] Qureshi, T.; Memon, N.; Memon, S.Q.; Shaikh, H.; American Journal of Modern Chromatography 1, 45-54, 2014.
- [6] Martin, J.; Buchberger, W.; Luis Santos, J.; Alonso, E.; Aparicio, I.; Journal of Chromatography B 895-896, 94-101, 2012.
- [7] Yeon Park, S.; Myung, S.W.; Bulletin of the Korean Chemical Society 36, 2901-2906, 2015.
- [8] Kazerooni, H.; Bahreyni, A.; Ramezani, M.; Abnous, K.; Mohammad Taghdisi, S.; Nanomed, J 6, 105-111, 2019.
- [9] Qi, M.; Tu, C.; Dai, Y.; Wang, W.; Wang, A.; Chen, J.; Analytical Methods 10, 3402-3407, 2018.
- [10] Awual, R.; Hasan, M.; Sensors and Actuators B 206, 692-700, 2015.

- [11] Masoudyfar, Z.; Elhami, Sh.; Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 211, 234–238, 2019.
- [12] Wang, R.; Fan, Sh.; Wang, R.; Wang, R.; Dou, H.; Wang, L.; NANO: Brief Reports and Reviews 8, 4, 1350037-1–9, 2013.
- [13] Hohnjec, M.; Kuftinec, J.; Malnar, M.; Blazevic, N.; Anal. Profiles Drug Subst 15, 533–561, 1986.
- [14] Vediappan, K.; Lee, Ch.W.; Current Applied Physics 11, 995–1000, 2011.
- [15] Grand, S.M.; Langtry, H.D.; Brogden, R.N.; Drugs 37, 801–870, 1989.
- [16] Lima, L.S.; Weinert, P.L.; Lemos, S.C.; Sequinel, R.; Pezza, H.R.; Pezza, L.; Spectrochimica Acta Part A 71, 1999–2004, 2009.
- [17] Turkevich, J.; Cooper Stevenson, P.; Hillier, J.; Discuss. Faraday Soc. 11, 55–75, 1951.
- [18] Bahram, M.; Madrakian, T.; Alizadeh, S.; Journal of Pharmaceutical Analysis 7, 411-416, 2017.
- [19] Madrakian, T.; Afkhami, A.; Borazjani, M.; Bahram, M.; Spectrochimica Acta. Part A 52, 1544-1550, 2005.
- [20] Miller, J.N.; Miller, J.C.; “Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry”, 6th Ed., Prentice Hall, USA, 2019.
- [21] Kiszkiel-Taudul, I.; Starczewska, B.; Microchemical Journal 145, 936–941, 2019.
- [22] Perez, C.F.; Olguin, H.J.; Perez, J.F.; Lopez, A.T.; Asseff, I.L.; Garcia, C.A.; Journal of Chromatography B 795, 141–144, 2003.
- [23] Hare, L.G.; Mitchel, D.S.; Millership, J.S.; Collier, P.S.; McElnay, J.C.; Shields, M.D.; Carson, D.J.; Fair, R.; Journal of Chromatography B 806, 263–269, 2004.
- [24] Yakkundi, Sh.; Millership, J.; Collier, P.; Shields, M.D.; McElnay, J.; Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 56, 1057– 1063, 2011.
- [25] Kokoletsi, M.X.; Kafkala, S.; Tsiaganis, M.; Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 38, 763–767, 2005.

Ultra trace determination of Ranitidine in drinking water, tablet, serum (blood), and human urine by a colorimetric method based on the aggregation of gold nanoparticles

Maryam Moradi¹, Mahmoud Reza Sohrabi^{2,*}, Saeid Mortazavinik³

1. PhD student in Analytical Chemistry, Department of Chemistry, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2. Prof. of Analytical Chemistry, Department of Chemistry, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

3. Assistant Prof. of inorganic Chemistry, Department of Chemistry, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract: This research introduces a simple, sensitive, and rapid ultraviolet- visible spectrophotometry method for determination of ultra-trace amount of Ranitidine (RAN) in several sample such as drinking water, tablet, serum (blood), and human urine using gold nanoparticles (AuNPs). The surface plasmon resonance (SPR) property of AuNPs and the interaction between RAN and AuNPs is the base of this method. The addition of RAN into AuNPs led to the aggregation of AuNPs. Transmission electron microscopy (TEM) proved aggregation of AuNPs in the presence of RAN. Also, the size of the nanoparticles distribution was evaluated by dynamic light scattering (DLS). The parameters that affect the absorbance such as pH, type and volume of buffer, AuNPs concentration, interaction time, ionic strength, and interfering ions were investigated and optimized. Linear range was obtained 25-300 μgL^{-1} in the optimum conditions. Also, the correlation coefficient ($R^2=0.9955$) and the limit of detection (LOD), and limit of quantification (LOQ) were equal to 1.45 μgL^{-1} , and 1.63 μgL^{-1} , respectively. In addition, the effect of interfering species was investigated. Eventually, the results showed that the proposed method had a high potential for rapid, sensitive, and accurate determination of RAN.

Keywords: Colorimetric, Ranitidine, Gold nanoparticles, Surface plasmon resonance, spectrophotometry, Ultra-trace