

پیش تغلیظ مقادیر ناچیز کلونازپام در نمونه‌های آبی با نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دار شده

نرگس صالحی^۱، علی مقیمی^{۲*} و میلاد آبنیکی^۳

۱. دانش‌آموخته مقطع دکترا گروه شیمی، دانشکده شیمی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران.

۲. دانشیار گروه شیمی، دانشکده شیمی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران.

۳. دانش‌آموخته مقطع دکترا گروه پژوهشی رزین و افزودنی‌ها، پژوهشگاه علوم و فناوری رنگ، تهران، ایران.

دریافت: خرداد ۱۴۰۳ بازنگری: مهر ۱۴۰۳ پذیرش: شهریور ۱۴۰۴



<https://doi.org/10.30495/JACR1.1404.1123089>

چکیده

در این پژوهش، با روش جدید استخراج فاز جامد پختی مقدارهای ناچیز پساب‌های دارویی به‌عنوان شاخص داروی کلونازپام در نمونه‌های آبی با نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دار شده ارائه و اندازه‌گیری مقدار دارو با طیف‌سنجی مرئی و فرابنفش در نمونه‌های حقیقی انجام شد. نانولوله‌های کربوکسیل‌دار شده با طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR)، پراش پرتو ایکس (XRD) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) شناسایی شدند. در این روش، یک سامانه دو فازی به‌کارگرفته شد که در آن فاز دهنده نمونه‌های آبی حاوی کلونازپام و فاز گیرنده نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دار شده بودند. آزمایش‌ها در دو مرحله استخراج از نمونه‌های آبی و واجذب داروی کلونازپام با حلال آمونیاک انجام و نمونه‌های واجذب‌شده برای تجزیه بیشتر با دستگاه طیف‌سنجی مرئی و فرابنفش بررسی شدند. این روش ارزان، ساده و سریع است. همچنین، روشی حساس و مطمئن برای استخراج و پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری مقادیر ناچیز کلونازپام به‌حساب می‌آید. عامل‌های مؤثر بر استخراج مانند pH، مقدار و نوع حلال شوینده و زمان استخراج بررسی شدند. فاکتور تغلیظ، مقدار حد تشخیص روش (LOD) و انحراف استاندارد نسبی به ترتیب برابر با ۳۰، $1^{-1} \mu\text{g}$ و ۲/۴ درصد به‌دست آمدند.

واژه‌های کلیدی: نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دار شده، طیف‌نورسنجی مرئی و فرابنفش، داروی کلونازپام.

مقدمه

روش استخراج فاز جامد ترکیبی با روش میکرواستخراج فاز جامد پخشی، با عنوان استخراج فاز جامد پخشی به‌عنوان یک روش موثر مطرح می‌شود. عدم استفاده از حلال‌های سمی و گران‌قیمت در این روش، مزیت مهم آن نسبت به سایر روش‌ها است. این روش برپایه پخش جاذب جامد در محلول آبی برای استخراج آنالیت است. از مزایای روش استخراج فاز جامد پخشی می‌توان به سادگی، سرعت بالا، ایمنی و بازدهی بیشتر اشاره کرد. نانولوله‌های کربنی شامل نانولوله‌های تک‌دیواره و چنددیواره هستند که با توجه به ساختار ویژه خود در صنایع متفاوت به‌کار گرفته شده‌اند. ویژگی بی‌همتای الکتریکی، گرمایی و مکانیکی این ماده موجب کاربرد بسیار آن شده است. همچنین، ساختار نانولوله‌ها با داشتن سطح مقطع بالا و خلل و فرج موجب شده است که آن‌ها به‌عنوان جاذب آلاینده‌های شیمیایی از نظر آنیونی، کاتیونی، آلی و معدنی به‌کار گرفته شوند. فیلتر سنکال^۱ و همکارانش بر روی سنتز جاذب بسیار جدید و به‌کارگیری آن در پیش‌تغلیظ کلونازپام و فلز سنگین در نمونه‌های آبی کار کردند. در این کار، رزین تیواوره سولفون آمید، سنتز و شناسایی شد و به‌عنوان یک ماده جذبی جدید برای اندازه‌گیری‌های فلز سنگین و کلونازپام در نمونه آب به‌کار گرفته شد. همچنین، بهینه‌سازی شرایط تجربی مانند pH، مقدار رزین، زمان تماس، حجم نمونه اول و حجم شوینده نهایی، انجام شد. طیف‌سنجی جذب اتمی شعله‌ای برای اندازه‌گیری مقادیر ناچیزی از فلز سنگین به‌کار گرفته و در نتیجه روشی پیشنهادی برای اندازه‌گیری فلزهای سنگین ارائه شد [۱ تا ۵]. جذب آتورواستاتین از پلاسمای انسانی با نانوچندسازه حاوی نانوذره‌های مغناطیسی به‌روش استخراج فاز جامد مغناطیسی به‌وسیله کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، یک روش تحلیلی ساده و حساس توسعه یافته است. روش استخراج فاز جامد مغناطیسی به‌عنوان یک روش استخراج ساده، سریع و

کارآمد برای تغلیظ نمونه به‌کار گرفته شده است [۶ تا ۱۰]. کلونازپام دارویی از گروه بنزودیازپین‌های پر قدرت است که برای پیشگیری و درمان صرع، اختلال پانیک، شیدایی اختلال دو قطبی، بیقراری مرتبط با روان پریشی، وسواس فکری-عملی، اختلالات اضطرابی و اختلالات حرکتی مانند بی‌قراری حرکتی تجویز می‌شود. کلونازپام همچنین، به‌عنوان داروی مسکن مصرف می‌شود. زیرا به‌طور عمده دردهای عصبی و وابسته به تلقین و ذهن را کاهش می‌دهد [۱۱]. این دارو از راه خوراکی، تزریق عضلانی، تزریق وریدی و زیربانی تجویز می‌شود. تأثیر دارو پس از حدود یک ساعت نمایان می‌شود و بین ۶ تا ۱۲ ساعت نیز ادامه دارد. کلونازپام از جمله بنزودیازپین‌های بسیار اعتیادآور است، ولی اعتیادآوری کمتری نسبت به آلپرازولام دارد زیرا نیمه عمر آن بیشتر است [۱۲ تا ۱۹]. در این پژوهش، نانولوله‌های کربنی، کربوکسیل‌دار و با طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR)، پراش پرتو ایکس (XRD) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) شناسایی شدند. با توجه به خواص ویژه آن‌ها به‌منظور حذف آلاینده‌های شیمیایی، برای پیش‌تغلیظ داروی کلونازپام در نمونه‌های آب، ادرار و پلازما با روش استخراج فاز جامد پخشی، به‌کار گرفته شدند. مقدار دارو در نمونه‌ها با طیف‌سنجی مرئی و فرابنفش تعیین شد.

بخش تجربی

مواد و روش‌ها

نانولوله کربنی چنددیواره، پتاسیم کلرات، تری‌اتیلن تتراآمین، اسیدهای مورد استفاده (نیتریک اسید، سولفوریک اسید، استیک اسید) با درجه خلوص تجزیه‌ای از شرکت مرک تهیه شدند.

دستگاه‌ها

دستگاه گریزانه Hettich مدل ۳۲ A TOFIX ساخت آلمان، دستگاه pH متر HANNA مدل 83141HI ساخت

صورت بود که محلول‌های ppm ۲ داخل بشر ریخته شدند و الکتروود pH متر در آن شناور شد و با افزودن حجم‌های بسیار کم از نیتریک اسید M ۱/۰ و آمونیاک M ۱/۰ با پیست، pH در مقدار موردنظر تنظیم شد. پس از تنظیم pH محلول، به هر یک از محلول‌ها g ۰/۱۰ از نانولوله‌های کربوکسیل‌دار شده افزوده و به مدت ۱۵ دقیقه داخل تکاننده گذاشته شد. سپس، مخلوط گریزانه و غلظت کلونازپام در محلول بالای لوله آزمایش با طیف‌سنجی مرئی و فرابنفش تعیین شد [۲۳ و ۲۴].

اثر مقدار نانولوله برای بازیابی کلونازپام

ابتدا پنج محلول ppm ۲/۰ از کلونازپام به حجم ۵۰ میلی‌لیتر تهیه و داخل پنج ارلن ریخته شدند. محلول‌ها در pH برابر با ۸ (بهینه) تنظیم، مقدارهای متفاوت نانولوله (۰/۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۵، ۰/۱ گرم) به آن‌ها افزوده و به مدت ۱۵ دقیقه داخل تکاننده قرار داده شدند. سپس، این مخلوط‌ها گریزانه و غلظت کلونازپام در محلول بالای لوله‌های آزمایش با طیف‌سنجی مرئی و فرابنفش تعیین شدند.

اثر نوع شوینده‌های متفاوت برای بازیابی کلونازپام

پنج محلول ppm ۲/۰ از کلونازپام به حجم ۵۰ میلی‌لیتر تهیه و داخل پنج ارلن ریخته شدند. محلول‌ها در pH بهینه تنظیم، مقدار ۰/۰۵ گرم از نانولوله کربوکسیل‌دار شده به آن‌ها افزوده و به مدت ۱۵ دقیقه داخل تکاننده قرار داده شدند. سپس، رسوب داخل هر مخلوط با گریزانه جدا و در ارلن‌ها ریخته و به آن‌ها ۷ میلی‌لیتر از شوینده‌های متانول، اتانول، استونیتریل، متانول اسیدی و بازی، اتانول اسیدی و بازی افزوده شد. پس از آن، ارلن‌ها در دستگاه تکاننده به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند. سپس، مخلوط‌های به دست آمده گریزانه و غلظت کلونازپام محلول بالای لوله آزمایش با طیف‌سنجی مرئی و فرابنفش تعیین شدند [۲۵ تا ۲۷].

گستره خطی و نمودار واسنجی

برای تعیین گستره خطی ابتدا به داخل هفت عدد ارلن مایر، ۲۵۰ میلی‌لیتر از محلول‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ ppm

آمریکا، دستگاه فراصوت Ultrasonic Cleaner ساخت شرکت ELMA آلمان، آون خلأ مدل MeMert ساخت کشور آلمان، تکاننده مدل FanazMagostar ساخت ایران، میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM، ساخت شرکت KYKY و مدل 3200EM، طیف‌نورسنج FTIR مدل Broker Tensor ساخت آلمان، طیف‌سنج مرئی و فرابنفش Shinadza ساخت ژاپن و دستگاه پراش پرتو ایکس (XRD) مدل CENTER Shimadzu، XRF-1800 ساخت ژاپن، در این پژوهش به کار گرفته شدند.

روش تهیه نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دار شده

۰/۵۲۳ گرم از نانولوله‌های کربنی چنددیواره خام به محلول ۱ به ۳ (حجمی) نیتریک اسید و سولفوریک اسید افزوده شد. مخلوط به دست آمده به مدت ۳۰ دقیقه در یک حمام فراصوت با فرکانس ۴۰ کیلو هرتز قرار داده شد و سپس ۲۴ ساعت در حال هم‌زدن، بازروانی شد. فراورده به دست آمده با آب مقطر شسته شد تا زمانی که pH محلول زیر صافی به حدود ۷ برسد. فاز جامد جدا و ۱۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سلسیوس و در خلأ خشک شد [۳].

عامل‌های مؤثر بر استخراج و بازیابی کلونازپام

برای یافتن شرایط بهینه دستیابی به بیشترین بازده استخراج و بازیابی، اثر عامل‌های متفاوت مانند، اثر pH محلول، محلول شستشوی مناسب، حجم محلول شستشو، زمان استخراج و . . . بررسی شدند. روش کار بدین صورت بود که یک عامل متغیر و سایر عامل‌ها ثابت در نظر گرفته می‌شدند [۲۰ تا ۲۲].

اثر pH بر استخراج و بازیابی کلونازپام

برای بررسی اثر pH بر جذب کلونازپام، ابتدا تعدادی محلول ppm ۲/۰ از کلونازپام به حجم ۵۰ میلی‌لیتر تهیه و بازیابی کلونازپام در گستره pH برابر با ۲ تا ۹ بررسی شد. برای تنظیم pH از محلول نیتریک اسید M ۱/۰ و آمونیاک M ۱/۰ استفاده شد. روشی که برای تنظیم pH محلول به کار رفت بدین

پیش‌تغلیظ مقادیر ناچیز کلونازپام در نمونه‌های آبی با ...

نمونه ادرار گرفته‌شده از انسان، صاف و در ظرف شیشه‌ای سیاه رنگی نگهداری شد. برای اندازه‌گیری با روش پیشنهادی، حجم معینی از ادرار برداشته شد و به برخی از نمونه‌ها داروی کلونازپام افزوده و سپس مراحل اندازه‌گیری برای همه نمونه‌ها انجام شد.

نتیجه‌ها و بحث

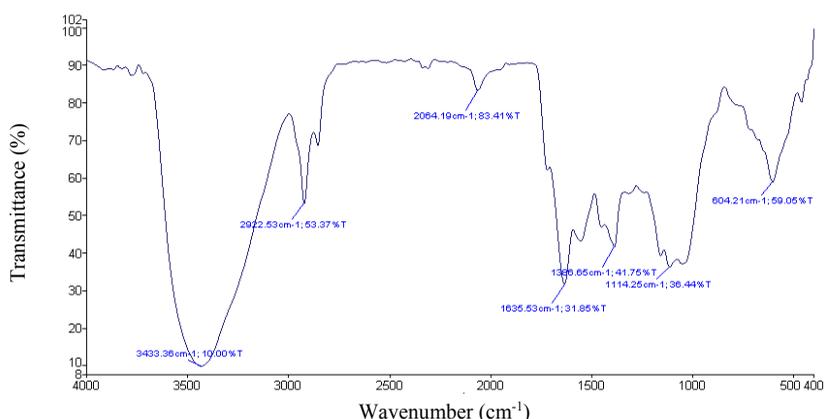
شناسایی و بررسی ترکیب نانولوله‌های کربنی عامل‌دارشده

شکل ۱ طیف فروسرخ تبدیل فوریه نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دارشده را نشان می‌دهد. در این طیف، نوار ارتعاش کششی مربوط به پیوند C-O متعلق به کربن متصل به گروه کربوکسیل است که در ناحیه 1653 cm^{-1} مشاهده می‌شود. از طرف دیگر، می‌توان نوار ارتعاش کششی مربوط به پیوند C=O گروه کربوکسی را در ناحیه 1710 cm^{-1} مشاهده کرد. یک ارتعاش قوی در ناحیه 3409 cm^{-1} متعلق به ارتعاش کششی پیوند O-H نیز دیده می‌شود. پیدایش قله‌های جذبی در 1653 و 1710 به‌طورروشن گروه‌های کربوکسیلیک اسید نانولوله‌های کربنی را معرفی می‌کند [۲۹ تا ۳۶].

۶ کلونازپام که در pH برابر با ۸ تنظیم‌شده بودند، ریخته شدند. به هر کدام 0.3 گرم از نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دارشده افزوده و به مدت ۱۵ دقیقه داخل تکاننده هم‌زده شد. سپس، رسوب مخلوط‌ها با گریزان جدا و به آن آمونیاک افزوده و به مدت ۱۰ دقیقه دوباره داخل تکاننده قرار داده شدند. در آخر مخلوط‌ها گریزان و مقدار جذب کلونازپام در محلول بالای هر لوله گریزان با طیف‌سنجی مرئی و فرابنفش تعیین شد.

کاربرد روی نمونه‌های واقعی

نمونه خون گرفته‌شده از انسان در داخل لوله‌های حاوی EDTA به حجم $2/5$ میلی‌لیتر ریخته شد. نمونه‌ها حدود ۲۵ دقیقه در گریزان با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. محلول زرد رنگ بالای لوله، پلاسما بود که برداشته شد و برای اطمینان از اینکه پروتئینی در پلاسما وجود نداشته باشد، مقدار 10 میلی‌لیتر استون در 10 میلی‌لیتر پلاسما ریخته و به مدت ۵ دقیقه در گریزان با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند تا پروتئین‌های اضافی رسوب کنند. برای اندازه‌گیری با روش پیشنهادی، حجم معینی از پلاسما برداشته شد و به برخی از نمونه‌ها داروی کلونازپام افزوده و سپس مراحل اندازه‌گیری دارو برای همه نمونه‌ها انجام شد.



شکل ۱ طیف فروسرخ تبدیل فوریه نانولوله‌های کربنی کربوکسیله

1. Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)

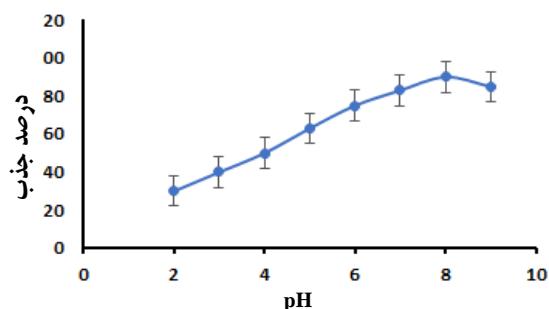
سال نوزدهم، شماره ۲، پیاپی ۷۴، تابستان ۱۴۰۴

نشریه پژوهش‌های کاربردی در شیمی (JARC)

بررسی عامل‌های موثر بر استخراج و بازیابی کلونازپام

بررسی اثر pH

نتیجه‌های این بررسی در شکل ۴ نمایش داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، در pH برابر با ۸، درصد جذب بالاترین مقدار را دارد. استخراج با نانولوله‌ها در pH بالاتر، کاهش یافته و در pH کمتر از ۸ نیز به‌طور کامل انجام نشده است. در واقع در pH برابر با ۸، شرایط بهینه برای پروتونه‌شدن نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دار شده فراهم می‌شود و بیشترین جذب کلونازپام بر نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دار شده رخ می‌دهد.

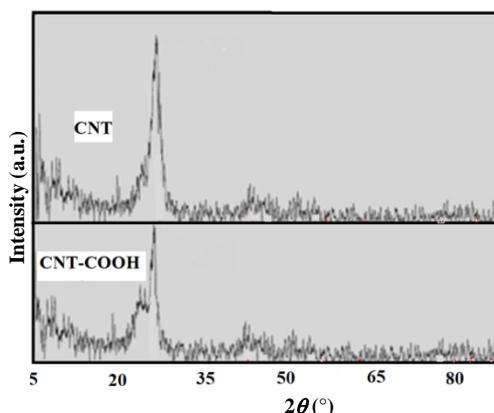


شکل ۴ درصد جذب کلونازپام بر نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دار شده نسبت به pH

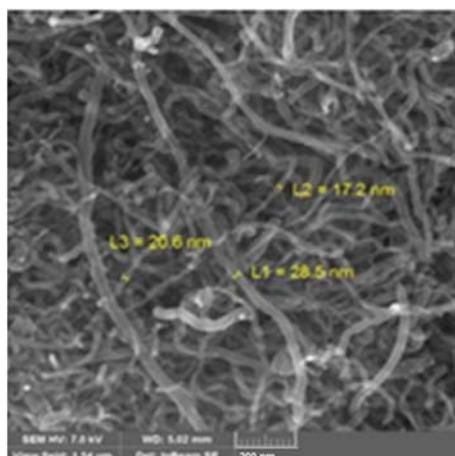
اثر مقدار جاذب

عامل مهم دیگری که شدت جذب را تحت تاثیر قرار می‌دهد مقدار جاذب است. در این مرحله، از pH، جاذب و طول موج بهینه به‌دست‌آمده در مرحله‌های پیشین و مقدارهای متفاوت جاذب استفاده شد (شکل ۵). نمودار نشان‌داده‌شده در شکل ۵، حاکی از آن است که بیشترین جذب دارو با مقدار ۰/۰۳۰ گرم جاذب، رخ داده است. از این‌رو، مقدار ۰/۰۳۰ گرم جاذب، برای جذب کلونازپام، انتخاب شد.

شکل ۲ الگوهای پراش پرتو ایکس نانولوله‌های کربنی و نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دار شده را نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، قله شاخص پدیدار شده در 2θ برابر با 26.5° و سایر قله‌ها با قله‌های مربوط به فاز نانولوله‌های کربنی هم‌خوانی دارد. کم‌شدن اندک عرض میانه قله شاخص را می‌توان به کربوکسیل‌دار شدن نانولوله‌ها نسبت داد [۳۷]. شکل ۳ تصویر SEM نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دار شده را نشان می‌دهد. برپایه این تصویر، نانولوله‌ها به‌طور غیرمنظم درهم پیچیده‌اند و قطر آن‌ها در مقیاس نانومتر بوده است.



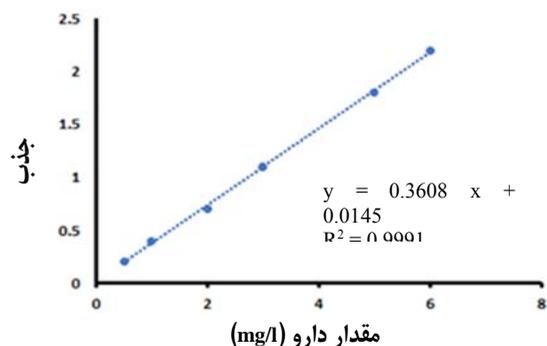
شکل ۲ الگوهای XRD نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دار شده و نانولوله‌های کربنی



شکل ۳ تصویر SEM مربوط به نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دار شده

پیش‌تغلیظ مقادیر ناچیز کلونازپام در نمونه‌های آبی با ...

گستره خطی باشد و از قانون بیر پیروی کند. نمودار واسنجی روش در شکل ۷ نشان‌داده شده است.



شکل ۷ نمودار واسنجی روش ارائه‌شده

حد تشخیص

حد تشخیص، غلظتی از نمونه آزمایشی است که نشانک آن معادل با نشانک شاهد به‌علاوه سه برابر انحراف استاندارد به‌دست‌آمده از محلول باشد. برپایه تعریف ارائه‌شده، حد تشخیص (LOD) با معادله ۱ برابر با ۱/۲ ng/ml محاسبه شد.

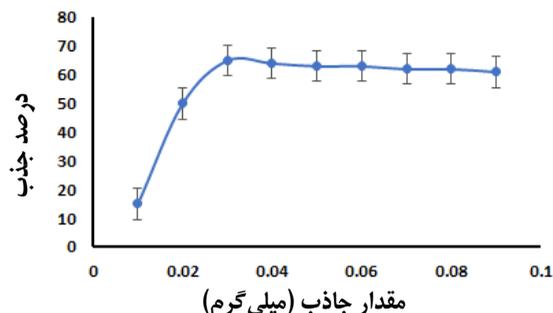
$$LOD = (3 \times S_b) / m \quad (1)$$

که در آن، S_b انحراف استاندارد برای نشانک شاهد و m شیب نمودار واسنجی است. همچنین، با استفاده از داده‌ها حد تعیین کمی روش (LOQ) نیز با معادله ۲ [۱۴]، به‌دست آمد که برابر با ۲/۷ ng/ml بود.

$$LOQ = (10 \times S_b) / m \quad (2)$$

تعیین دقت و تکرارپذیری روش (%RSD)

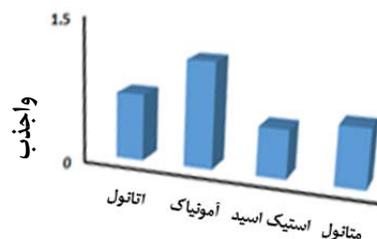
برای تعیین دقت، ابتدا داخل ۵ بشر، ۵۰ میلی‌لیتر از محلول ۲۰ ppm نسبت به کلونازپام که در pH برابر ۸ تنظیم‌شده بود ریخته و به هر کدام ۰.۳ گرم از نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دارشده افزوده شد. مخلوط داخل بشرها



شکل ۸ جذب کلونازپام بر میلی‌گرم نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دارشده

تاثیر نوع حلال شوینده

نوع حلال شوینده از مهم‌ترین عامل‌ها است که تاثیر فراوانی در سامانه استخراج دارد. پس از انتخاب حلال بهینه، اسیدی یا بازی بودن حلال هم بررسی شد. نتیجه‌های به‌دست‌آمده در شکل ۶ نشان‌داده شده‌اند. این شکل حاکی از آن است که در تعادل ایجادشده بین جاذب و حلال شوینده، بهترین شرایط را حلال‌های خنثی و بازی نشان می‌دهند. با در نظر گرفتن بیشترین جذب کلونازپام بر نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دارشده، از بین حلال‌های مورد استفاده، آمونیاک به‌عنوان مناسب‌ترین انتخاب شد.



شکل ۹ و جذب کلونازپام از میلی‌گرم نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دارشده با حلال‌های متفاوت و جذب

گستره خطی و نمودار واسنجی

برای تعیین گستره خطی در تجزیه، لازم است نمودار واسنجی رسم شود. این نمودار در همه غلظت‌ها خطی نیست. عامل‌های بسیاری موجب می‌شوند که نمودار جذب کلونازپام در

1. Limit of detection (LOD)

سال نوزدهم، شماره ۲، پیاپی ۷۴، تابستان ۱۴۰۴

2. Limit of quantitation (LOQ)

نشریه پژوهش‌های کاربردی در شیمی (JARC)

انحراف استاندارد نسبی (RSD) برای ۵ بار اندازه‌گیری ۲٫۴ به‌دست آمد.

بررسی نتیجه‌های به‌دست‌آمده با نمونه‌های واقعی

نتیجه اندازه‌گیری‌های دارو با روش پیشنهادی در نمونه‌های ادرار و پلاسمای خون انسان، در جدول ۱ آورده شده‌اند.

به‌مدت ۱۵ دقیقه داخل تکاننده هم‌زده شدند. پس از جداسازی رسوب هر مخلوط با گریزانه و افزودن آمونیاک به آن، دوباره به‌مدت ۱۰ دقیقه داخل تکاننده قرار داده شد. در آخر پس از گریزانه‌کردن مخلوط، غلظت کلونازپام در محلول زیرصافی با طیف‌سنجی مرئی و فرابنفش تعیین شد [۲۵ تا ۲۹]. بر این پایه

جدول ۱ نتیجه‌های اندازه‌گیری کلونازپام در نمونه‌های حقیقی

نمونه	کلونازپام افزوده‌شده (میکروگرم)	مقدار جذب دارو اندازه‌گیری شده (در طول موج ۲۲۹ نانومتر) بر نانولوله‌های کربنی کربوکسیل‌دار شده	درصد بازیابی
آب مقطر	۰٫۰۰	N.D.*	-
	۲۰٫۰۰	۲۰٫۰۴(۲٫۲)**	۱۰۲٫۱
ادرار	۰٫۰۰	۲۰٫۷۷(۲٫۳)	۹۹٫۲
	۳۰٫۰۰	۵۰٫۸۱ (۲٫۵)	۹۹٫۵
	۰٫۰۰	۲۰٫۰۶ (۲٫۳)	۹۸٫۶
پلاسمای خون	۳۰٫۰۰	۵۰٫۶۰ (۲٫۴)	۹۸٫۴

* Not Detect (قابل تشخیص نبود).

** RSD مربوط به سه بار تکرار آزمایش است.

دقیق‌تر، ساده‌تر، سریع‌تر است. بنابراین، می‌تواند یکی از بهترین روش‌ها برای اندازه‌گیری مقادیر بسیار کم کلونازپام در نمونه‌های آبی باشد.

مقایسه‌ای بین روش ارائه‌شده و روش‌های دیگر

مقایسه روش پیشنهادی با دو روش دیگر (جدول ۲) نشان می‌دهد که روش پیشنهادی به‌دلیل اینکه مقدار حد تشخیص و انحراف استاندارد نسبی کمتری نسبت به دو روش دیگر دارد،

جدول ۲ مقایسه‌ای بین روش ارائه‌شده با دو روش دیگر

روش	بازیابی نسبی	انحراف استاندارد نسبی	حد تشخیص	مرجع
DSPME-HPLC-UV	۱۰۱٫۲۰-۹۶٫۳۰	۳٫۶-۱٫۳	۰٫۲ ng/ml	[۲۸]
SPME-GC-FID	۱۰۵٫۰۰-۹۴٫۰۰	۳٫۸-۳٫۱	۰٫۵ ng/ml	[۳۹]
DSPE-UV-Vis	۱۰۲٫۹۸-۱۰۰٫۴۰	۲٫۴	۱٫۲ ng/ml	مطالعه حاضر

قابل‌توجهی مانند ساده و ارزان بودن و سرعت در به‌کارگیری برای نمونه‌های محیطی شامل آب طبیعی است. در ضمن استفاده از حلال آلی، سمی و گران‌قیمت را به کمترین مقدار

نتیجه‌گیری

روش ارائه‌شده نسبت به روش‌هایی که پیش از این برای جداسازی و اندازه‌گیری کلونازپام گزارش شده است، مزایای

RSD به‌دست آمد. اندازه‌گیری کلونازپام در حد قابل‌قبولی بدون دخالت گونه مزاحم دیگری صورت گرفت. بنابراین، روش ارائه‌شده می‌تواند به‌آسانی در اندازه‌گیری مقدار کلونازپام در نمونه‌های آبی به‌کار رود.

می‌رساند. همچنین، طراحی و توسعه این روش برای پیش‌تغلیظ، جداسازی و اندازه‌گیری کلونازپام با توجه به اهمیت آن در صنایع متفاوت و کم‌بودن غلظت این یون در بیشتر نمونه‌ها یک نیاز اساسی است. در این پژوهش، مقدار حجم حد، حد تشخیص و

مراجع

- [1] Ståhl Y, Persson A, Petters I, Rane A, Theorell K, Walson P. Kinetics of clonazepam in relation to electroencephalographic and clinical effects. *Epilepsia*. 1983;24(2):225–231. doi: **10.1111/j.1528-1157.1983.tb04883.x**
- [2] Moghimi A, Abniki M, Qomi M. Removal of lead (II) using modified octadecyl silica nanomagnetic disks with dioctyl phthalate by atomic absorption spectroscopy. *Journal of Quantum Chemistry and Spectroscopy [persian]*. 2020;10(33):42–48.
- [3] Moghimi A, Abniki M, Yari M. Effective removal of mercury (II) from environmental aqueous samples using carbon nanotubes carboxylated by dispersive solidphase extraction method. *Journal of Environmental Geology*. 2020;52:15–22.
- [4] Moghimi A, Abniki M. Dispersive solid-phase extraction for preconcentration of colored effluent in aqueous samples using magnetic carbon nanotubes modified with chitosan. *Journal of Quantum Chemistry and Spectroscopy*. 2020;9(32):60–68.
- [5] Cooper G. Therapeutic uses of botulinum toxin. Totowa: Humana Press; 2007.
- [6] Abniki M, Moghimi A. Synthesis of chitosan functionalized magnetic carbon nanotubes for dispersive solid-phase extraction of bromocresol green. *Micro & Nano Letters*. 2021;16:455-62. doi: **10.1049/mna2.12067**
- [7] Moghimi A, Qomi M, Yari M, Abniki M. Solid phase extraction of Hg (II) in water samples by nano-Fe₃O₄ encapsulated-dioctylphthalate and linked-diethylenetriamine. *Int J Bio-Inorg Hybr Nanomater*. 2019;8(4):159-168.
- [8] Moghimi A, Abniki M. Removal and measurement of bromocresol purple dye in aqueous samples by β -cyclodextrin-modified magnetic carbon nanotube with dispersive solid-phase extraction technique. *Journal of Color Science and Technology*. 2022;15:301-315. doi: **20.1001.1.17358779.1400.15.4.4.5**
- [9] Abniki M, Moghimi A, Azizinejad F. Synthesis of calcium-layered double hydroxide based nanohybrid for controlled release of an anti-inflammatory drug. *Chinese Chemical Society Taipei*. 2020;68:343-52. doi: **10.1002/jccs.202000008**
- [10] Moghimi A, Abniki M. The dispersive solid-phase extraction of fluoxetine drug from biological samples by the amine-functionalized carbon nanotubes with HPLC method. *Chemical Methodologies*. 2021;5:250-8. doi: **10.22034/chemm.2021.128586**
- [11] Abniki M, Azizi Z, Poorebrahim S, Moniri E. Development of p-amino acetanilide functionalized multi-walled carbon nanotubes as an effective carrier for lansoprazole release. *Biomedical physics & engineering express*. 2023;9(4):37167956. doi: **10.1088/2057-1976/acd459**
- [12] Abniki M, Moghimi A, Azizinejad F. Fabrication of bionanocomposite based on LDH using biopolymer of gum arabic and chitosan-coating for sustained drug-release. *Journal of the Serbian Chemical Society*. 2020;85:1223-35. doi: **10.2298/JSC191011004A**
- [13] Parsayi Arvand M, Moghimi A, Abniki M. Extraction of alprazolam in biological samples using the dispersive solid-phase method with nanographene oxide grafted with A-pyridylamine. *IET Nanobiotechnology*. 2023;17:69-79. doi: **10.1049/nbt2.12105**

- [14] Moghimi A, Abniki M. dispersive solid-phase extraction for bromocresol green removal with β -cyclodextrin functionalized magnetic nanotubes. *Russian Journal of Physical Chemistry B*. 2021;15:S130-S9. doi: **10.134/S1990793121090128**
- [15] Moghimi A, Abniki M. Preconcentration and separation of ultra-trace Cu(II) with disks of octadecyl silica membrane modified nano-Fe₃O₄-encapsulated-dioctyl phthalate and linked-diethylenetriamine. *Advanced Journal of Chemistry-Section A*. 2021;4:78-86. doi: **10.22034/ajca.2021.260252.1230**
- [16] Moghimi A, Abniki M, Khalaj M, Qomi M. Construction of modified nanotube carbon carboxyl by new method and application in dispersive solid phase extraction for preconcentration of Ni²⁺. *Revue Roumaine de Chimie*. 2021;66(6):493-507. doi: **10.33224/rrch.2021.66.6.02**
- [17] Shojaei M, Moghimi A, Abniki M. Dispersive solid-phase extraction for preconcentration of Amlodipine in aqueous samples using Fe₃O₄@MWCNT- β cyclodextrin composite and determined. *Quantum Chemistry and Spectroscopy*. 2021;11(35):43-55.
- [18] Moghimi, A. Preconcentration of Zn(II) from sample water by phenyl-iminodiacetic acid grafted multiwalled carbon nanotubes. *Journal of Chemical Health Risks*. 2012;2(3):28-41. doi: **10.22034/JCHR.2018.544002**
- [19] Abniki M, Moghimi A. Removal of Cd(II) ions from water solutions using dispersive solid-phase extraction method with 2-aminopyridine/graphene oxide nanoplates. *Current Analytical Chemistry*. 2022;18:1070-1085. doi: **10.2174/1573411018666220505000009**
- [20] Moghimi A, Poursharifi MJ. Preconcentration of trace Cr(III) using octadecyl silica membrane modified N, N'-disalicylideneethylenediamine. *Asian Journal of Chemistry*, 2011;23(9):3870-3874.
- [21] Tajodini N, Moghimi A. Spectrophotometric study of W(VI)-G lycinamide complex formation. *Asian Journal of Chemistry*. 2011;23(9):4186.
- [22] Behrouzinia S, Zand M, Namdar A, Rahimi H, Moghimi A. The effect of operational parameters on the output power of copper vapor laser with small-bore tube. *International Journal of Fundamental Physical Sciences*. 2011;1 (3):67-72. doi: **10.14331/ijfps.2011.330015**
- [23] Karimnezhad K, Moghimi A, Adnan R, and Abniki M. An alternative method of dispersive solid-phase extracting Hg (II) from environmental aqueous solutions using carboxylic functionalized carbon nanotubes. *Micro & Nano Letters*. 2022;18:e12150. doi: **10.1049/mna2.12150**
- [24] Ghammamy S, Khorsandtabar S, Moghimi A, Sahebalzamani H. Oxidation of some organic diols with trialkylammonium fluorochromates(VI), R₃NH[CrO₃F] (R= CH₃, C₂H₅, C₃H₇ and C₄H₉) at room temperature and under microwave condition. *Journal of the Mexican Chemical Society*. 2009;53(2):41-43. doi: **10.29356/jmcs.v53i2.1003**
- [25] Moghimi A. Solid Phase Extraction of Cr(III) from natural water by modified nanopolyacrylonitrile fiber. *World Applied Sciences Journal*. 2011;12(12):2252-2259.
- [26] Makipour P, Moghimi A, Ghiasi R. Preconcentration and spectrophotometric determination of copper (II) using octadecyl silica membrane disks modified by 1-nitroso-2-naphthol-3,6-disulfonic acid. *Oriental Journal of Chemistry*. 2010;26(3):797.
- [27] Moghimi A. Preconcentration ultra trace of Cd(II) in water samples using dispersive liquid-liquid microextraction with salen(N,N'-Bis(salicylidene)-ethylenediamine) and determination graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of the Chinese Chemical Society*. 2008;55(2):369-376. doi: **10.1002/jccs.200800054**
- [28] Abniki M, Moghimi A. Nanomagnetic chitosan/ β -cyclodextrin for dispersive solid phase extraction of trace desipramine drug. *Materials Chemistry and Physics*,

- 2024;316:129117.
doi: **10.1016/j.matchemphys.2024.129117**
- [29] Dahaji RRM, Moghimi A, Shahbazi H, Faraji H, Aziznejad F. Preparation of modified multiwalled carbon nanotubes (I-Arg-CS/MWCNTs-COOH/Fe₃O₄) as sorbent for dispersive solid phase extraction of Cu(II), Pb(II) and Cd(II) in wastewater samples. *Revue Roumaine de Chimie*. 2023;68(10-12):495-505. doi: **10.33224/rrch.2023.68.10-12.01**
- [30] Moghimi A. Separation and extraction of Co(II) using magnetic chitosan nanoparticles grafted with β -cyclodextrin and determination by FAAS. *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 2014;88:2157-2164. doi: **org /10.1134/S0036024414120024**
- [31] Moghimi A, Yousefi Siahkalrodi S. Extraction and determination of Pb(II) by organic functionalisation of graphenes adsorbed on surfactant coated C18 in environmental sample. *Journal of Chemical Health Risks*. 2013;3(3):1-12. doi: **10.22034/jchr.2018.544032**
- [32] Moghimi A, Abdouss M. Extraction of Co(II) by isocyanate treated graphite oxides (iGOs) adsorbed on surfactant coated C₁₈ before determination by FAAS. *International Journal of Bio-Inorganic Hybrid Nanomaterials*. 2013;2(1):319-327.
- [33] Salehi N, Moghimi A, Shahbazi H. Magnetic nanobiosorbent (MG-Chi/Fe₃O₄) for dispersive solid-phase extraction of Cu(II), Pb(II), and Cd(II) followed by flame atomic absorption spectrometry determination. *IET. Nanobiotechnology*. 2021;15:575-584. doi: **10.1049/nbt2.12025**
- [34] Salehi N, Moghimi A, Shahbazi H. Preparation of cross-linked magnetic chitosan with methionine-glutaraldehyde for removal of heavy metals from aqueous solutions. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 2022;102:2305-2321. doi: **10.1080/03067319.2020.1753718**
- [35] Salehi N, Moghimi A. Synthesis and identification of magnetic nickel oxide nanoparticles for the magnetic solid phase extraction of gemfibrozil and its determination by UV-Vis spectrometer. *Applied Chemistry Today*. 2022;102:2305-2321. doi: **10.22075/CHEM.2023.29235.2127**
- [36] Mahdavi Ghajari S, Allah Gholi Ghasri MR, Sedaghat S, Adhami F, Habibi S. Green synthesis of silver nanoparticles mediated using *Mentha spicata* leaf extract and electrospun silver/polyamide 6 nanofibers preparation for removal of copper ions from aqueous medium and isotherm and kinetics adsorption study. *Journal of applied research in chemistry*. 2024;2(17):59-74. doi: **10.30495/JACR.2022.1968287.2060**
- [37] Nie P, Min C, Song H-J, Chen X, Zhang Z, Zhao K. Preparation and tribological properties of polyimide/carboxyl-functionalized multi-walled carbon nanotube nanocomposite films under seawater lubrication. *Tribology Letters*. 2015;58(1):7. doi: **10.1007/s11249-015-0476-7**
- [38] Mirzaei N, Rezaei V, Aibaghi B. Preconcentration and determination of diazepam in pharmaceutical and biological samples by graphene oxide based on dispersive solid phase microextraction. *Applied Chemistry Today*. 2019;14:21-32. doi: **10.22075/CHEM.2018.13851.1343**
- [39] Alizadeh R, Salami M, Seidi S. A silica fiber coated with a ZnO-graphene oxide nanocomposite with high specific surface for use in solid phase microextraction of the antiepileptic drugs diazepam and oxazepam. *Microchimica Acta*. 2018;185(6):312. doi: **10.1007/s00604-018-2850-2**

Preconcentration of trace clonazepam in water samples using carboxylated carbon nanotubes as sorbent

N. Salehi¹, A. Moghimi^{2,*}, M. Abniki³

1. PhD in Department of Chemistry, Faculty of Medicinal Chemistry, Tehran Islamic Azad University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2. Associate Prof. of Department of Chemistry, Faculty of Medicinal Chemistry, Tehran Islamic Azad University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3. PhD in Department of Resins and Additives, Institute for Color Science and Technology, Tehran, Iran.

Abstract: In This research, a new technique was provided for solid phase extraction of small amounts of pharmaceutical effluents as an indicator of clonazepam drug in aqueous samples by carboxylated carbon nanotubes and its determination by visible and ultraviolet spectroscopy in real samples. Carboxylated carbon nanotubes were characterized by X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), and scanning electron microscope (SEM). This technique was a two-phase system in which the donor phase was "water samples" containing clonazepam and the receiver phase was "carboxylated carbon nanotubes". Experiments were performed in two stages of extracting water samples and desorbing clonazepam drug using ammonia solvent and the desorbed samples were submitted to UV-Vis spectrophotometer for further analysis. This method was cheap, simple, and fast. Also, a sensitive and reliable method was used to extract, pre-concentrate and determine small amounts of clonazepam. The parameters affecting the extraction such as pH, the amount and type of eluent solvent, and the extraction time were investigated. The concentration factor, the detection limit of the method (LOD), and the relative standard deviation were 30, 1.2 $\mu\text{g.l}^{-1}$, and 2.05%, respectively.

Keywords: Carboxylated carbon nanotubes (MWCNT-COOH), UV-Vis spectrophotometry, Clonazepam drug.