



Semnan University

Journal of Applied Chemistry

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



Research Article

Synthesis and identification of magnetic nickel oxide nanoparticles for the magnetic solid phase extraction of gemfibrozil and its determination by UV-Vis spectrometer

Narges Salehi, Ali Moghimi*

Tehran Islamic Azad University of Medical Sciences, Faculty of Medicinal Chemistry, Department of Chemistry, Tehran, Iran, PO Box: 1913674711

PAPER INFO

Article history:

Received: 21/Dec/2022

Revised: 18/Feb/2023

Accepted: 28/Feb/2023

Keywords:

modification of nickel oxide, gemfibrozil, magnetic solid phase extraction, adsorption

ABSTRACT

In the presented method, modified magnetic nickel oxide was synthesized and identified for pre-concentration and determination of gemfibrozil in human serum samples, pharmaceutical wastewater and drug. Fourier transform infrared spectrum (FTIR), X-ray diffraction (XRD) and scanning electron microscope (SEM) were used to identify magnetic nickel oxide nanoparticles. Some parameters affecting the extraction, including pH effect, amount and type of elution solvent, extraction time, etc., were optimized and investigated. The concentration factor was 120, the limit of detection (LOD) was $0.16 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, and the linear range of the calibration curve was 0.05 to $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. The adsorption capacity was $52.69 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. This method was successfully used to determination of gemfibrozil in human serum samples, pharmaceutical wastewater and drug using UV-Vis spectrometer with recovery in the range of 0.98-0.104%. Then, the samples determined by the proposed method with the results of the standard high-performance liquid chromatography (HPLC) method were compared. The results were checked with T-test and showed that there is no significant difference between the two methods.

DOI: <https://doi.org/10.22075/CHEM.2023.29235.2127>

© 2023 Semnan University.

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

*.Corresponding author: Associate Professor of Faculty of Medicinal Chemistry. E-mail address: ali.moghimi@iaups.ac.ir

How to cite this article: Salehi, N., & Moghimi, A. (2023). 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*, 18(68), 323-342. (in Persian)

سنتز و شناسایی نانو اکسید نیکل مغناطیسی برای استخراج فاز جامد مغناطیسی جم

فیروزیل و اندازه گیری آن توسط دستگاه طیف سنج UV-Vis

نرگس صالحی، علی مقیمی*

دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، دانشکده شیمی دارویی، گروه شیمی، تهران، ایران، صندوق پستی ۱۹۱۳۶۷۴۷۱۱

تاریخ دریافت: ۰۱/۰۹/۳۰ تاریخ تصحیح: ۰۱/۱۱/۲۹ تاریخ پذیرش: ۰۱/۱۲/۰۹

چکیده

در روش ارائه شده، نانو اکسید نیکل مغناطیسی اصلاح شده برای پیش تغلیظ و اندازه گیری جم فیروزیل در نمونه های سرم انسانی، فاضلاب های دارویی و دارو سنتز و شناسایی شد. طیف تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR)، پراش اشعه ایکس (XRD) و میکرو سکوپ الکترونی روبشی (SEM) برای شناسایی نانو اکسید نیکل مغناطیسی استفاده شدند. برخی از پارامترهای مؤثر بر استخراج از جمله اثر pH مقدار و نوع حلال شوینده، زمان استخراج و... بهینه و بررسی شدند. فاکتور تغلیظ ۱۲۰، مقدار حد تشخیص روش (LOD) ۰/۰۱ میکروگرم بر لیتر و رنج خطی منحنی کالیبرا سیون ۰/۰۵ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر لیتر به دست آمد. ظرفیت جذب ۵۲/۶۹ میلی گرم بر گرم به دست آمد. این روش برای اندازه گیری جم فیروزیل در نمونه های سرم انسانی، فاضلاب های دارویی و دارو با استفاده از دستگاه طیف سنجی UV-Vis با بازایی در محدوده ۹۸/۰-۱۰۴/۰٪ با موفقیت بکار گرفته شد. سپس نمونه های اندازه گیری شده توسط روش پیشنهادی با نتایج حاصل از روش استاندارد کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مورد قیاس قرار داده شد. نتایج با آزمون T-test بررسی شد و نشان داد که هیچ گونه اختلاف معناداری بین دو روش وجود ندارد.

کلمات کلیدی: اصلاح اکسید نیکل، جم فیروزیل، استخراج فاز جامد مغناطیسی، جذب سطحی.

۱- مقدمه

در چند سال اخیر کارایی حامل های دارویی کارآمد، زیست سازگار و مقرون به صرفه در بحث رهایش دارو بسیار مطرح است. همچنین در سال های اخیر تحقیقات زیادی روی نانو مواد در جهت حفظ و رهایش دارو با سرعت مورد نظر انجام شده که کارایی این مواد را نشان می دهد. [۱ و ۲]. امروزه یکی از عوامل مرگ و میر بیماری های قلبی - عروقی است که مهم ترین علت آن گرفتگی عروق هست. از جمله علل شایع در ایجاد گرفتگی عروق کشیدن سیگار، استرس، چاقی و بالا بودن چربی خون است. رژیم غذایی و دارویی از روش های معمول برای کاهش چربی خون هست. از مهم ترین دسته های دارویی که برای تنظیم چربی خون و کلسترول به کار می رود، یکی از مشتقات فیبر یک اسید به نام جم فیروزیل می باشد [۳].

جم فیروزیل از غلظت پلاسمایی کلسترول بد کاسته و غلظت پلاسمایی کلسترول خوب را افزایش می دهد. غلظت های بالاتر کلسترول خوب در خون منجر به کاهش ریسک بیماری های قلبی می شود. جم فیروزیل همراه با رژیم غذایی مناسب برای معالجه سطح بالای کلسترول و تری گلسیرید در خون مورد استفاده قرار می گیرد. همچنین مانع تجزیه چربی در بافت چربی

می‌شود و ساخت تری گلیسیرید کبد را کاهش می‌دهد [۴]. با توجه به توضیحات بالا، اندازه‌گیری دقیق همراه با حساسیت بالای این دارو در نمونه‌های بیولوژیکی به‌منظور کنترل کیفیت در صنعت داروسازی و مطالعات فیزیولوژیکی دارویی امری مهم تلقی می‌شود. آماده‌سازی نمونه قبل از تعیین مقدار آن، برای ساده‌سازی آنالیز و کاهش هزینه‌های آن، افزایش حساسیت و گزینش پذیری و امکان انجام آنالیز در آزمایشگاه‌های معمولی، انجام می‌شود [۵ و ۶ و ۷]. استخراج مایع مایع (LLE)، استخراج سیال فوق بحرانی (SFE) و استخراج فاز جامد (SPE) از جمله روش‌های آماده‌سازی نمونه قبل از استخراج هستند [۸]. که در این میان روش استخراج فاز جامد به علت جذب سطحی باعث تکرارپذیری، کارایی بالاتر، مقرون‌به‌صرفه تر بودن، سمیت پایین و عدم تولید محصولات جانبی روش کاربردی تری است [۹-۱۱]. در واقع هدف از استخراج فاز جامد انتقال کمی آنالیت از محلول به فاز جامد و بازیافت کامل آن با یک حلال شوینده مناسب است [۱۲]. در سال‌های اخیر روشی نو از استخراج فاز جامد برای جداسازی مطرح شد که مبتنی بر مغناطیسی بودن جاذب بود (MST) [۱۳] که استفاده از این جاذب‌ها هرگونه سانتریفوژ کردن یا فیلتراسیون و استفاده از حلال‌های ضد محیط‌زیست برای جداسازی نمونه را حذف می‌کرد [۱۴]. با گسترش و شناخت کاربرد نانوتکنولوژی، نانو جاذب‌ها به دلیل سطح ویژه بالا و وجود مکان‌های جذب در سطح آن‌ها، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند [۱۵-۱۷]. در واقع نانو جاذب‌ها ذراتی در اندازه نانومتر از مواد آلی یا غیرآلی هستند که تمایل زیادی دارند که ذرات مختلف را جذب کنند [۱۸]. اکسید نیکل (II) ترکیب شیمیایی با فرمول NiO و یک جامد کریستالی سبزرنگ است. نانو ساختار اکسید نیکل، نمونه برجسته‌ای است که دارای انرژی اتصال برانگیختگی بزرگ و شکاف باند گسترده از ۳/۶ تا ۴/۰ eV است. اکسید نیکل (II)، یک نیم‌رسانای شفاف نوع-p است با خواص ویژه نوری، مغناطیسی، الکتریکی و شیمیایی که در قطعات اپتوالکترونیک، حسگرهای لایه نازک، دیودهای گسیلنده نوری، سلول‌های خورشیدی حساس به رنگ و سلول‌های سوختی و قطعات الکتروکرومیک، مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته است [۱۹].

در این مطالعه تحقیقاتی یک جاذب نانو مغناطیسی جدید بر پایه‌ی اصلاح اکسید نیکل برای پیش تغلیظ و اندازه‌گیری مقادیر کم داروی جم فیبروزیل به‌عنوان جاذب روش فاز جامد مغناطیسی سنتز شد. هدف از سنتز جاذب نانو مغناطیسی اکسید نیکل افزایش سطح ویژه بالا و مکان‌های جذب بیشتر هست و همچنین با توجه به مغناطیسی بودن جاذب جداسازی نمونه تنها توسط یک مگنت بدون استفاده از حلال‌های اضافی و یا سانتریفوژ انجام می‌شود. این روش برای اندازه‌گیری جم فیبروزیل در نمونه‌های سرم انسانی، فاضلاب‌های دارویی و دارو با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی UV-Vis انجام شد. پس از شناسایی جاذب سنتز شده با دستگاه‌های SEM, XRD و FT-IR پارامترهای تأثیرگذار شامل pH محلول، مقدار جاذب، زمان تماس، حجم نمونه، نوع و حجم حلال شوینده و اثر مزاحمت سایر گونه‌ها بررسی و بهینه‌سازی شدند.

۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد شیمیایی

کلرید آهن(III) با خلوص ۹۸٪ از شرکت آلدریج، کلرید آهن(II) با خلوص ۹۹٪ از شرکت سیگما، کلرید نیکل با خلوص ۹۸٪، تری اتیلن تترا آمین با خلوص ۹۹٪، اسید بوریک با خلوص ۱۰۰٪، بی کرینات سدیم با خلوص ۹۹/۵٪، کلرید سدیم، اسید استیک با خلوص ۹۹٪، اسید فسفریک با خلوص ۹۸٪، سدیم هیدروکسید با خلوص ۹۹٪، استون با خلوص ۹۹٪ و آمونیاک با خلوص ۹۹٪ از شرکت مرک خریداری شدند.

۲-۲- تجهیزات دستگاهی

برای سنتز جاذب موردنظر از حمام آب گرم (بن ماری) مدل (memmert, WNB22, Germany) و آون (UNE500, Germany) استفاده شد. برای شناسایی جاذب سنتز شده از دستگاه طیف‌سنج تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR, Bomem) استفاده شد. دستگاه پراش پرتو ایکس (XRD, BSEN 1392 5-1:2008) و دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM, MB-series)، دستگاه پراش پرتو ایکس (XRD, BSEN 1392 5-1:2008) و دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM, MB-series) استفاده شد. برای تنظیم pH محلول‌ها از دستگاه pH متر (Mi 180 Bench meter) استفاده شد. از مگنت ۱/۲ تسلا (Tehran magnet, N35, 3*2*5 cm) برای جداسازی جاذب استفاده شد. همچنین برای اندازه‌گیری‌های جم فیبروزیل از دستگاه اسپکتروفتومتر ماروآ بنفش (Perkin - Elmer instruments. lombda25) استفاده شد.

۲-۳- سنتز نانو جاذب

۲-۳-۱- سنتز نانو اکسید نیکل

ابتدا ۲ گرم CTAB (Cetyltrimethyl Ammonium Bromide) در ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد. سپس در ظرفی دیگر ۰/۴۶ گرم نیکل کلراید در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد و به مدت ۳۰ دقیقه با هم زن هم زده شد و بعد محلول قبلی قطره قطره به آن اضافه شد و یک ساعت همزده شد. ۳ گرم NaHCO_3 در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد و مجدد قطره قطره به محلول مخلوط قبلی اضافه گردید و بعد از یک ساعت همزدن رسوب روی قیف جدا شده و بعد با آب مقطر و اتانول شستشو داده شد. سپس در آون ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳ ساعت خشک شد و بعد از آن به مدت ۳-۲/۵ ساعت در کوره در دمای ۶۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفته شد تا رسوب نانو اکسید نیکل بدست آید [۲۰]. CTAB در اینجا نقش قالب مولکولی داشته و برای پایداری ساختار اکسید نیکل و کوچک شدن ابعاد ذرات اکسید نیکل به کار می‌رود و چون ماده آلی است در طول واکنش می‌سوزد و از بین می‌رود.

۲-۳-۲- سننتز نانو اکسید نیکل مغناطیسی

درون یک ارلن ۰/۰۸ گرم کلرید آهن (II) و ۰/۲۱۶ گرم کلرید آهن (III) به ۲۰ میلی لیتر آب دیونایز افزوده شد. سپس ۰/۰۴ گرم نانو اکسید نیکل به محلول همگن فوق اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد بر روی گرمکن گرما داده شد و بعد از آن از روی گرمکن برداشته و خوب سرد شد، سپس مخلوط سیاه رنگ به مدت ۲۰ دقیقه در اولتراسونیک دیسپرس شد. پس از آن به ۱ میلی لیتر محلول آمونیاک اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه داخل دستگاه اولتراسونیک قرار گرفت، بعد از اتمام مدت زمان ذکر شده محلول سیاه رنگ به مدت ۴۰ دقیقه بر روی گرمکن با حمام آب گرم گرما گذاری شد. سپس به وسیله آهنربای مغناطیسی محلول از رسوب جدا شد.

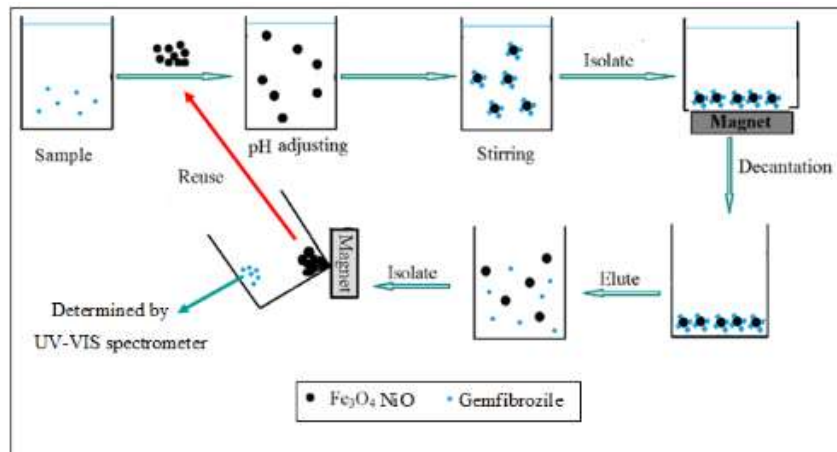
۲-۴- روش استخراج فاز جامد مغناطیسی:

روش استخراج و بازیابی یون مس به وسیله نانو اکسید نیکل مغناطیسی به شرح زیر انجام شد: ۵۰ میلی لیتر از محلول ۱۰ میلی گرم بر لیتر داروی جم فیبروزیل که در pH ۹ تنظیم شده بود، تهیه شد و مقدار ۰/۰۱ گرم نانو اکسید نیکل مغناطیسی به آن اضافه گردید. مخلوط حاصل را به مدت ۱۵ دقیقه درون شیکر گذاشته و سپس جاذب را بوسیله ی آهن ربا جدا کرده و رسوب با حجم مشخصی از محلول مناسب شویش شد. پس از واجذب داروی جم فیبروزیل، میزان آن توسط دستگاه طیف سنجی UV-Vis اندازه گیری شد (شکل شماتیک ۱). نمونه ها در این قسمت ۳ بار مورد تست قرار گرفتند. و میزان درصد ریکاوری از معادله ۱ بدست آمد [۲۱]. همچنین ظرفیت جذب نانو جاذب مغناطیسی نیز از معادله ی ۲ بدست آمد [۲۲].

$$\%R = (C_{des}/C_{ads}) \times 100 \quad (1)$$

$$q_e = V(C_0 - C_e)/W \quad (2)$$

که در معادله ی ۱، C_{ads} و C_{des} به ترتیب غلظت داروی واجذب شده از جاذب و غلظت داروی جذب شده روی جاذب است و در معادله ی ۲، C_0 و C_e به ترتیب غلظت اولیه و غلظت در تعادل آنالیت بر حسب میلی گرم بر لیتر و q_e نیز ظرفیت جذب جاذب در حالت تعادل بر حسب میلی گرم بر گرم می باشد.



شماتیک ۱- روش استخراج فاز جامد مغناطیسی

۵-۲- آماده سازی نمونه های حقیقی (نمونه های دارویی، سرم انسانی و آبی)

به منظور یافتن میانگین جرم هر کپسول، سه کپسول جرم فیبروزیل که هر یک حاوی ۳۰۰ میلی گرم جرم فیبروزیل بودند، وزن و به خوبی با هم مخلوط شدند. سپس مقدار یک ششم از پودر مخلوط شده در مقدار کافی هیدروکسید سدیم حل شد. سپس محلول بدست آمده به بالن حجمی ۵۰۰ میلی لیتر منتقل و با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد. نمونه حقیقی بیولوژیکی سرم خون از سانتریفیوژ کردن نمونه خون فرد سالم با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق بدست آمد. سپس به ۲/۰ میلی لیتر از نمونه سرم، ۱/۰ میلی لیتر استونیتریل برای جداسازی پروتئین های موجود در سرم اضافه شد و پس از سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، محلول رویی برای ادامه ی روش و اعمال شرایط بهینه جداسازی شد.

نمونه های فاضلاب دارویی از پساب های کارخانه داروسازی تهران، ایران جمع آوری شدند. نمونه آب بعد از صاف کردن با کاغذ صافی واتمن به منظور حذف ذرات جامد بدون آماده سازی اضافه تری مورد استفاده قرار گرفت.

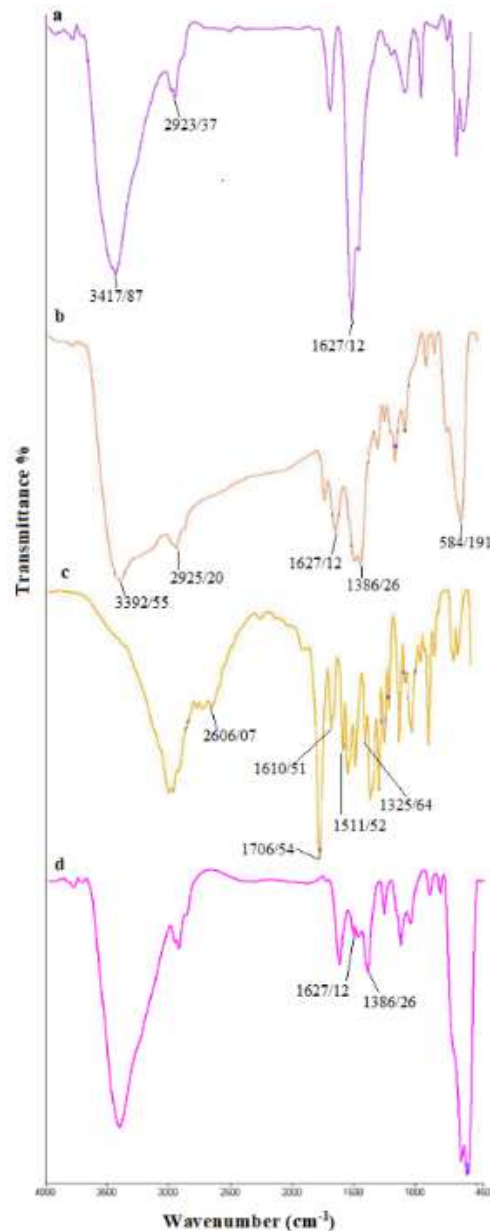
۳- نتایج و بحث

۳-۱- شناسایی جاذب

۳-۱-۱- بررسی نتایج حاصل از طیف FT-IR

در طیف IR نانو اکسید نیکل قبل از جذب (شکل a) پیک در ناحیه $1627/12 \text{ cm}^{-1}$ مشاهده می گردد که نشان می دهد مولکول OH مابین Ni و O محبوس شده است [۱۹] و پیک مشاهده شده در ناحیه $3417/87 \text{ cm}^{-1}$ و $2923/37 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به گروه عاملی OH است که به مولکول های آب جذب شده توسط NiO می توان نسبت داد [۲۳ و ۲۴]. در شکل b۱ که مربوط به طیف

مادون قرمز تبدیل فوریه نانو اکسید نیکل مغناطیسی است، پیک در ناحیه $19 / 584 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به باند (Fe-O) می باشد [۲۲] و پیک های $20 / 2925 \text{ cm}^{-1}$ و $55 / 3392 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به گروه های ارتعاشی OH است. تغییرات مشاهده شده در طیف IR نشان می دهد که نانو ذرات مغناطیسی مورد نظر با موفقیت سنتز شده اند. در شکل ۱c (طیف مادون قرمز تبدیل فوریه داروی جم فیبروزیل)، طول موج در نواحی $1300 - 1000 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به گروه عاملی اتر (C-O) می باشد. همانطور که مشاهده می شود پیک در طول موج $64 / 1325 \text{ cm}^{-1}$ گروه متیل (CH_3) و در ناحیه $52 / 1511 - 51 / 1610 \text{ cm}^{-1}$ حلقه آروماتیک (C=C) را نشان می دهد. و در طول موج $7 / 2608 \text{ cm}^{-1}$ نمایانگر گروه کربوکسیلیک اسید می باشد. (پیک در ناحیه $3000 - 2400 \text{ cm}^{-1}$ گروه OH اسیدی و در طول موج $54 / 1706 \text{ cm}^{-1}$ گروه C=O را نشان می دهد). شکل ۱d، طیف مادون قرمز تبدیل فوریه نانو اکسید نیکل مغناطیسی به همراه دارو را نشان می دهد. که می توان به بررسی میزان جذب دارو توسط نانو اکسید نیکل مغناطیسی پرداخت. کاهش شدت در پیک های مربوط به نانو اکسید نیکل مغناطیسی در ناحیه های $71 / 1617$ و $26 / 1386 \text{ cm}^{-1}$ احتمالاً حاکی از جذب دارو توسط جاذب می باشد.

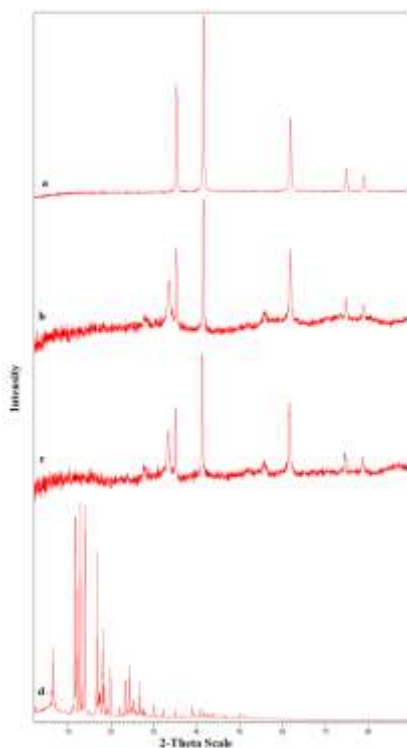


شکل a1- طیف مادون قرمز تبدیل فوریه نانو اکسید نیکل قبل از جذب، b- طیف مادون قرمز تبدیل فوریه نانو اکسید نیکل مغناطیسی، c- طیف مادون قرمز تبدیل فوریه جم فیروزیل، d- طیف مادون قرمز تبدیل فوریه نانو اکسید نیکل مغناطیسی پس از جذب جم فیروزیل

۳-۱-۲- بررسی نتایج حاصل از طیف XRD

شکل a2 الگوی پراش نانو اکسید نیکل را نشان می‌دهد که می‌توان ۳ پیک با شدت بسیار بالا مربوط به نانو اکسید نیکل مشاهده کرد. که قویترین پیک در ناحیه $2\theta = 43/34^\circ$ و یک پیک بسیار ضعیف در ناحیه $2\theta = 79/43^\circ$ را نشان می‌دهد که مربوط به نانو اکسید نیکل (NiO) می‌باشد. طیف XRD نانو اکسید نیکل مغناطیسی شده (شکل b2، سه پیک با شدت بسیار بالا مربوط به نانو اکسید نیکل مغناطیسی موجود است که قویترین پیک در ناحیه $2\theta = 43/34^\circ$ و یک پیک بسیار ضعیف در ناحیه

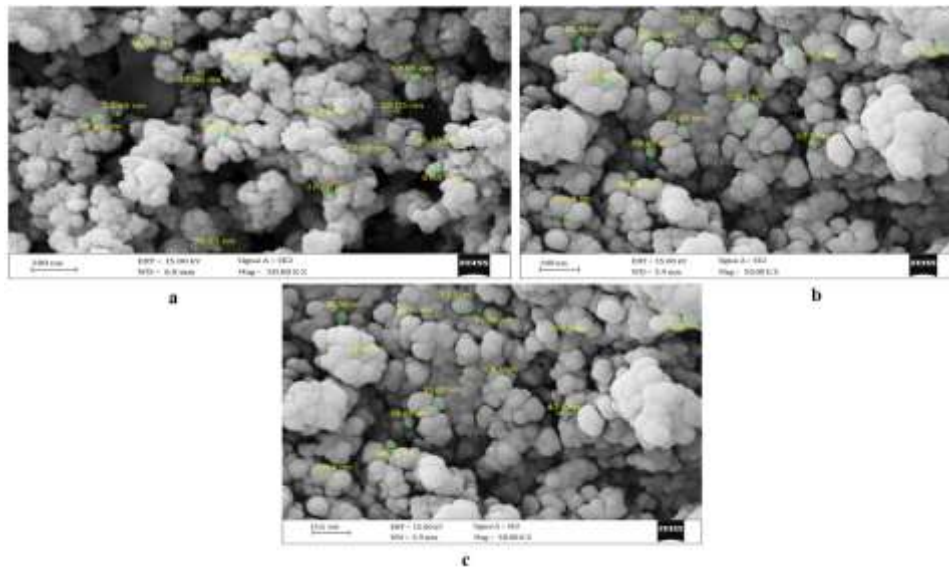
$2\theta = 79/43^\circ$ درجه را نشان می دهد که به ترتیب پیک بسیار تیز و کوچکی را دارا می باشد که مربوط به (NiO) می باشد. پراش $(30/1^\circ, 43/3^\circ, 57/2^\circ, 62/5^\circ)$ به ترتیب در صفحات (440) و (220)، (311)، (400)، (422)، (511) مربوط به نانو ذرات Fe_3O_4 می باشند [25]. در نمودار 2θ که مربوط به نانو اکسید نیکل جاذب دار پس از جذب دارو می باشد، 4 پیک مشاهده می شود که قوی ترین پیک آن مربوط به $2\theta = 43/34^\circ$ و ضعیف ترین آن در ناحیه $2\theta = 79/34^\circ$ درجه نشان داده شده است که جابه جایی ناچیزی در جذب دارو را نشان می دهد. در طیف XRD جم فیبروزیل (شکل d2) ما شاهد تعداد زیادی پیک هستیم که این نشان دهنده ی آن می باشد که دارو جذب خوبی در پیک های زیادی خواهد داشت. که پیکی با درجه $2\theta = 12/72^\circ$ دارای شدت بالایی می باشد و همچنین پیک بسیار ضعیفی را در ناحیه $2\theta = 26/78^\circ$ نشان می دهد.



شکل ۲- طیف XRD، a۲- نانو اکسید نیکل، b- نانو اکسید نیکل مغناطیسی، c- نانو اکسید نیکل مغناطیسی پس از جذب جم فیبروزیل و d- جم فیبروزیل

۳-۱-۳- بررسی نتایج حاصل از طیف SEM

تصویر a3، عملکرد موفق آمیز آزمایش را در جهت نانو کردن ذرات نیکل نشان می دهد بدین گونه که ذرات دارای ابعاد بسیار کوچک و در حد نانو می باشند. شکل b3، نانو اکسید نیکل مغناطیسی شده را نشان می دهد، که می توان از تصاویر فوق نتیجه گرفت که پس از مغناطیسی کردن ضخامت صفحات بیشتر شده است. همچنین می توان با توجه به ابعاد ذرات نتیجه گرفت که در ساختار فوق نانو ذرات Fe_3O_4 وجود دارد. همانطور که در شکل 3c، مشاهده می شود اندازه نانوذرات اکسید نیکل مغناطیسی شده پس از جذب دارو تغییر یافته که این امر نشان دهنده ی جذب دارو توسط نانو جاذب مغناطیسی اکسید نیکل می باشد.

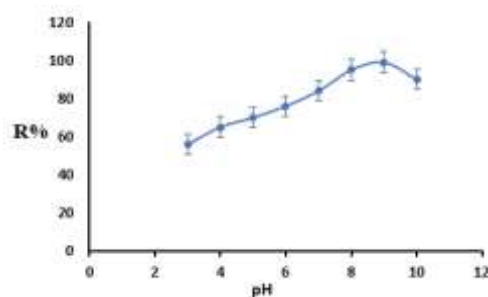


شکل ۳ - تصویر SEM، a۳- نانو اکسید نیکل، b- نانو اکسید نیکل مغناطیسی، c- نانو اکسید نیکل مغناطیسی پس از جذب جم فیروزیل

۳-۲- بررسی عوامل تأثیرگذار بر جذب جم فیروزیل توسط جاذب:

۳-۲-۱- بهینه سازی pH برای جذب جم فیروزیل توسط جاذب

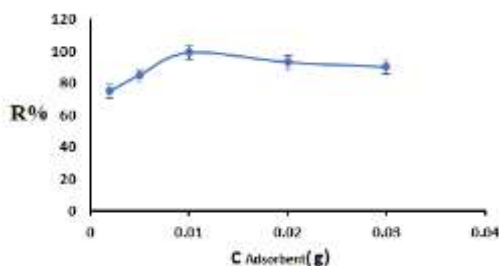
برای بررسی اثر pH بر روی جذب جم فیروزیل محلول هایی در pH ۱۰-۳ با استفاده از محلول مجیک بافر تهیه شدند. برای این منظور مقادیر معینی از استیک اسید، فسفریک اسید و بوریک اسید در بالن ۵۰۰ میلی لیتر به حجم رسانده شد، سپس با استفاده از NaOH ۱/۰ مولار pHها تنظیم شدند [۲۶]. پس از تنظیم pH محلول ها، به هر یک از محلول ها ۰/۰۱ گرم از جاذب نانو اکسید نیکل مغناطیسی اضافه گردید و به مدت ۲۰ دقیقه داخل شیکر گذاشته و سپس جاذب توسط آهن ربا جدا شد و با حجم معینی از محلول مناسب شستشو شد و پس از واجذب، میزان جم فیروزیل توسط دستگاه طیف سنجی UV-Vis اندازه گیری شد. نتایج در شکل ۴ نشان داد که در pH=۹ شرایط بهینه برای پروتونه شدن نانو اکسید نیکلی مشاهده می شود، که بیشترین جذب دارو بر روی نانو اکسید نیکل مغناطیسی می باشد. و همچنین از نظر الکتروستاتیکی بهترین شرایط جاذب و دارو برای جذب سطحی در pH بهینه را دارا است.



شکل ۴- اثر pH بر جذب جم فیروزیل توسط نانو اکسید نیکل مغناطیسی

۳-۲-۲- بررسی اثر مقدار جاذب بر جذب جم فیروزیل توسط جاذب

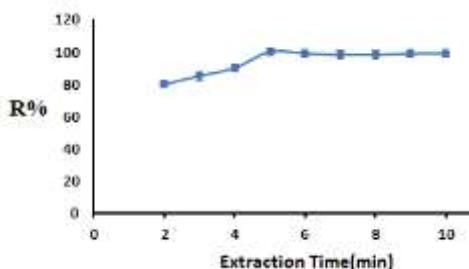
به منظور بررسی اثر مقدار جاذب بر جذب جم فیروزیل، مقدار های متفاوت نانو اکسید نیکل مغناطیسی (۰/۰۰۲، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۳، ۰/۰۴، ۰/۱۰ گرم) به محلول های حاوی جم فیروزیل اضافه گردید و مشاهده شد که در مقدار ۰/۰۱ گرم از نانو اکسید نیکل مغناطیسی درصد جذب و بازیابی جم فیروزیل به حد اکثر می رسد (شکل ۵). نتایج نشان می دهد که مقدار جاذب زیاد غیرا شباع (بیشتر از ۰/۰۱ گرم)، مکان های جذب را کاهش می دهد و در نتیجه تعداد این مکان ها را در واحد جرم کاهش می دهد و در نتیجه جذب نسبتاً کمتری را نتیجه می دهند [۲۵].



شکل ۵- اثر مقدار جاذب بر جذب جم فیروزیل توسط نانو اکسید نیکل مغناطیسی

۳-۲-۳- بررسی اثر زمان تماس بر جذب یون مس توسط جاذب

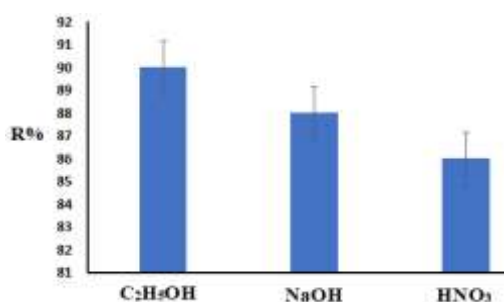
یکی دیگر از پارامترهای مهم بر سامانه جذب و اندازه گیری جم فیروزیل بر اساس استخراج آن سرعت واکنش است. برای اندازه گیری زمان تماس بهینه به محلول های حاوی جم فیروزیل ۰/۰۱ گرم جاذب پس از تنظیم pH اضافه شد و در زمان های (۲-۱۰) دقیقه، جذب محلول ها اندازه گیری شدند. طبق نتایج بدست آمده مدت زمان ۵ دقیقه همزدن بعنوان زمان بهینه برای ادامه آزمایشات انتخاب شد. نتایج (شکل ۶) احتمالاً بیانگر این مطلب هستند که در زمان های کمتر مکان های پر نشده در سطح جاذب وجود دارد و پس از تعادل، به دلیل نیروهای دافعه بین جم فیروزیل های جذب شده بر روی جاذب و محلول نمونه، میزان جذب تقریباً ثابت می ماند.



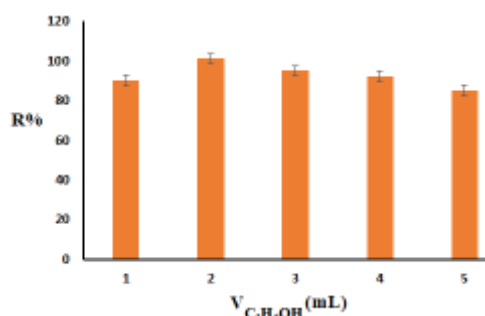
شکل ۶- اثر زمان تماس بر جذب جم فیروزیل توسط نانو اکسید نیکل مغناطیسی

۳-۲-۴- بررسی اثر نوع و حجم شوینده های مختلف جهت بازیابی جم فیبروزیل

انتخاب نوع و حجم حلال شوینده از اهمیت بالایی برخوردار است و باید به طور کلی سه معیار را برآورده کند: کارایی، انتخاب پذیری و سازگاری. علاوه بر این، برای دستیابی به یک فاکتور تغلیظ قابل توجه، مطلوب است که آنالیت ها در یک حجم کم بازیابی شوند [۲۵]. در این مطالعه برای بازیابی یون های مس از شوینده های اتانول، سدیم هیدروکساید و اسید نیتریک استفاده شد که طبق نتایج نشان داده شده در شکل ۷ اتانول به عنوان محلول شوینده مورد استفاده قرار گرفت. همچنین اتانول در حجم های ۱-۵ میلی لیتر استفاده شد. بر اساس نتایج به دست آمده در شکل ۸، برای ادامه مطالعات ۲ میلی لیتر اتانول به عنوان محلول شوینده مورد استفاده قرار گرفت.



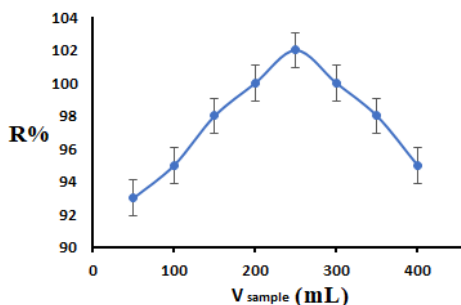
شکل ۷- اثر نوع حلال شوینده بر واجذب جم فیبروزیل



شکل ۸- اثر حجم حلال شوینده بر واجذب جم فیبروزیل

۳-۲-۵- بررسی اثر مقدار حجم نمونه بر جذب جم فیبروزیل توسط جاذب

یافتن کمترین مقدار لازم از حجم نمونه برای از دست رفتن آنالیت در استخراج فاز جامد بسیار اهمیت دارد [۲۷]. بنابراین بررسی مقدار حجم نمونه یکی دیگر از مواردی است که باید به آن پرداخت. مقدار حجم بهینه با آماده کردن محلول هایی با غلظت ۱ میکروگرم بر لیتر در محدوده حجمی از ۵۰ تا ۴۰۰ میلی لیتر بدست آمد. نتایج نشان داد که تا حجم ۲۵۰ میلی لیتر یون ها جذب نانو جاذب مغناطیسی شده اند و اگر حجم نمونه بیشتر از این مقدار باشد مقداری از جم فیبروزیل روی جاذب ننگه داشته نخواهد شد و بدون بازداری از روی جاذب خواهد گذشت (شکل ۹). مقدار فاکتور پیش تغلیظ عبارت است از بیشترین مقدار از حجم نمونه تقسیم بر کمترین مقدار حجم حلال شوینده [۲۷]. بنابراین اگر حجم نمونه ۲۵۰ میلی لیتر باشد و از روی جاذب عبور داده شود و سپس با ۲mL از محلول شستشو دهنده شسته شود، فاکتور تغلیظ برابر ۱۲۵ بدست می آید.



شکل ۹- اثر مقدار حجم نمونه بر جذب جم فیروزیل توسط جاذب

۳-۳- بررسی اثر گونه های مزاحم

گونه مزاحم، گونه ای است که باعث تغییر مشخص بیش از $\pm 5\%$ درصد در جذب و بازیابی آنالیت شود [۲۸]. برای بررسی اثر مزاحمت گونه های دیگر بر روی استخراج جم فیروزیل، مقدار مشخصی از گونه های مزاحم به محلول اولیه اضافه شد و در حجم حد آزمایش و بررسی انجام شد. جذب محلول بازیابی شده اندازه گیری گردید و با جذب محلول حاصل از بازیابی نمونه ای که فاقد گونه ی مزاحم بود مقایسه گردید. همچنان که در جدول ۱ دیده می شود، در حضور اکثر گونه های خارجی بازیابی جم فیروزیل با تغییرات $\pm 0.5\%$ صورت می گیرد و گونه های خارجی اثر چندانی روی اندازه گیری ندارند و مزاحمتی ایجاد نمی کنند به جز در مورد گونه هایی نظیر تیو اوره، متیونین و لوزارتان.

جدول ۱. بررسی میزان حدود گونه های مزاحم در اندازه گیری ۲ میکروگرم بر لیتر جم فیروزیل توسط نانو اکسید نیکل مغناطیسی

Potentially interfering ions or compounds	Interferent to analyte ratio
Cu ²⁺ , Mg ²⁺ , Ba ²⁺ , Ni ²⁺ , Ca ²⁺ , K ⁺	500
Na ⁺ , ClO ₃ ⁻ , HCO ₃ ⁻	250
glucose, lactose	25
acetaminophen, uric acid, tramadol	5
Thiourea, methionine, losartan.	

۳-۴- بررسی پارامترهای تجزیه ای روش مورد نظر برای اندازه گیری جم فیروزیل

پارامترهای تجزیه ای روش پس از بدست آوردن شرایط بهینه برای جذب جم فیروزیل توسط جاذب نظیر رسم منحنی کالیبراسیون روش، محدوده خطی نمودار کالیبراسیون، حد تشخیص (LOD) و حد تعیین کمی (LOQ)، دقت و صحت مورد بررسی قرار گرفت که در جدول ۲ آورده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده، نمودار کالیبراسیون اندازه گیری جم فیروزیل در محدوده ۰/۰۵ تا ۱۰۰۰ میکرو گرم بر لیتر خطی بوده و از قانون بیر- لامبرت پیروی می کند. برای رسم منحنی کالیبراسیون روش، چند غلظت متفاوت از آنالیت تهیه شد و پس از اعمال شرایط بهینه روش، شدت جذب این محلول ها خوانده شد و منحنی کالیبراسیون رسم شد که در شکل ۱۰ آورده شده است. کمترین غلظت یا وزنی از نمونه که با حد اطمینان معین قابل اندازه گیری باشد را حد تشخیص می نامند که بصورت زیر تعریف می شود. در شیمی تجزیه ای، غلظتی از نمونه آزمایشی که

سیگنال آن معادل با سیگنال بلانک به علاوه سه برابر انحراف استاندارد حاصل از محلول باشد. حد تشخیص کمترین مقداری از یون مس است که روش ارائه شده قادر به تشخیص آن می‌باشد. بر طبق تعریف ارائه شده حد تشخیص (LOD) توسط رابطه زیر می‌تواند محاسبه شود [۲۹]:

$$LOD = \frac{3 \times S_b}{m}$$

که S_b انحراف استاندارد برای سیگنال بلانک بوده و m شیب نمودار کالیبراسیون می‌باشد. با توجه به آزمایشات انجام گرفته، حد تشخیص روش برابر ۰/۰۱ میکرو گرم برلیتر بدست آمد. همچنین با استفاده از داده‌ها حد تعیین کمی روش (LOQ) نیز با استفاده از رابطه ی زیر ۰/۰۵ میکرو گرم برلیتر بدست آمد.

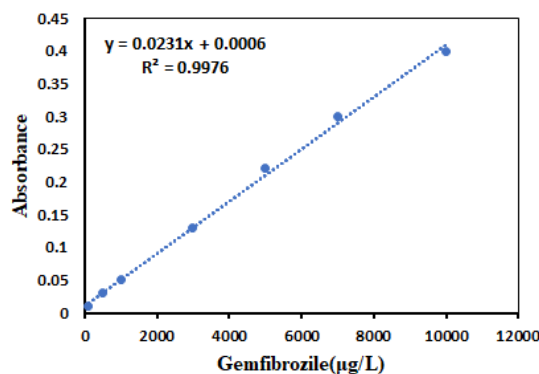
$$LOQ = \frac{10 \times S_b}{m}$$

پارامتر دقت و تکرار پذیری روش (%RSD) به منظور بررسی دقت آزمایش و نزدیک بودن داده‌های مطالعاتی می‌باشد. برای تعیین دقت ابتدا ۵ محلول با شرایط بهینه در یک روز ساخته شد. سپس جذب جم فیبروزیل در محلول‌ها پس از پیش تغلیظ و استخراج با روش استخراجی پیشنهادی در یک روز اندازه‌گیری شدند. طبق نتایج انحراف استاندارد برای ۵ بار اندازه‌گیری را محاسبه کرده و انحراف استاندارد نسبی (RSD) برای ۵ بار اندازه‌گیری ۱/۵ بدست آمد.

جدول ۲. ارقام شایستگی تجزیه ای برای اندازه گیری جم فیبروزیل

LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	%RSD (n=5)	EF	q_e (mg g^{-1})	LDR ($\mu\text{g L}^{-1}$)	%E	R^2
0.01	0.05	1.5	120	52.69	0.05-1000	110	0.9976

n=3



شکل ۱۰- منحنی کالیبراسیون روش

۵-۳- آماده سازی و ارزیابی کارایی روش برای جذب جم فیبروزیل توسط جاذب

پس از بهینه کردن پارامترهای مؤثر بر جذب جم فیبروزیل، نمونه‌های حقیقی مورد مطالعه قرار گرفتند که عبارت بودند از: پساب دارویی، سرم و دارو. آماده سازی نمونه‌ها طبق بخش ۲-۵ انجام شد. سپس تحت شرایط بهینه، با روش استخراجی پیشنهادی و با روش افزایش استاندارد در صد بازیابی جم فیبروزیل در ماتریس‌های مختلف تعیین گردید. همانطور که نتایج

در جدول ۳ نشان می دهد، این روش برای اندازه گیری جم فیبروزیل در نمونه های سرم انسانی، فاضلاب های دارویی و نمونه دارویی با بازیابی در محدوده ۹۸/۰-۱۰۴/۰٪ با موفقیت بکار گرفته شد. نتایج حاصل از اندازه گیری جم فیبروزیل توسط روش پیشنهادی و روش استاندارد USP 2022 در آزمون T-test اعمال شد و مشخص شد که هیچ گونه تفاوت معناداری بین این دو روش وجود نداشت (جدول ۴). همچنین تصاویر پیک دستگاه طیفسنج جذبی فرابنفش-مرئی و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مربوط به نمونه های حقیقی دارویی جم فیبروزیل در شکل ۱۱ و ۱۲ نشان داده شده اند.

جدول ۳. نتایج اندازه گیری جم فیبروزیل در نمونه های حقیقی

samples	Added gemfibrozil (mg L ⁻¹)	Found gemfibrozil (mg L ⁻¹) (proposed method)	Recovery (%)
Wastewater samples	_b	0.45 ± 0.07 ^a	-
Samples 1	0.5	0.97 ± 0.08 ^a	102.10
	2	2.54 ± 0.78 ^a	103.67
Samples 2	_b	_b	-
	0.5	0.52 ± 0.08 ^a	104
Samples 2	2	1.96 ± 0.06 ^a	98
	_b	_b	-
Serum sample	0.5	0.52 ± 1.0 ^a	104
	2	2.04 ± 0.9 ^a	102
Gemfibrozil capsule	300	296.9 ± 1.2 ^a	99

^a n=3

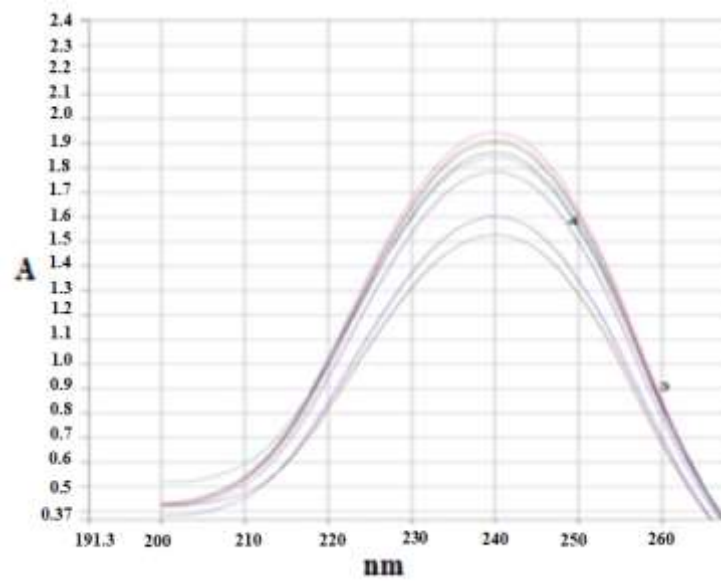
^b not found

جدول ۴. بررسی صحت روش ارائه شده.

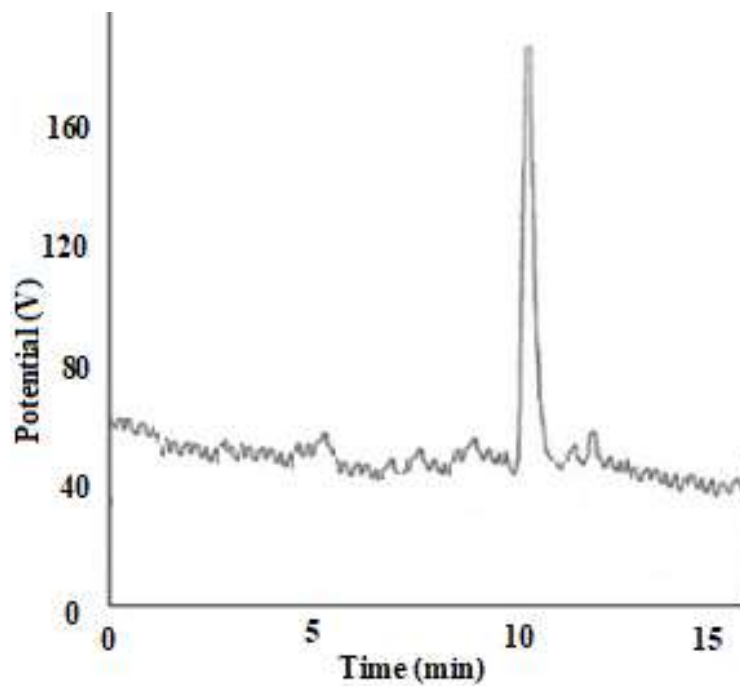
Gemfibrozil capsule	Found gemfibrozil (mg L ⁻¹) (proposed method)	Found gemfibrozil (mg L ⁻¹) (HPLC method)	t _{exp}
300(mg L ⁻¹)	296.9 ± 1.2 ^a	298.1 ± 0.09 ^a	20.2

^a n=3

t_{critical}=3.18, P≤0.05.



شکل ۱۱- تصویر پیک دستگاه طیف‌سنج جذبی فرابنفش-مرئی مربوط به نمونه حقیقی دارویی جم فیروزیل



شکل ۱۲- تصویر پیک دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مربوط به نمونه حقیقی دارویی جم فیروزیل

۳-۶- مقایسه روش پیشنهادی با سایر روش های گزارش شده

روش طراحی شده با روش های قبلاً منتشر شده برای از اندازه گیری جم فیروزیل مقایسه شد (جدول ۵) [۲۸-۳۰]. در این مطالعه، نسبت به کار های قبل، فاکتور تغلیظ بالاتر، در صد بازیابی بالا و حد تشخیص مطلوبی در نمونه های حقیقی مشاهده شد.

جدول ۵. ها مقایسه روش پیشنهادی با سایر روش ها

Method	LOD	EF	Recovery (%)	Ref.
Magnetic solid phase extraction	3 pg mL ⁻¹	100	96-104	[30]
Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography	0.33 µg mol	*	98.60-100.50	[31]
Spectrofluorometric	0.075 µgmL ⁻¹	*	99.54	[32]
Magnetic solid phase extraction	0.01 µg L ⁻¹	120	98-104	[This work]

* Not report

۴- بحث و نتیجه گیری

روش ارائه شده نسبت به روش‌هایی که قبلاً برای جدا سازی و اندازه‌گیری جم فیبروزیل گزارش شده بود دارای مزایای قابل توجهی است که این مزایا عبارتند از: سادگی و مقرون به صرفه بودن و داشتن سرعت مناسب برای نمونه‌های حقیقی شامل پساب دارویی، سرم و دارو. بدلیل نانو ساختار بودن جاذب، سطوح ویژه و مکان‌های جذب افزایش می‌یابد و همچنین با توجه به مغناطیسی بودن جاذب جداسازی نمونه تنها توسط یک مگنت به آسانی و سریع و بدون استفاده از حلال‌های اضافی و یا سانتریفوژ انجام می‌شود و استفاده از حلال آلی، سمی و گران قیمت را به حداقل می‌رساند. همچنین طراحی و توسعه این روش برای پیش تغلیظ، جداسازی و اندازه‌گیری جم فیبروزیل با توجه به اهمیت آن در علوم پزشکی و کم بودن غلظت این دارو در اکثر نمونه‌ها یک نیاز اساسی است. لذا هدف این پژوهش ارائه یک روش کارا، گزینش پذیر، سریع، ارزان و ساده برای ارزیابی مقدار جم فیبروزیل در نمونه‌های مختلف می‌باشد. در این پژوهش مقدار حد تشخیص ۰/۰۱ میکرو گرم برلیتر، فاکتور تغلیظ ۱۲۰ و رنج خطی منحنی کالیبراسیون ۰/۰۵ تا ۱۰۰۰ میکرو گرم برلیتر بدست آمد و ظرفیت جاذب ۵۲/۶۹ میلی گرم بر گرم بدست آمد. پژوهش اخیر نشان داد که اندازه‌گیری جم فیبروزیل در حد قابل قبولی بدون دخالت گونه مزاحم دیگری صورت می‌گیرد و بنابراین جاذب نانو اکسید نیکل مغناطیسی در روش ارائه شده می‌تواند به سهولت و با گزینش پذیری مناسبی در اندازه‌گیری مقادیر کم جم فیبروزیل در نمونه‌های پساب دارویی، سرم و دارو بکار رود.

۵- تشکر و قدردانی

از حمایت‌های دانشگاه علوم پزشکی تهران تشکر می‌گردد.

۵- مراجع

- [1] Abniki, M., Moghimi, A., Azizinejad, F. (2020). Fabrication of bionanocomposite based on LDH using biopolymer of gum arabic and chitosan-coating for sustained drug-release. *J Serb Chem Soc*, 85 (9), 1223-1235.
- [2] Rao, T. N., Babji, P., Ahmad, N., Khan, R. A., Hassan, I., Shahzad, S. A., Husain, F. M. (2019). , Green synthesis and structural classification of Acacia nilotica mediated-silver doped titanium oxide (Ag/TiO₂) spherical nanoparticles: Assessment of its antimicrobial and anticancer activity. *Saudi J Biol Sci* 26, 1385-1391.
- [3] Roskati, A.A., Jangali, M. A. C., Godarzi, N., Bagherian, G., Salami, M. (1396). , modified glassy carbon electrode with multi-walled carbon nanotubes and polyalizarin red as a new voltammetric sensor for fibrosil gem measurement. *Nano material*, 29, 23-36. (in Persian)
- [4] Craig, C.R., Stitzel, R.E. (2004). *Modern pharmacology with clinical applications*. Lippincott Williams & Wilkins.
- [5] Shahtaheri, S.J., Ghamari, F., Golbabaie, A., Rahimi Froushani, A., Abdollahi, M. (2005). Sample preparation followed by high performance liquid chromatographic (HPLC) analysis for monitoring muconic acid as a biomarker of occupational exposure to benzene. *Int JOSE*, 11, 377-388.
- [6] Shahtaheri, S.J., Khadem, M., Golbabaie, F., Rahimi-Froushan, A., Ganjali, M.R., Norouzi, P. (2007). Solid phase extraction for evaluation of occupational exposure to Pb (II) using XAD-4 sorbent prior to atomic absorption spectroscopy. *Int JOSE*, 13, 137-145.
- [7] Khadem, M., Golbabaie, F., Rahimi Froushani, A., Shahtaheri, S.J. (2010). Optimization of Solid Phase Extraction for trace determination of cobalt (II) using chromosorb 102 in biological monitoring. *IJOH*, 2, 10-16.
- [8] Purjavid, M., Rezaei, M., Yusefi, S. R., Haji Hoseini, M., Moazami, H., Tabib Zadeh Dezfuli, S. (1401). Synthesize and modification of nano graphene oxide as solid phase adsorbent for separation and preconcentration of Iron (III) and Zinc ions from foods, soil and biological. *JAC*, 64, 89-104. (in Persian)
- [9] Wang, B., Zhu, Y., Bai, Z., Luque, R., Xuan, (2017). Functionalized chitosan biosorbents with ultra-high performance, mechanical strength and tunable selectivity for heavy metals in wastewater treatment. *J Chem Eng*, 325, 350-359.
- [10] Moghimi, A., Alborji, A., Qomi, M., Ardakan, H. A. (2020). An alternative method of extracting of trace Hg (II) in water samples using Fe₃O₄@ quillaja Sapogenin on Ambersorb 572 and determination by CVAAS. *Arch Pharm Pract*, 14, 79-90.
- [11] Nabavi, S. R., Shamsi, M. (2018). Preparation and characterization of polyaniline/graphene oxide nanocomposite and its assessment for removal of chromium (VI) from aqueous media. *JAC*, 17, 29-41. (in Persian)

- [12] Simpson, N., Dekker, M. (1997). Solid Phase Extraction, Strategies, and Application. New York.
- [13] Abou El-Reasha, Y.G. (2016). Magnetic chitosan modified with cysteine-glutaraldehyde as adsorbent for removal of heavy metals from water. *J Environ Chem Eng*, 4, 3835-3847.
- [14] Ozdemir, S., Turkan, Z., Kilinc, E., Bayat, R., Soylak, M., Sen, F. (2022). Selective detection of manganese (II) ions based on the fluorescence turn-on response via histidine functionalized carbon quantum dots. *Environ Res* 279, 112766- 121409.
- [15] Farasati, M., Boroomandnasab, S., Abedi Koupai, J., Jafarzadeh, N., Moazed, H., Saiedian, M. (2012). Nitrate contaminated water treatment using micro and nanostructured sugarcane straw. *JWSS*. 16, 83-95.
- [16] Hua, M., Zhang, Sh., Pan, B., Zhang, W., Zhang, Q. (2012). Heavy metal removal from water/wastewater by Nano-sized metal oxides. *J Hazard Mater*, 211, 317-331.
- [17] Bahmaie, M., Abbasi, L., Faraji, M. (1392). Synthesis of magnetic nanoparticles (Fe_3O_4) and its application for extraction and preconcentration of drug sample from environmental samples Authors. *JAC*. 8, 29-37. (in Persian)
- [18] Abniki, M., Moghimi, A. (1400). Removal and measurement of bromocresol purple dye in aqueous samples by β -cyclodextrin-modified magnetic carbon nanotube with dispersive solid-phase extraction technique. *JCST*, 15, 301-315. (in Persian)
- [19] Kayani, Z. N., Butt, M., Ali, Y., Riaz, S., Naseem, S. (2015). Structural and optical study of NiO nano-particles. *Materials. Today. Proceedings*. 2, 5804-5807.
- [20] Park, Y. J., Fray, D. J. (2009). , Recovery of high purity precious metals from printed circuit boards. *J Hazard. Mater. J Hazard Mater*. 164, 1152-1158.
- [21] Pan, L., deZhang, Z. (2009). Solvent extraction and separation of palladium (II) and platinum(IV) from hydrochloric acid medium with dibutyl sulfoxide *MineralsEng. MineralsEng*, 1271-1276.
- [22] Salehi, N., Moghimi, A. (1401). Synthesis of crosslinked magnetic chitosan to removal of trace amounts of some heavy metals from aqueous solutions. *JCST*, 2, 135-145. (in Persian)
- [23] Alsalmeh, A., Ahmad, H., Khan, R. A., Koo, B. H., Alharbi, G. M., Alhadlaq, S. I. (2023). Preconcentration and solid phase extraction of trace metal ions by chemically modified graphene oxide nanoconstructs. *water*, 15(6), 1121.
- [24] Manzoori, J., Abdolmohammad-Zadeh, L., Amjadi, M. H. (2007). Ultra-trace determination of silver in water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry after preconcentration with a ligand-less cloud point extraction methodology. *J Hazard Mater*, 144, 458-463.
- [25] Salehi, N., Moghimi, A., Shahbazi, H. (2022). Preparation of cross-linked magnetic chitosan with methionine-glutaraldehyde for removal of heavy metals from aqueous solutions. *Int J Environ Anal Chem*, 102, 2305-2321.
- [26] Abniki, M., Moghimi, A. (2021). Synthesis of chitosan functionalized magnetic carbon nanotubes for dispersive solid-phase extraction of bromocresol green. *IET Nanobiotechnology* 16(9), 455-469.

- [27] Salehi, N., Moghimi, A., Shahbazi, H. (2021). Magnetic nano biosorbent (MG-Chi/Fe₃O₄) for dispersive solid phase extraction of Cu (II), Pb(II) and Cd(II) followed by FAAS determination. *IET Nanobiotechnology*, 15, 575-584.
- [28] Helzlsouer, K.J., Huang, H.Y., Alberg, A.J., Hoffman, S., Burke, A., Norkus, E.P., Morris, J.S., Comstock, G.W. (2000). Association between alpha-tocopherol, gamma-tocopherol, selenium and subsequent prostate cancer. *J Natl Cancer I*, 92, 2018-2023.
- [29] Arvand, M.P., Moghimi, A., Abniki, M. (2022). A novel removal of Ni²⁺ ions from water solutions using dispersive solid-phase extraction method with nano Fe₃O₄/chitosan-acrylamide hydrogel. *IET Nanobiotechnology*.
- [30] Abdolmohammad-Zadeh, H., Talleb, Z. (2015). Magnetic solid phase extraction of gemfibrozil from human serum and pharmaceutical wastewater samples utilizing a β-cyclodextrin grafted graphene oxide-magnetite nano-hybrid. *Talanta*, 134, 387-393.
- [31] Patel, A. I., Prajapati, K. B., Jolapara, S. H., Vyas, A. J., Patel, A. B., Patel, N. K., Pandey, M. M. (2021). Rp-hplc method for determination of gemfibrozil using central composite design (CCD). *Res J Pharm Technol*, 14, 3009-3014.
- [32] Villar, A. M. S., Campmany, A. C. C., Bellowa, L. H., Trenchs, M. A., Naveros, B. C. (2013). Validated spectrofluorometric method for determination of gemfibrozil in self nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS). *Spectrochim. Acta A Mol*, 113, 7-22.