

اندازه‌گیری و بررسی کادمیوم در نمونه خونی افراد سالم و بیماران مولتیپل اسکلروزیس توسط نانوجاذب گرافن اکساید و طیف‌سنجی جذب اتمی

فرید نصیری^{۱،۲}، نگار معتکف کاظمی^۱، حمید شیرخانلو^۳

۱. گروه نانوفناوری پزشکی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳. مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی، پژوهشگاه صنعت نفت، تهران، ایران.



چکیده

در این تحقیق، از نانوذرات گرافن اکساید به عنوان یک فاز جامد برای جداسازی کادمیوم نمونه خون افراد سالم و بیماران مولتیپل اسکلروزیس (MS) با استفاده از تکنیک میکرو استخراج فاز جامد-مایع یونی بخشی به کمک التراسونیک (US-D-IL-μ-SPE) مورد استفاده قرار گرفت. اثر پارامترهای مختلف مانند pH، مقدار جاذب و مایع یونی، حجم نمونه، سایز نانو جاذب، حجم و غلظت مایع در استخراج برگشتی، زمان اولتراسونیک و سانتیفریوژ، و تاثیر یون‌های مزاحم در استخراج مورد بررسی و بهینه گردید. کادمیوم از نمونه خون کامل به وسیله نانوجاذب گرافن اکساید در pH=8 استخراج شد. مایع یونی آبگریز [PF₆][OMIM] جهت جداسازی جاذب و آنالیت مورد استفاده قرار گرفت. جاذب و آنالیت با ۲۵۰ میکرولیتر اسید نیتریک ۱ مولار مورد استخراج برگشتی قرار گرفته، و در نهایت غلظت کادمیوم با استفاده از طیف‌سنجی جذب اتمی با کوره گرافیتی تعیین شد. در شرایط بهینه، منحنی خطی، حد تشخیص (LOD)، انحراف معیار نسبی (RSD) و نیز فاکتور پیش‌تغلیظ (PF) روش پیشنهادی برای سنجش کادمیوم به ترتیب ۰.۰۱-۰.۱۵ میکروگرم بر لیتر، ۳ نانوگرم بر لیتر، ۵٪ و ۲۰ بدست آمد. اعتبارسنجی روش با استفاده از مواد مرجع استاندارد (CRM) انجام شد. استفاده از نانوتکنولوژی مبتنی بر جاذب گرافنی به عنوان یک روش نوین، سریع، حساس و دقیق، ارزان و زیست‌سازگار جهت استخراج و اندازه‌گیری کادمیوم در خون و سرم بیماران MS انجام گرفت. افزایش غلظت کادمیوم امکان ابتلا به MS را از طریق سد مایع مغزی نخاعی افزایش داده و لذا اندازه‌گیری کادمیوم در خون و ادرار فقط در زمان‌های نزدیک به مواجهه (مراحل حاد بیماری) امکان‌پذیر است. در صورت پیشرفت بیماری بررسی مواجهه کادمیوم در نمونه‌های مو، ناخن و بافت‌های بیماران امکان‌پذیر است.

کلمات کلیدی: مولتیپل اسکلروزیس، نانوجاذب گرافن اکساید، کادمیوم، مایع یونی، میکرو استخراج فاز جامد، طیف‌سنجی جذب اتمی الکتروترمال

* نویسنده مسئول: حمید شیرخانلو، مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی، پژوهشگاه صنعت نفت، تهران، ایران. hamidshirkhanloo@gmail.com

بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش از روشی ساده، سریع، قابل اعتماد، حساس، دقیق و ارزان برای استخراج، سنجش و تعیین مقدار کادمیوم نمونه خون بیماران MS و افراد سالم، استفاده شده است.

این روش بر پایه تکنیک استخراج روش میکرواستخراج فاز جامد مایع یونی بخشی به کمک التراسوند صورت گرفت. برای اندازه‌گیری کادمیوم از دستگاه‌های اسپکتروسکوپی جذب اتمی الکتروترمال با کوره گرافیتی استفاده شد.

از مایع یونی به عنوان عامل عامل جداکننده نانوجاذب گرافن اکساید استفاده شد. این روش باعث تسریع در آماده‌سازی نمونه و کاهش زمان جداسازی (بدون فیلترینگ) و بدون از دست دادن جاذب می‌شود.

انتظار می‌رود با توسعه و اصلاح روش مورد استفاده در کاربرد گرافن اکساید به عنوان جاذب کادمیوم می‌توان به راندمان بالاتر دست یافت.

نتیجه‌گیری کلی

از نانوتکنولوژی بر پایه جاذب گرافن اکساید به عنوان یک روش نوین، سریع، حساس و دقیق، ارزان و زیست‌سازگار جهت استخراج و اندازه‌گیری کادمیوم در خون، بیماران MS استفاده گردید.

افزایش غلظت کادمیوم امکان ابتلا به MS را از طریق سد مایع مغزی نخاعی افزایش می‌دهد و اندازه‌گیری کادمیوم در نمونه‌های خون و ادرار فقط در زمان‌های نزدیک به مواجهه (مراحل حاد بیماری) امکان‌پذیر است.

در صورت پیشرفت بیماری بررسی مواجهه کادمیوم در نمونه‌های مو، ناخن و بافت‌های بیماران امکان‌پذیر است.

منابع

- Pratush A, Kumar A, Hu ZJIM. Adverse effect of heavy metals (As, Pb, Hg, and Cr) on health and their bioremediation strategies: a review. 2018;21(3):97-106.
- Goullé J-P, Mahieu L, Castermant J, Neveu N, Bonneau L, Lainé G, et al. Metal and metalloid multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair: Reference values. 2005;153(1):39-44.
- Wang T, Fu J, Wang Y, Liao C, Tao Y, Jiang GJEP. Use of scalp hair as indicator of human exposure to heavy metals in an electronic waste recycling area. 2009;157(8-9):2445-51.
- Branca JJV, Morucci G, Pacini AJNrr. Cadmium-induced neurotoxicity: still much ado. 2018;13(11):1879.
- Reich DS, Lucchinetti CF, Calabresi PA. Multiple Sclerosis. The New England journal of medicine. 2018;378(2):169-80.
- Kazemi NM. A novel sorbent based on metal-organic framework for mercury separation from human serum samples by ultrasound assisted-ionic liquid-solid phase microextraction. Analytical Methods in Environmental Chemistry Journal. 2019 Nov 13;2(03):67-78.
- Adetayo A, Runsewe DJOJoCM. Synthesis and Fabrication of Graphene and Graphene Oxide: A Review. 2019;9(02):207.

نتایج

غلظت مقادیر کادمیوم در ۱۰ میلی‌لیتر نمونه‌های خونی بیماران MS و افراد سالم براساس میکرواستخراج فاز جامد-مایع یونی پخش در سیستم بسته 137mg/g در pH هشت بدست آمد، در شرایط بهینه، منحنی خطی، حد تشخیص (LOD)، انحراف معیار نسبی (RSD) و نیز فاکتور پیش‌تغلیظ (PF) روش پیشنهادی برای سنجش کادمیوم به ترتیب ۰.۰۱-۰.۱۵ میکروگرم بر لیتر، ۳ نانوگرم بر لیتر، ۵٪ و ۲۰ بدست آمد.

محدوده خطی بدست آمده برای غلظت‌های پایین بسیار مناسب است. بر اساس نتایج بدست آمده ریکواری روش بیشتر از ۹۵ درصد بوده و از دقت و صحت مطلوبی برخوردار است. بر اساس نتایج حاصل، غلظت کادمیوم در ۴۵ درصد بیماران MS بالاتر از افراد سالم است و همبستگی خطی بین غلظت کادمیوم در خون بیماران MS در حالت حاد بیماری وجود دارد.

در حالت مزمن و پیشرفت بیماری با توجه به زمان ماندگاری در خون (چند ساعت) امکان بررسی وجود ندارد. آمار بهینه‌سازی در جدول ۱ به صورت خلاصه نشان داده شده است. و ارقام شایستگی در جدول ۲ گزارش شده است.

جدول ۱- آمار بهینه‌سازی پارامترها و نتایج کادمیوم در یک نگاه

پارامتر	مقدار
pH	۸
مقدار نانوجاذب گرافن اکساید	۱۵ میلی‌گرم
مقدار مایع یونی	۰.۱۵ میلی‌گرم
حجم نمونه	۱۰ میلی‌لیتر
مقدار محلول شست و شو	۲۵۰ میکرولیتر
چرخش محلول	۵ دقیقه
دما	۲۵ درجه سانتی‌گراد

جدول ۲- ارقام شایستگی

پارامتر	مقدار تجزیه‌ای
محدوده خطی	۰.۰۱-۰.۱۵ میکروگرم بر لیتر
حد تشخیص	۳ نانوگرم بر لیتر
دقت	RSD ≤ 5%
فاکتور پیش‌تغلیظ	۲۰ میکروگرم بر لیتر
بازایی	۹۵٪

در نتایج بررسی میزان فلز با روش میکرواستخراج فاز جامد-مایع یونی با موارد مرجع استاندارد نشان از ریکواری بالای ۹۵٪ دارد.

پس جداسازی فلز از خون با US-D-IL-μ-SPE و سنجش با طیف‌سنجی جذب اتمی الکتروترمال، این سنجش با MicroWave انجام شد که تفاوت قابل توجهی بین نتایج روش‌های سنجش مشاهده نشد. همچنین میزان کادمیوم در بیماران MS نسبت به افراد سالم بیشتر گزارش شد.

ریکواری نمونه‌های اسپایک شده با موارد مرجع استاندارد رضایت بخش بوده است.

مقدمه

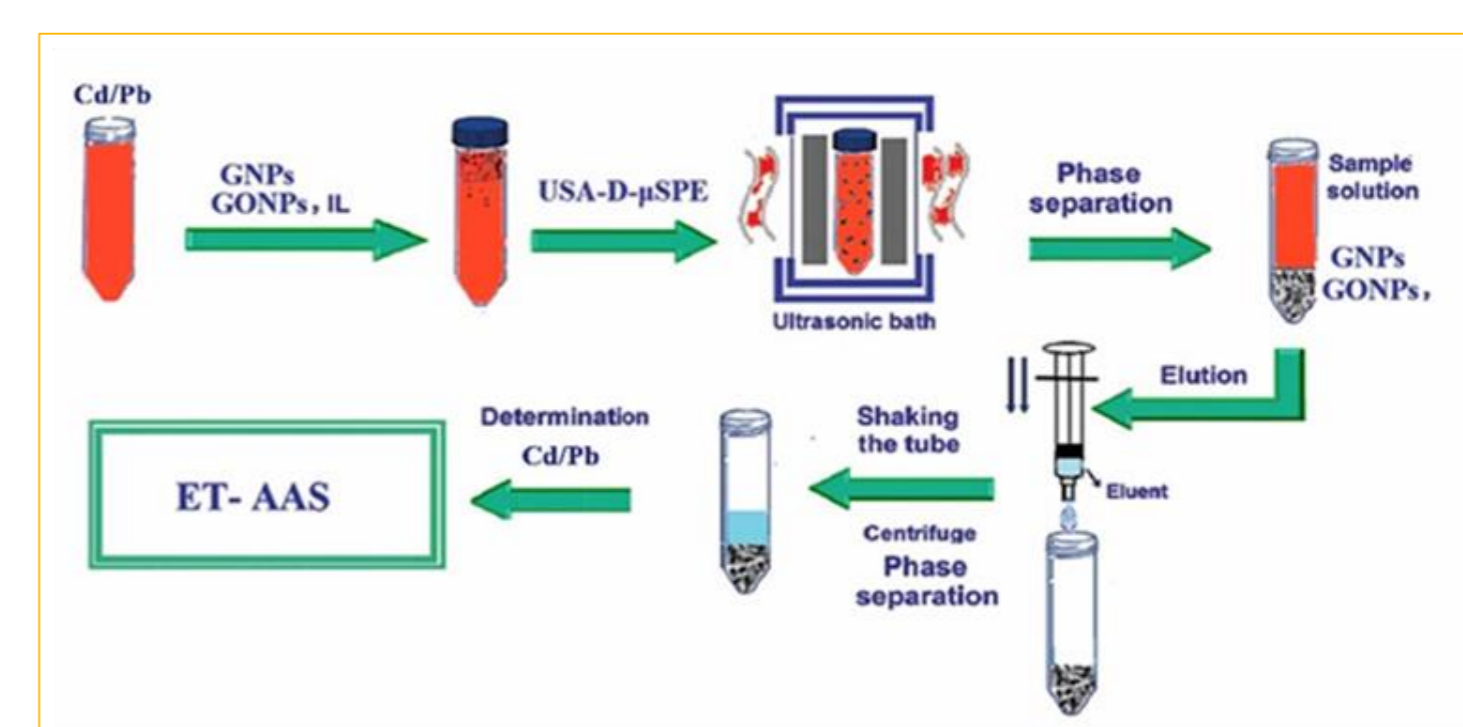
بیماران مولتیپل اسکلروزیس (MS) در پی حمله سیستم ایمنی به غلاف میلینی سلول‌های عصبی و اختلال در امر پیام‌رسانی دچار ناتوانی‌های ذهنی و فیزیکی می‌شوند. بر اساس مرور مطالعات پیشین، سبک زندگی، خوراک، عوامل ژنتیکی و همچنین مواجهه با فلزات سنگین سمی نظیر کادمیوم از عواملی است که در بروز بیماری MS موثر است (۱،۲). در این میان با وجود کاربردهای فلزات سنگین در صنعت، اثرات مخرب فلزات سنگین بر جنبه‌های سلامت و زیست‌محیطی توجه پژوهشگران و نیز سیاست‌گذاران را به خود معطوف کرده است. تاثیر مقادیر اندک کادمیوم در آسیب‌های ریوی، اختلالات غدد و ... بخصوص بیماری‌های اعصاب (۴) از جمله MS مقوله‌ای است که نیازمند مطالعه و پژوهش می‌باشد. لذا استخراج و سنجش فلزات سنگین در ماتریکس‌های بیولوژیک انسانی به کمک روش‌های نوین نانوتکنولوژی در شناخت، درمان و پیشگیری بیماری MS موثر است (۵). در این تحقیق از نانوجاذب گرافن اکساید برای شناسایی و جذب کادمیوم در نمونه‌های خون بیماران استفاده می‌گردد و از دستگاه جذب اتمی الکتروترمال که از رایج‌ترین روش‌ها در اندازه‌گیری کادمیوم در مایعات بیولوژیکی می‌باشد، استفاده شده است.

مواد و روش‌ها

برای سنتز نانوجاذب گرافن اکساید از روش هامر و برای مشخصه‌یابی از میکروسکوپ الکترونی روبشی و عبوری، XRD و FT-IR استفاده شد (۶، ۷). جهت استخراج Cd از نمونه خون بیماران MS از ۱۵ mg جاذب گرافن اکساید بر اساس تکنیک میکرواستخراج فاز جامد-مایع یونی بخشی با التراسونیک (US-D-IL-μ-SPE) استفاده و پارامترهای موثر بر استخراج بررسی و بهینه شدند.

اندازه‌گیری غلظت Cd در نمونه با طیف‌سنجی جذب اتمی با کوره گرافیت انجام شد. اعتبارسنجی روش با مواد مرجع استاندارد (CRM) انجام شد.

نمونه خون MS از افراد مبتلا در مراحل حاد بیماری (شروع بیماری) انجام شد. در شکل ۱ روش استخراج به صورت شماتیک نشان داده شده است.



شکل ۱- میکرو-استخراج فاز جامد مایع یونی-بخشی با التراسوند (USA-D-IL-μ-SPE)