



اندازه گیری نورفلوکساسین در نمونه های پساب با استفاده از یک حسگر رنگ سنجی بر مبنای گوشی هوشمند

محمد رضا جلالی سروستانی^۱، مهناز قمی^{۲،۳*}

^۱باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، تهران

^۲گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد تهران، تهران، ایران

^۳مرکز تحقیقات مواد اولیه دارویی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۲۸

چکیده

اندازه گیری آنتی بیوتیک ها از اهمیت زیادی برخوردار است. از این رو، در این تحقیق، یک حسگر رنگ سنجی مبتنی بر واکنش آهن سه ظرفیتی و نورفلوکساسین و ایجاد یک کمپلکس مشکی رنگ حاصل از واکنش آنها، طراحی شده است. برای این منظور، ابتدا تمامی شرایط با روش یک فاکتور در یک زمان، مورد بهینه سازی قرار گرفت تا بیشترین میزان حساسیت حاصل شود. سپس، در شرایط بهینه (pH=3.0، زمان تماس ۶۰ ثانیه، غلظت آهن ۱۰۰ ppm) حسگر طراحی شده، رنج خطی مناسبی از ۱ تا ۱۰۰ میکرومولار از خود نشان داد. حد تشخیص و حد کمی سازی به ترتیب برابر ۰/۳۱ و ۰/۹۹ می باشد. در روش توسعه داده شده از گوشی هوشمند و آنالیز رنگ های سبز، قرمز و آبی عکس های گرفته شده از آن، به عنوان سیگنال تجزیه ای استفاده گردید، در نتیجه روش توسعه داده شده از مزایای قابل حمل بودن و ارزان بودن نیز برخوردار است. در نهایت، از روش پیشنهادی برای آنالیز نورفلوکساسین در سه نمونه پساب استفاده گردید و نتایج با یک روش استاندارد مقایسه شد.

کلمات کلیدی: نورفلوکساسین، رنگ سنجی، گوشی هوشمند، حسگر نوری

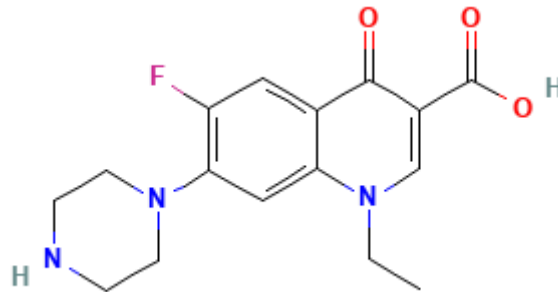
* Mahnaz.Qomi@gmail.com

مقدمه

مطالعات نشان داده است که اندازه گیری آنتی بیوتیک نورفلوکساسین (شکل ۱) از اهمیت بسیاری برخوردار است (۱). این آنتی بیوتیک یکی از مهم ترین داروهای استفاده شده در درمان عفونت های باکتریایی است و اندازه گیری دقیق آن می تواند تأثیر زیادی در تعیین درستی درمان و پیش بینی نتایج داشته باشد (۲). اهمیت اندازه گیری آنتی بیوتیک نورفلوکساسین در مقابله با مقاومت دارویی نیز بسیار حائز اهمیت است (۳). با توجه به افزایش روزافزون مقاومت باکتری ها به داروهای آنتی بیوتیک، اندازه گیری دقیق و صحیح آنتی بیوتیک ها می تواند کمک شایانی به جلوگیری از گسترش مقاومت باکتریایی و انتخاب درست درمان مناسب برای بیماران داشته باشد (۴). علاوه بر این، اندازه گیری آنتی بیوتیک نورفلوکساسین می تواند در بهبود کارایی و کاربرد صحیح دارو در درمان های پزشکی نقش مؤثری داشته باشد (۵). با تعیین دقیق دوز مناسب و همچنین زمان مناسب مصرف، این آنتی بیوتیک می تواند بهبود قابل توجهی در درمان برخی از عفونت های باکتریایی و کاهش احتمال عود بیماری داشته باشد (۶). با توجه به این نکات، مشخص است که اندازه گیری آنتی بیوتیک نورفلوکساسین از اهمیت بسزایی برخوردار است و نقش مؤثر و حیاتی در بهبود کارایی درمان های پزشکی و کاهش مقاومت باکتری ها دارد (۷). به همین دلیل، تأکید بر اندازه گیری دقیق و صحیح آنتی بیوتیک نورفلوکساسین و اعمال استانداردهای لازم در این زمینه امری ضروری و حائز اهمیت است (۹). روش های متعددی برای اندازه گیری نورفلوکساسین گزارش شده است که مهم ترین آنها اسپکتروفوتومتری و کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا می باشد (۱۰). دو روش نام برده به دستگاه های گرانی نیاز دارند و زمان آنالیز آنها نیز طولانی می باشد. در

مقابل روش نام برده شده روش رنگ سنجی مبتنی بر گوشی هوشمند وجود دارد. با پیشرفت فناوری و استفاده گسترده از دستگاه های هوشمند، روش های جدیدی برای انجام آزمایش های شیمیایی و تجزیه و تحلیل نمونه ها به کار گرفته می شود. یکی از این روش ها، استفاده از دوربین و نورسنج گوشی های هوشمند برای انجام آنالیز رنگی نمونه هاست (۱۱). این روش که به نام "رنگ سنجی مبتنی بر گوشی هوشمند" شناخته می شود، امکان اندازه گیری رنگ نمونه ها و تحلیل آن ها را با دقت بالا و در زمان کوتاه فراهم می کند (۱۲). با استفاده از این روش، محققان و شیمی دانان قادرند تا با استفاده از دوربین گوشی هوشمند، تصاویر نمونه های خود را ثبت کرده و با استفاده از نرم افزارهای مخصوص، رنگ آن ها را اندازه گیری و تحلیل کنند (۱۳). این روش علاوه بر دقت بالا، هزینه و زمان کمتری نسبت به روش های سنتی دارد و به عنوان یک روش سریع و مؤثر در تجزیه و تحلیل نمونه ها شناخته می شود (۱۴). علاوه بر این، رنگ سنجی مبتنی بر گوشی هوشمند قابل استفاده در زمینه های مختلف شیمی تجزیه مانند تعیین غلظت محلول ها، تحلیل مواد غذایی، تجزیه و تحلیل آب و فاضلاب و ... است (۱۵). این روش با استفاده از تکنولوژی های پیشرفته تصویربرداری و پردازش تصویر، به محققان این امکان را می دهد که با دقت بالا و در زمان کمتر، نمونه های خود را تجزیه و تحلیل کنند (۱۶). با توجه به مزایای فراوان این روش، استفاده از رنگ سنجی مبتنی بر گوشی هوشمند در زمینه شیمی تجزیه به عنوان یک روش پیشرفته و کارآمد، پیشنهاد می شود (۱۷). این روش نه تنها به بهبود دقت و سرعت آزمایشات شیمیایی کمک می کند، بلکه هزینه های مربوط به تجزیه و تحلیل نمونه ها را نیز کاهش می دهد (۱۸). به علاوه، استفاده از دستگاه های هوشمند برای انجام آزمایشات، به محققان این امکان را می دهد که در هر زمان و مکانی که باشند، به تجزیه و تحلیل نمونه ها بپردازند (۱۹، ۲۰). از این رو، در این تحقیق، یک حسگر رنگ سنجی مبتنی بر واکنش

نورفلوکساسین با آهن سه ظرفیتی ۹ آب و تشکیل کمپلکس
مشکی رنگ و سنجش رنگ به دست آمده با گوشی
هوشمند، طراحی گردید.



شکل ۱- ساختار شیمیایی نورفلوکساسین

(محلول حاوی آب و یون فریک) به عنوان سیگنال تجزیه ای
استفاده گردید.

بخش تجربی

مواد و دستگاه ها

تمامی مواد و واکنشگرهای استفاده شده از شرکت مرک
آلمان خریداری شد. ماده موثره خالص نورفلوکساسین از
داروسازی رازک تهیه شد. از یک گوشی هوشمند ساخت
شرکت سامسونگ مدل A22 و نرم افزار RGB color
detector برای تشخیص اجزا رنگ عکس های گرفته شده،
استفاده گردید. نمونه های پساب از یک کارخانه داروسازی
واقع در تهران، ایران تهیه گردید. نمونه های حقیقی با دستگاه
کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا برند waters مورد آنالیز
قرار گرفت.

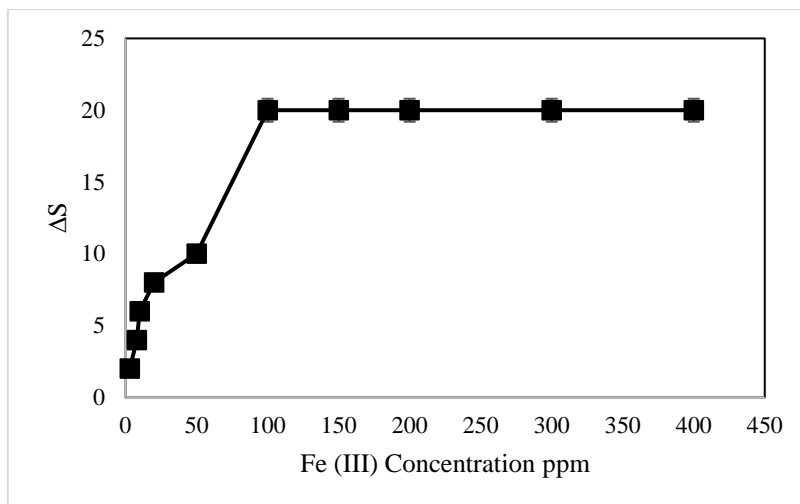
روش تجزیه ای

ابتدا محلول های مختلف استاندارد از آنتی بیوتیک
نورفلوکساسین ساخته شد، سپس از یک محلول غلیظ یون
فریک (۱۰۰۰۰ ppm) مقدار ۱۰۰ میکرولیتر یون آهن سه
ظرفیتی تحت شرایط بهینه به محلول ها اضافه شد و پس از
۶۰ ثانیه محلول از حالت بی رنگ به مشکی تغییر رنگ داد.
در مرحله بعد عکس با گوشی هوشمند گرفته شد و تفاوت
مقادیر RGB عکس محلول ها با مقادیر RGB محلول شاهد

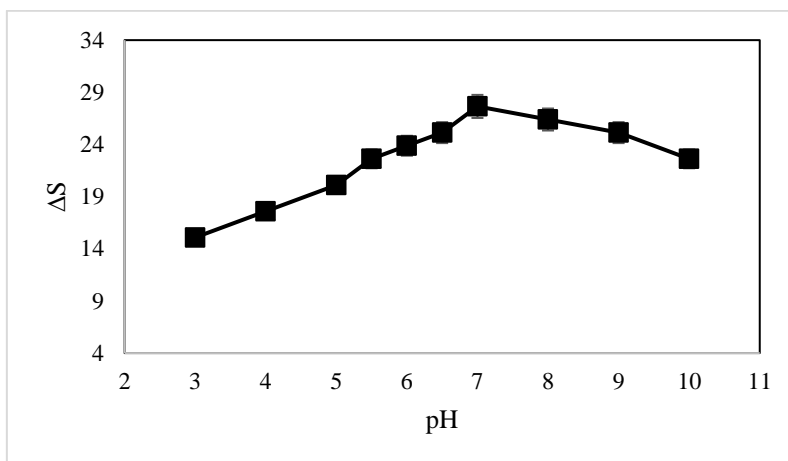
نتایج و بحث

بهینه سازی پارامترهای موثر

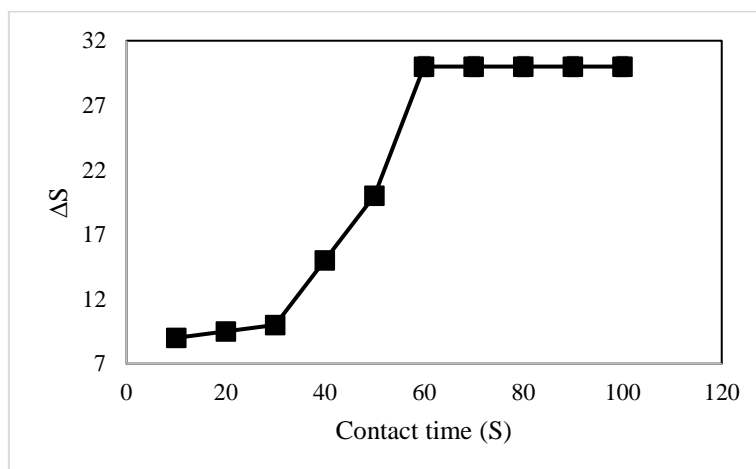
برای رسیدن به نهایت حساسیت، تمامی عوامل موثر بر
سیگنال تجزیه ای با روش یک فاکتور در یک زمان مورد
بهینه سازی قرار گرفت. اولین پارامتر بررسی شده غلظت آهن
سه ظرفیتی در محلول نهایی بود (شکل ۲)، همانطور که
ملاحظه می شود با افزایش غلظت آهن تا ۱۰۰ میلی گرم بر
لیتر در محلول نهایی سیگنال افزایش می یابد و پس از آن
ثابت می شود. در غلظت های کمتر، به نظر می رسد که آهن
کافی برای تشکیل کمپلکس وجود ندارد اما در غلظت های
زیادتر از ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نیز محلول اشباع می شود.
سپس اثر pH مورد بررسی قرار گرفت در محلول های اسیدی
و قلیایی سیگنال کاهش شدیدی تجربه کرده و بهترین پاسخ
در pH=۷ مشاهده شد (شکل ۳) و آخرین پارامتر مورد
بررسی زمان تماس بود همانطور که داده های ارائه شده در
شکل ۴ به وضوح نشان می دهند، تا زمان ۶۰ ثانیه سیگنال
حالتی افزایشی و پس از آن ثابت می شود. از این رو، زمان ۱
دقیقه به عنوان زمان بهینه انتخاب گردید.



شکل ۲- تاثیر غلظت یون فریک



شکل ۳- تاثیر pH

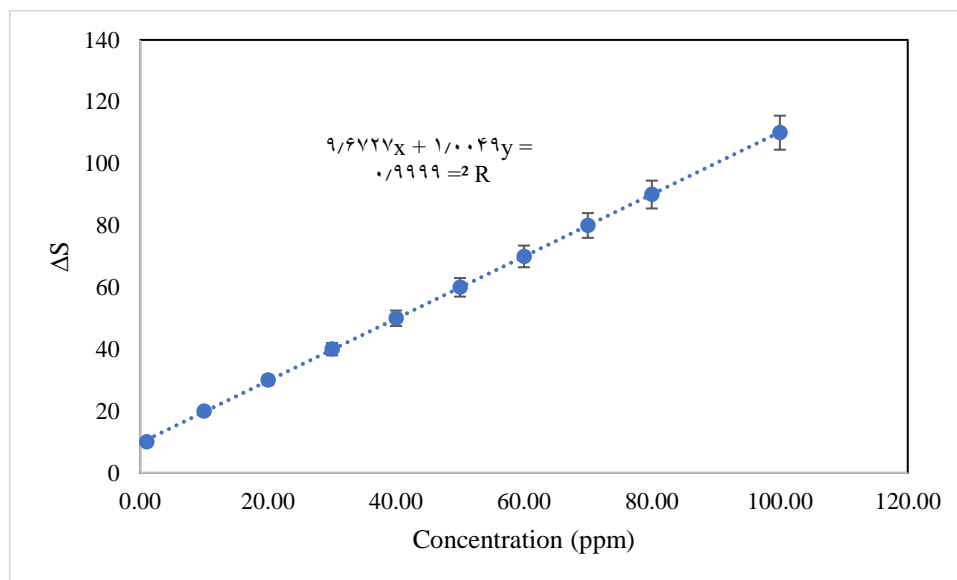


شکل ۴- تاثیر زمان تماس

منحنی کالیبراسیون و اعتبار سنجی

می شود یک رابطه خطی میان غلظت و شدت سیگنال در محدوده ۱ الی ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر مشاهده می گردد. حد تشخیص و حد کمی سازی روش نیز به ترتیب برابر ۰/۳۱ و ۰/۹۹ بود.

پس از بهینه سازی شرایط، منحنی کالیبراسیون رسم گردید و نتایج آن در شکل ۵ ارائه شده است. همانطور که ملاحظه



شکل ۵- منحنی کالیبراسیون

پساب، استفاده شد و نتایج آن با روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا مقایسه شد (جدول ۱) همانطور که ملاحظه می شود نتایج با هم تطابق خوبی دارند

برای اعتبار سنجی روش، ۵ سری محلول با غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر ساخته شد و سپس سیگنال آن اندازه گیری و مقدار انحراف استاندارد نسبی محاسبه شد که برابر با ۳/۵۵ درصد بود. همچنین گزینش پذیری روش مورد بررسی قرار گرفت و مزاحمت جدی مشاهده نشد. در نهایت از روش پیشنهادی برای اندازه گیری نورفلوکساسین در سه نمونه

جدول ۱- نتایج کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا

نمونه ها	نتایج رنگ سنجی (میلی گرم بر لیتر)	نتایج کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (میلی گرم بر لیتر)
پساب ۱	۳۳/۱۰	۳۲/۸۵
پساب ۲	۱/۲۵	۱/۱۰
پساب ۳	۷۶/۵۰	۷۵/۹۰

اندازه گیری آنتی بیوتیک ها از اهمیت زیادی برخوردار است. به همین دلیل، در این تحقیق، یک حسگر رنگ سنجی مبتنی

نتیجه گیری

می توان نتیجه گرفت که حسگر رنگ سنجی مبتنی بر واکنش آهن سه ظرفیتی و نورفلوکساسین، روش مناسبی برای اندازه گیری و تشخیص غلظت این آنتی بیوتیک در محیط های مختلف است. این روش با دقت و سرعت بالا، قابل استفاده در صنایع مختلف از جمله صنایع پزشکی و محیط زیست است و می تواند به عنوان یک ابزار مؤثر در کنترل کیفیت و ایمنی محصولات مورد استفاده قرار گیرد.

بر واکنش آهن سه ظرفیتی و نورفلوکساسین و ایجاد یک کمپلکس مشکی رنگ حاصل از واکنش آنها، طراحی شده است. در نهایت، از روش پیشنهادی برای آنالیز نورفلوکساسین در سه نمونه پساب استفاده گردید و نتایج با یک روش استاندارد مقایسه شد. این نتایج نشان داد که حسگر طراحی شده به خوبی قابل استفاده برای اندازه گیری نورفلوکساسین در نمونه های پساب است و دقت آن با روش استاندارد همخوانی دارد. با توجه به نتایج به دست آمده،

1. Urban-Chmiel R, Marek A, Stępień-Pyśniak D, Wiczorek K, Dec M, Nowaczek A, Osek J. Antibiotic resistance in bacteria—A review. *Antibiotics*. 2022 Aug 9;11(8):1079.
2. Larsson DG, Flach CF. Antibiotic resistance in the environment. *Nature Reviews Microbiology*. 2022 May;20(5):257-69.
3. Church NA, McKillip JL. Antibiotic resistance crisis: challenges and imperatives. *Biologia*. 2021 May;76(5):1535-50.
4. Darby EM, Trampari E, Siasat P, Gaya MS, Alav I, Webber MA, Blair JM. Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. *Nature Reviews Microbiology*. 2023 May;21(5):280-95.
5. Chinemerem Nwobodo D, Ugwu MC, Oliseloke Anie C, Al-Ouqaili MT, Chinedu Ikem J, Victor Chigozie U, Saki M. Antibiotic resistance: The challenges and some emerging strategies for tackling a global menace. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2022 Sep;36(9):e24655.
6. Mancuso G, Midiri A, Gerace E, Biondo C. Bacterial antibiotic resistance: the most critical pathogens. *Pathogens*. 2021 Oct 12;10(10):1310.
7. Uddin TM, Chakraborty AJ, Khusro A, Zidan BR, Mitra S, Emran TB, Dhama K, Ripon MK, Gajdács M, Sahibzada MU, Hossain MJ. Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal of infection and public health*. 2021 Dec 1;14(12):1750-66.
8. Huemer M, Mairpady Shambat S, Brugger SD, Zinkernagel AS. Antibiotic resistance and persistence—Implications for human health and treatment perspectives. *EMBO reports*. 2020 Dec 3;21(12):e51034.
9. Aslam B, Khurshid M, Arshad MI, Muzammil S, Rasool M, Yasmeen N, Shah T, Chaudhry TH, Rasool MH, Shahid A, Xueshan X. Antibiotic resistance: one health one world outlook. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2021 Nov 25;11:771510.
10. Diallo OO, Baron SA, Abat C, Colson P, Chaudet H, Rolain JM. Antibiotic resistance surveillance systems: A review. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2020 Dec 1;23:430-8.
11. Shen L, Hagen JA, Papautsky I. Point-of-care colorimetric detection with a smartphone. *Lab on a Chip*. 2012;12(21):4240-3.
12. Kap Ö, Kılıç V, Hardy JG, Horzum N. Smartphone-based colorimetric detection systems for glucose monitoring in the diagnosis and management of diabetes. *Analyst*. 2021;146(9):2784-806.
13. Balbach S, Jiang N, Moreddu R, Dong X, Kurz W, Wang C, Dong J, Yin Y, Butt H, Brischwein M, Hayden O. Smartphone-based colorimetric detection system for portable health tracking. *Analytical Methods*. 2021;13(38):4361-9.
14. Mutlu AY, Kılıç V, Özdemir GK, Bayram A, Horzum N, Solmaz ME. Smartphone-based colorimetric detection via machine learning. *Analyst*. 2017;142(13):2434-41.
15. Dong C, Wang Z, Zhang Y, Ma X, Iqbal MZ, Miao L, Zhou Z, Shen Z, Wu A. High-performance colorimetric detection of thiosulfate by using silver nanoparticles for smartphone-based analysis. *ACS sensors*. 2017 Aug 25;2(8):1152-9.
16. Oncescu V, O'Dell D, Erickson D. Smartphone based health accessory for colorimetric detection of biomarkers in sweat and saliva. *Lab on a Chip*. 2013;13(16):3232-8.
17. Sajed S, Arefi F, Kolahdouz M, Sadeghi MA. Improving sensitivity of mercury detection using learning based smartphone colorimetry. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2019 Nov 1;298:126942.
18. Zhang XX, Song YZ, Fang F, Wu ZY. Sensitive paper-based analytical device for fast colorimetric detection of nitrite with smartphone. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2018 Apr;410:2665-9.
19. Kong L, Gan Y, Liang T, Zhong L, Pan Y, Kirsanov D, Legin A, Wan H, Wang P. A novel smartphone-based CD-spectrometer for high sensitive and cost-effective colorimetric detection of ascorbic acid.

- Analytica Chimica Acta. 2020 Jan 6;1093:150-9.
20. Cao Y, Liu Y, Li F, Guo S, Shui Y, Xue H, Wang L. Portable colorimetric detection of copper ion in drinking water via red beet pigment and smartphone. Microchemical Journal. 2019 Nov 1;150:104176.

Measurement of Norfloxacin in Effluent Samples Using a Smartphone-Based Colorimetric Sensor

Mohammad Reza Jalali Sarvestani¹, Mahnaz Qomi^{2,3*}

¹ Young Researchers and Elite Club, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahr-e-Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

³ Active Pharmaceutical Ingredients Research Center (APIRC), Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

The measurement of antibiotics is of great importance. Therefore, in this research, a colorimetric sensor based on the reaction of ferric iron and norfloxacin and the formation of a black complex resulting from their reaction has been designed. For this purpose, all conditions were optimized using a one-factor-at-a-time method to achieve the highest sensitivity. Then, under optimal conditions (pH=3.0, contact time 60 seconds, iron concentration 100 ppm), the designed sensor showed a suitable linear range from 1 to 100 micromolar. The detection limit and quantification limit are 0.31 and 0.99, respectively. In the developed method, a smartphone and the analysis of green, red, and blue colors from the captured images were used as the analytical signal, thus the developed method also benefits from portability and low cost. Finally, the proposed method was used for the analysis of norfloxacin in three wastewater samples, and the results were compared with a standard method.

Keywords: Norfloxacin, colorimetry, smartphone, optical sensor

* mahnaz.qomi@gmail.com