

## ساخت حسگر الکتروشیمیایی تشخیص کورکومین با استفاده از الکتروکد خمیر کربن

مصطفی رحیم نژاد<sup>۱\*</sup>، رزان زختاره<sup>۱</sup>، علی اکبر مقدم نیا<sup>۲</sup>، مریم اصغری<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> مرکز تحقیقات سوخت‌های زیستی و انرژی‌های تجدیدپذیر، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، بابل، ایران

<sup>۲</sup> گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

<sup>۳</sup> گروه شیمی تجزیه، دانشکده شیمی، دانشگاه مازندران، بابل، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۲/۳۰

تاریخ تصحیح: ۹۶/۰۲/۲۹

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۱۸

### چکیده

در این مطالعه، از الکتروکد خمیر کربن (CPE)، به عنوان یک حسگر الکتروشیمیایی ساده اما با حساسیت و گزینش پذیری بالا برای شناسایی و اندازه گیری کورکومین در سرم خون انسان بهره گرفته شد. رفتار الکتروشیمیایی کورکومین در سطح CPE با استفاده از روش ولتامتری چرخه‌ای مورد مطالعه قرار گرفت. به علاوه، وابستگی جریان‌های اکسایش و کاهش کورکومین به pH محلول آزمایشی و سرعت رویش پتانسیل نیز بررسی شد. با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی، نمودار معیارگیری در محدوده غلظت ۳-۳۰۰  $\mu\text{M}$  با حد تشخیص ۵/۰۳  $\mu\text{M}$  حاصل شد.

**کلمات کلیدی:** کورکومین، الکتروکد خمیر کربن، سرم خون، ولتامتری چرخه‌ای، ولتامتری پالس تفاضلی، حد تشخیص.

### ۱- مقدمه

زردچوبه، نام عامیانه ی گیاه *Curcuma Longa L*، ادویه‌ای با خواص درمانی بی‌شمار و متعلق به خانواده‌ی زنجبیل است [۱]. این گیاه، علاوه بر استفاده به‌عنوان چاشنی، نگهدارنده و رنگ‌دهنده به غذا و پارچه، در طب سنتی کاربرد گسترده‌ای در درمان بیماری‌های مختلف نظیر تب، زردی، زخم معده، ورم مفاصل، بیماری‌های پوستی، زخم‌های دیابتی، بی‌اشتهایی، روماتیسم، سرفه، اختلالات کبدی، تصفیه‌ی خون و بیماری‌های ریوی داشته است [۲]. ریزوم<sup>۱</sup> زردچوبه، اصلی‌ترین قسمت این ادویه جهت مصارف خوراکی و درمانی است و حاوی سه آنالوگ<sup>۲</sup> کورکومین<sup>۳</sup>، دمتوکسی‌کورکومین<sup>۴</sup> و بیس دمتوکسی‌کورکومین<sup>۵</sup> است که در مجموع کورکومینوئید<sup>۶</sup> نامیده می‌شوند [۲، ۳] (شکل ۱).

\* نویسنده مسئول: دانشیار، مرکز تحقیقات سوخت‌های زیستی و انرژی‌های تجدیدپذیر، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی نوشیروانی

<sup>1</sup> Rhizome

<sup>2</sup> Analog

<sup>3</sup> Curcumin

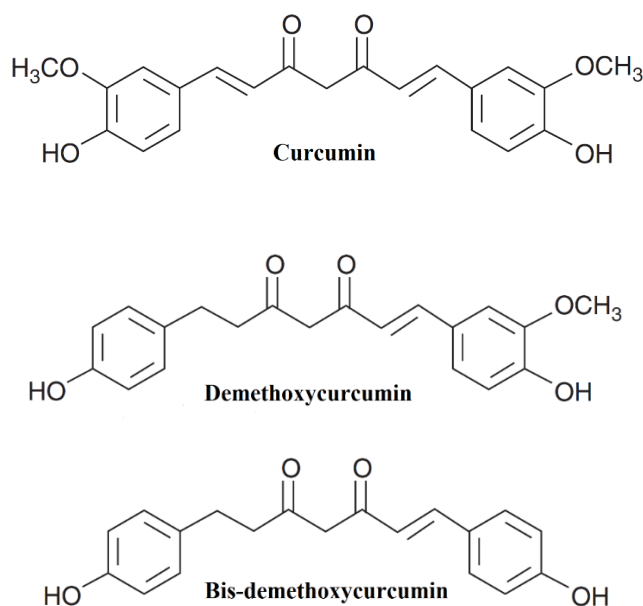
<sup>4</sup> Demethoxycurcumin

<sup>5</sup> Bisdemethoxycurcumin

<sup>6</sup> Curcuminoid

کورکومینوئیدها، پلی فنل‌هایی هستند که رنگ زرد زردچوبه را ایجاد می‌کنند و از نظر موقعیت گروه متوکسی بر روی حلقه‌های آروماتیک با یکدیگر متفاوت هستند [۴].

٪ ۲-۵ زردچوبه از کورکومین تشکیل شده است و این رنگدانه‌ی طبیعی، عامل اصلی خصوصیات شفابخش این گیاه است [۵]. کشف کورکومین به حدود دو قرن قبل باز می‌گردد. ساختار شیمیایی کورکومین برای نخستین بار در سال ۱۹۱۰ توسط میلوبزکا<sup>۱</sup> و همکاران شناسایی شده و به صورت دی فرلوئیل متان یا - [(1E,6E)-1,7-bis (4-hydroxy- 3-methoxyphenyl) - [1,6- heptadiene-3,5-dione] معرفی شد [۶].



شکل ۱- ساختار کورکومینوئیدها [۵]

مطالعات گسترده بر روی ویژگی‌های کورکومین نشان داده‌اند که این مولکول به علت ظرفیت بالا در برهم‌کنش با مولکول‌های مختلف و تنظیم مسیرها و اهداف مولکولی متعدد، به شدت چندجانبه<sup>۲</sup> است و اثرات درمانی بی‌شماری دارد. کورکومین، دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد باکتریایی و ضد قارچی است و در مقابله با بیماری‌هایی همچون دیابت، ورم مفاصل، آلرژی، ایدز، پزوریازیس<sup>۳</sup>، التهاب روده، افسردگی، مسمومیت کلیوی، آلزایمر، ام اس<sup>۴</sup>، بیماری‌های قلبی-عروقی و به‌ویژه سرطان بسیار کارآمد است [۷-۱۰]. این ترکیب، آنتی‌اکسیدانی به مراتب قوی‌تر از ویتامین E است و از اکسیداسیون هموگلوبین و پراکسیداسیون چربی جلوگیری می‌کند [۱۱]. تحقیقات گسترده بر روی جانوران و انسان نشان داده است که مصرف کورکومین

<sup>1</sup> Milobedzka

<sup>2</sup> Pleiotropic

<sup>3</sup> Psoriasis

<sup>4</sup> MS (Multiple Sclerosis)

حتی در دوزهای بالا آسیبی به سلول‌های سالم وارد نمی‌کند اما از تکثیر سلول‌های سرطانی جلوگیری می‌کند. سرطان خون، کبد، کلیه، رحم، تخمدان، سینه، دستگاه گوارش و تومورهای مغزی از جمله سرطان‌هایی هستند که کورکومین قادر است از وقوع آن‌ها پیشگیری کرده و در درمان آن‌ها مؤثر واقع شود [۱۲-۱۵].

با افزایش حجم مطالعات صورت گرفته بر روی خواص درمانی کورکومین و آشکار شدن اهمیت این ترکیب در زمینه‌ی پزشکی، نیاز به یک روش ساده، سریع، دقیق و ارزان برای شناسایی و تعیین مقدار آن بیش از پیش احساس می‌شود. کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا<sup>۱</sup>، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا- طیف‌سنجی جرمی<sup>۲</sup>، طیف‌سنجی مرئی فرابنفش<sup>۳</sup>، اسپکتروفلوریمتری<sup>۴</sup>، پخش نور رزونانس<sup>۵</sup>، کمی لومینسانس<sup>۶</sup> و الکتروفورز موئین<sup>۷</sup>، از جمله روش‌هایی هستند که تا کنون برای سنجش کورکومین مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این روش‌ها از دقت، حساسیت و گزینش‌پذیری بالایی برخوردار هستند اما استفاده از آن‌ها نیازمند تجهیزات گران‌قیمت و افراد کارآزموده است. روش‌های الکتروشیمیایی ضمن برخورداری از دقت، حساسیت و گزینش‌پذیری مطلوب، ساده، ارزان و سریع هستند و جایگزین مناسبی برای روش‌های مرسوم محسوب می‌شوند [۱۶-۲۱].

در این مطالعه، با استفاده از یک الکتروود خمیر کربن، شناسایی کورکومین در مسیری ساده، دقیق و ارزان تحقق پذیرفت. رفتار الکتروشیمیایی کورکومین در سطح الکتروود خمیر کربن با استفاده از روش‌های ولتامتری چرخه‌ای و ولتامتری پالس تفاضلی مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که این الکتروود در شناسایی و اندازه‌گیری کورکومین از کارایی لازم برخوردار است. ولتامتری چرخه‌ای پرکاربردترین روش جهت دستیابی به اطلاعات کیفی درباره‌ی واکنش‌های الکتروشیمیایی است و اغلب نخستین آزمایشی است که در یک مطالعه‌ی ولتامتری انجام می‌شود. این روش، اطلاعات قابل توجهی در زمینه‌ی ترمودینامیک واکنش‌های اکسایش-کاهش، سینتیک واکنش‌های انتقال الکترون ناهمگن و فرآیندهای جذب در اختیار می‌گذارد؛ به‌علاوه، پتانسیل ردوکس گونه‌های الکتروفعال را مشخص می‌کند و اثر محیط را بر واکنش‌های اکسایش-کاهش نشان می‌دهد. ولتامتری پالس تفاضلی نیز یک روش بسیار مفید برای اندازه‌گیری مقادیر اندک ترکیبات آلی و معدنی است و از مزایایی همچون قدرت جداسازی و حساسیت بالا و توان پاسخ‌دهی به هر دو نوع فرآیندهای برگشت‌پذیر و برگشت‌ناپذیر برخوردار است [۲۲، ۲۳].

<sup>1</sup> High-performance liquid chromatography

<sup>2</sup> High performance liquid chromatography- mass spectrometry (HPLC-MS)

<sup>3</sup> Ultraviolet- visible spectroscopy

<sup>4</sup> Spectrofluorimetry

<sup>5</sup> Resonance light Scattering (RLS)

<sup>6</sup> Chemiluminescence

<sup>7</sup> Capillary electrophoresis

## ۲- مواد و روش ها

### ۲-۱- مواد و تجهیزات

کورکومین از شرکت مرک (آلمان) خریداری شد.  $K_2HPO_4$  و  $KH_2PO_4$  از سین کم (چین) و  $H_3PO_4$  و پودر گرافیت از دایجونگ (کره‌ی جنوبی) تهیه شدند. روغن پارافین از مرک و سدیم کلراید نیز از قطران شیمی (ایران) خریداری شدند. محلول استوک  $10^{-2} M$  کورکومین در اتانول تهیه شده و در محیط تاریک و دمای  $4^\circ C$  نگهداری شد. محلول  $0.1 M$  بافر فسفات ( $pH=3$ ) حاوی سدیم کلراید  $1 M$  به‌عنوان الکترولیت مورد استفاده قرار گرفت. محلول‌های مورد استفاده در آزمایش به‌صورت کاملاً تازه قبل از انجام آزمایش از طریق رقیق کردن محلول استوک آماده شدند. همه‌ی مواد دیگر از درجه‌ی تجزیه‌ای بوده و بدون تصفیه‌ی مجدد استفاده شدند. تمامی محلول‌ها با آب دو بار تقطیر آماده شدند.

آزمایش‌های الکتروشیمیایی با استفاده از یک دستگاه پتانسیوستات/گالوانوستات (IVIUM TECHNOLOGY- VERTEX) ساخت کشور هلند و یک سل سه الکترودی معمولی انجام شدند. یک الکتروکد خمیر کربن به‌عنوان الکتروکد کار، یک سیم پلاتین به‌عنوان الکتروکد کمکی و یک الکتروکد  $Ag/AgCl$  به‌عنوان الکتروکد مرجع مورد استفاده قرار گرفتند.

### ۲-۲- آماده سازی CPE

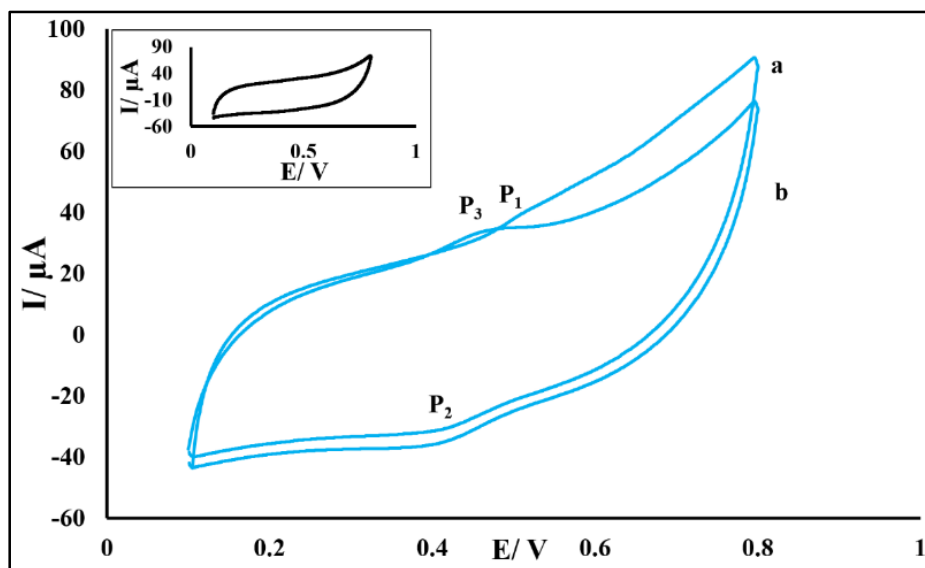
برای تهیه‌ی CPE، پودر گرافیت و روغن پارافین به نسبت ۷۰ به ۳۰ (درصد وزنی-وزنی) با هم مخلوط شده و به خوبی در یک هاون ساییده شدند تا خمیر کربن همگنی حاصل گردد [۲۴-۲۶]. سپس، خمیر تهیه شده به داخل یک لوله‌ی شیشه‌ای منتقل شده و از یک سیم مسی جهت فشرده کردن آن و برقراری اتصال الکتریکی بهره گرفته شد. پیش از ساخت الکتروکد، لوله‌ی شیشه‌ای مورد استفاده، به کمک سمباده کاملاً صاف و یکدست شده و با آب مقطر شستشو داده شد. قبل از انجام هر آزمایش، الکتروکد بر روی کاغذ نرمی پولیش داده شد تا سطحی کاملاً صاف و صیقلی به دست آید و نتایج تکرارپذیری حاصل شوند.

## ۳- نتایج و بحث

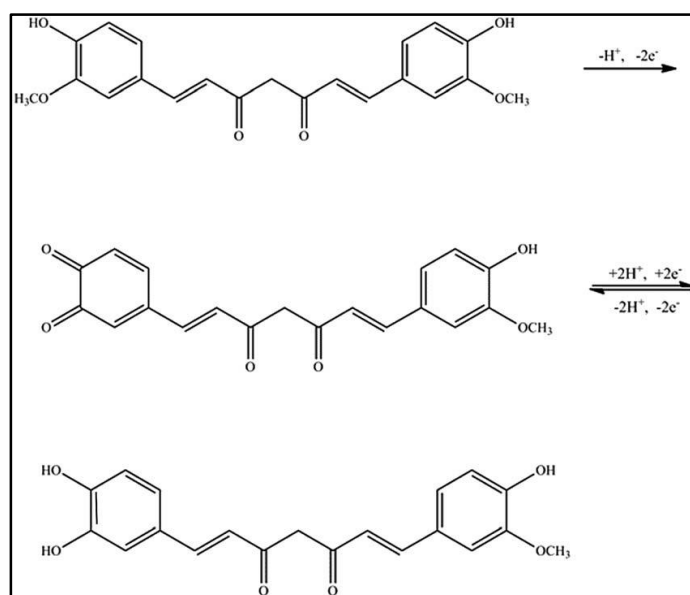
### ۳-۱- مطالعه‌ی رفتار الکتروشیمیایی کورکومین در سطح CPE

وجود دو حلقه‌ی فنلی شامل دو گروه هیدروکسی و دو گروه متوکسی در ساختار کورکومین، قابلیت اکسایش الکتروشیمیایی را در این ترکیب ایجاد می‌کند. شکل ۲، ولتاموگرام‌های چرخه‌ای کورکومین  $10^{-4} M$  را در محلول بافر فسفات  $0.1 M$  ( $pH=3$ ) حاوی سدیم کلراید  $1 M$  در سرعت روبش  $100 mV/s$  طی دو چرخه‌ی متوالی در سطح CPE نشان می‌دهد. همچنین، کادر درون شکل ولتاموگرام چرخه‌ای CPE را در محلول شاهد بافر فسفات  $0.1 M$  ( $pH=3$ ) حاوی سدیم کلراید  $1 M$  در سرعت روبش  $100 mV/s$  نشان می‌دهد. با توجه به شکل، اکسایش کورکومین در دو مرحله صورت می‌پذیرد. در چرخه‌ی اول (منحنی a)، در پتانسیل  $0.53 V$  یک دماغه‌ی اکسایشی ( $P_1$ ) و در پتانسیل  $0.339 V$  یک دماغه‌ی کاهش‌ی ( $P_2$ ) ایجاد می‌شود و در

چرخه‌ی دوم (منحنی b)، در پتانسیل  $0.494\text{ V}$  یک دماغی اکسایشی جدید ( $P_3$ ) به وجود آمده و دماغی اکسایشی چرخه‌ی اول ( $P_1$ ) از بین می‌رود ولی پتانسیل دماغی کاهش‌ی بدون تغییر باقی می‌ماند. از نتایج چنین استنباط می‌شود که دماغی اکسایشی چرخه‌ی اول ( $P_1$ ) برگشت‌ناپذیر است درحالی‌که دماغی کاهش‌ی ( $P_2$ ) و دماغی اکسایشی چرخه‌ی دوم ( $P_3$ ) برگشت‌پذیر هستند و علت این امر، وجود گروه‌های فعال محصولی است که از اکسایش کورکومین در چرخه‌ی نخست حاصل شده و قابلیت جذب شدن بر سطح الکتروود را دارد [۲۷] (شماتیک ۱).



شکل ۲- ولتاموگرام‌های چرخه‌ای کورکومین  $10^{-4}\text{ M}$  در محلول بافر فسفات  $0.1\text{ M}$  ( $\text{pH}=3$ ) حاوی سدیم کلراید  $1\text{ M}$  در سطح CPE در سرعت روبش  $100\text{ mV/s}$ . کادر درون شکل ولتاموگرام چرخه‌ای CPE را در محلول شاهد بافر فسفات  $0.1\text{ M}$  ( $\text{pH}=3$ ) حاوی سدیم کلراید  $1\text{ M}$  در سرعت روبش  $100\text{ mV/s}$  نشان می‌دهد.



شماتیک ۱- واکنش پیشنهادی فرآیند اکسایش و کاهش کورکومین در سطح CPE [۲۸]

## ۳-۲- مطالعه ی اثر سرعت روبش پتانسیل بر رفتار الکتروشیمیایی کورکومین

برای دستیابی به اطلاعات جامع تر در زمینه ی سینتیک واکنش الکتروشیمیایی کورکومین در سطح CPE، اثر سرعت روبش پتانسیل بر جریان دماغه ( $I_p$ ) و پتانسیل دماغه ی ( $E_p$ ) کورکومین با استفاده از روش ولتامتری چرخه ای مورد بررسی قرار گرفت. در شکل ۳-الف، ولتاموگرام های چرخه ای کورکومین  $10^{-4}$  M در محلول بافر فسفات  $0.1$  M ( $pH=3$ ) حاوی سدیم کلراید  $M$  در سرعت های روبش متفاوت ( $20-120$  mV/s) در چرخه ی دوم به تصویر کشیده شده اند. همان گونه که مشاهده می شود، جریان و پتانسیل دماغه های اکسایشی و کاهشی کورکومین در سطح CPE کاملاً تحت تأثیر سرعت روبش پتانسیل است؛ به طوری که با افزایش آن، علاوه بر افزایش جریان دماغه های اکسایشی و کاهشی، پتانسیل دماغه های اکسایشی به سمت مقادیر بیشتر مثبت و پتانسیل دماغه های کاهشی به سمت مقادیر کمتر مثبت جابه جا می شود. مطابق شکل ۳-ب، جریان دماغه های اکسایشی (a) و کاهشی (b) کورکومین بر حسب سرعت روبش پتانسیل مطابق معادلات  $I_{pa} = 0.3698 v + 4.1014$  ( $R^2 = 0.997$ ) و  $I_{pc} = -0.4281 v - 3.181$  ( $R^2 = 0.9947$ ) به صورت خطی تغییر می کند. این نتیجه حاکی از آن است که فرآیند الکتروشیمیایی کورکومین در سطح CPE، یک فرآیند کنترل شده با جذب سطحی است. همچنین، تغییرات پتانسیل دماغه های اکسایشی (a) و کاهشی (b) کورکومین بر حسب لگاریتم سرعت روبش پتانسیل نیز به صورت خطی است:  $E_{pa} = 0.0691 \log v + 0.3602$  ( $R^2 = 0.9929$ ) و  $E_{pc} = -0.0368 \log v + 0.4005$  ( $R^2 = 0.9812$ ) (شکل ۳-ج)؛ بنابراین، می توان از معادلات زیر که توسط لاپرونی<sup>۱</sup> شرح داده شده اند، بهره گرفت و مقادیر ضریب انتقال الکترون<sup>۲</sup> ( $\alpha$ )، تعداد الکترون های انتقال یافته ( $n$ ) و ثابت سرعت انتقال الکترون<sup>۳</sup> ( $K_s$ ) را محاسبه نمود.

(۱)

$$E_{pa} = 2.303 RT/(1-\alpha) nF$$

(۲)

$$E_{pc} = -2.303 RT/\alpha nF$$

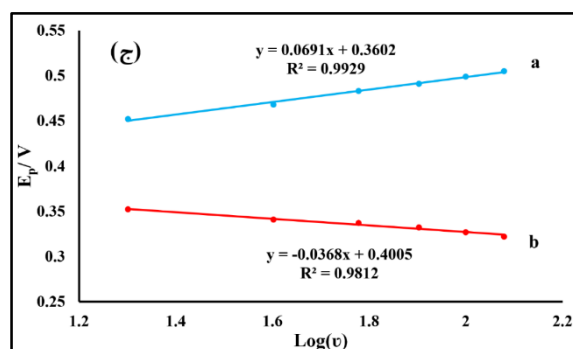
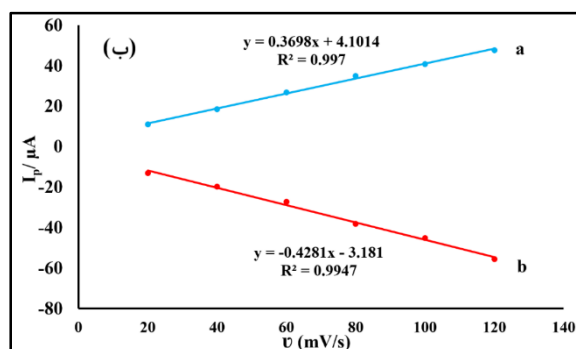
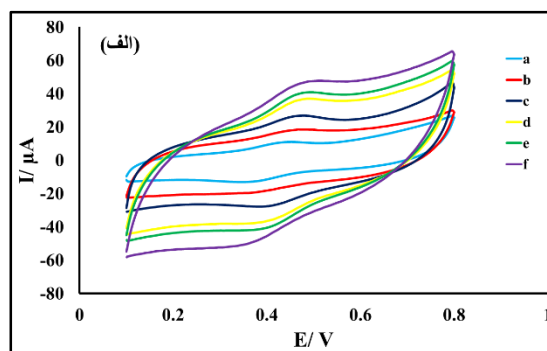
$$\log K_s = \alpha \log(1 - \alpha) + (1 - \alpha) \log \alpha - \log (RT/nFv) - \alpha (1 -$$

(۳)

$$\alpha) (nF\Delta E_p/2.3RT)$$

با استفاده از معادلات ۱ و ۲ مقادیر  $n$  و  $\alpha$  به ترتیب برابر با ۲/۴ و ۰/۶۷ محاسبه شد و مقدار  $K_s = 0.10015$  S<sup>-۱</sup> نیز با استفاده از معادله ی ۳ به دست آمد.

<sup>۱</sup> Laviron<sup>۲</sup> Electron transfer coefficient<sup>۳</sup> Electron transfer rate constant



شکل ۳-الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای کورکومین  $10^{-4}$  M در محلول بافر فسفات  $0.1$  M ( $\text{pH}=3$ ) حاوی سدیم کلراید  $1$  M در سطح CPE در سرعت‌های روبش متفاوت پتانسیل: (a)  $20$ ، (b)  $40$ ، (c)  $60$ ، (d)  $80$ ، (e)  $100$  و (f)  $120$  mV/s در چرخه‌ی دوم. (ب) نمودار جریان دماغه‌های اکسایشی (a) و کاهش‌ی (b) بر حسب سرعت روبش پتانسیل. (ج) نمودار پتانسیل دماغه‌های اکسایشی (a) و کاهش‌ی (b) بر حسب لگاریتم سرعت روبش پتانسیل.

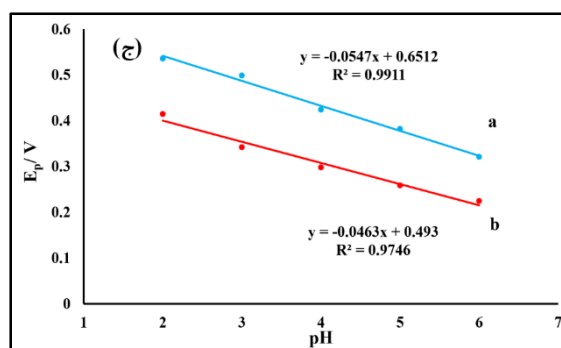
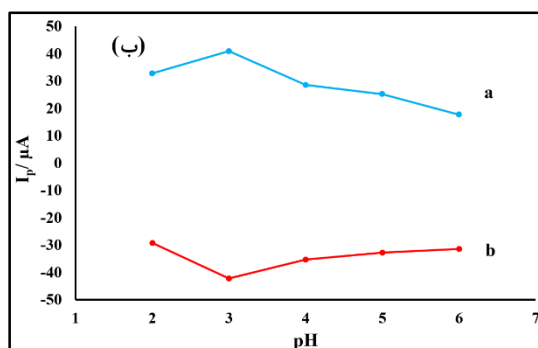
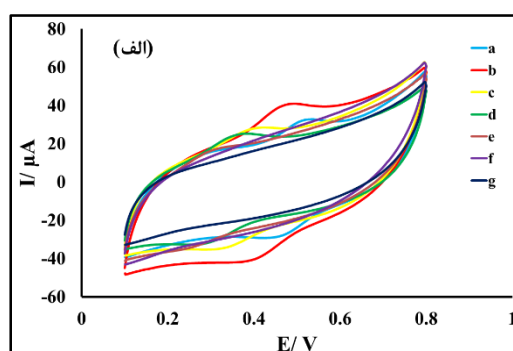
### ۳-۳- مطالعه‌ی اثر pH بر رفتار الکتروشیمیایی کورکومین

برای بررسی اثر pH بر اکسایش و کاهش الکتروشیمیایی کورکومین از روش ولتامتری چرخه‌ای بهره گرفته شد. شکل ۴-الف، ولتاموگرام‌های چرخه‌ای کورکومین  $10^{-4}$  M را در محلول‌های بافر فسفات  $0.1$  M حاوی سدیم کلراید  $1$  M در سطح CPE در سرعت روبش  $100$  mV/s در pHهای متفاوت ( $8 \ll \text{pH} \ll 2$ ) در چرخه‌ی دوم نشان می‌دهد. با توجه به شکل ۴-ب، جریان دماغه‌های اکسایشی (a) و کاهش‌ی (b) کورکومین تا  $\text{pH}=3$  افزایش یافته و پس از آن کاهش پیدا می‌کند؛ بنابراین،  $\text{pH}=3$  به‌عنوان pH بهینه انتخاب شد؛ همچنین، همان‌گونه که در شکل ۴-ج مشاهده می‌شود، با افزایش pH، پتانسیل دماغه‌های اکسایشی (a) و کاهش‌ی (b) کورکومین به سمت مقادیر کمتر مثبت جابه‌جا می‌شود و میان پتانسیل دماغه‌ها و pH محلول یک

رابطه‌ی خطی برقرار است:  $E_{pa} = -0.0547 \text{ pH} + 0.6512$  ( $R^2 = 0.9911$ ) و  $E_{pc} = -0.0463 \text{ pH} + 0.493$  ( $R^2 = 0.9746$ )؛ بنابراین، می‌توان از معادله‌ی ۴ بهره گرفت و نسبت تعداد پروتون‌ها به تعداد الکترون‌های ( $m/n$ ) درگیر در فرآیندهای اکسایش و کاهش کورکومین را محاسبه کرد.  $m/n$  برای فرآیند اکسایش ۰٫۹۲ و برای فرآیند کاهش ۰٫۷۸ تخمین زده شد. این مقادیر ثابت می‌کنند که تعداد الکترون‌ها و پروتون‌های مبادله شده در فرآیندهای اکسایش و کاهش کورکومین در چرخه‌ی دوم با یکدیگر برابر هستند.

(۴)

$$dE_p/dpH = 2.303 \text{ mRT/nF}$$



شکل ۴-الف) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای کورکومین  $10^{-4} \text{ M}$  در محلول بافر فسفات  $0.1 \text{ M}$  حاوی سدیم کلراید  $1 \text{ M}$  در pHهای متفاوت: (a) ۲، (b) ۳، (c) ۴، (d) ۵، (e) ۶، (f) ۷ و (g) ۸ در سطح CPE در سرعت روبش  $100 \text{ mV/s}$  در چرخه‌ی دوم. (ب) نمودار جریان دماغه‌های اکسایشی (a) و کاهش‌ی (b) بر حسب pH. (ج) نمودار پتانسیل دماغه‌های اکسایشی (a) و کاهش‌ی (b) بر حسب pH.



## ۳-۴- محاسبه‌ی حد تشخیص

برای تعیین محدوده‌ی خطی غلظت و محاسبه‌ی حد تشخیص کورکومین از روش ولتامتری پالس تفاضلی بهره گرفته شد؛ چرا که این روش در مقایسه با ولتامتری چرخه‌ای، در غلظت‌های پایین‌تر کورکومین دماغه‌های واضح‌تر و با جریان زمینه‌ی کمتر ایجاد می‌کند [۱۸]. شکل ۵-الف، ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی کورکومین را در محلول‌هایی با غلظت‌های متفاوت ( $300 \mu\text{M}$ -۳) در سطح CPE در سرعت روبش  $100 \text{ mV/s}$  نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت کورکومین در محلول، ارتفاع دماغه‌ی اکسایش آن نیز افزایش پیدا می‌کند. با رسم شدت جریان دماغه‌ی اکسایشی برحسب غلظت کورکومین، ملاحظه می‌شود که جریان در دو محدوده‌ی غلظت  $3-6 \mu\text{M}$  مطابق معادله‌ی  $I_{pa} = 5.655 C + 61.843$  ( $R^2 = 1$ ) و  $10-300 \mu\text{M}$  مطابق معادله‌ی  $I_{pa} = 0.0345 C + 104.62$  ( $R^2 = 0.9945$ ) به‌صورت خطی تغییر می‌کند (شکل ۵-ب). با استفاده از معادله‌ی ۵، حد تشخیص کورکومین برابر با  $5.03 \mu\text{M}$  محاسبه شد. در این رابطه،  $\sigma$  انحراف معیار در اندازه‌گیری شاهد<sup>۱</sup> و S شیب خط نمودار معیارگیری است.

LOD

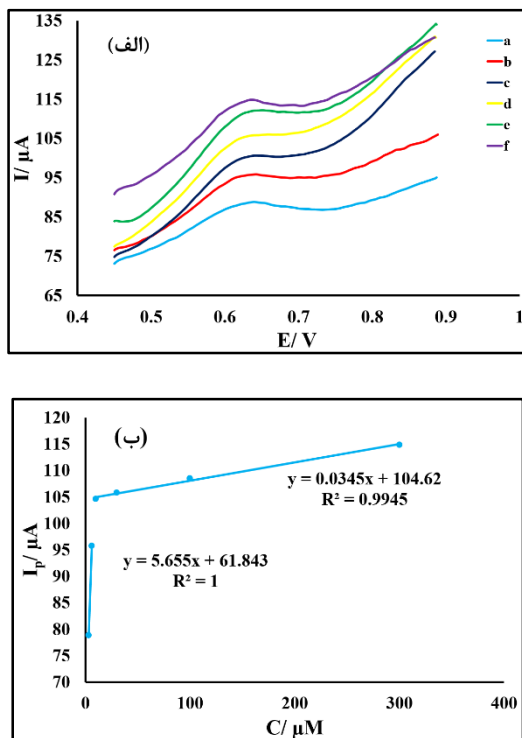
(۵)

$$= 3\sigma/S$$

تکرارپذیری این روش با تهیه‌ی ۵ الکتروده به‌صورت هم‌زمان و بررسی پاسخ آن‌ها به کورکومین  $10^{-4} \text{ M}$  سنجیده شد و انحراف از حالت استاندارد<sup>۲</sup>،  $RSD = 3.1\%$  حاصل شد. همچنین، از یک الکتروده برای انجام ۵ آزمایش مجزا بهره گرفته شد و  $2.4\%$   $RSD =$  حاصل شد. این نتایج ثابت کردند که CPE از تکرارپذیری مناسبی جهت اندازه‌گیری کورکومین برخوردار است. برای حصول اطمینان از پایداری CPE، این الکتروده به مدت یک هفته کنار گذاشته شد و پس از آن توانست در محلول کورکومین  $10^{-4} \text{ M}$ ،  $97\%$  پاسخ اولیه را ایجاد کند که این مسأله حاکی از پایداری بالای این حسگر است.

<sup>1</sup> Standard deviation of the blank

<sup>2</sup> Relative Standard Deviation



شکل ۵-الف) ولتاموگرام‌های پالس تفاضلی کورکومین با غلظت‌های متفاوت: (a) ۳، (b) ۶، (c) ۱۰، (d) ۳۰، (e) ۱۰۰ و (f) ۳۰۰ μM در محلول بافر فسفات ۰٫۱ M (pH=۳) حاوی سدیم کلراید ۱ M در سطح CPE در سرعت روبش ۱۰۰ mV/s. (ب) نمودار معیارگیری بر مبنای داده‌های قسمت الف.

### ۳-۵- تعیین مقدار کورکومین در سرم خون

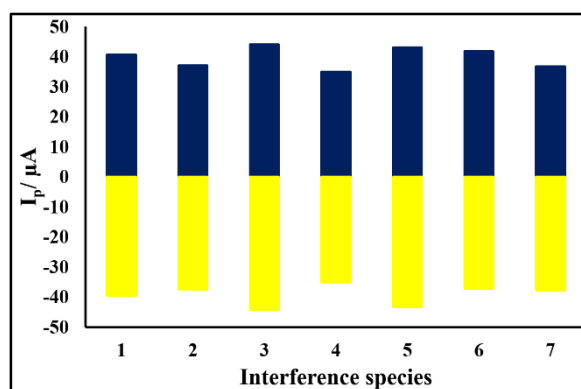
به‌منظور بررسی میزان کارایی حسگر طراحی شده در اندازه‌گیری کورکومین در نمونه‌های حقیقی، از CPE برای تعیین مقدار کورکومین در سرم خون انسان بهره گرفته شد. برای تهیه‌ی سرم، بعد از خونگیری، خون به لوله‌ی آزمایش منتقل شده و پس از لخته شدن سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ، خون داخل لوله به دو بخش تقسیم می‌شود. بخش بالایی، مایع زرد رنگی است که فاقد فاکتورهای انعقادی بوده و سرم خون نامیده می‌شود. نمونه‌های سرم خون با استفاده از محلول بافر فسفات ۰٫۱ M (pH=۳) رقیق شده و سپس کورکومین در غلظت‌های متفاوت به نمونه‌های رقیق شده تزریق شد. بررسی میزان بازیابی کورکومین تزریق شده به سرم خون با استفاده از روش افزایش استاندارد انجام شد و نتایج در جدول ۱ قابل مشاهده است.

جدول ۱- نتایج حاصل از اندازه‌گیری کورکومین در سرم خون انسان با استفاده از روش پیشنهادی

نمونه	مقدار افزوده شده (μM)	مقدار یافت شده (μM)	RSD (% , n=3)	بازیابی (%)
۱	۳	۳٫۰۵	۳٫۳	۱۰۱٫۶۷
۲	۶	۵٫۹۳	۴٫۱	۹۸٫۸

## ۳-۶- مطالعه‌ی اثر حضور ترکیبات مزاحم در شناسایی کورکومین

گزینش‌پذیری، یکی از مهمترین ویژگی‌های یک حسگر الکتروشیمیایی و بیان‌گر میزان توانایی حسگر در شناسایی یک آنالیت خاص در حضور دیگر ترکیبات شیمیایی و زیستی است [۲۸]. برای بررسی گزینش‌پذیری CPE، از روش ولتامتری چرخه‌ای برای سنجش توانایی این حسگر در شناسایی کورکومین در حضور یون‌های  $K^+$ ،  $Cu^{2+}$ ،  $Ni^{2+}$  و همچنین گلوکز و ساکاروز بهره گرفته شد. در تمامی آزمایش‌ها غلظت کورکومین ثابت و برابر  $10^{-4} M$  بود و ترکیبات خارجی با غلظت مشخص به داخل سل محتوی محلول آزمایش تزریق شدند. نتایج نشان دادند که افزودن  $K^+$ ،  $Cu^{2+}$ ،  $Ni^{2+}$ ، گلوکز و ساکاروز هر یک با غلظتی ۱۰۰ برابر غلظت کورکومین هیچگونه اثر منفی در شناسایی کورکومین نداشتند (شکل ۶).



شکل ۶- اثر گونه‌های مزاحم بر جریان دماغه‌های اکسایشی و کاهش‌ی کورکومین  $10^{-4} M$  در محلول بافر فسفات  $0.1 M$  (pH=۳) حاوی سدیم کلراید  $1 M$  در سطح CPE در حضور (۱) کورکومین و  $K^+$  (۲) کورکومین و  $Cu^{2+}$  (۳) کورکومین و  $Ni^{2+}$  (۴) کورکومین و گلوکز (۵) کورکومین و ساکاروز (۶) کورکومین و ساکاروز و (۷) کورکومین و مخلوطی از هر پنج ترکیب. غلظت هر یک از ترکیبات مزاحم  $10^{-2} M$  است.

## ۴- نتیجه‌گیری

با استفاده از الکتروکد خمیر کربن، یک روش الکتروشیمیایی ساده، حساس، دقیق و معتبر برای شناسایی و اندازه‌گیری کورکومین ارائه شد. برای بررسی رفتار الکتروشیمیایی کورکومین در سطح CPE، از روش‌های ولتامتری چرخه‌ای و ولتامتری پالس تفاضلی بهره گرفته شد و مشخص شد که فرآیند الکتروشیمیایی کورکومین در سطح CPE، یک فرآیند کنترل‌شده با جذب سطحی است. کمترین حد تشخیص نیز برابر با  $5.3 \mu M$  محاسبه شد. الکتروکد به‌کاررفته در این پژوهش، نسبت به کورکومین از تکرارپذیری و پایداری قابل ملاحظه‌ای برخوردار بود.

## ۵- منابع

- [1] I. Krishnakumar, D. Kumar, E. Ninan, R. Kuttan and B. Maliakel, *Journal of Functional Foods*, **17** (2015).
- [2] G. Shoba, D. Joy, T. Joseph, M. Majeed, R. Rajendran and P. Srinivas, *Planta medica*, **64** (1998) 04.
- [3] S. Julie and M. Jurenka, *Alternative medicine review*, **14** (2009) 2.
- [4] J. Lal, *Bull Environ Pharmacol Life Sci*, **1** (2012) 7.
- [5] B. B. Aggarwal, I. D. Bhatt, H. Ichikawa, K. S. Ahn, G. Sethi, S. K. Sandur, C. Natarajan, N. Seeram and S. Shishodia, (2006).
- [6] S. Prasad, S. C. Gupta, A. K. Tyagi and B. B. Aggarwal, *Biotechnology advances*, **32** (2014) 6.
- [7] A. Rohman, *Int Food Res J*, **19** (2012).
- [8] C. S. Beevers and S. Huang, *Botanics: Targets and Therapy*, **1** (2011).
- [9] P. Anand, A. B. Kunnumakkara, R. A. Newman and B. B. Aggarwal, *Molecular pharmaceutics*, **4** (2007) 6.
- [10] S. Singh, *Cell*, **130** (2007) 5.
- [11] S. Shishodia, G. Sethi and B. B. Aggarwal, *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1056** (2005) 1.
- [12] B. B. Aggarwal, A. Kumar and A. C. Bharti, *Anticancer res*, **23** (2003) 1A.
- [13] J. Ravindran, S. Prasad and B. B. Aggarwal, *The AAPS journal*, **11** (2009) 3.
- [14] B. B. Aggarwal and S. Shishodia, *Biochemical pharmacology*, **71** (2006) 10.
- [15] R. K. Maheshwari, A. K. Singh, J. Gaddipati and R. C. Srimal, *Life sciences*, **78** (2006) 18.
- [16] D. M. Wray, C. Batchelor-McAuley and R. G. Compton, *Electroanalysis*, **24** (2012) 12.
- [17] Y. Long, W. Zhang, F. Wang and Z. Chen, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, **4** (2014) 5.
- [18] J. Peng, K. Nong and L. Cen, *Journal of the Chinese Chemical Society*, **59** (2012) 11.
- [19] A. Masek, E. Chrzescijanska and M. Zaborski, *Electrochimica Acta*, **107** (2013).
- [۲۰] عربعلی، وحید؛ دانشگاه آزاد اسلامی، مجله شیمی کاربردی، شماره ۴۰ (۱۳۹۵) ص ۹.
- [۲۱] بقایری، مهدی؛ ملکی، بهروز؛ فرهادی، سمانه، دانشگاه حکیم سبزواری، مجله شیمی کاربردی، شماره ۳۸ (۱۳۹۵) ص ۱۰۱.
- [22] N. Li, J. J. Hefferren and K. A. Li, *Quantitative chemical analysis*, World Scientific, (2013).
- [23] J. Wang, *Analytical electrochemistry*. John Wiley & Sons, (2006).
- [24] M. Asghary, J. B. Raoof, R. Ojani and E. Hamidi-Asl, *International journal of biological macromolecules*, **80** (2015).
- [25] M. Asghary, J. B. Raoof, E. Hamidi-Asl and R. Ojani, *Journal of nanoscience and nanotechnology*, **15** (2015) 5.
- [26] H. Ezoji and M. Rahimnejad, *International Journal of Scientific & Engineerin Research*, **7** (2016) 6.

[27] D. Zhang, X. Ouyang, J. Ma, L. Li, and Y. Zhang, *Electroanalysis*, (2015).

[28] K. Li, Y. Li, L. Yang, L. Wang and B. Ye, *Analytical Methods*, **6** (2014) 19.

